

La amenaza de la tristeza de los cítricos en Chile¹

Luis Sánchez A.² y L. G. Weathers³

INTRODUCCION

La tristeza de los cítricos se encuentra presente en la mayoría de las áreas cítricas del mundo. El nombre tristeza fue primero usado en la década de 1930 para describir una enfermedad de los cítricos injertados en patrón de naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) en Argentina y Brasil. Al cabo de pocos años, esta enfermedad prácticamente destruyó la mayoría de los huertos comerciales de cítricos injertados en naranjo agrio en varias regiones de Argentina y Brasil (4). La tristeza también se encuentra presente en varios otros países de Sudamérica (2), (3), (7) y (9).

Las devastadoras pérdidas causadas por ella, la han ubicado entre las enfermedades más perjudiciales de los frutales cítricos.

Son pocas las enfermedades de las plantas que se han diseminado tan rápidamente y que han causado pérdidas tan grandes como las que se atribuyen a tristeza.

Hasta hace poco, se creía que Chile era uno de los pocos países del mundo que permanecía libre de la tristeza de los cítricos. Sin embargo, en 1969 se determinó la presencia de esta enfermedad y posteriormente se descubrió que el virus de la tristeza está presente en varios miles de limoneros Meyer (*C. meyeri* Tan) que crecen en los más insospechados lugares del país (9). Inmediatamente se realizó un estudio para determinar si el virus de la tristeza estaba siendo diseminado desde los limoneros Meyer infectados a otros árboles en huertos comerciales.

Este trabajo aporta antecedentes suficientes para adoptar medidas que puedan prevenir un brote de tristeza en Chile.

REVISION DE LITERATURA

Los síntomas de esta enfermedad son los mismos que los descritos para "podredumbre de la raicilla" en Argentina, "tristeza" en Brasil y "decaimiento" rápido en California. Los síntomas más característicos son aquellos que presentan las variedades de naranjos dulces (*C. sinensis* (L.) Osbeck) injertados en naranjos agrios y que consisten en una supresión de nuevos ciclos de crecimientos seguidos por una clorosis del follaje asociada con una apariencia de flacidez de las hojas. Algunos árboles que son afectados en forma severa, pueden morir tan rápidamente que las hojas se marchitan y se secan aun cuando estén de color verde. La mayoría de los árboles afectados florecen intensamente, pueden cuajar un gran número de frutos y posteriormente se marchitan (Figura 1). Las hojas se ponen amarillas y después caen (1). La mayoría de estos árboles mueren, pero aquellos menos severamente afectados pueden seguir viviendo indefinidamente en un estado de debilidad hasta que mueran por sobreproducción, plagas u otros factores adversos. La muerte de ramillas es también un síntoma muy común en estos árboles en decaimiento.

La unión patrón-injerto de los árboles afectados presenta una notoria anomalía que precede a la aparición de los síntomas de la parte aérea. Schneider (6) ha demostrado que en árboles infectados con tristeza, el floema de la corteza en la región de la unión patrón-injerto se pone necrótico. Esta destrucción del floema en la unión patrón-injerto aparentemente restringe la translocación de hidratos de carbono desde las hojas hacia las raíces, lo que resulta en una debilidad extrema y muerte de las raicillas. La reacción con solución de yodo señala que existe carencia total

¹ Estas investigaciones fueron realizadas como parte del Programa Cooperativo entre la Universidad de Chile-Universidad de California. Recepción manuscrito: 24 de julio de 1970.

² Ing. Agr. MS, Estación Experimental Agronómica y Profesor de Fruticultura, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

³ Ph D, Profesor de Patología Vegetal, Universidad de California, Riverside, California.

Según Echandi y Walker (6) *Sclerotinia* produce dos enzimas pectolíticas: la pectin metil estearasa (PME) y la poligalacturonasa (PG), y según Overell (12) estaría actuando también una toxina, el ácido oxálico. Desde el extremo del micelio se van difundiendo estas enzimas, las que van separando los grupos metilo y luego rompiendo la unión glucosídica 1,4 de la molécula de pectina.

El ácido oxálico actuaría sobre el tejido de dos maneras diferentes en el efecto destructivo de la enzima PG. Una, bajando el pH a uno más favorable para la acción enzimática. La otra consistiría en que el ácido oxálico, combinado con los iones Ca, permitiría a la PG hidrolizar más fácilmente los pectatos de la pared media. En efecto la PG no hidroliza los pectatos de Ca en ausencia de iones oxalato. Sin embargo Batemann y Beer (2) afirman que la toxicidad del ácido oxálico aparentemente no se debe a la presencia del ion oxalato, sino que a los cambios de pH dentro del tejido.

Gaumann y Jaag (8) explican que, como un resultado de la acción de la toxina, las células pierden una gran cantidad de agua que entra en la corriente de transpiración. El principal papel en el fenómeno de marchitamiento, sin embargo, no pertenece a la pérdida de agua, pero sí a una reducción de la presión osmótica de la célula. Como un resultado de la semipermeabilidad del protoplasma, las sustancias osmóticamente activas entran en el flujo transpiratorio y las células pierden su turgencia.

Por su constitución genética una planta puede ser atacada por el parásito en cualquier período de su vida o en un determinado momento en que tenga mayor susceptibilidad. Además, se puede producir un debilitamiento general de la planta a causa de la edad.

Las plantas, así como los animales, afirma Yarwood (17), varían con la edad en su susceptibilidad a las enfermedades y reconoce 4 categorías de susceptibilidad en relación con la edad, ellas son: Susceptibles cuando jóvenes y resistentes cuando maduras.

Resistentes cuando jóvenes y susceptibles cuando maduras.

Susceptibles cuando jóvenes y cuando maduras, pero resistentes en los estados intermedios.

Resistentes cuando jóvenes y maduras y susceptibles en el estado intermedio.

MATERIAL Y METODO

En la Estación Experimental Agronómica de la Universidad de Chile, Maipú, se realizó un ensayo de campo y otro de invernadero, para determinar los periodos de mayor susceptibilidad de la maravilla al ataque de *Sclerotinia sclerotiorum*.

La semilla de maravilla, de la variedad Peredovic, y los esclerocios de *Sclerotinia sclero-*

tiorum fueron facilitados por el Proyecto Oleaginosas, de la Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

El ensayo de campo se sembró el 22 de noviembre de 1967. Se inocularon plantas cada 8 días, correspondiendo la primera fecha de inoculación a plantas con 5 pares de hojas, y la última, a plantas completamente granadas y maduras. El diseño usado fue bloques aleatorizados, compuesto de 8 tratamientos (época de inoculación). Cada tratamiento contó con 15 repeticiones de 5 plantas cada una. Como testigo, se trataron, con mondadientes esterilizados, 10 plantas por época, para observar el posible efecto de la herida en la planta.

Las 8 épocas de inoculación correspondieron, respectivamente, a las siguientes etapas de desarrollo de las plantas: 5 pares de hojas, botón, botón abierto, flor, flor fecundada, capítulo granado, capítulo maduro y plantas listas para la cosecha. Las lecturas para cada tratamiento se realizaron 15 días después de la inoculación. Para evaluar el ensayo, se consideró solamente aquellas plantas que murieron a causa del ataque del patógeno.

El método de inoculación empleado fue el de mondadiete infectado con micelio del hongo (1), (3), (7), (14), atravesando el cuello de la planta a 5 cm sobre la superficie del suelo. Posteriormente se envolvió la zona infectada con un trozo de polietileno, con el objeto de favorecer la inoculación (7). La preparación del inóculo (1) se realizó en cajas de Petri, en las que se colocó 10 cc de agar-papadextrosa con 25 palillos cada una. Este material se esterilizó en autoclave por 30 minutos a 125° C. Posteriormente se inocularon colocando micelio del hongo mediante una aguja de platino previamente esterilizada.

Para comprobar que los periodos determinados en el campo se repetían en condiciones de invernadero, se repitió el ensayo de campo en invernadero, con algunas modificaciones.

Este ensayo se sembró el 15 de marzo de 1969. Las épocas seleccionadas para inocular las plantas se redujeron a 5. Se seleccionaron aquellos periodos que mostraron un significativo cambio de la pendiente de la curva de susceptibilidad, determinada en el ensayo realizado bajo condiciones de campo (Figura 1). Estos fueron: plantas con 5 pares de hojas, botón, flor, flor fecundada y capítulo maduro; correspondiendo a los tratamientos 1-2-4-5-7, del ensayo anterior, respectivamente.

El diseño experimental usado fue de bloques aleatorizados, con 5 tratamientos (época de inoculación). Cada tratamiento tuvo 6 repeticiones de 4 plantas cada una. Un sexto tratamiento correspondió al testigo que se inoculó con mondadientes que no portaban inóculo. El método de inoculación utilizado fue el mismo del ensayo anterior.

RESULTADO Y DISCUSION

En la Figura 1 se puede observar cómo varía la susceptibilidad de la maravilla al ataque de *Sclerotinia sclerotiorum*, en condiciones de campo.

La primera fecha de inoculación correspondió a plantas de un mes de edad, con un bajo porcentaje de infección. Entre la primera y segunda inoculación se produjo un crecimiento de 80 cm aproximadamente, y fue en esta etapa cuando el porcentaje de plantas enfermas fue mayor, para declinar en el momento de la floración.

Con flores fecundadas en la 5ª época de inoculación, ocurrió un alto porcentaje de plantas enfermas, decreciendo posteriormente al progresar el endurecimiento del tallo.

Para este ensayo el análisis de variancia dio diferencias significativas al 0,05 (Cuadro 1).

En la Figura 2 se puede observar que la

predisposición de la maravilla al ataque de *Sclerotinia sclerotiorum*, bajo condiciones de invernadero, es similar a la observada en el ensayo de campo.

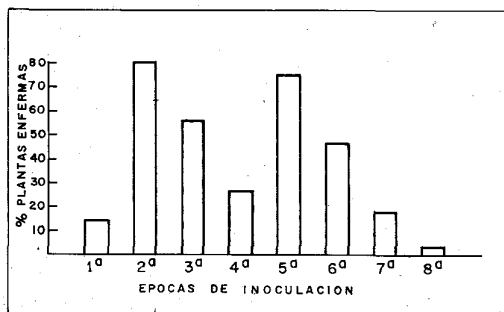
En la primera época de inoculación la susceptibilidad de la maravilla al ataque del patógeno fue baja, situación no observada en la segunda época en que alcanzó un valor similar al obtenido en el ensayo de campo.

Cuando las plantas emitieron su capítulo floral, disminuyó la susceptibilidad, pero ésta subió una vez pasado el período de fecundación. Más tarde, a medida que progresó el endurecimiento del tallo, la susceptibilidad volvió a decrecer. Esta situación coincide con los resultados obtenidos en el ensayo anterior.

Al ser sometidos los datos del ensayo de invernadero a análisis de variancia, se obtuvo diferencias significativas al 0,01 (Cuadro 2).

Los porcentajes de plantas marchitas en cada época de inoculación se repitieron con gran

Fig. 1: Predisposición de la maravilla a la esclerotiniosis, en condiciones de campo.

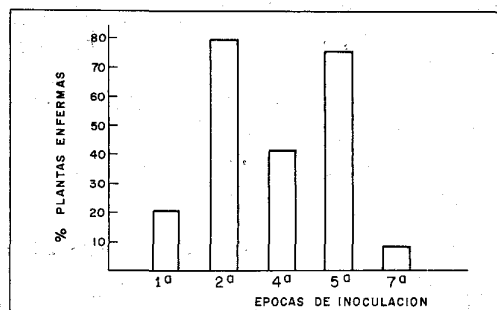


Cuadro 1 — Prueba de Duncan de la predisposición de la maravilla a la esclerotiniosis en condiciones de campo.

Tratamientos	Plantas Muertas %	Duncan 0,05 (*)
2. Botón	80,0	
5. Flor fecundada	74,6	
3. Botón abierto	56,0	
6. Capítulo granado	46,6	
4. Flor	26,6	
7. Capítulo maduro	17,3	
1. 5 pares de hojas	14,0	
8. Planta para cosecha	2,6	

(*) Los valores unidos por una misma barra vertical, son iguales estadísticamente entre sí. El tratamiento 4, estadísticamente, es diferente a todos.

Fig. 2: Predisposición de la maravilla a la esclerotiniosis, en condiciones de invernadero.



Cuadro 2 — Prueba de Duncan de la predisposición de la maravilla a la esclerotiniosis en condiciones de invernadero.

Tratamientos	Plantas Muertas %	Duncan 0,01 (*)
3. Botón	79,2	
5. Flor fecundada	75,0	
4. Flor	41,2	
2. 5 pares de hojas	20,8	
6. Capítulo maduro	8,3	
1. Testigo	0,0	

(*) Los tratamientos que abarcan las líneas son iguales estadísticamente. Los tratamientos 2, 6 y 1 son estadísticamente diferentes.

similitud en ambos ensayos, como se aprecia al comparar las Figuras 1 y 2.

Las variaciones de susceptibilidad que sufre la planta de maravilla en su ciclo vegetativo, podría deberse a que el rápido crecimiento en la etapa juvenil produce un debilitamiento de las paredes celulares, especialmente en la pared media, favoreciendo el aumento proporcional de las pectinas solubles del tejido vegetal. El aumento de dichas pectinas en la planta favorecería el ataque de las enzimas pectolíticas producidas por *Sclerotinia*. Este fenómeno se ve favorecido también por la posible disminución del ion calcio en la composición del pectato de calcio, componente principal de la pared media de la célula. Esta disminución ocurriría por la multiplicación y crecimiento celular acelerado de la planta, desde su emergencia hasta el estado de prefloración en que este debilitamiento de la pared celular llega a su máximo. Esto estaría reafirmado por Corden (4) que dice que la actividad enzimática del patógeno puede ser inhibida con la incorporación de calcio a los nutrientes de la planta.

Además Corden y Dimond (5) estiman que las uniones de sales formadas en el cemento péctico le confieren resistencia para el ataque de la poligalacturonasa. Por otra parte, los constituyentes pécticos altamente metilados serían susceptibles porque la pectin metil estearasa del hongo podría demetilar la pectina facilitando la acción posterior de la galacturonasa.

Sequeira (15) considera de principal importancia el efecto que tienen sobre los cambios en la estructura de los constituyentes del cemento péctico, la acción de los reguladores de crecimiento, debido a la mayor o menor cantidad de uniones calcio.

Por otra parte, el aumento de la superficie foliar permite a la planta una mayor fotosíntesis y con ello aumentar su contenido en hidratos de carbono.

Según Horsfall y Dimond (10) existen hongos que ven favorecida su patogenicidad al encontrar un alto contenido de azúcar en la planta, no así otros que se desarrollan mejor en medios deficientes en azúcar.

Marchionatto (11) dice que las sustancias

nitrogenadas provocan el desarrollo de abundantes tejidos parenquimáticos de membranas celulares delgadas, ricos en hidratos de carbono y materiales proteicos fácilmente solubles. Además, agrega que *Sclerotinia cinerea* (Born) Schröt, y otros agentes patógenos atacan con mayor facilidad a las plantas que han recibido un exceso de abonos nitrogenados.

La otra posible interpretación a las variaciones de susceptibilidad, radicaría en el aumento del contenido de azúcares reductores y a los niveles fluctuantes de éstos en la planta. Aceptando esta hipótesis, se podría pensar que, según los resultados obtenidos en esta experiencia, en la primera etapa de desarrollo existiría una corriente descendente de azúcares reductores hacia la zona radicular, caudal que aumentaría en relación al crecimiento de la planta. Cuando ésta alcanza el estado de flor, posiblemente ocurre un drenaje de estos hidratos de carbono hacia el capítulo, necesarios para la polinización, fecundación y desarrollo del grano. De ocurrir así, disminuiría la proporción de azúcares reductores en la zona del cuello, disminuyendo así la susceptibilidad de la planta al ataque del patógeno.

En el tratamiento 5, con plantas granadas, la susceptibilidad aumentaría al disminuir el gasto de hidratos de carbono en el capítulo floral, redistribuyéndose en el resto de la planta, con el consiguiente aumento en la zona de inoculación.

En un caso semejante al analizado, presentado por Grainger (9), ha resultado imposible infectar papas con *Phytophthora infestans* en cierta etapa a mediados del desarrollo, mientras que los mismos métodos y condiciones ambientales produjeron la enfermedad antes y después de esta etapa.

Grainger (9), finalmente, concluye que cuando un hongo o bacteria produce una enfermedad necesita obtener del huésped todos los materiales para su crecimiento y multiplicación. Si bien el organismo patógeno hace uso de todos los constituyentes principales del huésped, su necesidad más importante es la de grandes cantidades de hidrato de carbono fácilmente disponibles.

RESUMEN

Se determinó las épocas de mayor susceptibilidad de la maravilla al ataque de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, a través del ciclo vital de la planta.

Se efectuaron inoculaciones del hongo en plantas de maravilla, con palillos infestados, cada ocho días, desde el estado de 5 pares de hojas hasta plantas granadas y maduras.

Esta determinación se realizó en dos ensayos: uno en condiciones de campo y otro en invernadero.

Se concluyó que la susceptibilidad de la maravilla al ataque de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary varía de acuerdo con la edad de la planta; las épocas de mayor susceptibilidad son: plantas en estado de botón y de flor fecundada; las plantas con 5 pares de hojas resultaron poco susceptibles al ataque de *Sclerotinia*. Disminuye

también la incidencia de la enfermedad a medida que avanza la madurez del capítulo. La maravilla presenta igual predisposición al ataque de *Sclerotinia*, tanto en condiciones de invernadero como de campo.

SUMMARY

The periods of greatest susceptibility of sunflower to *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, during its growing cycle were determined.

Sunflower plants were inoculated with the fungus every 8 days from the 5 pair-leaf stage until full mature using infected toothpicks.

The tests were conducted both under field and greenhouse conditions.

It was concluded that sunflower susceptibility to the attack of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, varies with the age of the plant. Greatest susceptibility was observed at the blossom and fertilized flower stages. 5 pair-leaf plants were little susceptible to the attack of *Sclerotinia*; diseased incidence also decreases with maturity of the heads. Sunflower is equally attacked by *Sclerotinia* under field or greenhouse conditions.

LITERATURA CITADA

1. AUGER, S. J. Efecto de la edad en la predisposición de la maravilla (*Helianthus annuus* L.) a la esclerotiniosis (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary). Acción del fungicida sistémico Dupont 1991. Tesis Ing. Agr. Santiago, Universidad de Chile. 1969. 62 p. (Mimeografiada).
2. BATEMANN, D. F. and BEER, S. V. Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and poligalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 55: 204. 1965.
3. BETTI, C. I. Estudio de la patogeneidad de capas de *Sclerotinia* en variedades de maravilla. Tesis Ing. Agr. Santiago, Universidad Católica de Chile. 1957. 60 p. (Mimeografiada).
4. CORDEN, M. E. Influence of calcium nutrition on *Fusarium* wilt of tomato and poligalacturonase activity. *Phytopathology* 55 (2): 222-224. 1965.
5. ————— and DIMOND, A. E. The effect of growth substances on diseases resistance and plant growth. *Phytopathology* 49: 68. 1959.
6. ECHANDI, E. and WALKER, J. C. Pectolitic enzymes produced by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 47: 303-306. 1957.
7. FAJARDO, A. L. Empleo de productos quimioterapéuticos contra *Sclerotinia sclerotiorum* f. *minor*, sobre lechuga y girasol. M. S. Tesis Inst. de Patología Vegetal Bs. Aires, INTA. 1965. 60 p. (Mimeografiada).
8. GAUMANN, E. A. and JAAG, F. Principles of Plant Infection. London. Crosby Lockwood. 1950.
9. GRAINGER, J. Host nutrition and attack by fungal and bacterial parasites. *Phytopathology* 46: 445-456. 1956.
10. HORSFALL, J. G. and DIMOND, A. E. Interactions of tissue sugar, growth substances, and disease susceptibility. *Zitschr. P. Flkr. u. Pflanzschütz.* 64: 415-421. 1957.
11. MARCHIONATTO, J. B. Tratado de Fitopatología. Bs. Aires. Edic. lib. del colegio. 1948. 283 p.
12. OVERELL, B. T. A toxin in culture filtrates of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Aust. J. Sci.* 14 (6): 197-198. 1952.
13. PURDY, L. H. Factors affecting apothecial production by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 46: 409. 1956.
14. PUTT, E. D. Note on difference in susceptibility to *Sclerotinia* wilt in sunflowers. *Canada J. Pl. Sci.* 38 (3): 380-381. 1958.
15. SEQUEIRA, L. Growth regulators in plant disease. *Ann. Rev. Phytopathology* 1: 5-30. 1963.
16. WHETZEL, H. H. The cottony *Sclerotinia* rot. Ithaca, N. Y. Cornell University. 1960. p. 9. (Mimeographed).
17. YARWOOD, C. E. Predisposition. In Horfall, J. G. and Dimond, A. E. Ed. *Plant Pathology and advanced treatise*. New York, Academic Press. 1959. v. 1. pp. 521-562.