

PRINCIPALES ENFERMEDADES VIRALES Y AFINES DE LOS CÍTRICOS

Inés Peña, Juana M. Pérez, Daylé López y Lochy Batista
Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical, La Habana, Cuba
inespbarzaga@iift.cu

INTRODUCCIÓN

Los cítricos constituyen un importante complemento de la dieta humana debido al elevado contenido de vitaminas, minerales, azúcares y otros compuestos que tienen en su composición. Entre los factores que afectan la productividad de este cultivo se encuentran las enfermedades provocadas por virus y viroides, que tienen un gran impacto en la duración de la vida comercial y la producción de este cultivo. En esta conferencia se exponen las características más distintivas de las principales enfermedades de tipo viral que están presentes en la citricultura del continente americano. Dentro de ellas la tristeza tiene un efecto devastador sobre el cultivo y representa actualmente una seria amenaza en la región. Otras enfermedades como protuberancias nerviales-agallas de la madera, hoja rasgada-enanismo del citrange, moteado de la hoja de los cítricos y las inducidas por viroides, inciden en las plantas injertadas sobre los patrones tolerantes a la tristeza. Se incluye la leprosis que avanza por Centroamérica, o aquellas que como psorosis, impietratura, cristacortis y concavidad gomosa tienen menor impacto económico pero están ampliamente diseminadas en muchos países citrícolas.

ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS

Tristeza de los cítricos

La tristeza de los cítricos, es una enfermedad viral que se supone originaria del sudeste asiático, desde donde se distribuyó a la gran mayoría de los países citrícolas, debido a las necesidades de nuevas variedades para la citricultura comercial. Por esta razón el virus está ampliamente distribuido en todos los países productores del cultivo en el mundo. En el continente americano durante la década de 1930, ocurrieron las primeras epidemias que causaron el colapso de las plantaciones de naranjo dulce injertado sobre naranjo agrio. Las epidemias más recientes se desarrollaron en el área del Caribe en la década del 90, después de la colonización de estas zonas por *Toxoptera citricida* Kirkaldy, su principal vector.

El agente causal de esta enfermedad, es el *virus de la tristeza de los cítricos* (CTV), que es filamentoso y flexible y se encuentra limitado al floema. Se presenta como un complejo de variantes del virus que difieren en su severidad y esta diversidad determina en gran medida la epidemiología e importancia de los daños causados en diferentes áreas de cultivo.

Los hospedantes de este virus, incluyen a la mayoría de las variedades de cítricos y algunas especies de otros géneros de la familia *Rutaceae*. Existen patrones menos susceptibles o tolerantes a la enfermedad como mandarina Cleopatra, limero Rangpur, limonero rugoso, *Citrus volkameriana*, y *Poncirus trifoliata* y sus híbridos.

Los síntomas inducidos por el CTV son diversos, y por este motivo se pueden encontrar diferentes manifestaciones que van desde árboles asintomáticos portadores del virus y otros con diversa intensidad de estos. Los síntomas que provocan mayor impacto económico son: el declinamiento rápido que induce la muerte de los naranjos, pomelos y mandarinos injertados sobre patrón naranjo agrio y acanaladuras en la madera de los naranjos, pomelos y limeros ácidos.

El declinamiento de los árboles ocasionado por la tristeza (Figura 1) se produce como consecuencia de la necrosis del floema en la línea de unión del patrón naranjo agrio, induciendo un efecto de anillado del árbol, por lo que se observa clorosis, marchitez, abundante fructificación, y la destrucción del sistema radical. El colapso del árbol sobreviene 1-2 años después de la infección con el virus. Cuando el declinamiento ocurre de forma lenta se pueden observar protuberancias en forma de agujas en el leño del patrón, que se corresponden con pequeños orificios en la corteza. Este síntoma, denominado panal de abejas, se observa justo debajo de la línea de unión del patrón con el injerto.

Las acanaladuras del leño en especies sensibles es una sintomatología asociada a formas severas de la tristeza. Consiste en depresiones longitudinales en la parte exterior de troncos y ramas que se corresponden con proyecciones o crestas en la parte interna de la corteza. Cuando los síntomas son severos las ramas principales y el tronco pueden llegar a adquirir un aspecto arrugado. Las especies más sensibles son los pomelos y los limeros ácidos cuyos daños pueden ser letales y en menor grado se afectan los naranjos. Los cultivares altamente sensibles, por lo general muestran enanismo y frutas de reducido tamaño y calidad. La vida productiva de las plantas afectadas generalmente se reduce a un período de 5 a 15 años. Esta variante es aún más dañina que el declinamiento, porque se afectan todas las cultivares sensibles, aún cuando estén injertados sobre patrones tolerantes.

No se ha comprobado la transmisión de CTV por semillas, ni a través del suelo o las raíces, la transmisión mecánica solo se ha logrado experimentalmente entre especies cítricas y es poco eficiente. El virus se transmite de manera efectiva por injerto de tejidos y de forma natural, por medio de diferentes especies de áfidos, tales como: *Aphis gossypii* (Glover), *A. spiraecola* (Patch), *A. craccivora* (Koch), *Myzus persicae* (Sulzer), *Uroleucon jaceae* (Linn) y *Toxoptera citricida*.

Dentro de los métodos utilizados para la detección del virus, se encuentran el diagnóstico biológico con plantas indicadoras, la microscopía óptica y electrónica, técnicas moleculares como la RT-PCR e hibridación y técnicas inmunoenzimáticas. Estas últimas, en sus variantes de ELISA DAS (Sandwich de doble anticuerpo), DASI (Sandwich de doble anticuerpo indirecto) e Inmunoimpresión, resultan las de mayor aplicación en programas de certificación y prospecciones por su sencillez, bajo costo y capacidad de analizar grandes volúmenes de muestras en corto tiempo. Para la selección del procedimiento de diagnóstico a utilizar es necesario tener en cuenta la velocidad a la que se necesitan los resultados, la exactitud y sensibilidad requeridas, costo, disponibilidad de reactivos específicos, así como la disponibilidad de instalaciones y de personal entrenado.

Las estrategias de control de este virus se han desarrollado basadas en la presencia o ausencia de CTV en las áreas cítricas. Si no ha sido detectado el virus, para evitar su introducción en un país, se establecen medidas cuarentenarias y la certificación del material de propagación. Si está presente en baja incidencia se aplican programas de erradicación o supresión. En áreas donde el virus está ampliamente distribuido y las posibilidades de

nuevas infecciones son altas, las medidas deben dirigirse a reducir las pérdidas de la producción. Si en estas condiciones están presentes los aislados que inducen declinamiento rápido lo más aconsejable es sustituir el patrón de naranjo agrio por patrones tolerantes a la tristeza. Es recomendable en estos casos valorar el establecimiento de un programa de protección cruzada con aislados débiles del virus. Actualmente se realizan investigaciones para lograr la resistencia de las variedades y patrones de interés comercial por medio de la ingeniería genética. En todos los casos estas medidas deben estar acompañadas por un programa de certificación que garantice la reposición de nuevas áreas con material sano. El control químico de los vectores de la tristeza es poco eficiente y costoso por lo que sólo se justifica en los viveros.

Psorosis

La enfermedad se encuentra distribuida por todo el mundo causando una disminución del vigor, la producción y la reducción de la vida útil de los árboles de cítricos en países de América del Sur, Asia, África y el Mediterráneo. En países como Argentina y Uruguay donde predominan formas severas de la enfermedad es una de las principales causas de la pérdida de vigor y muerte de los árboles, especialmente los más viejos.

El agente causal de esta enfermedad es el *virus de la psorosis de los cítricos* (CPsV), que pertenece al género *Ophiovirus*. Este virus es tripartito y su genoma está compuesto por tres cadenas de ARN de polaridad negativa.

El síntoma más característico es la presencia de descamaciones en el tronco y ramas de los árboles afectados (Figuras 2 y 3). En la forma leve de la enfermedad, denominada psorosis A, aparecen los síntomas generalmente después de los 15 años. Esta variante se caracteriza por presentar en las hojas jóvenes flecos cloróticos, que se sitúan normalmente entre los nervios laterales de las hojas y paralelos a ellos, y en el tronco y ramas principales ocurre una descamación lenta y muy localizada. La forma más severa (psorosis B) se desarrolla más rápidamente (aproximadamente 5 años) e induce flecos, manchas y anillos cloróticos en las hojas y ocasionalmente en ramas y frutos. Las zonas descamadas, que, aparecen incluso en ramas delgadas son más extensas y en sus límites puede observarse exudación de goma. Cuando se corta transversalmente un tronco o rama a través de la zona afectada, se observa en la madera zonas de color pardo irregulares. Como consecuencia se produce un decaimiento progresivo del árbol, ramas secas y reducción de la producción, en casos extremos el árbol puede morir.

Los naranjos dulces, mandarinos y pomelos muestran sensibilidad a la descamación y flequeado foliar en hojas jóvenes, mientras que el naranjo agrio muestra flequeado foliar solamente. En árboles adultos los síntomas se pueden observar después de los seis años y como promedio 12-15 años.

La enfermedad se transmite principalmente por yemas infectadas y la vía fundamental de dispersión es el material vegetal de propagación, aunque el virus puede ser diseminado por instrumentos usados en el vivero o en campo. En la actualidad aunque no se ha determinado su agente vector, se asocia al hongo *Olpidium brassicae*, debido a la presencia de hongos de esta especie en las raíces alimenticias de árboles sintomáticos infectados de manera natural. No hay evidencias de que la psorosis pueda ser transmitida a través del polen y las semillas. Se ha transmitido de manera experimental a plantas herbáceas.

El diagnóstico de la psorosis se ha realizado básicamente mediante ensayos de infectividad en plantas indicadoras en invernadero. Las plantas indicadoras más utilizadas son las variedades de naranjo dulce Pinneapple y Madame Vinous y los síntomas que estas manifiestan incluyen reacción de *shock* en la primera brotación; y manchas y flequeados cloróticos en las hojas nuevas. En las siguientes brotaciones no suele presentarse la reacción de *shock* en los brotes y sólo son observables los síntomas foliares en hojas jóvenes. Esta reacción puede no manifestarse ya que depende del aislamiento y, dado que los síntomas foliares no son exclusivos de psorosis, para confirmar el diagnóstico se realiza el ensayo de protección cruzada contra psorosis B. Para este ensayo las plantas previamente inoculadas con la corteza del árbol que se va a evaluar se inoculan con psorosis B. Luego de 3 a 6 meses, si la planta estaba sana o sin la presencia de psorosis A, aparecen los síntomas característicos de psorosis B, manchas cloróticas en hojas maduras con pústulas en el envés y depósitos de goma en los tallos. En cambio, si la planta inoculada estaba previamente infectada con psorosis A, ésta protegerá frente a la infección con psorosis B y no se desarrollarán los síntomas.

En las plantas indicadoras *Chenopodium quinoa* y *Gomphrena globosa* los síntomas se caracterizan por lesiones locales cloróticas que al necrosar adquieren color pardo rojizo, aunque en *G. globosa* se puede desarrollar una infección sistémica. Por otra parte, los resultados de la caracterización del virus han permitido el desarrollo de otros métodos de diagnóstico. Los anticuerpos policlonales y monoclonales obtenidos se han utilizado para el diagnóstico del CPsV mediante variantes del inmunoensayo ELISA (TAS-ELISA, DAS-ELISA) y *Direct Tissue Blot Immunoassay* (DTBIA). También se dispone de cebadores y sondas para el diagnóstico mediante RT-PCR e hibridación de ácidos nucleicos (NASH), respectivamente.

El control de la enfermedad es de tipo preventivo y consiste en propagar yemas libres de virus mediante programas de certificación. Otra medida que se recomienda es la desinfección de los instrumentos de poda y corte con hipoclorito de sodio al 1%. En los países con dispersión natural de la enfermedad estas medidas deben completarse con la supresión de fuentes de inóculo.

Leprosis

La leprosis, es una enfermedad viral destructiva que ocasiona pérdidas considerables de las cosechas cuando los daños son muy intensos y los costos de producción en áreas donde está presente se incrementan notablemente debido al costoso control del vector. Constituye la única enfermedad de tipo viral en los cítricos que no produce infecciones sistémicas. Fue descrita en Estados Unidos de América en 1923, está presente en América del Sur y avanza por varios países de Centroamérica.

Esta enfermedad es causada por el *virus de la leprosis de los cítricos* (CiLV). En la sintomatología de la leprosis están involucradas dos tipos distintos de partículas baciliformes de CiLV, nombradas de acuerdo al sitio de acumulación celular de estas: la nuclear CiLV-N y la citoplasmática CiLV-C. El tipo citoplasmático prevalece en Brasil, mientras que el nuclear predomina en Panamá y en estudios recientes se arribó a la conclusión de que constituyen virus diferentes que no parecen compartir secuencias nucleotídicas. La secuencia genómica de CiLV-C no presenta homología de secuencia significativa con ninguna secuencia disponible en las bases de datos actualmente, lo que ha sugerido su inclusión en una familia diferente y un nuevo género, tentativamente

llamado *Cilevirus*. El CiLV es además un virus termófilo que solo se multiplica si la temperatura está por encima de los 24°C durante el día y de los 21°C por la noche.

El *virus de la leprosis de los cítricos* afecta varias especies del género *Citrus*. Los naranjos son los más infectados naturalmente por el virus, mientras que los mandarinos y sus híbridos son considerados menos susceptibles en condiciones naturales. Sin embargo, las investigaciones realizadas indican que los mandarinos son susceptibles a la infección mediante ácaros virulíferos. Se ha sugerido que la escasa observación de síntomas en esta especie en el campo pudiera deberse a otros factores como diferentes niveles de sensibilidad de las variedades, mayor eficiencia en la eliminación de tejidos infectados en estos árboles y diferentes prácticas de cosecha de los frutos en mandarina con respecto a otras especies.

Este virus causa solamente infecciones y lesiones locales, no sistémicas, en las plantas susceptibles. En árboles de naranjo dulce infectados, que se encuentran en producción, se observan daños corticales en tronco, ramas y frutos. En las ramas más jóvenes, hojas y frutos aparecen anillos cloróticos, en ocasiones con una necrosis central, que se convierten en canchales. Los canchales en el fruto pueden ser deprimidos, lisos o salientes, cloróticos o necróticos. (Figura 4). Sobre los frutos las lesiones se presentan de manera irregular en forma de manchas lisas y amarillas, que van tornándose más oscuras a medida que el fruto madura. En los brotes y hojas son planas o ligeramente prominentes y pueden formar manchas concéntricas o estar impregnadas de goma (Figura 5). Por lo general, las lesiones necróticas se presentan rodeadas por un halo clorótico. Las hojas y frutos muy afectados suelen sufrir abscisión y los brotes pueden secarse. Las ramas afectadas adquieren coloración carmelita oscura, forma achatada y al envejecer se tornan carmelita grisáceo.

La transmisión de CiLV ocurre a través de los ácaros del género *Brevipalpus*, principalmente la especie *phoenicis*, aunque se informan también como vectores el *obovatus* y el *californicus*. Con excepción de los huevos todas las fases activas del ciclo de vida de los ácaros son capaces de transmitir el virus. La diseminación de la enfermedad es totalmente dependiente de la acción de este vector y los ácaros solamente adquieren el virus alimentándose en los tejidos infectados. Se ha logrado la transmisión de forma mecánica entre cítricos y a plantas herbáceas que incluyen 13 especies pertenecientes a las familias *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae* y *Tetragoniaceae*.

El diagnóstico de la leprosis se basa generalmente en la observación de los síntomas característicos en árboles de campo y la inoculación mecánica a huéspedes herbáceos del género *Chenopodium*, *C. amaranticolor* y *C. quinoa* y a *G. globosa*. La microscopía electrónica se ha utilizado para la confirmación de la presencia del virus y más recientemente se han diseñado cebadores para el diagnóstico mediante RT-PCR.

El manejo de la leprosis, requiere de la eliminación de las fuentes de inóculo y la aplicación de acaricidas para reducir las poblaciones de ácaros vectores. Dado el carácter local de la infección, la reducción de inóculo puede realizarse mediante una poda severa de las ramas afectadas y quema de los restos, así como por la eliminación de los frutos sintomáticos. El manejo de la enfermedad incluye también el establecimiento de plantas barreras y el control de malezas que son hospedantes alternativos de los ácaros, que permite reducir la población de vectores. Es indispensable, además, el uso de material de propagación certificado, el control del movimiento del personal y materiales dentro de las plantaciones y la desinfección de equipajes, cajas y vehículos.

Moteado de la hoja de los cítricos (*Citrus leaf blotch*)

Esta enfermedad, cuyo conocimiento es aún limitado, ha sido detectada en Francia, Italia, España, Estados Unidos, Australia y Brasil. El agente causal asociado a esta enfermedad es el *virus del moteado de la hoja de los cítricos* (CLBV), un ARN de simple cadena, filamentoso, cuya organización genómica y morfología es similar a los trichovirus, pero diferencias biológicas y moleculares sugieren su inclusión en un nuevo género de virus. Recientemente se ha informado que CLBV es el agente causal del moteado clorótico en tangor Dweet, *Dweet mottle virus* (DMV).

Este virus ocasiona protuberancias, crestas, sobrecrecimiento o necrosis en la línea de unión variedad-patrón en *Poncirus trifoliata* y sus híbridos citranges y citrumelos. En otros cultivares la presencia del patógeno puede ser asintomática. La principal vía de transmisión es a través del injerto y se ha comprobado la transmisión por semillas.

El CLBV puede ser detectado mediante ensayos biológicos en las indicadoras tangor Dweet, naranjo dulce Pineapple y en cidro y clementino injertados sobre patrones trifoliados. En estas combinaciones el virus induce moteado clorótico en hojas jóvenes, aunque debido a que su transmisión en ocasiones es errática, estos ensayos no son confiables. Adicionalmente se han diseñado cebadores y sondas específicas que permiten su diagnóstico por RT-PCR y NASH.

En la actualidad con el incremento del uso de los patrones trifoliados esta enfermedad puede causar importantes pérdidas económicas por lo que los citricultores están comenzando a tenerla en consideración. El manejo de esta enfermedad es preventivo, mediante el empleo de yemas y semillas de cultivares cítricos certificados.

Protuberancias nerviales-agallas de la madera (*Vein enation-Woody gall*)

Es una enfermedad cuyos daños económicos están reducidos fundamentalmente a las especies sensibles al virus. Se ha detectado en China, España, África del Sur, Australia y Japón. En el continente americano sólo se ha reportado en Perú y Brasil, pero se supone que esté diseminada en otros países citrícolas. En muchas de las especies cítricas comerciales la enfermedad es asintomática y en condiciones favorables de temperaturas bajas se pueden observar los síntomas en limero mexicano, naranjo agrio, limonero Rugoso y *C. volkameriana*. En China recientemente fueron informados síntomas de este tipo en naranjo dulce, mandarino, naranjo agrio, limonero y pummelo.

El agente causal de la enfermedad no está bien definido, pero en el floema de las plantas infectadas se han observado partículas isométricas de tipo viral. Estas observaciones y su transmisión por injerto, cúscuta y áfidos, sugieren que el agente causal de la enfermedad podría ser un *Luteovirus*. Se ha determinado que en campo puede ser dispersado por varias especies de áfidos, como *Toxoptera citricida*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, que transmiten el virus de forma persistente.

En las hojas jóvenes de las plantas sensibles infectadas se observan pequeñas agallas o tumores localizados en los nervios secundarios y periféricos del envés, que se corresponden con depresiones en el haz. Las agallas leñosas se desarrollan a partir de pequeñas áreas hinchadas, frecuentemente en la base de brotes jóvenes o espinas, que pueden desarrollarse hasta alcanzar el tamaño y el aspecto de una coliflor, especialmente si

varias agallas se unen para formar una única masa tumoral. La parte exterior de las lesiones tiene coloración casi normal, la parte interna suele ser rugosa con punteaduras y pueden presentarse yemas latentes.

Esta enfermedad sólo puede ser diagnosticada mediante la observación de síntomas en plantas de semilla de limero mexicano o naranjo agrio inoculadas. Se ha informado el diagnóstico serológico (ELISA-DAS), con el empleo del anticuerpo del *Barley yellow dwarf luteovirus* con el que está relacionado serológicamente.

En áreas donde no está presente la enfermedad, la medida de control más efectiva es evitar su introducción por medio de programas de cuarentena y el uso de material de propagación certificado. En zonas donde la incidencia es alta, se deben evitar los patrones sensibles a las agallas leñosas.

Hoja rasgada-enanismo del citrange (*Tatter leaf-Citrange stunt*)

Las sintomatologías de hoja rasgada y enanismo del citrange corresponden a un mismo virus actualmente denominado *virus de la hoja rasgada de los cítricos*. La enfermedad está muy extendida en China y ha sido detectada en otras áreas cítricas como Japón, Corea, Taiwán, Florida, Texas, Arizona, Chile, Marruecos y Sudáfrica. Muchos cultivares comerciales de cítricos son hospedantes asintomáticos de la enfermedad.

El agente causal de esta enfermedad es un virus filamentoso, denominado *Citrus tatter leaf virus* (CTLV) que se considera como un aislado del *Apple stem grooving virus* (ASGV), del género *Capillovirus*.

Los daños provocados por esta enfermedad se pueden observar cuando se emplean variedades infectadas sobre naranjo trifoliado, citrange y citrumelo. En condiciones de campo las plantas infectadas de naranjo dulce injertadas sobre patrones sensibles muestran incompatibilidad severa en el punto de unión con el patrón. Los árboles quedan enanizados, cloróticos y desarrollan fuertes estrías longitudinales en la madera del patrón, deficiente unión entre el patrón y la variedad y reducción de la producción. En el caso del *Poncirus trifoliata*, aunque es muy resistente o inmune, cuando se utiliza como patrón de variedades infectadas, éstas muestran síntomas severos de enanismo, defoliación, amarillamiento, sobrecrecimiento por encima de la línea del injerto y falta de unión entre la variedad y el patrón, que permite quebrar fácilmente la planta por la línea de injerto.

La dispersión del virus hacia las nuevas plantaciones tiene lugar fundamentalmente por la utilización de yemas infectadas. Es, además, mecánicamente transmisible entre especies cítricas por el uso de cuchillas contaminadas y ha sido transmitido experimentalmente a través de savia a alrededor de 19 hospedantes no cítricos.

En las plantaciones, la presencia de una hendidura en la línea de injerto del *Poncirus trifoliata* o alguno de sus híbridos indica la presencia de CTLV. Este diagnóstico debe confirmarse con ensayos de infectividad en plantas indicadoras cítricas y herbáceas. Los síntomas que induce CTLV en plantas inoculadas de citrange incluyen enanismo, hojas de tamaño reducido con bordes irregulares y manchas cloróticas intensas, crecimiento en zigzag de las ramas, manchas pardas o grisáceas en los tallos viejos y acanaladuras en la madera. Para el diagnóstico serológico por ELISA se dispone de anticuerpos monoclonales específicos de CTLV y ASGV. No obstante se refiere que existen diferentes serotipos de este virus lo que limita su diagnóstico serológico. Las investigaciones actuales permitirán en poco tiempo disponer de técnicas moleculares para el diagnóstico.

La medida de manejo más recomendada es la utilización de yemas libres de virus en las nuevas plantaciones. Es importante destacar que resulta difícil la eliminación del virus del tejido infectado mediante la técnica de microinjerto de ápices caulinares *in vitro*, aunque puede ser eliminado por termoterapia. Por otra parte resulta indispensable desinfectar las herramientas de corte con hipoclorito sódico para evitar la transmisión mecánica. Estas medidas son particularmente importantes en las zonas donde se utiliza como patrón *Poncirus trifoliata* y sus híbridos.

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR VIROIDES

En los cítricos se informa actualmente la presencia de 7 especies de viroides, aunque de estos solo dos provocan enfermedades de importancia económica: la exocortis y la cachexia, causadas por el *viroide de la exocortis de los cítricos* (CEVd) y las variantes del *viroide del enanismo del lúpulo* (HSVd) conocidas como CVd IIb y CVd IIc, respectivamente. Además se han identificado otros viroides: *viroide de la hoja curvada de los cítricos* (CBLVd), *viroide enanizante de los cítricos* (CDVd) y el *viroide IV de los cítricos* (CVd IV), que se asocian a efecto enanizante en combinaciones sensibles. Posteriormente se identificó el *viroide original sample* (CVd OS) y el *viroide V de los cítricos* (CVd V).

La citricultura actual del continente americano, contempla la introducción de nuevos patrones, que toleran la tristeza, pero resultan sensibles a las enfermedades provocadas por otros patógenos, entre ellos los viroides, que pueden ocasionar daños de importancia sobre la producción y longevidad de las plantaciones. La implementación de su diagnóstico en los programas de producción de material de propagación certificado es necesaria para garantizar plantaciones sanas desarrolladas sobre la base de la diversificación de patrones.

Por las características de los viroides, la forma de control más eficiente es la utilización de plantas y yemas procedentes de un programa de producción de material de propagación certificado, así como la desinfección de las herramientas de corte y poda mediante la inmersión en hipoclorito de sodio.

Exocortis de los cítricos

La exocortis se encuentra en la mayoría de las áreas citrícolas de todo el mundo, aunque su presencia ha disminuido debido al establecimiento de los programas de saneamiento y certificación. El agente causal de esta enfermedad es el *viroide de la exocortis de los cítricos*, que pertenece al género *Pospiviroid*. Los patrones sensibles a este agente son el limero Rangpur, el cidro, el *Poncirus trifoliata* y sus híbridos: citranges Troyer y Carrizo, así como algunas variedades de limoneros y pummelos.

La presencia de este viroide en árboles injertados sobre patrones susceptibles causa enanismo, rajaduras y descamación de la corteza del tronco (Figura 6). La enfermedad raras veces tiene efecto letal pero como consecuencia del enanismo puede causar reducción de la cosecha. Cuando la infección se debe a la presencia de variantes severas de esta especie de viroide se produce el deterioro parcial o total de los árboles en un período de 4-5 años. En otras especies como los limoneros y los limeros ácidos puede observarse moteado clorótico y rajaduras de la corteza en el tronco y ramas.

La transmisión de esta enfermedad ocurre por injerto con yemas infectadas. Otra vía importante es la transmisión mecánica a través del uso de instrumentos de trabajo contaminados.

El diagnóstico biológico de la exocortis se realiza con el empleo del cidro Etrog selección 861-S1 injertado sobre un patrón vigoroso. Es importante destacar que los síntomas manifestados pueden no ser específicos del CEVd, debido a que esta planta es sensible a todas las especies de viroides de cítricos y generalmente la sintomatología se debe a la interacción entre ellas. Teniendo en cuenta esta desventaja lo más recomendado es realizar el análisis con técnicas que son más específicas y sensibles como la hibridación de ácidos nucleicos (NASH) o la electroforesis secuencial en gel de poliacrilamida (sPAGE). Recientemente se ha realizado el diagnóstico mediante RT-PCR a partir de variedades comerciales infectadas.

Cachexia-xiloporosis

El agente causal de la cachexia son dos variantes del HSVd, conocidas como CVd IIb y CVd IIc. Los patrones sensibles a la cachexia son el *Citrus macrophylla*, el limero dulce de Palestina y el limero Rangpur, así como todos los clementinos, satsumas, mandarinos e híbridos de estos últimos injertados sobre cualquier patrón.

La enfermedad puede tener efecto letal y en las especies sensibles provoca debilitamiento general del árbol, clorosis, enanismo, así como síntomas de acanaladuras en la cara cambial de la madera y proyecciones en la corteza interna con fuerte impregnación de goma (Figura 7). En los cultivares injertados sobre patrones sensibles causa notable raquitismo y deterioro del árbol en un período corto cuando la infección es por variantes severas. La cachexia se transmite de forma eficiente mediante la propagación de yemas infectadas, así como de forma mecánica durante las operaciones de poda y recolección.

El diagnóstico se realiza mediante ensayos de infectividad en plantas de mandarina Parson's Special o del híbrido Clemelin 11-20 injertadas sobre un patrón vigoroso. De forma complementaria se debe realizar el análisis de los ácidos nucleicos mediante sPAGE o NASH a partir de plantas de cidro inoculadas. Además como en el caso de la exocortis se puede realizar el diagnóstico mediante RT-PCR.

Otros viroides de cítricos

En los cítricos se han identificado otros viroides: CBLVd, CDVd, CVd IV, CVd V y el CVd OS. De ellos, el CBLVd y el CDVd, inducen enanismo en árboles injertados sobre *P. trifoliata* o sus híbridos, mientras que se desconoce el efecto del CVd IV en especies cítricas comerciales. Por otra parte, las combinaciones o mezclas de estos viroides y los anteriormente descritos pueden ocasionar daños de importancia en las plantaciones como descamaciones, crestas, depresiones en la madera, reducción del tamaño del árbol, clorosis y muerte de plantas. La transmisión de estos viroides, como para los anteriormente descritos, ocurre a través de yemas infectadas y de forma mecánica con el empleo de instrumentos de poda y corte contaminados.

El diagnóstico de estos viroides también se realiza mediante inoculación en cidro Etrog 861 S-1 y posterior análisis por sPAGE o NASH, así como mediante RT-PCR.

ENFERMEDADES DE ETIOLOGÍA DESCONOCIDA

Concavidad gomosa (*Concave gum*)

La concavidad gomosa, se encuentra diseminada en todos los países citrícolas del mundo. Se desarrolla en general de forma lenta y poco destructiva, aunque en algunos casos, puede llegar a afectar gravemente a los árboles jóvenes. El patógeno que induce la enfermedad aún no ha sido aislado. No obstante, su fácil transmisión por injerto y su eliminación por termoterapia y por microinjerto de ápices caulinares *in vitro*, hace suponer que sea causada por un virus. La concavidad gomosa afecta a todas las variedades de naranjo dulce, mandarino, tangelo y pomelo.

En esta enfermedad es característico el síntoma de formación de concavidades en el tronco y las ramas principales (Figura 8). En el interior de estas, se forman depósitos de goma que puede ser exudada al exterior. En secciones transversales de troncos y ramas afectadas, se observa la acumulación de goma que se dispone en anillos concéntricos. Los síntomas foliares en árboles de campo se observan en las hojas jóvenes de los brotes de primavera, que muestran patrones cloróticos de flecos y “hoja de roble”.

La enfermedad se dispersa por yemas infectadas y de forma experimental puede transmitirse por injerto de diferentes tejidos. Además se informó la transmisión por raíces entre árboles adyacentes. No se ha detectado la transmisión de la enfermedad de forma mecánica, por insectos vectores o por semilla.

El diagnóstico se realiza mediante ensayos de infectividad, sobre plantas de semilla de tangor Dweet y diversas variedades de mandarino. El síntoma que identifica la enfermedad es la presencia de flecos cloróticos en las hojas jóvenes y unas manchas de bordes sinuosos a lo largo del nervio principal, que se asemejan a una hoja de roble. Este síntoma no es exclusivo de esta patología porque aparece también en plantas inoculadas con otras enfermedades como cristicortis e impietratura. Los síntomas inequívocos de concavidades pueden observarse, en plantas de naranjo dulce y mandarino, al cabo de varios años de inoculadas. El control de esta enfermedad, se logra mediante el empleo de yemas con garantía sanitaria para fomentar las nuevas plantaciones.

Muerte súbita de los cítricos (*Citrus sudden death*)

La muerte súbita de los cítricos (MSC) es una nueva enfermedad observada por primera vez en Brasil en 1999. Se denominó como muerte súbita de los cítricos debido a la rapidez con que los árboles mueren. Esta enfermedad afecta fundamentalmente los naranjos dulce y algunos mandarinos, injertados sobre patrón de limero Rangpur o limonero Cravo (*Citrus limonia*) y el *C. volkameriana*. Las variedades que se han encontrado afectadas sobre el patrón limero Rangpur son la Valencia, Pera, Hamlin, Natal, Westin y Pinneapple y sobre *C. volkameriana* el naranjo Natal. Es considerada como una enfermedad de las combinaciones de naranjo sobre estos patrones, ya que el limero Rangpur sin injertar no es afectado.

Los primeros síntomas son la pérdida generalizada del brillo de las hojas, seguida de ligera defoliación con pocos brotes externos y ninguno interno. En el patrón se observa coloración amarilla de los tejidos internos de la corteza en la región del floema funcional. El floema queda totalmente obstruido afectando el sistema radicular, lo que conduce a la

muerte de las raíces alimenticias. Se ha observado que después de los primeros síntomas los árboles mueren o se vuelven improductivos en pocas semanas.

Se han realizado numerosas investigaciones con esta enfermedad pues sus síntomas son muy similares a los de declinamiento rápido inducido por CTV sobre el patrón naranjo agrio. Los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que la MSC es una enfermedad infecciosa similar a la tristeza, que ha sido asociada con el virus *Citrus sudden death associated virus* (CSDaV), de la familia *Tymoviridae*, probablemente transmitido por un vector. Para el manejo de la enfermedad se utilizan patrones que muestran tolerancia como los mandarinos Cleopatra y Sunki, así como el citrumelo Swingle.

Impietratura

La impietratura se ha observado en diferentes regiones cítricas del mundo, en los países del mediterráneo y Oriente Medio, Venezuela, África del Sur, Israel, Iraq, Texas y la India. Los árboles afectados por esta enfermedad poseen un desarrollo similar a los árboles sanos, los daños se observan en los frutos, que pueden caer prematuramente, ser más pequeños y sin valor comercial. La intensidad de los daños de esta enfermedad puede variar de un año a otro e incluyen reducción de la cosecha de hasta el 80%.

El agente causal de la impietratura es desconocido y hasta el presente no ha sido aislado ni caracterizado. No obstante, se le adjudica una etiología viral debido a su capacidad de infectar plantas sanas por medio de injerto, así como su eliminación por termoterapia y microinjerto de ápices caulinares *in vitro*.

Aunque la mayoría de las especies y variedades cítricas pueden infectarse, la enfermedad afecta fundamentalmente pomelo y naranjo dulce. También pueden observarse síntomas en *Citrus volkameriana*, clementino, naranjo agrio y tangelo

El síntoma característico de la enfermedad es la formación de bolsas de goma en el albedo y en ocasiones en el eje central de los frutos. Las bolsas de goma se pueden observar externamente en los frutos como protuberancias, depresiones o zonas lisas. Las zonas afectadas son más duras y cuando el fruto comienza a madurar permanecen de color verde. En los frutos maduros la coloración es más uniforme, las zonas afectadas aparecen arrugadas, deprimidas y de coloración pardo anaranjada. Los síntomas de impietratura son parecidos a la deficiencia de boro. En las hojas se observan flecos cloróticos y el síntoma típico de “hoja de roble” durante las brotaciones de primavera.

Su principal forma de diseminación es por el material de propagación contaminado y no se tienen evidencias de transmisión mecánica o por vectores. El diagnóstico solo es posible por medio de plantas indicadoras y la medida de manejo más recomendada es el empleo de material de propagación certificado.

Cristacortis

La cristacortis no se considera una enfermedad destructiva, debido a que en general no daña los árboles ni la producción. Sin embargo, en Italia se informan afectaciones en el vigor y productividad de plantas de naranjo Tarocco. Se informó su presencia en varios países del Mediterráneo, Colombia, Iraq, Mauricio, Túnez, Viet Nam y Yemen.

El agente causal de esta enfermedad es desconocido y hasta el presente no ha sido aislado ni caracterizado. Al igual que la impietratura, se le adjudica una etiología viral debido a su capacidad de infectar plantas sanas por medio de injerto, así como su eliminación por termoterapia y microinjerto de ápices caulinares *in vitro*. La enfermedad afecta la mayoría de las especies y variedades de cítricos tales como: tangelo, tangor Dweet, naranjo dulce, naranjo agrio, mandarino, pomelo y limonero.

Los síntomas de la enfermedad se encuentran en troncos y ramas, donde se observa el desarrollo de crestas longitudinales en la cara cambial de la corteza. Estas crestas se corresponden con hendiduras en la madera que en ocasiones pueden ser visibles externamente. En los hospedantes más sensibles como los tangelos puede observarse depósitos de goma en las crestas y las hendiduras. En las brotaciones de primavera las hojas jóvenes manifiestan flecos cloróticos así como el síntoma de "hoja de roble". Su principal forma de diseminación es por el material de propagación infectado y no se tienen evidencias de transmisión mecánica o por vectores.

De forma similar a la impietratura el diagnóstico solo se realiza por medio de plantas indicadoras y la medida de manejo más recomendada es el empleo de material de propagación certificado.

BIBLIOGRAFÍA

- Bernard, L. and Durán-Vila, N. 2005. An improved protocol for extraction and RT-PCR detection of citrus viroids. *In*: Moreno, P.; da Graça, J.V. and Timmer, L. W. (Eds). Proc. 16th Conf. Inter. Org. Citrus Virol. Riverside, California. pp: 452- 455.
- Durán-Vila, N. y Moreno, P. (Eds). 2000. Enfermedades de los cítricos. Monografía de la Sociedad Española de Fitopatología No. 2, 165 pp.
- Galipienso, L.; Vives, M.C.; Navarro, L.; Moreno, P. and Guerri, J. 2004. Detection of citrus leaf blotch virus using digoxigenin-labeled cDNA probes and RT-PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 175-181.
- Garnsey, S.M.; Gottwald, T.R. and Yokomi, R.K. 1998. Control strategies for citrus tristeza virus. *In*: A. Hadidi, R.K. Khetarpol and H. Koganezawa (Eds). *Plant virus disease control* APS Press. St. Paul, MN, 684 pp.
- Guerri, J.; Pina, J.A.; Vives, M.C.; Navarro, L. and Moreno P. 2004. Seed Transmission of *Citrus leaf blotch virus*: Implications in Quarantine and Certification Programs. *Plant Dis.* 88 (8):906, DOI: 10.1094/PDIS.2004.88.8.906C.
- Iwanami, T.; Kano, T. and Koizumi, M. 1991. Pathogenic diversity of citrus tatter leaf virus isolates. *Annals of the Plant Pathological Society of Japan* 57, 74.
- Lovisolo, O.; Colariccio, A. and Masenga, V. 2000. New experimental host and further information on *Citrus leprosis virus*. *In*: da Graça, J. Lee, R.F. and Yokomi, R.K. (Eds). Proc 14th Proc. Conf. Inter. Org. Citrus Virol. Riverside, California. pp: 164-173.
- Martín, S.; García, M.L.; Troisi, A.; Rubio, L.; Legarreta, G.; Grau, O.; Alioto, D.; Moreno, P. and Guerra, J. 2006. Genetic variation of population of *Citrus psorosis virus*. *J. Gen. Virol*, 1 (87): 3097-3102.
- Palle, S.R.; Miao, H.; Seyran, M.; Louzada, E.S.; da Graça, J.V. and Skaria, M. 2005. Evidence for association of *Citrus psorosis virus* with symptomatic trees and an Oplidium- like Fungus in Texas. *In*: Moreno, P.; da Graça, J.V. and Timmer, L. W. (Eds). Proc. 16th Conf. Inter. Org. Citrus Virol. Riverside, California. pp: 423-426.

- Pallás, V. and Flores, R. 1989. Interactions between citrus exocortis and potato spindle tuber viroids in plants of *Gynura aurantiaca* and *Lycopersicon esculentum*. *Intervirology* 30, 10-17.
- Pérez, J.M. 1999. Caracterización de aislados de viroides asociados a la exocortis de los cítricos en Cuba. Tesis para opción de maestría. IICF. Cuba, 63 pp.
- Rocha-Peña, M.; Lee, R.F.; Lastra, R.; Niblett, C.L.; Ochoa-Corona, F.; Garnsey, S. M. and Yokomi, R. 1995. Citrus Tristeza Virus and its aphid vector *Toxoptera citricida*. Threats to citrus production in the Central and North America. *Plant Disease* 79(5):437-445.
- Rodríguez, J.C.V.; Machado, M.A.; Kitajima, E.W. and Müller, G.W. 2000. Transmission of *Citrus leprosis virus* by *Brevipalpus phoenicis*. In: da Graça, J. Lee, R.F. and Yokomi, R.K. (Eds). Proc 14th Proc. Conf. Inter. Org. Citrus Virol. Riverside, California. pp: 174-178.
- Roistacher, C.N. 1991. Techniques for biological detection of specific citrus graft-transmissible diseases. In: Graft- Transmissible diseases of citrus. Handbook for detection and diagnosis. Roma: FAO, 286 pp.
- Roistacher, C.N. 1996. A historical review of the major graft-transmissible disease of citrus. Roma: FAO. 87pp.
- Vives, M.C.J.; Pina, A.; Juárez, J.; Navarro, L.; Moreno, P. and Guerri, J. 2004. Dweet mottle disease is probably caused by citrus leaf blotch virus. Program and Abstracts XVI Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Monterrey, México. Nov. 07-13. p.98.



Figura 1. Árbol de naranjo dulce sobre naranjo agrio con síntomas de declinamiento por tristeza (Foto: Inés Peña).



Figura 2. Aspecto de un árbol de campo afectado por psorosis (Foto: Juana M. Pérez).



Figura 3. Lesiones inducidas por el virus de la psorosis de los cítricos en el tronco de naranjo Navel (Foto: Daylé López).



Figura 4. Daños asociados a leprosis en frutos de naranjo dulce (Foto: Lochy Batista).



Figura 5. Daños asociados a leprosis en ramas de naranjo dulce (Foto: Lochy Batista).



Figura 6. Escamas en el patrón de un árbol afectado por el viroide de la exocortis de los cítricos (Foto: Inés Peña).



Figura 7. Síntomas de cachexia en el patrón *Citrus macrophylla* (Foto: Inés Peña).



Figura 8. Depresiones en el tronco características de las plantas afectadas por la concauidad gomosa (Foto: Inés Peña).