

DIAGNÓSTICO BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES VASCULARES DE LOS CÍTRICOS

Fundamento de la técnica

El ensayo biológico en plantas indicadoras es el método clásico para la detección de la mayoría de los patógenos sistémicos en cítricos. Este procedimiento se basa en la inoculación con tejidos de las plantas a diagnosticar en plantas indicadoras específicas para cada enfermedad. La manifestación de síntomas en las indicadoras se compara con la de los controles de referencia no infectados e infectados con el patógeno a identificar. La vigencia del método consiste en que permite diagnosticar patógenos de tipo viral cuyo agente causal aún no se ha identificado, y complementa las técnicas serológicas, moleculares o de microscopía.

Procedimiento

1. Unidad de diagnóstico biológico. Se requiere disponer de un invernadero o aislador de malla que permita obtener temperaturas superiores a los 28°C y de una instalación con temperatura controlada de 18-32°C.

2. Obtención de plantas indicadoras de cítricos. Disponer de plantas con el tamaño y la calidad necesarias para realizar las inoculaciones. Garantizar la disponibilidad de semillas certificadas y sustratos adecuados, así como la aplicación de nutrientes y plaguicidas.

3. Recolección de muestras para el diagnóstico. Colectar, en períodos del año adecuados, vástagos, hojas o fragmentos de corteza de las plantas a analizar e identificarlos correctamente.

4. Inoculación en plantas indicadoras. Efectuar la inoculación o injerto del tejido seleccionado en plantas indicadoras. Después de la inoculación realizar una poda para inducir nuevos brotes y observar los síntomas específicos de cada enfermedad.

5. Controles de referencia. Disponer de una colección de plantas portadoras de variantes débiles y severas de los patógenos a diagnosticar. En cada ensayo se utilizan controles negativos y positivos de cada enfermedad a detectar.

6. Observaciones. Se realizarán observaciones periódicas de las plantas inoculadas hasta culminar el período recomendado para el diagnóstico de cada enfermedad.

Tabla 1. Principales plantas indicadoras utilizadas para la identificación de enfermedades de interés en el cultivo de los cítricos.

Enfermedad	Planta indicadora	Obtención de las plantas	No. plantas a inocular	Período de incubación (meses)	Síntomas en plantas indicadoras
Temperaturas 18-26°C					
Tristeza	Limero mexicano	Semillas	4	1-6	Flequeado intermitente en las nerviaciones de las hojas jóvenes, enanismo, clorosis y hojas acopadas.
Vein enation-woody gall	Limero mexicano o naranjo agrio	Semillas	4	2-6	Pequeños tumores en los nervios secundarios por el envés de las hojas, que corresponden con depresiones en el haz y agallas en el tallo.
Psoriasis-Ringspot	Naranjo Pineapple Madame Vinous	Semillas o injertadas	4	2-6	Efecto de shock, flequeado internervial y anillos cloróticos en las hojas jóvenes.
Concave gum	Tangor Dweet , Naranjo Pineapple Madame vinous	Semillas o injertadas	4	2-6	Flecos cloróticos y manchas de bordes sinuosos a la largo del nervio central que se asemejan a la hoja del roble.
Tatter leaf	C.excelsa, Citremon citrange Rusk citrange Troyer	Semillas o injertadas	4	1-6	Hojas de tamaño reducido y con bordes irregulares, moteado clorótico foliar, enanismo, crecimiento en zig-zag de ramas en citrange.
Huanglongbing (cepas africanas)	Naranjo Madame Vinous	Semillas o injertadas	5	2-6	Moteado asimétrico difuso y hojas pequeñas cloróticas
Citrus leaf blotch	Naranjo Pineapple, Cidro, Tangor Dweet	Semillas o injertadas	5	2-6	Flequeado o moteado foliar en hojas jóvenes, agujeros en el leño del tallo y ramas de cidro y necrosis en la línea de injerto.
Temperaturas 27- 32°C					
Exocortis y otros viroides	Cidro Etrog Arizona 861-S1	Injertadas	2	1-6	Epinastia foliar, arrugado y necrosis de pecíolo, grietas en el raquis, superficie de las hojas y la corteza. Enanismo de la planta.
Cachexia – Xiloporosis	Mandarino Parson´s Special Clemelín 11 – 20	Injertadas	3	6 -15	Agujeros en la madera que se corresponden con excrecencias de la corteza y exudación de goma.
Stubborn	Naranjo Madame Vinous <i>Catharanthus roseus</i>	Injertadas o de semillas	5	2-6	Marchitez de los brotes jóvenes, moteado en las hojas, áreas cloróticas traslúcidas cerca del extremo apical, hojas pequeñas y entrenudos cortos.
Huanglongbing (cepas asiática y americana)	Naranjo Madame Vinous		5	2-6	Moteado asimétrico difuso y hojas pequeñas cloróticas

Tabla 2. Principales plantas herbáceas indicadoras utilizadas para la identificación de enfermedades de interés en el cultivo de los cítricos.

Enfermedad	Planta indicadora	No. plantas a inocular	Período de incubación (m)	Síntomas en plantas indicadoras
Virus	Temperaturas 18-26⁰ C			
Psorosis-Ringspot	<i>Chenopodium quinoa</i> y <i>Gomphrena globosa</i>	8	4-6	Lesiones cloróticas locales que se tornan necróticas. En <i>G. globosa</i> desarrolla infección sistémica con lesiones locales en las hojas superiores no inoculadas.
Leprosis	<i>Chenopodium quinoa</i> , album, <i>Murale</i> , <i>foliosum Amaranticolor</i> , <i>Capitatum</i> , y <i>polispermum</i> , <i>Gomphrena globosa</i>	8	5-7 14-16	Lesiones locales necróticas de 1-5 mm, de color pardo con centro clorótico en <i>Chenopodium</i> . En <i>Gomphrena</i> lesiones de color pardo rojizo.
Tatter leaf	<i>Chenopodium quinoa</i> , <i>Nicotiana sp.</i> , frijol, chícharo de vaca	8	4-6	Lesiones necróticas locales de color pardo rojizas, moteado clorótico y distorsión foliar.
Viroides	Temperaturas 27-32⁰ C			
Exocortis y otros viroides	<i>Gynura aurantiaca</i> , <i>Petunia híbrida</i> , <i>Chrysanthemum morifolium</i> , <i>Lycopersicum esculentum cv. Nova</i> , <i>Cucumis sativus</i>	8	1-4	Enanismo, necrosis de las nerviaciones, rizamiento de las hojas y epinastia. Se utiliza, además, para la multiplicación de los viroides que serán posteriormente detectados por otras técnicas.
Cachexia - Xiloporosis	<i>Cucumis sativus</i> y <i>Chrysanthemum</i>	8	1-4	Solo se utiliza para la multiplicación de los viroides que serán posteriormente detectados por otras técnicas.