



Síntoma de hongos en madera.



Dr. Andrés France, investigador del INIA Quilamapu.



Dra. Daina Grinbergs, investigadora del INIA Quilamapu.

En los últimos años, las enfermedades de la madera en frutales (manzanos, cerezos, ciruelos, arándanos y durazneros, entre otros), han ido en aumento. Una que ha tenido especial relevancia es el Plateado, causada por el hongo *Chondrostereum purpureum*, que degrada parte de los tejidos vegetales y compromete el movimiento del agua y de los nutrientes.

Su avance es lento e imperceptible al principio, ya que el hongo se empieza a desarrollar dentro de la madera. Pero, cuando los síntomas del Plateado son visibles, al cabo de dos o tres temporadas –plantas de menor vigor, necrosis de la madera, hojas que se tornan grises o plateadas con desprendimiento de la epidermis–, los efectos pueden ser fatales, con altas pérdidas de rendimiento (puede bajar hasta un 60% en manzano, 40% en arándano y 50% en ciruelo) y provocando la muerte prematura de los árboles.

“Tenemos plantas muy estresadas y sobre estimuladas, que además se podan mucho más que lo usual. La idea es que los huertos sean peatonales, por lo que se usan patrones enanizantes, con mayor densidad de plantas, y eso implica un estrés. Influye también el cambio climático con las alzas de temperatura. Todo esto ha llevado a que un grupo de enfermedades que siempre ha estado presente,

Enfermedades de la madera

LA DETECCIÓN PRECOZ DEL PLATEADO ES UNA REALIDAD

Investigadores del INIA Quilamapu están desarrollando un kit que detecta el Plateado de los frutales en un estado temprano de su desarrollo, posibilitando al agricultor reaccionar con rapidez y tomar decisiones oportunas. En pocos minutos y sacando solo una hoja, puede obtener resultados 100% confiables. Las validaciones iniciales se realizaron en manzano, pero se han extendido a cerezos, arándanos, ciruelos y durazneros. Este año comenzaría una segunda etapa para optimizar y validar el kit en campo.

✍ JORGE VELASCO CRUZ

ahora se esté manifestando con mucha mayor intensidad”, explica el Dr. Andrés France, investigador del INIA Quilamapu.

La infección por *C. purpureum* –la cual se produce a través de heridas en la madera–, no ocurre solo en los huertos. “Un porcentaje de plantas se infecta en los viveros”, afirma la Dra. Daina Grinbergs, investigadora del INIA Quilamapu. “El agricultor planta pensando que sus árboles están sanos, pero algunos ya vienen enfermos. Y los síntomas foliares a lo mejor no los va a ver hasta dos o tres años después, cuando ya es demasiado tarde y la planta está a destinada a producir menos y morir prematuramente”, agrega.

En el mercado existen diversas alternativas para combatir las enfermedades de este tipo. Sin embargo, los especialistas del INIA Quilamapu sostienen que ninguna de ellas es 100% efectiva, ya que es muy difícil que puedan llegar al interior de la madera. Es por ello que la prevención y la detección temprana de la presencia de estos hongos es fundamental.

MÉTODO TRADICIONAL: LENTO Y LABORIOSO

Desde el año 2012, el Laboratorio de Fitopatología de Frutales del INIA Quilamapu ha llevado a cabo diversos proyectos de investigación para desarrollar estrategias de diagnóstico temprano de hongos de la madera, utilizando como modelo el Plateado de los frutales. “Si bien la necrosis en la madera y el plateado en las hojas son fáciles de identificar, en la práctica es difícil realizar un adecuado reconocimiento temprano de esta enfermedad. El síntoma necrótico, que es el primero en desarrollarse, ocurre dentro del árbol y no es visible. La única manera de saber precozmente si el árbol está infectado es cortando la

madera, para observar el característico manchado, lo cual es un análisis destructivo e impracticable”, explica el Dr. France.

El método de análisis tradicional –la colecta de muestras y el análisis microbiológico– es lento y poco eficiente, y requiere ser realizado en un laboratorio por personal especializado. “La siembra de madera en un medio de cultivo y la posterior identificación morfológica de los hongos, dura dos semanas como mínimo. Además, muchas veces se desarrollan microorganismos que pueden crecer más rápido que el patógeno a diagnosticar, enmascarándolo y produciendo falsos negativos”, comenta la Dra. Grinbergs.

Por otro lado, agregan los investigadores, una vez que se obtienen los aislamientos, la identificación precisa de las especies puede ser compleja, debido a la falta de caracteres morfológicos. Eso ocurre especialmente con *C. purpureum*, ya que la mayoría de los aislamientos no desarrollan estructuras reproductivas ‘in vitro’, las que son necesarias para su identificación.

Ante esta problemática, en INIA Quilamapu comenzaron un proceso para implementar técnicas más precisas y eficientes, con menores tiempos de respuesta y que fueran prácticas para la detección en campo. Fue así como el año 2017, un grupo de investigadores encabezados por el Dr. Andrés France, la Dra. Daina Grinbergs y el Dr. Javier Chilian iniciaron el proyecto “Desarrollo de un kit para la detección precoz del Plateado de los frutales”, financiado por el FONDEF (Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico) de la ANID (Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo).

El objetivo del proyecto, explican en INIA

Quilamapu, fue “desarrollar el prototipo de un sistema inmunocromatográfico para la detección temprana del Plateado en especies frutales de mayor importancia económica del país”.

“El Plateado está causando cada vez más problemas en Chile, lo que nos ha llevado a investigar distintos aspectos de la enfermedad. A nivel mundial, no se ha estudiado mucho a este patógeno, por lo que es difícil encontrar información al respecto. Entonces, todo lo que se hace en Chile en esta materia es único”, precisa el Dr. Chilian.

ANÁLISIS POR PCR Y TEST DE ELISA

El equipo comenzó por validar el uso de PCR (reacción en cadena de polimerasa), una técnica molecular que busca poner en evidencia la presencia de material genético (ADN) del patógeno en estudio, para el diagnóstico del Plateado. “A través de la identificación de una secuencia específica de ADN, buscábamos el patógeno en las plantas. En condiciones de laboratorio inoculábamos el hongo en las plantas y hacíamos la extracción de ADN desde el aserrín. A partir de ese ADN realizábamos el PCR para identificar el hongo. A nivel experimental andaba muy bien, con prácticamente un 100% de eficiencia. En un plazo de 12 a 24 horas teníamos los resultados”, explica el Dr. Chilian.



Síntomas foliares en cerezo.

Sin embargo, en el campo esta técnica no era tan práctica. Para obtener el aserrín de los árboles había que utilizar un taladro y realizar un corte en el tronco, lo que provoca un daño en la planta. Pero se había demostrado que la detección precoz, previo a la aparición de los síntomas foliares, sí era posible. Considerando que el *Chondrostereum purpureum*, durante su desarrollo produce una enzima de tipo endopoligalacturonasa (endop-G), que viaja por el tejido xilemático hasta las hojas y se acumula en ellas produciendo la típica coloración plateada, el siguiente paso fue el desarrollo de un test de ELISA para de-



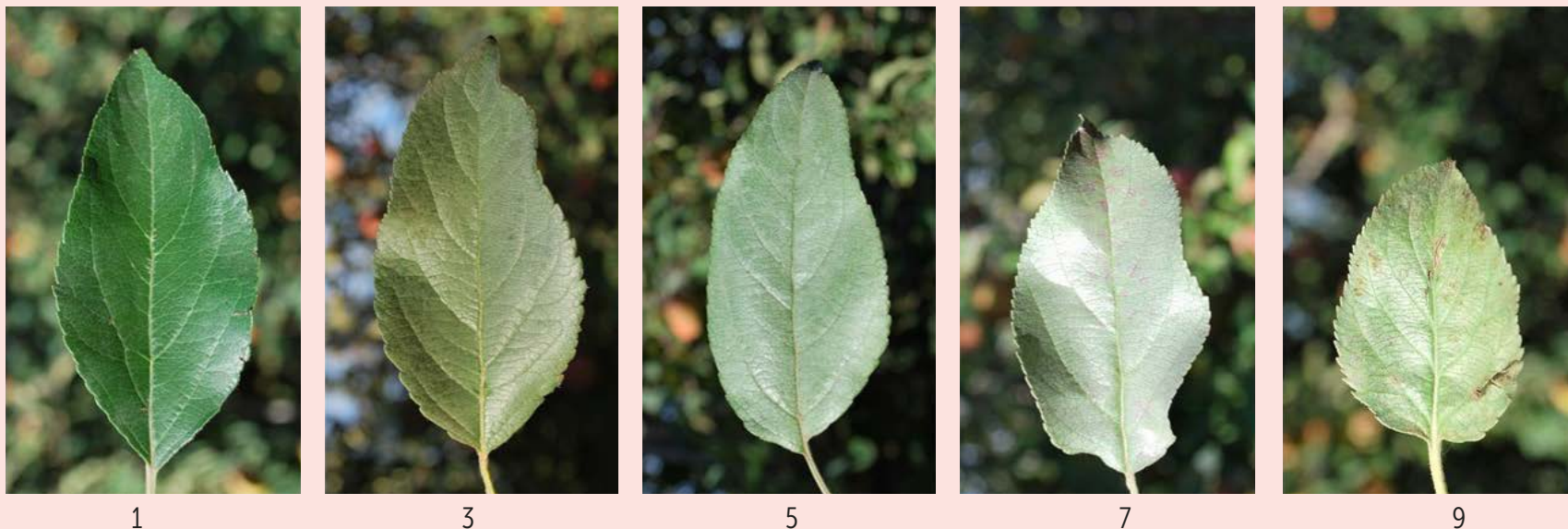
Síntomas foliares en arándano.

tectar la presencia de esta enzima. El test es capaz de percibir la enzima en los primeros estados de la infección, cuando aún los síntomas foliares no son visibles. Para comprobarlo, se inocularon a fines de invierno plantas de arándano Brigitta, manzano Royal Gala, ciruelo D’Agen, cerezo Lapins y duraznero Royal Glory con cepas virulentas de *C. purpureum*. En primavera se testearon las primeras hojas de la temporada y se verificó que el test era capaz de captar bajas concentraciones de la enzima. Esta técnica demostró que se pueden lograr buenos resultados en poco tiempo (12 horas)



Dr. Javier Chilian, investigador del INIA Quilamapu.

ESCALA DE SEVERIDAD DEL PLATEADO EN MANZANO



y solo con recolectar una hoja (sin dañar el árbol). Además, y lo más relevante, es que permitió poner en evidencia la presencia de *Chondrostereum purpureum* en plantas aún asintomáticas, aparentemente sanas. “Tenemos una hoja visualmente sana, la procesamos en el laboratorio a través del test de ELISA y vemos que, si los niveles de la enzima son mayores que los de una planta normal, podemos decir que está enferma”, explica la Dra. Daina Grinbergs.

A pesar de estos logros, todavía faltaba su aplicabilidad en terreno, ya que la utilización del test de ELISA se encontraba limitado al personal capacitado para realizar estos análisis en el laboratorio y con los equipos necesarios para ello. Fue por este motivo que los investigadores de INIA Quilamapu desarrollaron el prototipo de un kit de detección precoz del Plateado, basado en esta metodología.

UN NUEVO KIT

El kit de diagnóstico que está desarrollando INIA Quilamapu va a estar compuesto de tiras reactivas con anticuerpos, capaces de detectar la enzima y de producir una marca visible. En campo se tomará una hoja y se molerá en una

bolsa ranurada, que será parte del kit. La tira será insertada en la bolsa y la savia liberada se difundirá a través de ella hasta llegar a la zona de prueba. “El resultado –positivo o negativo– se obtendría en un par de minutos y parecería los test de embarazos tradicionales”, cuenta el Dr. Javier Chilian.

“El kit es capaz de detectar la enfermedad en las primeras etapas. Queremos apuntar a que los agricultores y viveristas puedan, a través de esta herramienta, diagnosticar las plantas de sus viveros y huertos, y tomar decisiones oportunas”, apunta la Dra. Daina Grinbergs.

Hasta el momento, el kit se ha probado en cerezo, manzano, duraznero, ciruelo y arándano, pero se espera la extensión de su uso a otros frutales. Al cierre de esta edición, el equipo investigador del INIA Quilamapu estaba postulando a otro proyecto FONDEF para optimizar este instrumento. El kit debe ser validado masivamente en viveros y huertos entre 2021 y 2023.

“En el prototipo –y que era el compromiso con el proyecto anterior que financió la investigación– debíamos determinar que el kit funcionaba a nivel piloto o de laboratorio, y sí funciona.

Podemos decir que la planta sí está infectada en etapas tempranas de infección. Ahora tenemos que determinar aspectos prácticos, como la época de muestreo y qué tipo de muestra utilizar, dependiendo de la especie frutal. No va a ser lo mismo el muestreo en una planta de manzano que en una planta de arándano. Esas son cosas que hay que ir estableciendo en esta etapa de desarrollo del producto”, dice Grinbergs.

“Lo interesante –comenta el Dr. Andrés France– es que, en el proyecto al que se está postulando, uno de nuestros asociados es el SAG. Muchas de estas enfermedades de la madera no cuentan con una normativa SAG. En ocasiones, el problema viene de los viveros y ahora el SAG va a contar con una herramienta diagnóstica que les permita monitorear la sanidad de las plantas que se están comercializando”.

Paralelamente, el Laboratorio de Fitopatología de Frutales del INIA está trabajando en la detección precoz de otras enfermedades de la madera importantes a nivel molecular, centrándose en patógenos como *Cytospora*, *Calosphaeria* y *Eutypa* en frutales de importancia económica como cerezo, vid, avellano, nogales y carozos, para así desarrollar



Kit de detección precoz del plateado de la madera.

herramientas parecidas. “Hay que pasar por toda una etapa de reconocimiento e identificación de estos patógenos, lo que es complejo y requiere de un amplio trabajo de laboratorio y campo. El ideal nuestro sería, en el futuro, poder contar con herramientas de diagnóstico para los distintos patógenos de la madera, y así apoyar en la toma de decisiones de los agricultores”, sintetiza el Dr. Javier Chilian. Ra



LÍNEA POTENCIADORES DE CULTIVO

Nutrichelates, ExelMax, ExelGrow

Más energía. Menos estrés.

Bioestimulantes y fertilizantes que elevan el rendimiento y la calidad de tus cerezos