Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica

Volumen XVIII, Nº 1-2 (Noviembre 1977) págs. 138-144

TECNICA SIMPLE PARA SELECCIONAR PRODUCTOS APTOS PARA PREDISPOSICION QUIMICA Y QUIMIOTERAPIA EN PATOLOGIA VEGETAL

POR ABEL A. SARASOLA y MARIA A. ROCCA DE SARASOLA [1]

SUMMARY

A simple technique has been devised to select apt products for chemical predisposition and chemotherapy in plant pathology, consisting in the selection of small branches and making a wedge-shaped incision near the basal end from below upwards containing phloem and xylem, to a depth of about one third of the total diameter. Immediately after the incision the end of the wedge is cut under water and each is introduced in a caramel-glass bottle containing 30-50 ml of the chemical to be tested. To verify the entrance and circulation of the chemicals a toxic compound or a dye was introduced.

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

Los fisiopatólogos que trabajan con productos químicos líquidos inyectables en las plantas con el fin de realizar estudios sobre predisposición o quimioterapia a menudo tienen el problema de seleccionar un método viable de trabajo.

Varios autores y, entre ellos, Roach (1938 y 1939) y May (1941) han reunido las distintas técnicas utilizadas por los investigadores para incorporar sustancias dentro de los vegetales con el propósito de efectuar estudios fisiológicos o patológicos.

Por su parte Allen (1932) con el fin de cambiar el color de las hortensias transformándolo de rosado en azul utilizó sales de aluminio que inyectó en las plantas efectuando un corte oblícuo en el tallo a través de cierta distancia de tal manera que la lengüeta resultante podía introducirla en el líquido a inyectar sin interrumpir la alimentación de la porción distal por vía radical.

[1] Unidad Fisiopatología. Departamento de Patología Vegetal. CNIA. INTA. Castelar.

Sobre la base del citado método de Allen y de que el transporte de sustancias orgánicas e inorgánicas asciende por el xilema y que por el floema tiende siempre a descender (fig. 1) fue ideado el presente método para aplicar a plantas preferentemente lignificadas ya enfermas o receptivas de enfermedades endémicas o inoculadas artificialmente.

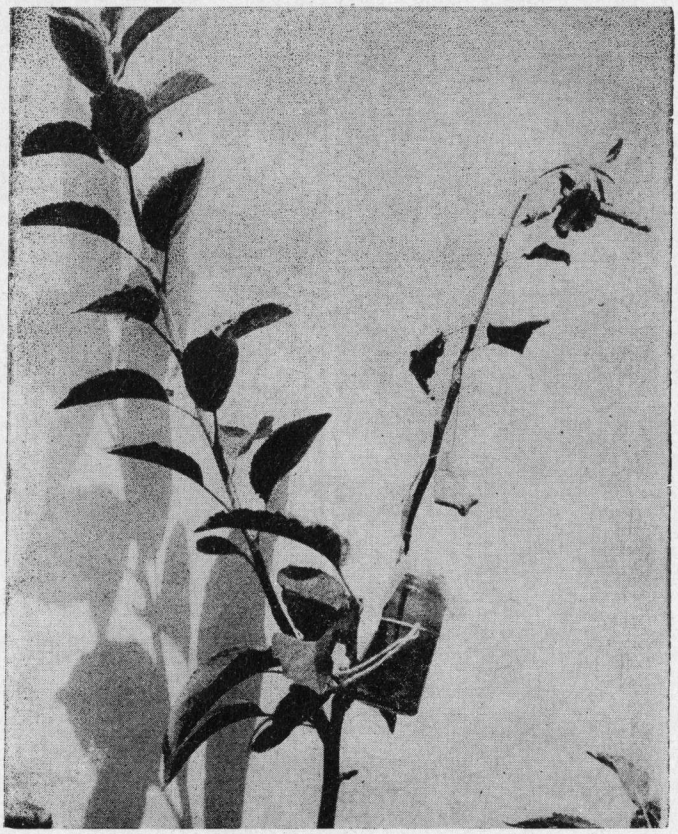

Fig. 1. — Ramita de manzano inyectada con un producto fitotóxico que ha causado su muerte sin dañar aparentemente al vástago contiguo e inferior que permanece indemne.

Es muy apto para aquellas que puedan observarse directamente y sin dificultad en las ramitas jóvenes y permite la aplicación de numerosos productos químicos diferentes a una misma planta sin mayores inconvenientes, al menos en lo que se refiere a la experiencia que tienen los autores hasta el presente.

MATERIAL Y METODOS

Cuando se trabaja a campo debe elegirse un número de plantas que lleve cada una por lo menos tantas ramitas debidamente separadas,

para evitar contaminaciones, como distintos productos se deseen ensayar. Los ejemplares grandes pueden llevar varias repeticiones y deberá seleccionarse el número de individuos que sea necesario para soportar todos los tratamientos que se hayan planeado. Según Roach (1939, pág. 201) muchos árboles tienen "ramas comparables que pueden ser inyectadas como una unidad por separado".

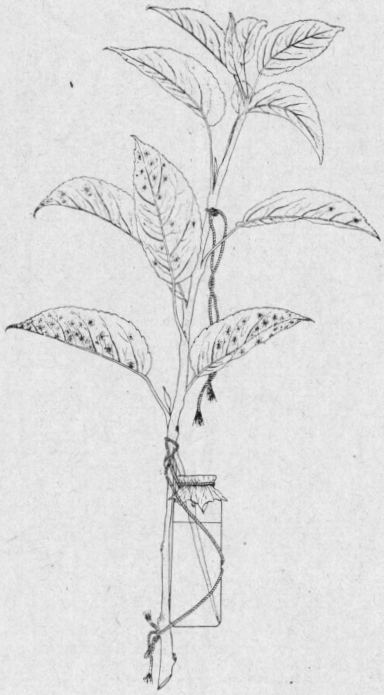

Fig. 2. — Esquema de una inyección aplicada a una ramita de manzano con sarna (*Venturia inaequalis*). Se ha marcado atando un hilo por encima de la hoja superior atacada para hacer luego de un tiempo conveniente el recuento y porcentaje de las nuevas hojas que puedan aparecer con las manchas típicas de esta enfermedad, estableciéndose así los efectos de predisposición química inducidos por el producto inyectado.

Estos pueden ser elegidos poco antes de contraer la enfermedad o cuando la misma ya ha hecho irrupción, pudiéndose realizar. de tal modo, estudios de predisposición o de quimioterapia o ambos simultáneamente.

La técnica es simple y consiste en seleccionar las ramitas más aptas para el estudio proyectado y efectuarles a corta distancia de la parte basal un corte de abajo hacia arriba en forma de cuña o lengüeta que contenga floema y xilema profundizando paulatinamente hasta abarcar no más de un tercio del diámetro total y a lo largo de 10 centímetros aproximadamente (fig. 2). Esta cuña debe estar ubicada en el tercio inferior de cada vástago y para que éste ofrezca la resistencia necesaria a los vientos predominantes en el lugar del ensayo, puede atárselo apareado a otro vástago de mimbre u otra madera o material resistente al quebrado que debe sujetarse a la ramita tratada por encima y por debajo de la lengüeta practicada. Para ello pueden utilizarse trocitos de cable eléctrico cuyos extremos se tuercen entre sí como indica la figura 3.

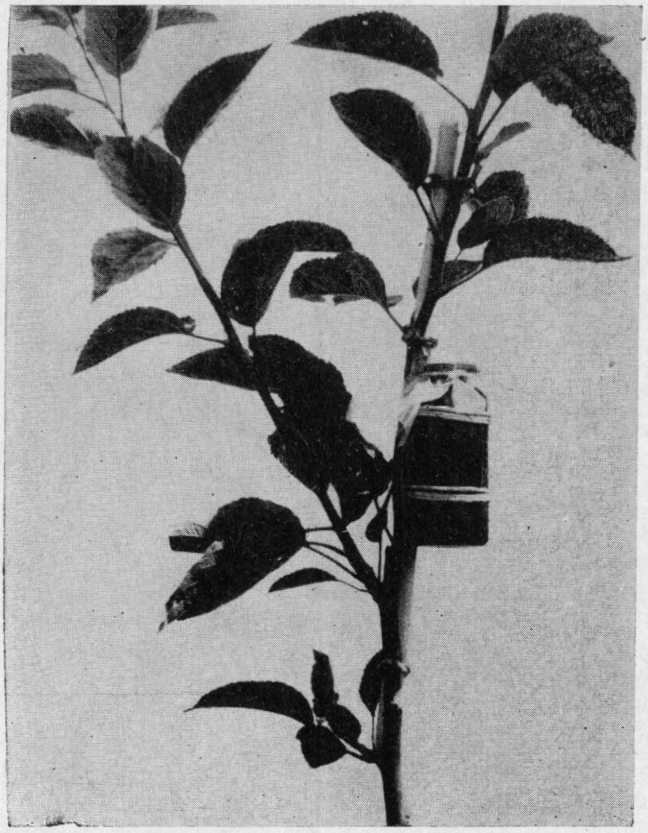

Fig. 3. — Detalle de una inyección sobre una ramita de manzano, reforzada con una varita de mimbre para evitar rotura por el viento.

Inmediatamente de hecho el corte longitudinal se procede a cortar la extremidad de la lengüeta o cuña resultante, bajo agua. con una navaja afilada, para evitar la oclusión de los vasos por el aire (Shevyrev, 1894) y se introduce cada cuña hasta el fondo de un frasquito color caramelo conteniendo 30 a 50 ml del producto químico a utilizar. Dicho recipiente se sujeta a la ramita con hilo o cualquier elemento que permita mantenerlo en su posición hasta que haya sido absorbida la cantidad necesaria de líquido. Este último, si fuera menester, puede ser repuesto a medida que lo consuma la planta.

Estos pequeños frascos deben llenarse previamente en el laboratorio con los volúmenes medidos de las sustancias que se deseen ensayar. Luego se tapan con una lámina de polietileno o producto similar, a la cual se le practica un orificio sobre el borde de la boca del frasco, de tamaño suficiente como para que permita la introducción del corte en forma de cuña practicado. Esta película debe ser atada con hilo alrededor de la boca del frasco de manera que la cubra totalmente evitando que se evapore la solución.

Para comprobar la entrada y recorrido del inyectable en las ramitas fueron tratadas las mismas con diversos colorantes y sustancias en dosis tóxicas. Antes de la inyección se efectuó una incisión anular debajo de la lengüeta eliminando todo resto de floema para estudiar visualmente el descenso de los colorantes y tóxicos utilizados que continuó no obstante la incisión.

Por otra parte fueron realizadas numerosas inyecciones en distintos años empleando fungicidas, fertilizantes y sustancias de crecimiento contra la sarna del manzano y un virus no identificado específicamente pero con síntomas similares al mosaico de este frutal.

En invernáculo también puede emplearse este sistema, claro está que infectando las plantas con inoculaciones artificiales.

Para efectuar estudios de predisposición se marca con hilo u otro material a propósito, la ramita empleada por encima de la última hoja superior afectada como indica la figura 2, transcurrido un tiempo prudencial (generalmente alrededor de un mes) que permita el incremento de la enfermedad, en el caso de una que avance de abajo hacia arriba como la sarna del manzano, se cuentan las nuevas hojas enfermas estableciendo porcentajes que luego se transforman para su estudio estadístico si es necesario, o también puede considerarse cualquier otro índice de enfermedad para establecer las comparaciones con los testigos inyectados con agua destilada.

Para otro tipo de enfermedades puede emplearse cualquier escala de ataque que permita hallar la diferencia entre el principio y el final del tratamiento.

En el caso de estudiar efectos en quimioterapia bastaría además de efectuar la comparación con escalas de ataque al principio y al final de la experiencia, realizar aislamientos del parásito presente en

las lesiones para establecer si éste aún permanece vivo en los tejidos como en un principio.

ALGUNOS RESULTADOS OBTENIDOS

El sulfato de cobre al 2 % y la nigrosina al 0.5 % denotaron fuerte fitotoxicidad que descendía franqueando la incisión anular hacia abajo y proyectándose sobre una porción de la rama que sostenía a la secundaria inyectada. En el caso de nigrosina toda la zona afectada presentaba internamente la coloración debida a dicha sustancia.

La cloroacetaldehido-2,4-dinitrofenilhidrazona, el cloruro de manganeso y el sulfato de magnesio produjeron en casi todos los casos en que se los empleó una disminución apreciable de los síntomas de mosaico presentes con respecto a otras sustancias y a los testigos. Con la primera de dichas sustancias fueron realizadas en el Alto Valle del Río Negro y en apoyo de estos resultados, aplicaciones en el suelo y pulverizaciones simultáneas al follaje lográndose reducir a un tercio los síntomas que ocurrían en los testigos. Este último fungicida también redujo manifiestamente la sarna (*Venturia inaequalis*) inyectando con la técnica descrita. Entre las especies experimentadas, los cítricos prácticamente no absorbieron los micronutrimentos utilizados [1].

Ventajas e inconveniente del método

Tiene apreciables ventajas que podrían concretarse de la manera siguiente:

1º Permite disponer de abundante material enfermo sin necesidad de criarlo e infectarlo artificialmente.

2º Pocos árboles enfermos pueden proporcionar suficientes repeticiones como para experimentar gran número de productos y efectuar análisis estadístico.

3º Cuando todo el ensayo se realiza sobre un mismo árbol se evitan las interferencias individuales y de ambiente.

4º Para efectuar cada inyección de este tipo se necesita sólo un lapso muy breve (alrededor de dos minutos, según la habilidad del operador), hecho que permite realizar un número considerable en una jornada de trabajo.

5º En pocos días pueden obtenerse resultados de interés.

6º Es un método económico y que requiere poca mano de obra.

7º También es apto, como lo son otros procedimientos similares, para inyectar productos nutritivos y verificar en forma rápida la verdadera causa de los síntomas de deficiencia observados.

Entre las desventajas que podrían considerarse cabe destacar las que siguen:

1º El método sería útil sólo para seleccionar productos químicos, entre muchos candidatos, para luego experimentarlos en ensayos pla-

[1] De ensayos efectuados con J. C. Montero y María C. Serafini (Univ. Nac. de Luján en Mercedes y San Pedro (Prov. Bs. As.).

neados en condiciones más normales y ajustados a una técnica más estricta.

2º Si bien el transporte, dentro del huésped, de las sustancias que se utilizan podría realizarse a las partes inferiores, de las cuales depende la ramita tratada, utilizando otro camino distinto del floema, como podrían ser el xilema o la difusión de célula a célula, ello ocurriría muy lentamente y en proporciones reducidas comparadas con las que recibe en forma directa la porción inyectada por vía xilema. De cualquier manera cada planta queda en condiciones de uniformidad al recibir pequeñas cantidades de cada una de las sustancias empleadas y las diferencias inherentes a cada tratamiento pueden destacarse lo suficiente para ser apreciadas.

RESUMEN

Fue experimentada una técnica simple para seleccionar productos químicos aptos para predisposición química o quimioterapia. El procedimiento consiste en elegir ramitas apropiadas en desarrollo, marçar la zona de separación entre los órganos (en este caso hojas) sanos y enfermos e inyectar en la zona basal del vástago un producto químico líquido contenido en un pequeño frasco. sumergiendo en él una lengüeta o corte oblícuo lateral practicado en las ramitas elegidas que contenga una porción de xilema y floema, cortando previamente bajo agua la extremidad de dicha lengüeta para evitar la oclusión de los vasos por el aire. Transcurrido un tiempo conveniente se cuentan los nuevos órganos atacados o se comprueba la viabilidad del parásito causante para establecer estadísticamente los efectos terapéuticos del producto ensayado.

Inyectando con esta técnica colorantes y sustancias fitotóxicas fue posible observar efectos de su distribución interna y experimentando fertilizantes, fungicidas y sustancias de crecimiento se logró con cloroacetaldehido-2,4-dinitrofenilhidrazona, o cloruro de manganeso, o sulfato de magnesio una disminución apreciable de síntomas similares a mosaico de manzano y con el primero de estos últimos productos se obtuvieron iguales efectos sobre sarna (*Venturia inaequalis*) de este frutal.

BIBLIOGRAFIA CITADA

ALLEN, R. C. 1932. Factors influencing the flower colour of hydrangeas. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* for 1931, XXVIII, 410-412.

MAY, C. 1941. Methods of tree injection. *Trees* 4: 7-16.

ROACH, W. A. 1938. *Plant injection for diagnostic and curative purposes.* Imp. Bur. Hortic. and Plantat. Crops. Tech. Comm. 10. East Mall. Res. Sta., Kent, Eng., 78 pp.

ROACH, W. A. 1939. Plant injection as a physiological method. *Ann. Bot.*, N. S. III (9): 155-226.

SHEVYREV, J. 1894. Extraradicate nutrition of diseased trees. Remedies for destruction of their parasites (in Russian). Records of the Botanical Division, *St. Petersburg Imperial Society of Naturalists.* Conference of Feb| 16, 1894 (citado por Roach, W. A. 1939).