

# SANEAMIENTO Y CERTIFICACIÓN DE CÍTRICOS



Bertalmío, A<sup>1</sup>; Maeso, D<sup>2</sup>; Sanguinetti, G<sup>3</sup>; Fontán, G<sup>3</sup>; De los Santos, M<sup>4</sup>; Borde, J.<sup>4</sup>; Montes, F<sup>5</sup>; Colina, R<sup>6</sup> y Rivas, F<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa Nacional de Producción Citrícola. INIA

<sup>2</sup> Protección Vegetal. INIA

<sup>3</sup> INASE

<sup>4</sup> Dirección General de Servicios Agrícolas. MGAP.

<sup>5</sup> MGAP.

<sup>6</sup> Virología Molecular. Regional Norte, UdelaR.

## INTRODUCCIÓN

Los cítricos constituyen el principal frutal cultivado en el mundo. Desde sus orígenes en el sudeste asiático, noroeste de la India y sur de China, han sido distribuidos a otros continentes. Con ello también se han diseminado plagas y enfermedades, constituyéndose hoy en día en uno de los cultivos con mayor incidencia de enfermedades sistémicas provocadas por bacterias, virus, viroides y afines. Mientras que sólo algunas de estas enfermedades pueden ser transmitidas por insectos vectores y/o por herramientas de poda, todas son transmisibles por injerto. Por ello, la introducción y propagación de material vegetal infectado a las nuevas o viejas plantaciones puede determinar en el correr de pocos años la contaminación de toda una quinta, tal como se ha determinado en estudios recientes (Durán-Vila 2009, comunicación personal).

El material contaminado pierde longevidad y capacidad productiva tanto en calidad como en cantidad, estimándose las pérdidas en un 30% de la producción.

El trabajo de concientización realizado por la Comisión Honoraria Nacional del Plan Citrícola (CHNPC), el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), el Instituto Nacional de Semillas (INASE), la Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSA) y el propio Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP) durante el período 2008 – 2010, sobre la necesidad de contar con un Programa Nacional de Saneamiento de Cítricos fue reafirmado en reuniones de trabajo con el sector productivo, consultores internacionales, talleres de la Red Interamericana de Citrus (RIAC-FAO) e instituciones del Estado.

La necesidad de contar con un Programa Nacional de Saneamiento de Cítricos quedó también plasmada en el

análisis de las cadenas de valor realizado por el Gabinete Productivo (Medidas para el desarrollo de las Cadenas de Valor; Cadena Citrícola).

En octubre de 2010 INIA, INASE, MGAP y DGSA firmaron un acuerdo para la producción de materiales con calidad fitosanitaria e identidad garantizada a nivel nacional, en pos de un incremento de la competitividad a nivel de todo el estrato productivo (pequeños, medianos y grandes citricultores).

Así, con la visión de proveer al sector citrícola material sano (yemas y semillas de calidad superior) para favorecer el incremento de la productividad, agilizar la introducción segura de germoplasma, garantizar su trazabilidad para los obtentores y favorecer la reconversión varietal de la citricultura del Uruguay, las instituciones participantes se propusieron, como objetivo común, retomar el Programa de Saneamiento y Certificación de Cítricos que se había desarrollado en la década de 1990.

Asimismo acordaron jugar un rol activo en la coordinación y ejecución conjunta de este Proyecto Interinstitucional.

En ese sentido definieron dos ámbitos de acción para la implementación y gestión del proyecto: un Comité Técnico con delegados de las tres instituciones participantes, integrado por los Ing. Agrs. Fernando Rivas (INIA, Titular), Diego Maeso (INIA, Alterno), Guillermo Sanguinetti (INASE) y Mario de los Santos (DGSA) y un Comité Ejecutivo integrado por los Presidentes de las tres Instituciones: Ing. Agrs. Álvaro Roel (INIA), Pedro

Queheille (INASE) e Inocencio Bertoni (DGSA). En representación del MGAP y como nexo entre el Ministerio y ambos Comités, participa el Asesor Técnico en Citricultura, Ing. Agr. Federico Montes.

### DESARROLLO DEL PROGRAMA NACIONAL DE SANEAMIENTO Y CERTIFICACIÓN DE CÍTRICOS

Para que los productores o usuarios finales cuenten con material de sanidad e identidad garantizada se deben cumplir las etapas de saneamiento (obtención de material de propagación libre de patógenos como virus y viroides que ocasionan serias enfermedades) y de multiplicación, de forma de contar con un número de yemas o semillas adecuado para cumplir con las demandas. Todo el proceso forma parte de un programa de certificación que garantiza que las etapas se cumplen de forma adecuada. Dentro del esquema, cada institución actúa de acuerdo a sus roles, competencias y capacidades.

La obtención de materiales libres de enfermedades involucra dos etapas: la limpieza de enfermedades y la comprobación a través de pruebas de laboratorio y en invernadero, de que esto realmente ha ocurrido. La limpieza se realiza mediante la combinación de termoterapia y microinjertación, para ello yemas de los materiales candidatos son sometidas a altas temperaturas (32 °C) y al brotar se extrae una pequeña porción del extremo de cada brote (ápice meristemático), el cual, con la ayuda de una lupa binocular, se injerta (micro-injertación) en condiciones asépticas, en portainjertos cultivados en tubos de ensayo (cultivo *in vitro*).

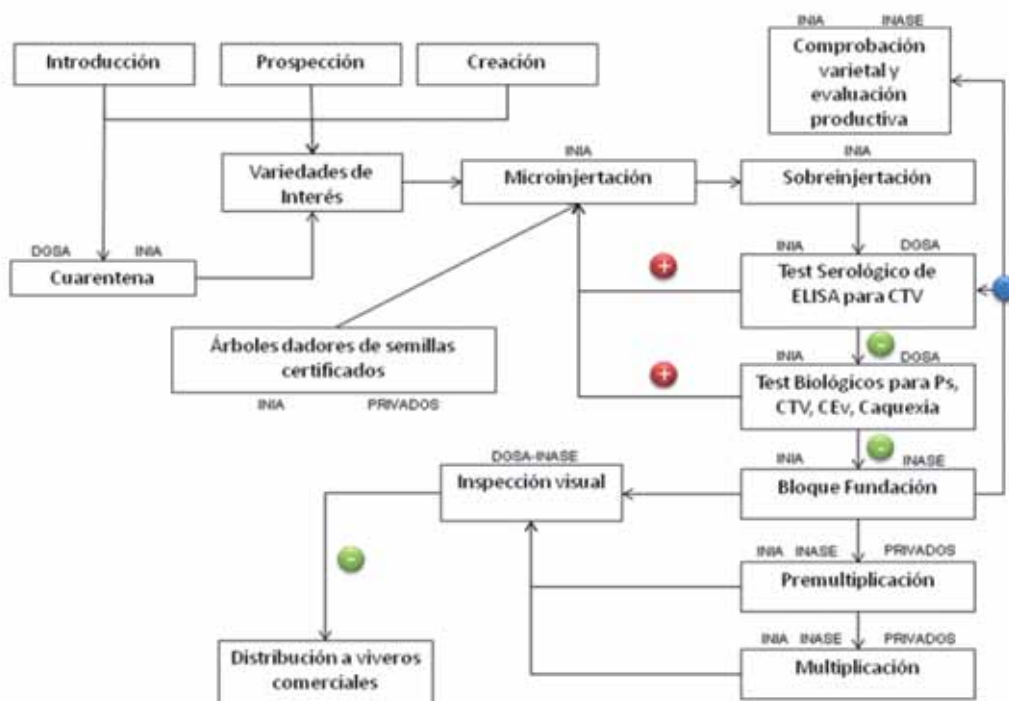


Figura 1 - Esquema del proceso de saneamiento de citrus y rol de las Instituciones participantes.



**Foto 1** - Microinjertación en Cámara de Flujo Laminar y primer plano de un microinjertos en desarrollo.

En la Figura 1 se esquematiza el proceso de saneamiento de materiales cítricos de propagación, y el rol de las instituciones participantes.

La microinjertación se realiza en el Laboratorio de Saneamiento de Citrus de INIA SG (Foto 1) con meristemas de las variedades seleccionadas y portainjertos provenientes de semillas certificadas libres del virus de la psorosis (CPsV) según el protocolo establecido por la DGSA /MGAP.

Cuando los microinjertos tienen 1-2 hojas completamente desarrolladas se llevan *in vitro* a invernáculos protegidos de INIA Las Brujas. Con la finalidad de mejorar su adaptación y favorecer su crecimiento, se sobreinjertan en plantines de Limón rugoso (*Citrus jambhiri*) con calidad certificada, cultivados en sustrato estéril (Foto 2).



**Foto 2** - Sobreinjerto en INIA Las Brujas.

El primer control que se aplica para detección de enfermedades transmisibles por injerto es el diagnóstico serológico del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) (Foto 3). Se realiza en INIA Las Brujas con la técnica de DAS-ELISA cuando los plantines han alcanzado el tamaño adecuado para la extracción de hojas. Las plantas en las cuales no se detecta CTV se trasladan a las estructuras del MGAP instaladas en el predio del INA-SE, donde se mantienen a la espera de los siguientes tests confirmatorios del estado fitosanitario. Se trata de invernáculos a prueba de insectos donde el acceso es restringido para evitar el riesgo de contaminación.

La etapa siguiente es el diagnóstico biológico o bioensayo en plantas susceptibles a CPsV, CTV, Concave Gum o exocortis (CEVd) y se realiza cuando los microinjertos (plantas candidatas) tienen tamaño suficiente para el muestreo.



**Foto 3** - Diagnóstico serológico del virus de la tristeza de los cítricos (CTV).





**Foto 4 (de izquierda a derecha)** - Síntomas en plantas indicadoras de Psorosis (CPsV), Tristeza (CTV), Concave Gum y Exocortis (CEVd).

A grandes rasgos, este diagnóstico está basado en la injertación de tejido vegetal proveniente de las plantas candidatas, en plantas altamente sensibles a las enfermedades en estudio, y por ello denominadas “indicadoras”. Si los patógenos están presentes, luego de un cierto tiempo y en condiciones ambientales apropiadas, las plantas indicadoras desarrollan síntomas característicos e inequívocos (Foto 4). Estos diagnósticos se realizan en invernáculos climatizados de INIA Salto Grande con un protocolo acordado entre INIA y DGSA y supervisado por la DGSA/MGAP (Foto 5).

Como complemento a las pruebas biológicas, se realiza la comprobación del estado sanitario de las plantas mediante técnicas moleculares. Para ello se cuenta con el apoyo del Laboratorio de Virología de la Universidad de la República, Regional Norte, donde ya se realiza rutinariamente el diagnóstico de los viroides CEVd y cachexia-xyloporosis (HSVd).

Adicionalmente, se ha puesto a punto el diagnóstico (a ser usado como confirmatorio) de CPsV. Las plantas candidatas diagnosticadas libres de las enfermedades incluidas en el Estándar de Certificación de Citrus in-

gresan al esquema de certificación como “Material Inicial” y se da inicio al proceso de multiplicación con la extracción de algunas yemas para conformar el Bloque Fundación. El Material Inicial se mantiene como reserva en las instalaciones ubicadas en el INASE, aisladas de otros materiales aún en proceso.

Para la producción de yemas se establecen las siguientes categorías de multiplicación: Bloque Fundación, Incremento I e Incremento II, estos últimos con una duración variable y un número limitado de extracción de yemas para impedir la generación de desvíos por mutaciones inducidas por el proceso. De esos bloques (Foto 6) derivan las yemas a utilizar en la creación de las plantas certificadas que irán a formar parte de cultivos comerciales.

Los materiales incluidos en todos los bloques de producción de yemas son sometidos periódicamente a inspección visual para detección de síntomas atribuibles a las plagas consideradas en el Estándar Específico. La DGSA además realiza análisis de laboratorios con muestreos de hojas para verificar la ausencia de la bacteria causante de la Cancrosis de los Cítricos, que podría estar presente en forma asintomática.



**Foto 5** - Inoculación de plantas indicadoras con la supervisión de la DGSA e invernáculo climatizado en INIA Salto Grande donde se desarrollan los testajes biológicos de CTV y CPsV.

Como resultado del proceso de saneamiento iniciado en 2010, en octubre/noviembre del presente año se vendieron las primeras yemas certificadas al Sector Citrícola. En el Cuadro 1 se detallan las variedades disponibles a la fecha.

Como fuente de origen de semilla de portainjertos con su sanidad comprobada, paralelamente a la comprobación del estado sanitario de las variedades, y siempre bajo la supervisión de la DGSA/MGAP, INIA realiza la comprobación sanitaria de su colección de plantas semilleras mediante test biológico de psorosis.

Actualmente hay 84 árboles de portainjertos certificados correspondientes a 20 clones. Está próximo a finalizar el testaje de 12 árboles adicionales, que se incorporarán a la colección con el consiguiente aumento de la capacidad de producción de semilla certificada. El Programa de Saneamiento y Certificación de Cítricos es un proceso dinámico, con ciclos continuos de ingresos y liberación de nuevos materiales, que se apoya fuertemente en encuestas individuales y en grupos de trabajo formales.

En el Programa resulta también fundamental la identidad genética de las plantas que componen el Bloque Fundación, etapa que está en la primera fase de ejecución en un área aislada de la Estación Experimental INIA Las Brujas, previéndose la instalación de los ensayos de evaluación agronómica para el próximo año.

El Estándar Específico para la Producción y Comercialización de Materiales de Propagación Cítricos, donde se detallan los requerimientos que deben cumplir viveristas y multiplicadores, se encuentra disponible en la página Web de INASE: [www.inase.org.uy](http://www.inase.org.uy), al igual que el listado de materiales incluidos en el Sistema de Certificación.

Desde la página Web de INIA también se puede acceder a la mencionada dirección.

**Cuadro 1** - Materiales cítricos de propagación certificados, disponibles en INASE.

Especie	Tipo	Variedad
Limón	Limón	Eureka
Limón	Limón	Criollo
Mandarina	Clementina	Clemenules
Mandarina	Clementina	Marisol
Mandarina	Clementina	Fina SRA 71
Mandarina	Híbrido	Nankou
Mandarina	Híbrido	Ariake
Mandarina	Híbrido	Tsunokaori
Mandarina	Híbrido	Afourer
Mandarina	Híbrido	Tango*
Mandarina	Híbrido	Nova
Mandarina	Híbrido	Ortanique
Mandarina	Satsuma	Okitsu
Naranja	Navel	Fisher
Naranja	Navel	New Hall
Naranja	Navel	Cara cara
Naranja	Navel	Fukumoto
Naranja	Navel	Frost Navel
Naranja	Navel	Lane Late
Naranja	Valencia	Midknight
Naranja	Valencia	CV64
Naranja	Valencia	Paylate*
Naranja	Valencia	NVA050
Naranja	Valencia	Valencia Delta

\* Se requiere autorización del obtentor

## BIBLIOGRAFÍA

Estándar Específico para la Producción y Comercialización de Materiales de Propagación Cítricos. 2010. INASE/MGAP.

Frison E., M. Taher. 1991. Technical Guidelines for the Safe Movement of Citrus Germplasm. FAO/IBPGR.

Protocolo a aplicar para el saneamiento de materiales de propagación de cítricos. 2011. DGSA/MGAP. Documento Interno.

Navarro L., Roistacher, C.N, Murashige, T. 1975. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100:471-479.

Roistacher, C.N. 1991. Handbook for detection and diagnosis of graft-transmissible diseases of citrus. International Organization of Citrus Virologists, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 1991.



**Foto 6** - Bloques de multiplicación de yemas en INASE.