



## IV Simposio Nacional I Congreso Latinoamericano

Investigación y Desarrollo Tecnológico en Citrus  
3-5 de noviembre de 2014. Salto, Uruguay



### AVANCES EN EL PROGRAMA NACIONAL DE SANEAMIENTO Y CERTIFICACIÓN DE CÍTRICOS DE URUGUAY

**Bertalmío, Ana** <sup>(1)</sup>; **Maeso, Diego** <sup>(1)</sup>; **Goncalves, Lucía** <sup>(1)</sup>; **Benítez, María José** <sup>(2)</sup>; **Colina, Rodney** <sup>(2)</sup>; **Fontán, Gabriel** <sup>(3)</sup>; **Sanguinetti, Guillermo** <sup>(3)</sup>; **Montes, Federico** <sup>(4)</sup>; **de los Santos, Mario** <sup>(5)</sup>; **Rivas, Fernando** <sup>(1)</sup>.

- (1) *Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay. [cfrivas@inia.org.uy](mailto:cfrivas@inia.org.uy)*
- (2) *Laboratorio de Virología, Universidad de la República, Regional Norte, Salto.*
- (3) *Instituto Nacional de Semillas.*
- (4) *Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), Uruguay.*
- (5) *Dirección General de Servicios Agrícolas, MGAP, Uruguay.*

**Palabras clave:** Citrus, microinjertación, testajes biológicos, RT-PCR, virus.

#### Introducción

En 2010, luego de un proceso liderado por la Comisión Honoraria del Plan Citrícola (CHNPC), INIA, INASE, DGSA y el propio Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), se firmó un convenio interinstitucional para desarrollar un Programa Nacional de Saneamiento y Certificación de Cítricos (PNSCC), con roles y responsabilidades claramente establecidos (Rivas et al., 2009, Bertalmío et al., 2010). Luego de definir las enfermedades transmisibles por injerto a controlar y los protocolos para la limpieza y análisis de las plantas candidatas, se procedió a la implementación del PNSCC. En el presente trabajo se presentan los avances y logros alcanzados para poner a disposición del Sector citrícola nacional, yemas de variedades y semillas de portainjertos certificadas libres de virus.

#### Materiales y métodos

La selección de los materiales de propagación de cítricos que ingresan al PNSCC es llevada a cabo por las Instituciones participantes junto al Sector Productivo. La priorización de los materiales que entran en la fase de comprobación sanitaria la realiza el Comité Técnico del PNSCC integrado por representantes de INIA, INASE, DGSA y el MGAP.

La etapa de saneamiento se hace en la Estación Experimental de INIA Salto Grande, mediante la pre-termoterapia a 32°C y microinjertación de meristemas con 2 a 3 primordios foliares, según Navarro et al (1975, 1977) y FAO (Frison y Taher, 1991). Los microinjertos se trasladan *in vitro* a INIA Las Brujas, donde se cumple la siguiente etapa de sobreinjertación y cultivo en invernáculo.

Para los controles fitosanitarios se aplican los procedimientos recomendados por Roistacher (1991) incluidos en el protocolo ya mencionado (DGSA /MGAP, 2011). A las plantas candidatas se les realizan: 1) análisis serológicos en INIA Las Brujas para la



## IV Simposio Nacional I Congreso Latinoamericano

Investigación y Desarrollo Tecnológico en Citrus  
3-5 de noviembre de 2014. Salto, Uruguay



detección de CTV (*Citrus tristeza virus*) mediante DAS ELISA, 2) diagnósticos moleculares en el Laboratorio de Virología de la UdelaR (Regional Salto) para la detección de CEVd (*Citrus exocortis viroid*, causante de la exocortis) y HSVd (*Hop Stunt Viroid*, causante de la cachexia) a través de RT-PCR (Duran-Vila y Bernad, 2006) y 3) testajes biológicos en INIA Salto Grande.

Los testajes o diagnósticos biológicos se realizan con plantas “indicadoras” que son muy sensibles a las enfermedades cuya ausencia se quiere confirmar, a las que se les injerta tejido vegetal proveniente de las plantas microinjertadas. Se utilizan simultáneamente testigos negativos (plantas sin inocular) y testigos positivos injertados con corteza de plantas portadoras de aislados de referencia para CTV, CPsV (*Citrus Psorosis Virus*), Concave Gum y CEVd. Si los patógenos están presentes, luego de un cierto tiempo aparecen síntomas característicos (Figura 1).

Las indicadoras utilizadas son las siguientes: lima mejicana para CTV, naranjo dulce cultivares Madam Vinous o Pineapple para CPsV, Dweet tangor para Concave Gum y cidra Etrog 861-S1 (injertada sobre limón rugoso) para CEVd.

En plantas semilleras sólo se realiza el diagnóstico biológico para CPsV.



**Figura 1 (De izquierda a derecha).** Síntomas en plantas indicadoras de Psorosis (CPsV), Tristeza (CTV), Concave Gum y Exocortis (CEVd).

Los microinjertos libres de estos patógenos pasan a integrar la colección de plantas madres certificadas, a partir de las cuales se forman los denominados Bloques Fundación y Premultiplicación. Estos bloques se mantienen en estructuras a prueba de áfidos en las instalaciones del Instituto Nacional de Semillas (INASE), en tanto que la multiplicación y formación de plantas certificadas se realiza en el ámbito privado, con viveristas registrados que cumplen con el Estándar Específico (INASE/MGAP, 2010).

El Bloque Fundación se somete a controles periódicos posteriores: análisis serológico anual para CTV, biológico cada 3 años para CPsV y biológico y/o molecular cada 3 años para CEVd y HSVd. Asimismo la DGSA realiza controles anuales para la bacteria del cancro cítrico (*Xanthomonas citri* subsp *citri*).



# IV Simposio Nacional I Congreso Latinoamericano

Investigación y Desarrollo Tecnológico en Citrus  
3-5 de noviembre de 2014. Salto, Uruguay



Para la comprobación varietal se estableció un módulo específico para ese fin en un sitio alejado de plantaciones comerciales en la Estación Experimental INIA Las Brujas.

## Resultados y discusión

Debido al impacto que tienen los virus y enfermedades similares en la calidad, productividad y longevidad de las plantas cítricas, el PNSCC constituye la base de una citricultura competitiva y sostenible. El accionar del mismo implica un proceso continuo en el tiempo que retroalimenta al Programa de mejoramiento genético nacional mediante la introducción segura de germoplasma y limpieza de nuevos genotipos creados o prospectados, que en definitiva sustentan en conjunto la reconversión varietal.

Los resultados, en cuanto a disponibilidad de materiales certificados, son por lo tanto dinámicos, con incorporaciones periódicas de nuevas variedades o plantas semilleras liberadas cada vez que culmina un ciclo de saneamiento o comprobación sanitaria. A la fecha se cuenta con 67 clones de variedades (Cuadro 1) y 27 clones de plantas semilleras (Cuadro 2), incluyendo 4 variedades de uso interno para el PNSCC. En el último año se produjeron 600 kg de semillas certificadas, se entregaron 9.000 yemas para renovar los bloques de incremento de los viveros certificados y se inició la implantación del módulo para comprobación varietal de las plantas certificadas.

**Cuadro 1.** Variedades certificadas en Agosto 2014.

<i>Clementinas</i>	<i>Naranjas (Continuación)</i>	<i>Híbridos</i>
1. AU/UN	21. Valencia NVA 035-1	44. A 30 (Ellendale x M. común)
2. Clemenules	22. Valencia NVA 050	45. A 201 (Ellendale x M. común)
3. Clemenules CMG 111	23. V. Rhode Red DSPA 339	46. A 172 (M. común x Satsuma)
4. Clementina SRA 71	24. V. Rufina (ex NVA 033-1)	47. F3P8 (Ellendale x Page)
5. Clementina SRA 362	25. V. Victoria (ex NVA 036-1)	48. F6P8 (Ellendale x Page)
6. CP2	26. Valencia Paylate	49. M 9 (Ellendale x Satsuma)
7. CR1		50. M 19 (Ellendale x Satsuma)
8. Florentinia	<i>Sanguíneas</i>	51. Afourer
9. LR1	27. Moro Quinta 29	52. Amaka
10. Marisol	<i>Navel</i>	53. Amakusa
11. Nour INIASSEL 350	28. Cara Cara	54. Ariake
<i>Satsumas</i>	29. Fisher DSPA 510	55. Daisy
11. Okitsu Clon 29	30. Frost Navel	56. Ellendale CE 49
12. Okitsu CS 141	31. Fukumoto	57. Ellendale
13. Owari CS 7	32. Lane Late	58. Gold Nugget
<i>Mandarina común</i>	33. Navelina CW 151	59. Murcott CM1
14. Montenegrina	34. New Hall	60. Murcott
<i>Naranjas</i>	35. New Hall CW 153	61. Nankou
15. Salustiana Indio CN 167	36. Santa Berta	62. Nova CMG 112
16. Valencia CV 64	37. Tuly Gold	63. Ortanique
17. Valencia Delta	38. W. Navel CW 56	64. Shasta Gold
18. V. Midnight DSPA 338	<i>Limones</i>	65. Tahoe Gold
19. V. Midnight temprana	39. Criollo	66. Tango
20. Valencia NVA 034-2	40. Eureka	67. Tsunokaori
	41. Fino	
	42. Lisbon Monroe	
	43. Fino Largo INIASSEL 95	



**Cuadro 2.** Portainjertos certificados en Agosto 2014.

<i>Naranja agrio (C. aurantium)</i>	<i>N° plantas</i>
1. Agrio USDA	2
<i>Naranja dulce (C. sinensis)</i>	<i>N° plantas</i>
2. Do Ceu	1
3. Madam Vinous	3
4. Pineapple	3
<i>Citrango</i>	<i>N° plantas</i>
5. Carrizo CZ 53	4
6. C35	1
7. Troyer CY 124	1
<i>Citrumelo</i>	<i>N° plantas</i>
8. Swingle CPB 4475	4
<i>Tangor</i>	<i>N° plantas</i>
9. Dweet	1
<i>Limón cravo (C. limonia)</i>	<i>N° plantas</i>
10. Cravo CO 66	2
<i>Limón rugoso (C. jambhiri)</i>	<i>N° plantas</i>
11. Rugoso CR 67	2
12. Rugoso ("Jambhiri")	2

<i>Mandarina (C. reshi)</i>	<i>N° plantas</i>
13. Cleopatra	2
<i>Trifolia (Poncirus trifoliata)</i>	<i>N° plantas</i>
14. CT 8	5
15. CT 9	5
16. CT 33	20
17. CT 34	8
18. CT 35	4
19. Argentina	5
20. Davis A	1
21. Flying Dragon	5
22. Pomeroy	1
23. Rubidoux	9
24. Tucumán	12
<i>Sunki (Citrus sunki)</i>	<i>N° plantas</i>
25. Sunki	1
<i>Volkameriana</i>	<i>N° plantas</i>
26. Volkameriana INTA <sup>(1)</sup>	1
27. Volkameriana Limeira <sup>(1)</sup>	1

(1) Microinjertos

## Referencias bibliográficas

- Bertalmío, A.; Rolón, R.; Maeso, D.; Mangado, J.; Bruno, Y.; Carrosio, G.; Fontán, G.; Borde, J.; Rivas, F. 2010. Programa Nacional de Saneamiento de Citrus. Bases para una citricultura innovadora y productiva. Memorias III en Simposio de Investigación y desarrollo tecnológico en Citrus. CD, N° 06: 4 p.
- DGSA/MGAP. 2011. Protocolo a aplicar para el saneamiento de materiales de propagación de cítricos. Documento interno. 34 p.
- Duran-Vila, N. and Bernad, L. 2006. A novel RT-PCR approach for detection and characterization of citrus viroids. Mol cell probes, 2:105-13
- Frison E.; Taher, M. (Ed.). 1991. Technical Guidelines for the Safe Movement of Citrus Germplasm. FAO / IBPGR. 50 p.
- INASE / MGAP. 2010. Estándar Específico para la Producción y Comercialización de Materiales de Propagación de Cítricos. 12 p.
- Navarro, L.; Roistacher, C.; Murashige, T. 1975. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100: 471-479.
- Navarro, L.; Juarez, J. 1977. Elimination of citrus pathogens in propagative budwood. II. In vitro propagation. Proc. Int. Soc. Citriculture (3): 973-987.
- Rivas, F.; Bertalmío, A. 2009. Programa Nacional de Saneamiento de Cítricos. El camino hacia una citricultura innovadora, competitiva y democrática: 25 p. Información en Web (07/08/2014): [http://www.bionegocios.com.uy/c/document\\_library/get\\_file?p\\_l\\_id=6562&folderId=171440&name=DLFE-7228.pdf](http://www.bionegocios.com.uy/c/document_library/get_file?p_l_id=6562&folderId=171440&name=DLFE-7228.pdf)
- 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. 286 p.