

El centro de saneamiento de Citrus de la EEAOC



El establecimiento y futuro de una industria cítrica viable y exitosa se basa en la calidad y sanidad del material de propagación. Los centros de saneamiento cumplen un rol clave en esta actividad ya que su objetivo principal es garantizar al sector productivo la disponibilidad de material de propagación cítrico con esas características.

La calidad genética implica años de trabajos de introducción del exterior y/o selección de materiales locales, la evaluación a campo, eligiendo los más productivos para una región determinada y finalmente, la liberación al medio productivo.



la introducción segura de germoplasma.

3. Programa de certificación oficial, que regula las introducciones y el uso del material de propagación, reglamentando el trabajo de los centros de saneamiento y controlando a los viveros. Puede ser de cumplimiento obligatorio o voluntario.

■ **1. Programa de producción de material de propagación de alta calidad genética y sanitaria.**

Estos programas se realizan en los centros de saneamiento y tienen como objetivo constituir una colección de plantas madres a partir de cultivares locales o introducidos que se destacaron en un largo proceso de selección. Estas plantas se obtienen por la técnica *in vitro* de microinjerto de ápices caulinares, que permite eliminar todas las enfermedades transmisibles por injerto y las plantas resultantes son idénticas a la planta de la que proceden. La metodología consiste en la injertación de un meristema apical de aproximadamente 0,15 mm con uno o dos primordios foliares en un portainjerto de catorce días de edad, cultivado *in vitro* y en la oscuridad (Navarro y col., 1980). Las plantas así obtenidas se mantienen en tubos de ensayos con medios de cultivo artificiales, hasta que alcanzan un tamaño apropiado

La calidad sanitaria se refiere a la ausencia de plagas y enfermedades. Dentro de estas últimas, las transmisibles por injerto, causadas por virus, viroides, micoplasmas y bacterias endógenas, pueden reducir la expectativa de vida o incluso matar los árboles; disminuir el tamaño de la fruta, la calidad y productividad; inducir problemas nutricionales; provocar problemas de incompatibilidad copa-portainjerto y limitar seriamente el uso de algunos de ellos. La dispersión de estas enfermedades se da fundamentalmente a través del material de propagación y su gravedad radica en que la única alternativa de manejo es preventiva: iniciar la plantación con material sano.

Para esto, son necesarios tres programas diferentes pero relacionados, en los cuales los centros de saneamiento cumplen un rol protagónico:

1. Programa de producción de material de propagación de alta calidad genética y sanitaria, a través

del saneamiento y verificación de la condición sanitaria de libre de patógenos; creación y mantenimiento de un banco de germoplasma de plantas madres con estos materiales, multiplicación y provisión de los mismos a los viveros.

2. Programa de cuarentena post entrada, para asegurar



Secuencia del saneamiento de cítricos por microinjerto de ápices caulinares.



Plantas madres cítricas fuente primaria de yemas certificadas.

para ser trasplantadas a maceta y llevadas a invernadero. La condición sanitaria de la planta microinjertada se verifica por indexaje con diferentes metodologías, a intervalos regulares para tener garantías de su sanidad en el tiempo. Los métodos de diagnóstico evolucionan permanentemente buscando mayor rapidez y sensibilidad y se pretende diagnosticar el mayor número de enfermedades posibles. También se realizan evaluaciones hortícolas para tener garantías de la identidad genética y que no haya ocurrido alguna mutación o variación en el proceso.

Finalmente se mantienen en un invernadero de acceso restringido y al resguardo de insectos vectores y se les realizan retesteos periódicos con el fin de verificar que se mantiene su condición sanitaria (Roistacher, 1988). Estas plantas son la fuente de yemas certificadas que se multiplican para poner a disposición de los viveros cítricos.

■ 2. Programa de cuarentena post entrada

Los centros de saneamiento en el país también son los organismos responsables de llevar a cabo la introducción segura de material de propagación. La

importación de nuevas selecciones clonales y/o nuevas variedades de cítricos es deseable como fuente de germoplasma adicional a los fines de mejoramiento, para salvar situaciones sanitarias específicas o como respuesta a la demanda de los nuevos mercados.

El procedimiento de cuarentena ha evolucionado a lo largo del tiempo y en la actualidad se basa en la recepción de las varetas yemas introducidas en un recinto cuarentenario habilitado, injertando las yemas en un portainjerto y/o forzándolas a brotar in vitro en una cámara de crecimiento. Los brotes obtenidos son microinjertados siguiendo la metodología de Navarro y col. ya mencionada y las plantas saneadas, así como el material original ingresado, son indexados para determinar la presencia de patógenos transmisibles por injerto. La liberación del material es realizada por la autoridad sanitaria nacional una vez comprobada la ausencia de patógenos, y con la certeza de que no constituye un riesgo para el país introductor.

■ 3. Programa de Certificación

Los programas de certificación garantizan el estatus sanitario y genético del material que se

va a multiplicar durante el proceso de propagación comercial en los viveros.

La certificación es realizada por un organismo oficial que valida la calidad del sistema y verifica que se cumpla con lo dispuesto en las normativas vigentes. Establece la autoridad legal, el sistema de fiscalización e inspecciones y las regulaciones sobre los viveros.

El mantenimiento de registros es una parte importante del programa ya que asegura la trazabilidad del sistema.

El esquema de certificación de los cítricos se estructura de manera similar en todos los países. Las pruebas biológicas y las evaluaciones hortícolas, que insumen mucho tiempo y son costosas, se realizan solamente al banco de germoplasma de las plantas madres saneadas, fuente de yemas para los bloques de multiplicación. De esta forma todas las plantas propagadas se benefician de la alta calidad hortícola y la ausencia de patógenos transmisibles por injerto, partiendo de los protocolos diseñados para asegurar la integridad del germoplasma.



Predio cuarentenario.

El Centro de Saneamiento de Citrus de la EEAOC



Laboratorio del Centro de Saneamiento de Citrus de la EEAOC.

El Centro de Saneamiento de Citrus de la EEAOC (CSC) creado en el año 2003 y habilitado por INASE a fines del 2004, se constituye como el segundo centro de saneamiento en el país.

Los trabajos se iniciaron con el saneamiento e indexaje de limoneros, por ser la principal especie cultivada en nuestra provincia. Luego se microinjertaron variedades de naranjos, pomelos, mandarinos e híbridos y finalmente los portainjertos y las variedades de interés científico o histórico. Las enfermedades de diagnóstico obligatorio que establece nuestra reglamentación son:

la tristeza, psorosis, caquexia, exocortis, cancrrosis y clorosis variegada de los cítricos. Las metodologías que se utilizan para los diagnósticos son las establecidas en las Normas de funcionamiento de los laboratorios de análisis para plantas cítricas de viveros y sus partes (Resolución N° 98/03 de INASE). El proceso completo desde el saneamiento hasta la finalización de los diagnósticos demanda entre dos a tres años y es un trabajo continuo. Luego, se realiza una plantación a campo de réplicas de las plantas saneadas para efectuar las evaluaciones hortícolas de identidad varietal y producción. Recién cumplido este paso, se

autoriza la multiplicación y entrega de yemas a los viveros. En el año 2016, el Centro de Saneamiento fue incorporado a la Red Nacional de Laboratorios de Ensayo y Diagnóstico de SENASA como el primer y único laboratorio del país en la categoría Fitosanitario. Rubro: diagnóstico de tristeza de los cítricos, viroides cítricos y psorosis de los cítricos. SENASA e INASE realizan inspecciones periódicas a los viveros y al Centro de Saneamiento para controlar el cumplimiento de las normativas establecidas.



Síntoma del virus de la tristeza de los cítricos en planta indicadora.



El equipo de trabajo

El equipo de trabajo está formado por profesionales de diferentes disciplinas: ingenieros agrónomos, técnico agropecuario y licenciado en biotecnología que participan de congresos y cursos de especialización, visitas y entrenamientos en importantes centros nacionales e internacionales, jornadas de capacitación, etc, que



Diagnóstico biológico en invernadero.





Vista de invernaderos del Centro de Saneamiento de Citrus.

contribuyen a la calidad del trabajo que se realiza en este centro.

■ Infraestructura

Desde la creación, con el sostenido apoyo económico del sector productivo, se incorporaron equipos e invernaderos para optimizar el trabajo y satisfacer la demanda de los citricultores. Los cinco invernaderos se destinan al mantenimiento de una colección de 48 plantas madres yemas de variedades copa y portainjertos y a la multiplicación de yemas certificadas en bloques de preincrementos. También se realiza en ellos la producción de plantas indicadoras y la ejecución de pruebas de diagnóstico biológico de enfermedades causadas por virus y viroides, para lo que se requieren condiciones controladas de temperatura. El laboratorio, diseñado según la normativa obligatoria vigente, permite la realización de todas las tareas de producción de plantas y diagnósticos moleculares y serológicos.

Para realizar el saneamiento, se cuenta con un flujo laminar y dos cámaras de crecimiento. Además, se dispone de un lector de microplacas de ELISA para los diagnósticos serológicos del virus de la tristeza de los cítricos

y *Xylella fastidiosa*, balanza analítica, centrifugas refrigeradas y sistemas de electroforesis para el diagnóstico molecular de viroides de los cítricos por s-PAGE (electroforesis secuencial en geles de poliacrilamida). El laboratorio tiene también un termociclador convencional y un sistema de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo real para detección por metodología complementaria de todas las enfermedades virales y viroidales de los cítricos mencionadas.

El CSC cumple con las exigencias vigentes en materia de salud y



Laboratorio del Centro de Saneamiento de Citrus.

seguridad y con las normas de funcionamiento exigidas a los laboratorios habilitados oficialmente.



Diagnóstico por PCR en tiempo real.

Servicios del CSC

Venta de semillas certificadas.

Se dispone de una colección de plantas madres semilleras, libre de enfermedades del grupo psorosis de los cítricos, con repetición del diagnóstico cada seis años. La creciente demanda de semillas determinó que en los años 2007, 2010, 2015 y 2016 se ampliaran las colecciones hasta un total de



Semilla certificada de portainjerto cítrico.

253 plantas de 18 variedades de portainjertos con un potencial de producción de alrededor de 500 kilogramos de semillas.



Venta de yemas certificadas.

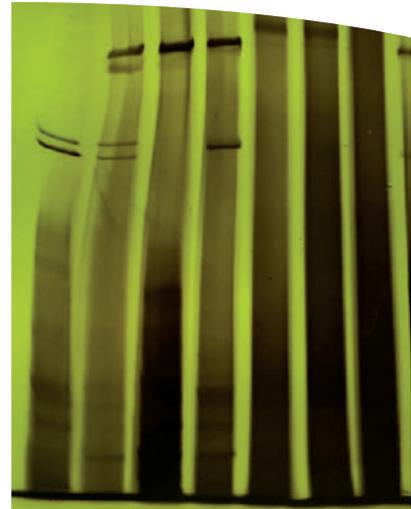
El CSC tiene un potencial de producción de aproximadamente 115.000 yemas de preincremento por año. Estas se destinan a los lotes de incremento de los viveristas para la producción de yemas para planta terminada. Es imprescindible una correcta planificación ya que la renovación de los lotes de preincremento se debe realizar cada 5 años, aumentando el número de plantas y cambiando las variedades para poder satisfacer la demanda, que crece sostenidamente.

Diagnóstico de virus y viroides.

El CSC efectúa el diagnóstico de enfermedades causadas por virus y viroides de los cítricos mediante métodos biológicos, serológicos y moleculares a solicitud de empresas y viveros. El CSC trabaja según las metodologías autorizadas, pero se actualiza incorporando métodos alternativos así como diagnósticos a otras enfermedades para dar mayores garantías de sanidad.

Diagnóstico de enfermedades del grupo psorosis de los cítricos a plantas cítricas semilleras.

Este diagnóstico se realiza por el método biológico cuya ejecución dura un año. El certificado de libre de psorosis es indispensable



Diagnóstico de viroides cítricos por electroforesis secuencial en gel de poliacrilamida.

para la inscripción de la planta en INASE para poder ser fuente de semillas certificadas. Si el resultado es positivo, las plantas deben ser eliminadas. Este servicio se inició en el año 2005 con 40 diagnósticos, número que se fue incrementando, logrando el último año la ejecución de 180 diagnósticos.



Lote de preincremento de yemas cítricas certificadas.





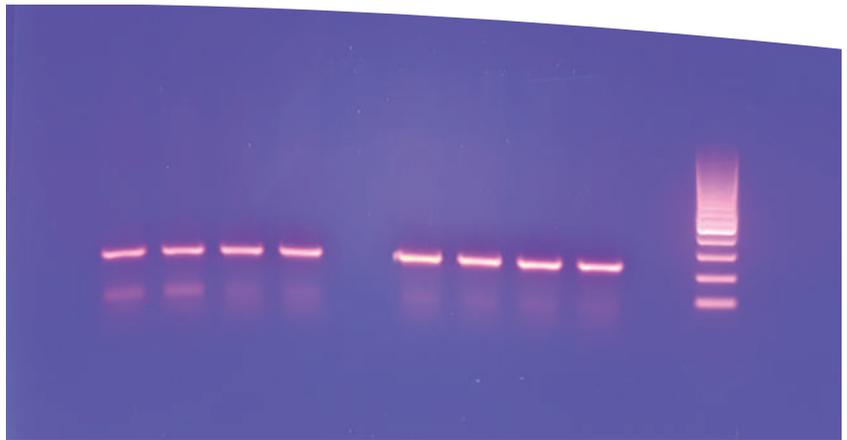
Diagnóstico biológico. Planta indicadora inoculada.

Saneamiento de variedades cítricas a solicitud de productores.

El CSC brinda el servicio de limpieza de variedades de cítricos mediante el microinjerto de ápices caulinares. El procedimiento es el mismo utilizado para el saneamiento de las plantas madres.

Cuarentena Vegetal post entrada (CPE).

En Argentina solamente se puede introducir material cítrico desde centros de saneamiento autorizados por SENASA. El CSC de la EEAOC cuenta con cuatro jaulas cuarentenarias habilitadas por la Dirección de Cuarentena Vegetal del Senasa (DCV) y el servicio se brinda desde el 2012.



Gel de poliacrilamida de diagnóstico por RT-PCR.

Se dispone del equipamiento y las metodologías necesarias para garantizar la introducción segura de germoplasma cítrico. Se trabaja de manera similar a lo descrito para la limpieza de variedades, y una vez obtenido el microinjerto se elimina el material vegetal ingresado. Durante el período que dura la CPE, inspectores cuarentenarios habilitados efectúan como mínimo 4 inspecciones anuales ante la posible detección de síntomas o signos de plagas cuarentenarias. Cumplido el período, con las inspecciones mínimas efectuadas y los análisis obligatorios con resultados negativos, la DCV evalúa su finalización y en caso de corresponder procede a la liberación del material.

Investigación. Además de los servicios, el CSC tiene varias líneas de investigación que comprenden trabajos de identificación y caracterización de las enfermedades transmisibles por injerto presentes en nuestra región: virus de la tristeza

y psorosis de los cítricos y viroides de los cítricos. Esto complementa al servicio y es fundamental para el conocimiento de los patógenos presentes, su distribución y la agresividad o severidad de los mismos. Los trabajos se realizan por metodologías tradicionales y se complementan con técnicas de última generación, siendo destacable el trabajo conjunto con investigadores de otras provincias y otros países.



Conclusiones

La sustentabilidad y rentabilidad del cultivo de los cítricos se basa en la calidad de su material de propagación. La labor del Centro de Saneamiento da continuidad, con técnicas actualizadas, a las actividades que la EEAOC ha realizado desde su creación en esta materia y que han contribuido sustancialmente al

posicionamiento que la actividad ha logrado a nivel nacional y mundial.

Bibliografía citada

Navarro, L., J. Juárez, J. F. Ballester, and J. A. Pina. 1980. Elimination of some citrus pathogens producing psorosis-like leaf symptoms, by shoot-tip grafting in vitro. In: Proc. 8th Conf. IOCV, 162-166. IOCV, Riverside, CA., USA.

Resolución N° 149/98 de SAGPyA.

Normas para la producción, Comercialización e Introducción de Plantas Cítricas de Vivero y sus Partes.

Resolución N° 98/03 de INASE.

Normas de funcionamiento de los laboratorios de análisis para plantas cítricas de viveros y sus partes.

Roistacher, C.N. 1988. Concepts in the detection and control of citrus virus and virus like diseases. Proc. VI Int. Citrus Congress. 853-862.



Hay mercados Cuidémonos del HLB Cuidemos nuestra citricultura

Presencia
internacional
y apertura de
nuevos mercados

Preservación
de la calidad
y la inocuidad
fitosanitaria

Mejores
prácticas
agronómicas
e industriales

Mejoras del
marco legal y
condiciones
laborales

Relacionamiento
y cooperación
interinstitucional

Monteagudo 492
1er Piso Of. A - T4000ICJ
S.M. de Tucumán
Tucumán | Argentina
Tel: (0381) 421 2969 - 422 4983
Fax: (0381) 421 4611



ACNOA
ASOCIACIÓN CITRÍCOLA DEL NOROESTE ARGENTINO