

El Servicio Nacional de Certificación de Plantas de Cítricos

II. Reactivación, una propuesta institucional

Edmundo E. Monteverde
Ezequiel Rangel

Investigadores. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
Maracay, estado Aragua. Venezuela.
E-mails: emonteverde@cantv.net; 2ezequiel_r@yahoo.com

La certificación de plantas cítricas en Venezuela pasó por varias etapas, la primera de ellas condujo hacia el trabajo de investigación mencionado en el número anterior y dio origen al material seleccionado por la producción y calidad de los frutos, base de la citricultura actual. Las etapas posteriores fueron las siguientes: la certificación de plantas a partir de yemas colectadas en árboles registrados y bloques de propagación; la certificación con yemas provenientes de bloques de propagación establecidos en el Campo Experimental del Ceniap; la suspensión del Servicio de Certificación; y, finalmente, la propuesta de un nuevo esquema para su reactivación. En los próximos párrafos se especifican cada una de estas etapas.

La certificación de plantas a partir de yemas colectadas en árboles registrados y bloques de propagación

Cuando se comenzó a trabajar en la investigación que condujo a la producción del material cítrico “libre de virus”, se estableció un esquema de producción que comprendía la preselección y selección de los árboles candidatos (Figura 1), lo cual hacía suponer que se iban a obtener árboles libres de tristeza, psorosis, concavidad gomosa, exocortis y cachexia.

En árboles libres de estos patógenos se haría una primera propagación de cinco plantas en vivero, que posteriormente se plantarían en el “bloque de fundación”. Sin embargo, sólo un árbol de naranjo ‘California’ (WN6A0205) apareció libre de los patógenos mencionados. El material infectado proveniente de los 22 árboles seleccionados se sometió a la microinjertación de ápices *in vitro*

para la exclusión de virus y viroides. El material sano obtenido a través de esa metodología fue propagado una vez y luego sembrado en el bloque de fundación. A partir del bloque de fundación se formaron “los bloques de árboles madres registrados”, los cuales se establecieron en los viveros participantes en el servicio.

El número de plantas por especie o cultivar y por bloque de árboles registrados, dependía de los requerimientos del viverista, pero generalmente fue de 50. Las plantas certificadas se producían directamente del bloque de árboles madres registrados o de un bloque de propagación, que eran huertos transitorios por un período máximo de tres años, plantados a campo abierto a una distancia de 1 x 0,5 metros e injertados sobre limonero ‘Volkameriano’. Con un buen mantenimiento estos huertos eran capaces de producir 100 yemas por planta durante el primer año, lo que significó que un bloque de propagación de 100 plantas tendría un potencial para producir 10.000 yemas durante el primer año.

Las pruebas de virus y viroides se hicieron para los árboles candidatos, mientras que los microinjertos producidos *in vitro* tenían el objetivo de confirmar que estaban “libres de virus”, según el esquema presentado en la Figura 1. En el bloque de fundación la única prueba que se repitió anualmente fue la de tristeza, porque no se llegó a los tiempos establecidos para las otras pruebas. El grupo de plantas indicadoras utilizado para las pruebas biológicas aparece en el Cuadro 1. Es de observar que el tiempo de aparición de los síntomas es producto del trabajo de investigación efectuado bajo nuestras condiciones.

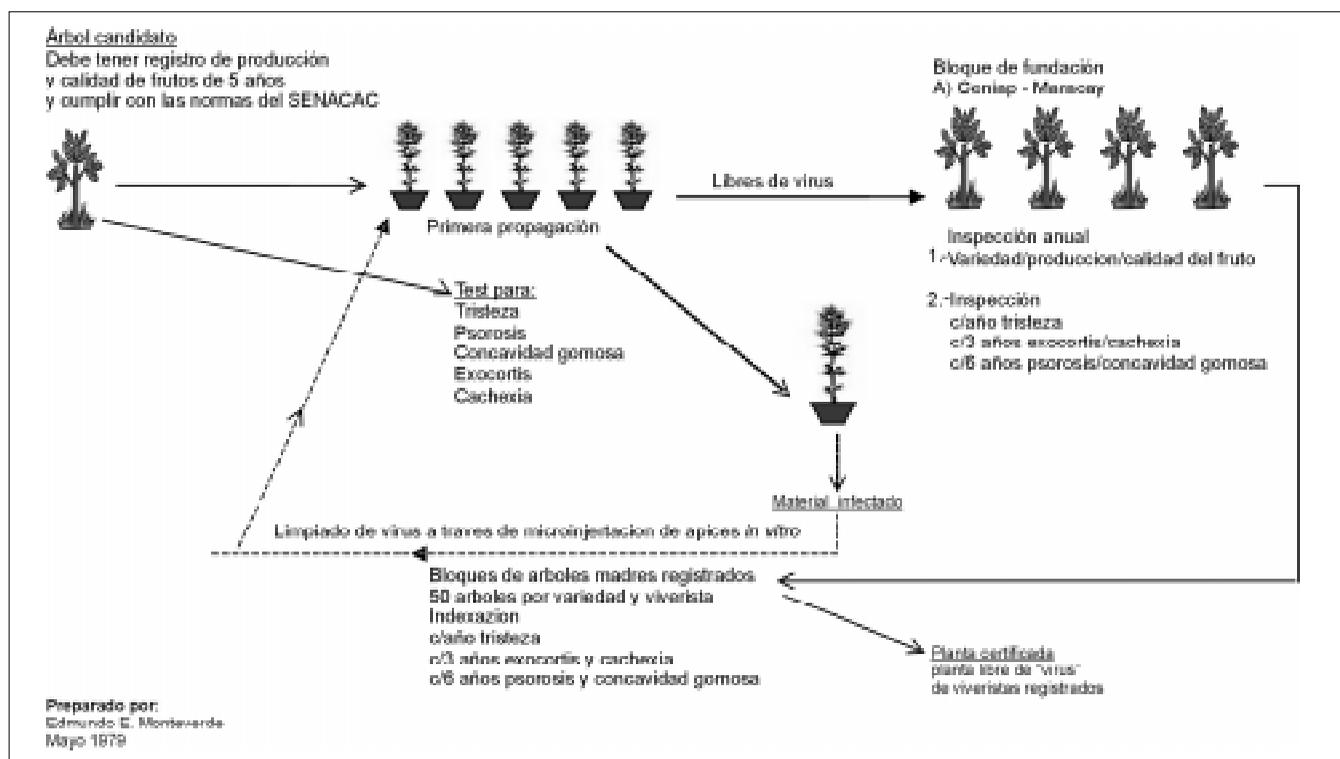


Figura 1. Registro y certificación de plantas cítricas libres de virus. Esquema de producción - Fonaip - Ceniap - SENACAC

Cuadro 1. Programas de plantas indicadoras del Servicio Nacional de Certificación de Plantas de Cítricas (SENACAC). Fonaip-Ceniap. Diciembre 1984.

Enfermedad	Plantas indicadoras	Síntomas	Tiempo de aparición de síntomas después de la inoculación.
Tristeza	Plántulas de limón 'Criollo' <i>Citrus aurantifolia</i>	Aclarado de las nervaduras secundarias, suberización o acorchado de las nervaduras y acoplamiento-amarillamiento de las hojas.	30 - 97 días.
Psorosis/concauidad gomosa	Plántulas de naranjos dulces 'Hamlin', 'Madam Vinous' y de tangor 'Dweet'.	Aclarado de las nervaduras secundarias (flecking) de las hojas. Manchas amarillas a lo largo de la vena principal de la hoja formando la silueta de una hoja de roble (oak leaf).	6 - 9 semanas.
Exocortis y otros viroides	Cidro 'Ethrog' injertado sobre <i>Citrus volkameriana</i> .	Epinastia de severidad variable, rugosidad y necrosado de la vena principal de la hoja y ápice de color marrón oscuro. Reducción del crecimiento de la planta, etc.	9-16 semanas.
Cachexia	Mandarino 'Parson's Special' injertado sobre <i>Citrus volkameriana</i> . Plántulas de tangelo 'Orlando'.	Formación gomosa a nivel de la línea de injerto. Amarilleo generalizado de las hojas, protuberancias en la cara interna de la corteza, depresiones en la madera, ambas caras impregnadas de goma.	1-2,5 años. 2-2,5 años.

La certificación de plantas a partir del bloque de propagación establecido en el Ceniap

En un momento dado se presentó la dificultad de que al final del proceso de certificación y en el momento de colocar la etiqueta, los viveristas inscritos en el servicio eludían el pago por el derecho de la certificación. Por esta razón, se decidió la siembra de bloques de propagación en el Campo Experimental del Ceniap, lugar donde se colectaban las yemas para la certificación. El viverista pagaba el derecho por certificación en el momento que se le entregaban las yemas y las etiquetas se colocaban cuando estaban listas para la venta. Este procedimiento permitió controlar el número de plantas certificadas, pero los viveristas que tenían bloques de árboles registrados siguieron produciendo plantas a partir de éstos, sin ningún control del proceso y expuestos a la contaminación.

La suspensión del servicio de certificación

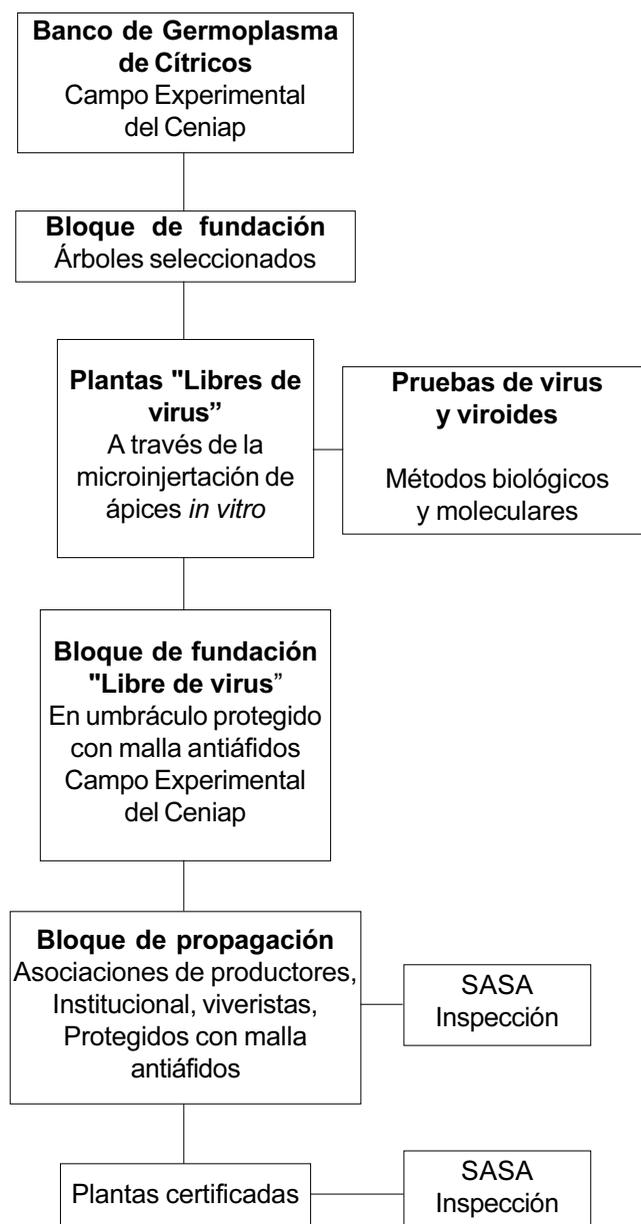
Las pruebas para detectar la presencia del virus de la tristeza en el bloque de fundación se hicieron anualmente, usando el método biológico. Se observó que en todo el bloque de fundación estaba presente el virus, aunque los árboles no mostraron un decaimiento visible, no se observaba un crecimiento vigoroso si se considera que el bloque está injertado sobre citrange 'Carrizo', el cual es un porta-injerto que induce un crecimiento vigoroso. En vista de esta situación y como para el momento de haberse presentado la alerta no se disponía de los medios para demostrar con precisión qué raza del virus estaba presente, se decidió enviar a Florida, USA (Nokomis Corp.) muestras de cada uno de los árboles presentes en el bloque de fundación.

Los resultados mostraron que el bloque de fundación estaba infectado con razas severas del virus. Además, se le entregaron muestras al azar de los árboles al profesor Francisco Ochoa del Departamento de Botánica de la Facultad de Agronomía de la UCV, quien a través del método biológico, usando limón 'Criollo', confirmó la presencia de razas severas del virus de la tristeza. Inmediatamente, en el primer semestre de 1994 se les pasó una carta a cada uno de los 20 viveristas que en ese momento estaban inscritos y activos, participándoles la suspensión del servicio para evitar que se continuaran propagando razas severas del virus.

La propuesta de un nuevo esquema para la reactivación del SENACAC

El nuevo esquema que se propone consiste en que los árboles que conforman el bloque de fundación, ubicados en el banco de germoplasma de cítricos del Ceniap (Figura 2), se microinjerten nuevamente para limpiarlos del virus de la tristeza y de cualquier otro virus o viroide, con los que pudiesen estar contaminados (psorosis, exocortis, cachexia).

Figura 2. Esquema propuesto para la producción y certificación de plantas cítricas. Agosto de 2000.



Las plantas microinjertadas se injertarán sobre limón 'Cravo' y serán sometidos a las pruebas de virus y viroides por medio de métodos biológicos y moleculares (Cuadro 2). Al comprobarse que están libres de tristeza, psorosis, exocortis y cachexia se multiplicarán en número de 2 - 10 por especie, cultivar o selección, dependiendo de la demanda, para formar el bloque de fundación libre de virus (BFLV), el cual se ubicará en un umbráculo protegido con una malla antiáfidos en el Campo Experimental del Ceniap. En lo sucesivo, en este artículo se utilizará el término "virus" con carácter genérico, para hacer referencia a las enfermedades transmisibles por injertos, causadas por virus y viroides específicamente.

A partir del BFLV se producirán los "bloques de propagación" y las "plantas certificadas" bajo la inspección del Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria, SASA. Los bloques de propagación serán sembrados a una distancia de 1 x 0,5 metros, con un carácter transitorio máximo de tres años, con la recomendación de que se establezcan con la protección de malla antiáfidos. Estos bloques serán manejados por los viveristas, de acuerdo con un conjunto estricto de normas y prácticas agroeconómicas que les serán impartidas como capacita-

ción, cumpliendo con el requisito de experticia para asegurar los niveles óptimos de funcionamiento y control de calidad, y estarán supervisados periódicamente por el personal del SASA.

El programa de producción de plantas cítricas "libres de virus" es costoso y requiere personal bien entrenado para su manejo. Fundamentalmente, las instancias oficiales y los gremios de productores deben entender que el apoyo económico es vital para su funcionamiento, sin limitaciones y con una capacidad de respuesta inmediata. Sin embargo, a veces no es fácil obtener los recursos suficientes o de manera oportuna.

El personal del SASA podría ser entrenado en el INIA para el manejo rutinario de las técnicas de muestreo y diagnóstico, o como inspectores fitosanitarios podrán tomar muestras representativas de los bloques de propagación y trasladarlas a los laboratorios de servicio del INIA u otra institución acreditada para realizar el diagnóstico fitosanitario, utilizando protocolos estandarizados. Asimismo, la necesidad de producir y sembrar plantas certificadas (identidad genética y estado fitosanitario garantizado) provenientes de árboles de reconocida productividad y calidad del fruto debe ser internalizada por viveristas y citricultores.

Cuadro 2. Programa propuesto para la detección de virus y viroides por parte del Servicio Nacional de Certificación de Plantas de Cítricos (SENACAC), agosto 2000.

Enfermedad	Método biológico	Método molecular
Tristeza	Plántulas de limón o limerero 'criollo' <i>Citrus aurantifolia</i>	a) Genérico: DASI-ELISA con anticuerpos monoclonales 3CA5 y 3DF1 b) Específico: DASI-ELISA con anticuerpos monoclonales raza severa: MCA-13 raza débil: 4G12.
Viroides	a) Plántulas de cidro 'Ethrog' b) Plántulas de mandarina 'Parson's Special'/ <i>Citrus volkameriana</i> , tangelo 'Orlando'	a) Electroforesis secuencial en gel de poliacrilamida (SPAGE) b) Transcripción reversa - Reacción en cadena de polimerasa (RT-PCR). c) Hibridación de ARN-ARN y/o ADN-ARN
Psorosis/concavidad gomosa	a) Plántulas de naranjo 'Hamlin' y 'Pineapple' b) Plántulas de tangor 'Dweet'.	a) Genérico: DASI-ELISA con anticuerpos monoclonales.

Fuente: Senacac. Agosto 2000.

Asumir la utilización de plantas certificadas les significará mayores beneficios económicos, como lo demuestran de manera contundente los índices de calidad y producción por planta, referidos en la primera parte de este trabajo. Al mismo tiempo, la industria cítrica puede colocarse en una posición competitiva, no sólo para el mercado nacional sino también para el mercado de exportación.

Es importante señalar que en el INIA se han logrado avances significativos, no sólo en la recuperación de la planta física indispensable para cobijar la élite del material cítrico seleccionado en el bloque de fundación que será microinjertado, sino también en la modernización del equipamiento y validación de varios de los protocolos requeridos para realizar el control de calidad fitosanitario al proceso de certificación, el cual se aspira se haga realidad en un tiempo razonablemente corto.

Finalmente, es necesario promover en todo el país un amplio debate acerca de la necesidad de cambio en varios aspectos, con énfasis en la legislación y en la mentalidad para manejar el cultivo, sobre cuáles serán las estrategias a seguir para la replantación, considerando la complejidad de la situación actual y considerar la sostenibilidad financiera del servicio que garantizará el éxito de la citricultura venezolana del siglo XXI.

Bibliografía

- Bridges, G. D.; Youtsey, C. O.; Nixon, R. R. 1965. Observations indicating psorosis transmission by seeds of Carrizo citrange. Proc. Florida State Hort. Soc. 78: 48-50.
- Cameron, J. W.; Soosts, R. K. and Frost, H. B. 1959 The horticultural significance of nucellar embryony in citrus. In: J. M. Wallace (ed). Citrus virus diseases. Univ. Calif. Div. Agric. Sci., Berkeley.
- Childs, J. F. L. 1950. The cachexia disease of Orlando tangelo. Plant Dis. Repr. 4 (10): 295-298.
- Childs, J. F. L. and Johnson. 1966. Preliminary report of seed transmission of psorosis virus. Plant Dis. Repr 50: 81-83.
- Estrada, T. A. y Malaguti, G. 1972. Anomalías de la lima 'Tahiti' (*Citrus latifolia* Tanaka), debidas a exocortis. Rev Fac. Agron. 4(4):75-78.
- Fawcett, H. S. 1933. New symptoms of psorosis indicating a virus disease of citrus. Phytopathology 23: 930.
- Fawcett, H. S. and Bitancourt, A. 1943. Comparative symptomatology of psorosis varieties on citrus in California. Phytopathology 33 (10): 837-864.
- Ferguson J. J. and Timmer, L. W. 1987. Phytophthora diseases of citrus. Florida Citrus Integrated Pest and Crop Management Handbook, J. L. Kapp (ed.). Univ. Florida. Coop. Ext. Serv. IFAS, Univ. Florida Press. Gainesville, Florida. p. IX-1 to IX-8.
- Ferguson, J. J. and Garnsey, S. M. 1987. Citrus and viruslike diseases. Florida Integrated Pest and Crop Management Handbook, J. L. Kapp (ed.). Univ. Florida. Coop. Ext. Serv. IFAS, Univ. Florida Press. Gainesville, Florida. p. XIV-1 to XIV.
- FONAIAP. 1983. Base legal del Servicio Nacional de Certificación de Plantas Cítricas. Carta Agrícola. N° Extraordinario. 6 p.
- Knorr, L. C.; Malaguti, G. y Serpa, D. 1960. Descubrimiento de la tristeza de los cítricos en Venezuela. Agronomía Tropical 10 (1): 3-12.
- Lopez, M. A. 1971. Enfermedades virosas de las cítricas. Consejo de Bienestar Rural (CBR), Caracas. 53 p.
- Malaguti, G. 1962. Los virus de las cítricas y la certificación de yemas. Ministerio de Agricultura y Cría (MAC), Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA), Maracay. Circular N° 15. 16 p.
- Mendt, R. 1988. Present and future of Venezuelan citriculture. Proc. 6th. Intern. Citrus Cong. 4: 1625-1629.
- Monteverde, E. E.; García, M. L. y Briceño, M. 1986. Obtención de plantas cítricas libres de psorosis y exocortis en árboles infectados a través de la microinjertación de ápices *in vitro*. Agronomía Tropical 36 (4-6): 5-14.
- Monteverde, E. E.; Rondón, A. y Figueroa, M. 1977. Proyecto de certificación de árboles cítricos como fuente de yemas libre de virus. Ministerio de Agricultura y Cría, Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Programa Nacional de Frutales. Maracay, Ven. 20 p.
- Monteverde, E. E.; Ruíz, J. R. y Espinoza, M. 1984. Observaciones preliminares sobre razas del virus de la tristeza presentes en Venezuela. Agronomía Tropical 34 (1-3): 189-198.
- Monteverde, E. E.; Delgado, L.; Espinoza, M. y Ruíz, J. R. 1980. Sintomatología del virus de la psorosis en el cultivar de naranja Hamlin (*Citrus sinensis* Osb),

- bajo condiciones controladas de cámara de crecimiento. *Fitopatología* 15 (1): 73-77.
- Monteverde, E. E.; Espinoza, M. y Ruíz, J. R. 1992. Evaluación de psorosis-concave gum, exocortis y cachexia-xyloporosis en árboles de naranjo dulce en los valles altos de Carabobo-Yaracuy, Venezuela. *Agronomía Tropical* 42 (3-4): 137-149.
- Monteverde, E. E.; Espinoza, M. y Ruíz, J. 1981. Síntomas de tristeza en plantas de limón criollo *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing., usadas como indicadores del virus. *Agronomía Tropical* 31(1-6): 69-79.
- Monteverde, E. E.; Espinoza, M. y Ruíz, J. 1985. Identificada la xyloporosis de los cítricos en Venezuela con plantas indicadoras. *Agronomía Tropical* 35 (1-3): 173-176.
- Navarro, L. 1981. Shoot tip grafting *in vitro* (STG) and its applications: A review. *Proc. Intern. Soc. Citriculture* 1: 452-456.
- Navarro, L.; Roistacher, C. N. and Murashige, T. 1975. Improvement shoot tip grafting *in vitro* for virus free citrus. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 100 (5): 471-472.
- Plaza, G.; Lastra, G. y Martínez, J. E. 1984. Incidencia del virus de la tristeza de los cítricos en Venezuela. *Turrialba* 34 (2): 125-128.
- Rangel, E.; Cuello de Uzcátegui, R.; Ascanio, M.; Centeno, F. y Ruíz, J. 2000. Incidencia del virus de la tristeza de los cítricos en algunas localidades de los Estados Aragua, Carabobo y Yaracuy, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 13: 19-21.
- Reyes, F. J. 1988. Informe anual. FONAIAP-CENIAP-IIA. 20 p.
- Reyes, F.; Monteverde, E. E. y Laborem, G. 1992. Programa de certificación de plantas cítricas en Venezuela. *FONAIAP Divulga* 41: 7-9.
- Roistacher, C. N.; Gumpf, D. J.; Nauer, D. M. and Gonzalez, R. 1983. Cachexia disease, virus or viroid. *Citrograph*. 68 (6): 111-113.
- Roistacher, C. N.; Navarro, L. and Murashige, T. 1976. Recovery of citrus selections free of several virus, exocortis viroid and spiroplasma citrus by shoot tip grafting *in vitro*, 186-193. *Proc. 7th. Conf. IOCV.* Riverside, California.
- Roistacher, C. N.; Blue, R. and Calavan, E. C. 1973. A new test for citrus cachexia. *Citrograph*. 58 (7): 261-262.
- Roistacher, C. N.; Blue, R. L.; Calavan, E. C.; Navarro, L. and Gonzalez, R. 1977. A new sensitive citron indicator for detection of mild isolates of citrus exocortis viroid (CEV). *Plant Dis. Repr.* 61: 135-139.
- Rondón, A.; Angeles, N. y Leal, F. La petrificación de los cítricos en Venezuela. *Agronomía Tropical* 29 (1): 131-134.
- Salibe, A. A. and Moreira, S. 1965. Seed transmission of exocortis virus. p. 197-200, In: W. C. Price (ed.). *Proc. 3d. Conf. IOCV.*
- Semancik, J. S. 1976. Citrus exocortis disease 1965 to 1975. In: E. C. Calavan (ed.), *Proc. 7th. Conf. IOCV.* Riverside, California. p.79-89.
- Semancik, J. S.; Roistacher, C. N. and Duran-Vila, N. 1988. A new viroid is the causal agent of citrus cachexia disease. In: Timmer, L. W.; Garnsey, S. M. and Navarro, L. (eds.), *Proc. 10th. Conf. IOCV.* Riverside, California. p. 125-135
- Smith, P. F.; Garnsey, S. M. and Grant, T. J. 1973. Performance of nucelar Valencia orange trees on Rough lemon stock when inoculated with four viruses. *I Cong. Mundial Citricultura* 2:589-594.
- Wallace, J. M. 1987. Virus and virus-like disease. The Citrus Industry 4: 67-184. Reuther, W.; Calavan, E. C. and Carman, G. E. (eds.) Univ. California, Div. Agr. Sc. Berkley, California.
- Weathers, L. G. and Calavan, E. C. 1959. Nucellar embryony. A mean of freeing citrus clones of virus, 197-202. In: Wallace, L. M. (ed.). *Citrus Virus Diseases.* Univ. Calif. Div. Agric. Sci. Berkeley.



Enfermedades bacterianas transmitidas por insectos en cultivos de importancia agrícola

Nancy Boscán de Martínez
Yolanda Guevara M.



Establecimiento, manejo y recuperación de pasturas en sabanas bien drenadas