



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN PROTECCIÓN VEGETAL

**EL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS
CÍTRICOS: SITUACIÓN EN MÉXICO Y
ESTRATEGIAS PARA SU MANEJO**

T E S I S



QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN CIENCIAS

EN PROTECCIÓN VEGETAL

BIBLIOTECA CENTRAL U. A. C.
PRESENTA:

JUAN CARLOS GONZÁLEZ COUTIÑO



CHAPINGO, MÉXICO.

JUNIO 2001

Bib. 95874

El Virus de la Tristeza de los Cítricos: situación en México y estrategias para su manejo.

Tesis realizada por **JUAN CARLOS GONZÁLEZ COUTIÑO**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

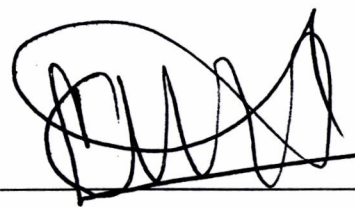
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

Director:



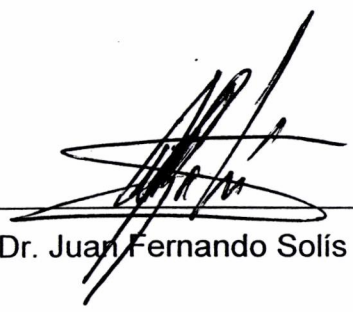
M.C. Francisco Ponce González

Asesor:



M.C. Cecilio Mendoza Zamora

Asesor:



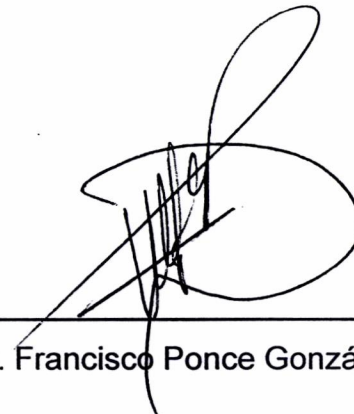
Dr. Juan Fernando Solís Aguilar

A- 38362

El Virus de la Tristeza de los Cítricos: situación en México y estrategias para su manejo.

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de Juan Carlos González Coutiño, autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, estuvo constituido por:

Presidente:



M.C. Francisco Ponce González

Asesor:



M.C. Cecilio Mendoza Zamora

Asesor:



Dr. Juan Fernando Solís Aguilar

DEDICATORIAS

A MI MADRE:

Por haberme traído a esta vida, por cuidarme y preocuparse por mí, por sus consejos y apoyo incondicional, gracias a lo cual he llegado a ser lo que soy, aunque desafortunadamente no haya podido ver el termino de esta meta. Con todo mi amor.

A MI ESPOSA E HIJOS:

Elsa Martínez, Juan Carlos, Nidia Dominga e Isaac. Porque se han convertido en lo más importante de mi vida y en el motivo principal para vivir y superarme.

A MIS PADRES Y HERMANOS: Belarmino González, Joel, Jesús, José Alberto, Martha Patricia, Miguel Angel, Margarito y Jonattan. Por su cariño de padre y de hermanos, y porque hemos compartido los buenos y los malos momentos de la vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo y en particular al Departamento de Parasitología Agrícola, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría.

A la Dirección General de Sanidad Vegetal, particularmente al Dr. Francisco Javier Trujillo Arriaga y al Dr. Luis Alberto Aguirre Uribe, por permitirme el tiempo para realizar mis estudios, así como el acceso a la información para desarrollar mi tesis.

De manera muy especial, al Ing. Jorge Armando Cárdenas Morales, quien en todo momento me brindó su apoyo incondicional para obtener este grado académico, y porque me dio la oportunidad de alcanzar mi superación laboral y profesional.

Al M.C. Francisco Ponce González, por su atinada dirección del presente trabajo, así como por las sugerencias y tiempo dedicado a su revisión.

Al M.C. Cecilio Mendoza Zamora y al Dr. Juan Fernando Solís Aguilar, porque aceptaron formar parte del Comité Asesor, así como por la revisión del presente trabajo.

Al Ing. Filiberto Nieves Ordaz, quien en todo momento estuvo disponible para brindarme información y sugerencias sobre el tema de esta tesis.

A los Ing. Martín Ramírez del Angel y Pedro Luis Robles García, por facilitarme información sobre la campaña contra el Virus de la Tristeza de los Cítricos.

A Mónica Kathereen Bauer Agundis, por su valioso apoyo en la captura de la información.

A las Ing. Ana Laura Ortiz y Adriana Rodríguez, por su ayuda en la parte final del presente trabajo.

De manera muy especial, a la Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria.

DATOS BIOGRÁFICOS

Juan Carlos González Coutiño nació en Frontera Hidalgo, Chiapas, el 24 de Octubre de 1971, cursó estudios a nivel primaria en la escuela Ángel Albino Corzo, nivel secundaria en la escuela José López Portillo, ubicadas en Frontera Hidalgo y a nivel bachillerato en el Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 60, en Ciudad Hidalgo, Chiapas.

Ingresa a la Universidad Autónoma de Chapingo en 1988 y egresa en 1993, con el título de Ingeniero Agrónomo especialista en Parasitología Agrícola, como el mejor alumno de su generación.

Se ha desempeñado como Consultor Técnico en la Dirección General de Sanidad Vegetal, participando en la formulación, análisis y actualización de programas de trabajo y normatividad de los Organismos Auxiliares de Sanidad Vegetal, además de dar seguimiento a Convenios de Concertación Fitosanitarios. También ha sido Secretario Técnico de la Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria, donde proporcionó asistencia directa y seguimiento de acuerdos y compromisos del Director General, y diseñó estrategias de trabajo para la atención de asuntos de competencia de dicha Dirección.

Actualmente ocupa el puesto de Subdirector de Cordones Cuarentenarios Fitozoosanitarios Sur, Istmo y Peninsular, donde ha establecido lineamientos y estrategias generales para la operación de los Puntos de Verificación Interna que conforman los Cordones Cuarentenarios en los cuales se vigila la movilización de animales, vegetales, sus productos y subproductos.

Ha participado como ponente en diversos foros con temas relacionados con la normatividad y protección fitosanitaria e impartido cursos de capacitación al respecto.

RESUMEN

El virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC), es una enfermedad de gran importancia, principalmente en plantaciones injertadas sobre naranjo agrio *Citrus aurantium* L., su dispersión se favorece por la presencia del pulgón café *Toxoptera citricida* Kirkaldy, considerado el vector más eficiente. En México se han tenido detecciones de la enfermedad, lo cual aunado al alto porcentaje de cítricos injertados sobre naranjo agrio (85-90%) y la detección de brotes del vector en la península de Yucatán, representa un alto riesgo para la citricultura nacional.

La presente investigación tuvo la finalidad de realizar la caracterización y análisis de la situación actual del VTC en México, establecer un marco referencial para la producción de material certificado libre del virus y proponer algunas estrategias para su manejo, apoyándose en cuatro fases que fueron: revisión de literatura, asistencia a talleres y cursos, participación en la elaboración y revisión de documentos sobre la enfermedad, y revisión de análisis de avances y resultados de la campaña contra el VTC.

Se describen las acciones que se realizan en México, en el contexto de la campaña implementada por el Gobierno Federal; se describe la metodología de muestreo, lo cual es muy importante para detectar la presencia de la enfermedad; se proponen algunas acciones de continuidad a la campaña, como la integración de un Comité Nacional, la contratación y entrenamiento de personal, fomentar la investigación, detección de razas de tristeza, organización de un programa de registro y certificación y el establecimiento de una estación cuarentenaria en base a cultivo de tejidos.

Además, se describen algunos métodos de manejo y control de la enfermedad, con base a su incidencia y distribución, de manera destacada la protección cruzada y la ingeniería genética. Asimismo, se establecen los lineamientos generales para establecer un programa de certificación de material propagativo.

Palabras clave: caracterización, vector, acciones, certificación, investigación.

ABSTRACT

Citrus Tristeza Virus (CTV), is a very important disease, mainly in plantations grafted on bitter orange trees (*Citrus aurantium*), its dispersion is increased by the presence of the brown aphid (*Toxoptera citricida*), which is considered the most efficient vector. In Mexico, the disease has been already detected, which combined to the high percentage of citrus grafted on bitter orange trees (85-90%) and the detection of some population of the vector in the Yucatan Peninsula, represents a high risk for the citrus industry. The present investigation had the purpose of making the characterization and the analysis of the current situation of Citrus Tristeza Virus in Mexico, the establishment of a referential for the production of material certified free of CTV and suggest some strategies for its handling, working on four phases that were: revision of documents, attendance to factories and courses, participation in the processing and revision of documents related to the disease, and results of the campaign against the CTV. In the context of the campaign, implemented by the official Plant Health General Directorate, actions are being made such as taking samples and checking the vector, training the staff and spreading news. Some methodologies of sampling are described, which is very important to detect the presence of the disease, some actions of continuity to the campaign are suggested, like the integration of a National Committee, the hiring and training of personnel in order to foment the investigation, detection of tristeza races, the organization of a certification program and the establishment of a station of quarantine. In addition, some handling methods and control of the disease are described in accord with their incidence and distribution, in remarkable way the crossed protection and genetic engineering. Also, the general procedures are settle down to establish a program of certification of new breeding material.

Key words: characterization, vector, actions, certification, investigation.

Contenido

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. METODOLOGÍA.....	4
2.1 Revisión de la bibliografía.....	4
2.2 Asistencia a talleres y cursos.....	4
2.3 Participación en la elaboración y revisión de documentos relacionados con la enfermedad.....	5
2.4 Revisión de resultados y avances de la campaña.....	5
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1 La citricultura en México.....	6
3.2 La enfermedad conocida como Tristeza de los Cítricos (VTC).....	7
3.2.1 Agente causal.....	7
3.2.2 Origen.....	10
3.2.3 Confirmación.....	10
3.2.4 Hospederas.....	11
3.2.5 Sintomatología.....	12
3.2.6 Distribución.....	15
3.2.7 Transmisión y dispersión.....	17
3.2.8 Importancia económica.....	21
3.3 La Campaña contra el VTC en México.....	23
3.3.1 Muestreo y diagnóstico.....	23
3.3.2 Control legal.....	26
3.3.3 Certificación de material propagativo de cítricos.....	27
3.3.4 Capacitación.....	28
3.3.5 Divulgación.....	28

IV. RESULTADOS.....	29
4.1. Metodologías de muestreo para el VTC.....	29
4.1.1 Consideraciones generales.....	29
4.1.2 Los métodos de muestreo.....	29
4.1.3 Marcado y ubicación de las plantas a muestrear.....	30
4.1.4 Cantidad de muestras.....	30
4.1.5 Etiquetado de las muestras.....	30
4.1.6 Toma de muestras.....	32
4.1.7 Preparación de muestras.....	32
4.1.8 Datos de envío.....	33
4.1.9 Envío de muestras.....	33
4.2. Primeras detecciones del VTC en México.....	33
4.3. Resultados de la campaña.....	36
4.3.1. Presupuesto.....	36
4.3.2 Muestreo.....	38
4.3.3 Capacitación.....	40
4.3.4 Monitoreo del vector.....	40
4.3.5 Divulgación.....	40
4.4 Propuestas de continuidad de la campaña.....	41
4.4.1 Organización de un Comité Nacional.....	41
4.4.2 Contratación y entrenamiento de personal.....	41
4.4.3 Fomento de la investigación.....	43
4.4.4 Detección de razas de tristeza.....	42
4.4.5 Organización de un programa de registro y certificación.....	45
4.4.6 Establecimiento de una estación cuarentenaria basándose en cultivo de tejidos.....	46
4.5 Métodos de manejo y control de la enfermedad.....	49
4.5.1 Métodos para el manejo de tristeza según su prevalencia.....	50
4.5.2 Mapas regionales de distribución de la tristeza.....	50
4.5.3 Cuarentenas.....	54
4.5.4 Erradicación.....	55

4.5.5 Prevención.....	57
4.5.6 Protección cruzada.....	57
4.5.7 Ingeniería genética.....	58
4.6. Programa de certificación de material propagativo.....	59
4.6.1 Centro de Propagación.....	59
4.6.1.1 Banco de germoplasma.....	60
4.6.1.2 Lote Fundación.....	61
4.6.1.3 Huerta madre productora de semilla.....	62
4.6.1.4 Huerta productora de yemas.....	62
4.6.2 Vivero Comercial o Centro productor de planta.....	63
4.6.2.1 Características generales.....	63
4.6.2.2 Métodos de plantación.....	64
4.6.2.3 Labores culturales.....	65
4.6.2.4 Preparación del patrón y selección del material vegetativo.....	68
4.6.2.5 Métodos de injerto.....	69
4.6.2.6 Preparación de las plantas injertadas.....	70
4.6.2.7 Transplante al campo.....	71
4.6.3 Selección del patrón.....	73
4.6.4 La experiencia cubana.....	73
4.6.4.1 Requisitos para la producción de material de propagación de certificado.....	74
4.6.4.2 Patrones más utilizados.....	76
V. CONCLUSIONES.....	78
VI. LITERATURA CITADA.....	80

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Resultados de muestreo de VTC, en viveros del Estado de Veracruz en 1992/ 1993.....	35
2. Resultados del muestreo en huertos en 17 entidades de México en 1993.....	36
3. Aportación Federal a la Campaña contra el Virus de la tristeza de los Cítricos durante 1996-2000.....	37
4. Muestras tomadas en diversas entidades de México, durante 1995/2000.....	38
5. Muestras detectadas como positivas el VTC durante 1995/2000.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Reacción biológica de plantas indicadoras de cítricos a razas del virus de la tristeza.....	9
2. Respuesta de diversas combinaciones cultivar/portainjerto a diferentes razas del virus de la tristeza de los cítricos.....	9
3. Principales características de los patrones de cítricos más utilizados y su influencia sobre algunos indicadores del cultivar injertado.....	77
4. Comportamiento de los patrones de cítricos más utilizados ante algunos factores del suelo.....	77
5. Características de los frutos y las semillas de los principales patrones.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Introducción, diseminación y forma en que ha aparecido el virus tristeza de los cítricos en diversas partes del mundo.....	19
2. Modelo en zig-zag para el muestreo en huertas.....	31
3. Modelo cuadrulado para el muestreo en viveros.....	31
4. Sistema de Producción de Material de Propagación Certificado en Cuba..	75

I. INTRODUCCIÓN

La citricultura representa una actividad de gran importancia dentro de la fruticultura nacional, en virtud de que la superficie en producción de los cítricos es de aproximadamente 458,943 ha, que producen un promedio anual de 5.3 millones de toneladas, beneficiándose 38,500 productores mexicanos. De la superficie sembrada, el cultivo de la naranja ocupa el 73%, el limón mexicano el 25.5% y el resto de la superficie la ocupan la mandarina, toronja, lima, tangerina, limón persa, tangelo, limón italiano y limón de diversas variedades, lo que permite que al nivel mundial México sea considerado el sexto productor de cítricos, el principal productor de limón mexicano y limón persa, y el cuarto en producción de naranja.

La superficie establecida con cítricos en México ocupa el 23% del total destinado a frutales, la cual se distribuye en los estados de Veracruz, Nuevo León, San Luis Potosí y Tamaulipas, que aportan el 70% de la producción nacional, constituida principalmente por naranja, mandarina y toronja; los estados limoneros (Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca) aportan el 14.9%, Yucatán, Sonora, Sinaloa y Tabasco el 9.5%.

Un aspecto importante en la producción de cítricos es la gran cantidad de jornales que se requieren para obtener una buena producción, con lo cual se generan fuentes de empleo para muchas personas; como ejemplo en México tenemos que para el cultivo de Limón Persa se requieren en promedio 100 jornales al año por hectárea, lo que representa 1.8 millones de jornales, aparte de los transportistas, intermediarios, comerciantes y personal de las empacadoras, que emplean un promedio de 25 trabajadores por día.

Al igual que en todos los cultivos, la producción de cítricos es afectada por una serie de enfermedades, causadas por una gran cantidad de agentes patogénicos (virus y microorganismos similares, hongos, nemátodos, bacterias, etc.) los cuales, en algunos casos, reducen significativamente la producción. Al respecto se pueden citar algunos ejemplos en nuestro país: a) la caída de fruto pequeño causado por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* causó una pérdida en rendimiento del 49% al 65% en el

año de 1982 (Orozco y González, 1986); b) la enfermedad conocida como Exocortis (ocasionada por un viroide), la cual se encuentra ampliamente distribuida en nuestro país y que no se manifiesta por el tipo de patrón utilizado (naranja agrio), puede reducir el rendimiento en un 32% de llegarse a utilizar el naranjo trifoliado como patrón.

En el contexto mundial, de los problemas fitosanitarios que afectan a los cítricos, el Virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC) es de las enfermedades más destructivas, ya que puede disminuir gradualmente la calidad y rendimiento de los frutos y matar árboles en un corto período. Se ha estimado que esta enfermedad causó la muerte de 40 millones de árboles, entre los años de 1930 y 1980, en varios países de América del Sur, en California y Florida en Estados Unidos, en Israel y en España; en la década de 1980 a 1990 causó la muerte de aproximadamente 6 millones de árboles en Venezuela y pérdidas de consideración en Colombia y Perú (Rocha-Peña y Padrón-Chávez, 1992).

El Virus de la Tristeza de los Cítricos es una enfermedad muy destructiva, principalmente en plantaciones injertadas sobre naranjo agrio (*Citrus aurantium*), considerado altamente susceptible al VTC. En México, prácticamente todas las plantaciones comerciales de naranja, mandarina y toronja, así como el 16% del limón mexicano, están injertados sobre naranjo agrio, lo cual representa entre el 85 y 90% de la citricultura; el 10 al 15% restante lo constituye en gran parte, el limón mexicano sembrado directamente de semilla y/o sobre limón volkameriano (*Citrus volkameriana*) o naranja macrofila (*Citrus macrophylla*). En los estados de Veracruz, Tamaulipas, Campeche, Quintana Roo, Sonora, Colima y Yucatán, existen algunas plantaciones de cítricos, principalmente naranja, injertadas sobre patrones tolerantes al VTC.

La dispersión del VTC dentro de una zona en la cual se encuentra presente en forma endémica, se ve favorecida ampliamente por la presencia del pulgón café *Toxoptera citricida* Kirkaldy, catalogado como el vector más eficiente. Se ha observado que *T. citricida* tiene un movimiento natural hacia el norte del continente, acompañado cierto tiempo después de su detección, con la ocurrencia de brotes de tristeza con síntomas severos, ya que este vector selecciona las variantes más agresivas del virus; en la

actualidad se encuentra ampliamente distribuido en Centroamérica, la mayoría de las Islas del Caribe, Florida (Estados Unidos) y Belice; además, en fecha reciente se detectaron algunos brotes en el estado de Quintana Roo y Yucatán (Anónimo, 2000a).

En México se han tenido detecciones del VTC, principalmente en viveros, muchos de ellos ubicados en el municipio de Martínez de la Torre, Veracruz (Anónimo, 1997), que durante los últimos 15 años han comercializado cientos de miles de plantas por todo el país. Esta situación, aunado al alto porcentaje de cítricos injertados sobre naranjo agrio y la reciente detección de algunos brotes del vector en la Península de Yucatán, pone en evidencia que el VTC inevitablemente va a llegar a ser un problema en México.

En virtud de la problemática que representa para México, la probable presencia del VTC, y como una forma de contribuir a su conocimiento por parte de estudiantes y citricultores del país, se plantea el presente trabajo con los siguientes objetivos:

Objetivos

1. Describir las características y detalles de la enfermedad, así como estrategias que se han aplicado para su manejo.
2. Presentar un análisis metódico y ordenado, de la situación actual de la Tristeza de los Cítricos en México, así como de las acciones instrumentadas para su combate, en el contexto de la campaña nacional contra esta enfermedad, establecida por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
3. Proponer algunas acciones a implementar como parte de la campaña nacional en México, contra el la Tristeza de los Cítricos.
4. Establecer un marco de referencia para la producción de material certificado libre de virus

II. METODOLOGÍA

El presente trabajo se desarrolló principalmente en el Área de Protección Fitosanitaria de la Dirección General de Sanidad Vegetal, dependiente de la Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria, de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, durante el periodo comprendido del mes de Julio de 1997 al mes de junio de 2000. Las acciones realizadas fueron las siguientes:

2.1. Revisión de la bibliografía

Para presentar de manera ordenada los aspectos relevantes de la enfermedad que permitieran describirla ampliamente, así como escenarios en otros países y estrategias instrumentadas para su manejo, se revisó la bibliografía existente, a fin de seleccionar aquella que tuviera la información de mayor interés, analizarla, integrarla y ordenarla para su presentación.

2.2. Asistencia a talleres y cursos

Con el objeto de obtener información de tipo práctico respecto a la enfermedad, se programó la asistencia a dos eventos relevantes, como el *“Taller sobre el Virus de la Tristeza de los Cítricos en México”*, organizado por la Dirección General de Sanidad Vegetal, del 10 al 12 de septiembre de 1997, en el cual se presentaron diversos análisis sobre la situación de la enfermedad en México, así como algunas recomendaciones sobre metodología de muestreo, y de acciones y medidas fitosanitarias a instrumentar.

Además, se asistió al *“Curso Teórico-Práctico sobre producción de Plantas Cítricas libres de virus”*, organizado e impartido por el Instituto de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales del Ministerio de la Agricultura de Cuba, el cual tuvo lugar los días 16 al 20 de noviembre de 1998 en la ciudad de La Habana, Cuba, en el cual se abordaron temas específicos sobre la producción de plantas certificadas, resultados obtenidos en diversos patrones o portainjertos evaluados y toda la descripción del *“Sistema de*

Producción de Material de Propagación Certificado” que ese País ha venido desarrollando.

2.3. Participación en la elaboración y revisión de documentos relacionados con la enfermedad

Con el propósito de tener acceso a la información existente sobre la enfermedad en México, en relación con las estrategias y medidas que se han instrumentado para el manejo del VTC, el muestreo y el diagnóstico, se apoyó al Área de Protección Fitosanitaria en la elaboración y revisión de diversos proyectos de Normas Oficiales Mexicanas, documentos informativos, evaluaciones anuales, así como en la integración de un proyecto de Manual Operativo.

2.4. Revisión de resultados y avances de la campaña

Se revisó la información disponible que ha generado la Dirección General de Sanidad Vegetal, en cuanto a los presupuestos otorgados a los estados para la operación de la campaña contra el VTC y los resultados obtenidos, particularmente en lo referente a los muestreos realizados, las detecciones que se han tenido y las acciones que se han tomado al respecto.

Se analizaron los aspectos básicos del muestreo, las diversas metodologías que se han instrumentado, de acuerdo a la normatividad establecida por la Dirección General de Sanidad Vegetal.

Además, se realizaron algunas visitas de campo para supervisar las acciones de muestreo en aquellos estados con mayor cantidad de tomas de muestras, para verificar la metodología, así como a dos centros de producción de material certificado, el Campo Experimental Francisco Villa ubicado en el Estado de Tamaulipas, y un Vivero de producción en el Estado de Quintana Roo.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 La citricultura en México

Se conocen como cítricos, a aquellas especies ubicadas dentro de la familia Rutaceae, en los géneros, *Citrus*, *Poncirus* y *Fortunella*, así como sus híbridos y variedades. De manera comercial se conocen diversos frutos cítricos, de los cuales los más comunes son: naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), limón verdadero o mexicano (*C. limon* L. Burn), lima mexicana (*C. aurantifolia* Christm.), toronja (*C. paradisi* Macf.) y mandarina (*C. reticulata* Blanco). Existen otros cítricos como el naranjo agrio (*C. aurantium* L.), la naranja macrofila (*C. macrophylla* Webster), la mandarina cleopatra (*C. reshni* Hort. Ex Tanaka), el limón rugoso (*C. jambhiri* Lush.), el limón volkameriano (*C. volkameriana*), los cuales se utilizan principalmente como portainjertos para las especies comerciales.

Genéricamente se puede decir que el cultivo de los cítricos, salvo pocas excepciones, comprende plantaciones compuestas por un cultivar o variedad, injertado sobre un portainjerto o patrón, de tal forma que una planta es una combinación de dos especies distintas unidas mediante un injerto.

Los seis principales países productores de cítricos del mundo, en cuanto a superficie, son: Brasil (23.7%), Estados Unidos (15.2%), España (7.5%), China (6.45%), Italia (5.3%) y México (4.9%). En conjunto, aportan más del 60% de la producción mundial.

En México, para el año de 1999, la superficie establecida de cítricos fue de 484,615 ha, de las cuales se cosecharon 458,943 ha, arrojando una producción de 5'254,209 ton con un valor de 7,385.9 millones de pesos (Anónimo, 2000b). Dentro de los estados productores, el de mayor importancia es Veracruz con el 39% de la superficie, cultivada con naranja, limón mexicano, mandarina y toronja, seguido del Estado de San Luis Potosí con 10%, principalmente de naranja; Colima con 7%, en su gran mayoría de limón mexicano; Tamaulipas con 6%, Nuevo León con 6% y Michoacán con 5%, básicamente de limón mexicano.

Actualmente, en los Estados de Sinaloa, Sonora, Jalisco, Quintana Roo, Yucatán, Tabasco, Oaxaca y Guerrero, se está fomentando el cultivo de cítricos.

3.2 La enfermedad conocida como Tristeza de los Cítricos (VTC)

El concepto de tristeza se asocia a diversos factores, por lo que en ocasiones se menciona que existe en muchas formas, razas, aislamientos, o biotipos; sin embargo, también podemos atribuir este fenómeno de variabilidad o diversidad a otras enfermedades, como el caso de Psorosis, Exocortis, Xiloporosis o Greening.

Indudablemente que la tristeza es la enfermedad virosa más destructiva de los cítricos, existiendo evidencias claras de que ya no debe considerarse solamente como una enfermedad propia de ciertas combinaciones susceptibles injerto/patrón y que varias enfermedades distintas forman el complejo de la tristeza, como lo que se denomina Stem-Pitting (acanaladuras longitudinales de la madera), Seedling Yellows (clorosis de las plántulas) y Line Dieback (muerte descendente de las ramillas terminales).

La enfermedad conocida como tristeza de los cítricos es el resultado de un patosistema específico, conformado por: 1) el hospedante, ya sea la combinación cultivar/portainjerto o la especie individual de cítricos; 2) el virus; 3) agentes diseminadores (hombre e insectos vectores). Estos tres elementos interactúan con el ambiente para dar origen a la presencia o ausencia de expresión de síntomas o efectos nocivos al cultivo. (Rocha-Peña M.A. y Bierly Murphy, K.F., 1994).

3.2.1 Agente causal

El virus que ocasiona la tristeza de los cítricos pertenece al grupo de los closterovirus; tiene forma de varilla flexible o de partícula filamentosa que mide 11-12 x 2000 nm, las partículas tienen un solo cordón de ácido ribonucleico (ARN). Tiene una gran variabilidad y se presenta en la naturaleza en forma de razas (variantes, cepas, aislamientos), mismas que varían en la patogenicidad que inducen en la combinación

cultivar/portainjerto de que se trate, por lo cual es muy diversa la reacción y sintomatología en diversos hospedantes.

Algunos aislamientos de tristeza son tan tenues e inocuos que aun hospederas muy sensibles no son afectadas. En cambio, otros son tan severos que causan daños graves incluso en naranja dulce, la cual es bastante tolerante a la mayoría de los aislamientos (Navarro, 1976; Wallace, 1978; Calavan *et al*, 1978).

Las razas del VTC caracterizadas a la fecha, se acomodan en 4 grupos según los síntomas que ocasionan en una serie de hospedantes cítricos (Lee y Rocha-Peña, 1992, Lee *et al*, 1994), que son: 1) Razas tipo declinamiento, que causan necrosis del floema en el sitio del injerto en plantas de naranja dulce, toronja o mandarina injertadas ya sea en naranjo agrio o naranja *macrophila*; 2) razas tipo picado del tallo, que inducen acanaladuras ya sea en el cultivar o en el patrón, justo debajo de la unión del injerto. La mayoría de las razas tipo picado del tallo inducen declinamiento gradual o repentino en plantas injertadas en naranjo agrio; 3) Razas tipo amarillamiento, que causan una reacción clorótica uniforme en plantas de naranjo agrio, limón y toronja bajo condiciones de invernadero. Aunque el amarillamiento es una reacción en plantas indicadoras al nivel de invernadero, está asociado a razas que ocasionan declinamiento o picado del tallo en plantas al nivel de campo, de tal forma que una raza tipo amarillamiento puede ser simultáneamente tipo declinamiento y/o tipo picado del tallo; 4) Razas débiles son todas aquellas que no inducen ninguno de los síntomas asociados al VTC, descritos anteriormente, sólo ocasionan un ligero aclaramiento de las nervaduras en plántulas de lima mexicana, la cual es el hospedante más sensible al VTC (Garnsey *et al*, 1987, Garnsey *et al*, 1991, Lee y Rocha-Peña, 1992, Lee *et al*, 1994)

Los determinantes virales que inducen los síntomas descritos, aparentemente son independientes uno de otro, sin embargo una determinada raza puede poseer uno o varios de ellos (Tabla 1). Asimismo, el rango de expresión de los síntomas es muy amplio en cuanto a su severidad (Tabla 2), por lo que éste es un término relativo que involucra intrínsecamente al hospedante y a la raza del virus (Lee *et al*, 1994).

Tabla 1. Reacción biológica de plantas indicadoras de cítricos a razas del virus de la tristeza (Fuente: Lee *et al*, 1994)

Categoría	Reacción		Amar. de plántulas	Picado del tallo		Razas *
	Limón mexicano	Naranja dulce/agrio		Toronja	Naranja dulce	
0 (débil)	-	-	-	-	-	022, 052, 147
I	+	-	-	-	-	051, T11
II	+	+	-	-	-	016a, 027, 151
III	+	+	+	-	-	003, 148
IV	+	+	+	+	-	016
V	+	+	+	-	+	065a
VI	+	-	+	+	-	079, 080
VII	+	-	-	+	+	¿
VIII	+	-	-	+	-	031, 128
IX	+	-	-	-	+	005
X	+	+	+	+	+	006, 012, 014, 053

* con base en la verificación biológica en la colección de enfermedades exóticas de cítricos en el Laboratorio de frutales del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, en Beltsville, Maryland. La abreviatura Amar. = Amarillamiento. ¿ = raza no determinada

Tabla 2. Respuesta de diversas combinaciones cultivar/portainjerto a diferentes razas del virus tristeza de los cítricos (Fuente: Rocha-Peña y Bierly Murphy, 1994)

Predominancia de razas del VTC	Naranja, toronja, mandarina/narango agrio	Naranja, toronja, mandarina/otros portainjertos	Limón mexicano/narango agrio	Limón mexicano/otros portainjertos
Tipo débil	Ausencia de síntomas	Ausencia de síntomas	Ligero aclaramiento de nervaduras	Ligero aclaramiento de nervaduras
Tipo declinamiento	Declinamiento gradual o repentino, muerte de árboles	Ausencia de síntomas	Severo aclaramiento de nervaduras, declinamiento, muerte de árboles	Severo aclaramiento de nervaduras, debilitamiento de árboles, tamaño reducido del fruto
Tipo picado del tallo	Declinamiento gradual o repentino, muerte de árboles	Picado de tallo en naranja, toronja o en el portainjerto, debilitamiento de árboles, tamaño reducido del fruto	Severo aclaramiento de nervaduras, declinamiento, muerte de árboles	Severo aclaramiento de nervaduras, debilitamiento de árboles, tamaño reducido del fruto

Existen evidencias experimentales que indican que el VTC se presenta en la naturaleza como una combinación o mezcla de razas en un mismo hospedante (Moreno *et al*, 1991), por lo que la expresión de síntomas en forma natural en un hospedante determinado depende de la predominancia de razas “poco patogénicas” contra razas “extremadamente patogénicas”, para ese hospedante en particular.

3.2.2 Origen

Existe consenso en el sentido de que tanto los cítricos como las enfermedades virosas de los mismos, tienen como origen común los países del Lejano Oriente, es decir China, Japón, India, etc.; lo cual se demostró a través de estudios realizados sobre las primeras introducciones de cítricos a Sudáfrica y a los Estados Unidos de Norteamérica, entre finales del siglo pasado y principios del presente. Se revela que tanto tristeza como Seedling Yellows estaban presentes y que se dispersan con la movilización de material vegetativo contaminado (Wallace, *et al*, 1956; Wallace, 1978).

3.2.3 Confirmación

Durante la última década del siglo pasado, cuando se desconocía la naturaleza de la tristeza, se atribuyeron al fenómeno de la incompatibilidad, los múltiples fracasos observados cuando se intentaba injertar naranja dulce y mandarinas sobre naranjo agrio. En Sudáfrica, los arbolitos morían o declinaban severamente en 2 ó 3 años (Weber, 1943); algo parecido ocurrió en Florida al injertar satsuma sobre naranjo agrio, combinación que siempre resultaba en completo fracaso (Swingle, 1990).

Más tarde, en Argentina, se describieron síntomas de una enfermedad observada en 1930 y a la cual se le denominó "Pudrición de la raicecilla" (Carrera, 1933 mencionado por Wallace, 1978). Con base en los síntomas observados en una huerta afectada por dicha enfermedad, Fawcett y Betancourt, en 1937, fueron los primeros en sugerir que se trataba de una enfermedad virosa; en este mismo año la enfermedad se estableció en Brasil y ahí se acuñó por primera vez el nombre de "Tristeza" (Moreira, 1942 mencionado por Wallace, 1978).

Al estudiar una enfermedad parecida en Java, se formuló la teoría de que la copa del naranjo dulce, producía una sustancia letal para las raíces del naranjo agrio (Toxopeus, 1937, mencionado por Wallace, 1978).

En California, la enfermedad conocida como “Quick Decline” afectó árboles a principios de 1939; después de una serie de estudios sobre su dispersión y sintomatología, se concluyó que esta y tristeza eran la misma cosa. Como consecuencia de un programa intensivo de investigación, se logró reproducir la enfermedad en árboles sanos de valencia tardía sobre naranjo agrio por inoculación a base de injerto, demostrando de paso que es ocasionada por un virus (Fawcett y Wallace, 1946), simultáneamente, en Brasil también se reportó que la tristeza es una enfermedad virosa y que su principal vector es el pulgón *Toxoptera citricida* Kirkaldi (Meneghini, 1946); a partir de este hecho científico, la investigación y la comunicación internacional se han expandido considerablemente en busca de soluciones al problema.

3.2.4 Hospederas

En términos generales, las hospederas se agrupan según su capacidad para manifestar los síntomas de VTC (Wallace, 1978; Ferguson y Garnsey, 1987). Así tenemos las siguientes divisiones:

- a) Hospederas que con frecuencia no muestran síntomas obvios, tales como algunas mandarinas, algunas naranjas dulces, limón rugoso y lima ácida rangpur
- b) Hospederas que muestran síntomas de intensidad variable, tales como limas ácidas, limones, toronjas y pomelos, cidra, lima dulce, limón dulce, Kumquat, *C. macrophylla*, *C. excelsa*, *C. hystrix*.
- c) Hospederas resistentes a infecciones de tristeza, es decir que el virus no se multiplica en estas plantas aún cuando se injerte con material infectado, tales como naranja trifoliada (*Poncirus trifoliata*), híbridos derivados de *P. trifoliata*, Citranges (*C. sinensis* x *P. trifoliata*) carrizo y Troyer, Citrumelo (*C. paradisi* x *P. trifoliata*) swingle 4475

En varios intentos por encontrar plantas indicadoras más apropiadas para la detección de tristeza, existen reportes que revelan el fracaso en la contaminación de 67 plantas de especies y variedades no cítricas, en su mayoría anuales (Bennett y Costa, 1949)

3.2.5 Sintomatología

Los síntomas de árboles infectados por VTC, desafortunadamente no son específicos sino que pueden confundirse con los que muestran árboles dañados por tuzas, con algunas pudriciones radicales ocasionadas por hongos como *Armillaria*, con los excesos de humedad en el suelo, con los daños causados por altas concentraciones de fertilizantes, con efectos secundarios producidos por algunos reguladores de crecimiento y por el daño de aceites utilizados en los quemadores para el calentamiento de huertas (Klotz, *et al*, 1972).

a) Síntomas iniciales

De acuerdo a los mismos autores, el primer síntoma visual se presenta en las hojas, que adquieren una coloración opaca y tienden a enrollarse longitudinalmente hacia arriba. Frecuentemente, los árboles afectados muestran en las etapas iniciales, una sobrecarga de frutos; los árboles jóvenes, empiezan a fructificar uno o más años antes en comparación con árboles sanos de la misma edad.

b) Síntomas radicales

Normalmente, los síntomas radicales preceden a los síntomas aéreos. Aún antes de observar cualesquier anomalía en el follaje, las raicillas terminales del sistema radicular han muerto y muestran sus cortezas desprendidas. Este proceso de agotamiento y destrucción de raíces ocurre de la periferia hacia el tronco del árbol, dañando en su progreso raíces cada vez más gruesas e importantes.

El declinamiento de árboles enfermos de tristeza provoca una severa reducción del almidón en el sistema radical. Mediante la prueba del yodo más yoduro de potasio en partes iguales, es posible detectar el contenido de almidón al sumergir en dicha solución, por 15 minutos, los extremos de las raíces cortadas previamente; si el almidón es abundante, las raíces se tiñen de un color azul oscuro, pero si están enfermas no se

colorean. Este procedimiento no es infalible para detectar la tristeza, especialmente cuando se practica durante las fases iniciales de la enfermedad o cuando simultáneamente existen otros agentes causantes con el mismo efecto (Stout, 1945).

c) Destrucción del floema

Los árboles en proceso de declinamiento por VTC, revelan síntomas microscópicos antes de que se manifiesten los síntomas macroscópicos. A través de un examen microscópico, es posible demostrar que el síntoma primario de diagnóstico consiste en la presencia y acumulación de un material que se tiñe de oscuro dentro del citoplasma de las células parenquimatosas adyacentes a los tubos fibrosos del floema. Inmediatamente sobreviene la necrosis de los tubos fibrosos cercanos a la corteza del naranjo agrio y próximos a la zona de unión del injerto. Después de que ocurre la infección, la cantidad de floema en funcionamiento se reduce a tal grado que se provocan síntomas parecidos o equivalentes a los del estrangulamiento, esto limita o evita la movilización de alimentos hacia la raíz y claramente explica la utilización del almidón de reserva, el decaimiento progresivo de raíces y la aparición de síntomas aéreos (Schneider, 1952; Schneider, 1954).

d) Síntomas aéreos

Aparentemente en concordancia con la destrucción radical, el deterioro del follaje de los árboles enfermos muestra un proceso gradual de enrollamiento de las hojas, marchitamiento, defoliación y secamiento de ramillas terminales. La reacción fulminante ocurre durante períodos de sequía en los cuales es común observar que árboles relativamente jóvenes, de entre 5 y 6 años, sufren colapsos mortales acompañados de marchitez y secamiento de hojas repentinos; mientras los frutos permanecen sobre el árbol hasta que se secan y momifican.

Arboles afectados con formas menos severas, sobreviven y continúan en estado de productividad comercial durante varios años. Tanto los brotes vegetativos como las

raíces, presentan un crecimiento sumamente débil, quizá debido a la retención de unos cuantos tubos cribosos funcionales y/o a la formación de nuevos tubos cribosos en el floema (Klotz, *et al*, 1972; Wallace, 1978; Ferguson y Garnsey, 1987). Esta última reacción y relativa regeneración del crecimiento, varía con las cantidades de almidón almacenado en las raíces, incluso se llega a formar un callo entre los límites del tejido sano y del atacado, pero estos árboles jamás recuperan su condición normal.

Las razas inocuas o benignas de tristeza producen síntomas poco notables sobre la mayoría de las especies y variedades comerciales. En ocasiones, se presenta un enanismo acentuado del injerto sobre naranjo agrio como patrón. Con frecuencia, sin que sea un síntoma específico, al remover una pieza de corteza del naranjo agrio en la zona de unión del injerto, se aprecia en la madera una especie de piquitos o especie de alfileres que corresponden con pequeños orificios marcados en la cara interna de la corteza. También es frecuente que aparezca una franja de color café en la cara interna de la corteza, a la altura de la zona de unión, unos cuantos minutos después de remover la corteza del tronco. En igual forma, es común observar un ligero engrosamiento de la corteza del patrón inmediatamente debajo de dicha zona de unión.

En contraste, las razas severas o virulentas de tristeza ocasionan en combinaciones sobre naranjo agrio, un desarrollo lento y muy débil de los arbolitos, clorosis, floración y fructificación prematuras y enanismo.

e) Stem-pitting

Es una condición asociada con tristeza y otras enfermedades virosas, y consiste en pequeñas depresiones o acanaladuras longitudinales sobre la cara externa de la madera, que se corresponden con pequeñas proyecciones de la cara interna de la corteza, lo cual se observa al pelar la corteza de ramillas delgadas.

El Stem-Pitting inducido por tristeza varía de acuerdo con la raza del virus y con el hospedero. En casos severos, tanto el tronco como las ramas principales tienen una

apariciencia nudosa o “trenzada” como la de una reata; las razas severas ocasionan Stem-Pitting en variedades de naranja dulce independientemente del patrón. Los árboles enfermos muestran un desarrollo más compacto que el normal, un enanismo bastante marcado y generalmente adquieren un aspecto de hongo. Tanto los frutos como la productividad sufren reducciones considerables, las ramas tienden a ser vidriosas y quebradizas. Una determinada raza de VTC que causa Stem-Pitting en naranja dulce, no necesariamente produce este síntoma en toronja y viceversa. Las razas severas de Stem-Pitting se han reportado en Brasil, Perú, Japón y California (Wallace, 1978; Ferguson y Garnsey; 1987, Lee y Rocha Peña, 1992).

f) Seedling yellows

Es una enfermedad virosa asociada con tristeza que puede ser causada por una o varias formas del mismo virus. Los principales síntomas son el enanismo y clorosis de plántulas de naranjo agrio, toronja, limón eureka y cidra. Las hojas de las plantas atacadas severamente son pequeñas, subdesarrolladas, de color verde amarillento. Los entrenudos del tallo y de las ramas son cortos y además pueden aparecer yemas múltiples en los nudos.

En Australia, se demostró que el virus que produce tales efectos en las plántulas, se presenta naturalmente en árboles de naranja dulce y mandarina atacados por tristeza, pudiendo transmitirse al injertar. Estos árboles de naranja dulce y mandarina no sufren daños cuando son de pie franco pero si cuando se injertan sobre naranjo agrio o toronja.

3.2.6 Distribución

La tristeza es originaria de los países del lejano oriente, en donde se originaron precisamente las principales especies cítricas; de ahí se dispersó hacia otras regiones productoras por medio de la movilización de material vegetativo enfermo.

Prácticamente, su distribución abarca las principales regiones productoras del mundo excepto algunos países de la cuenca del mediterráneo, México, Centroamérica y del Caribe (Lee y Rocha Peña, 1992).

La distribución del VTC (Anónimo, 2000a) es la siguiente:

- a) Europa: República de Chipre, Reino de España, República Francesa, República Helénica, República Italiana, República Federal de Yugoslavia y República de Bosnia y Herzegovina.
- b) Asia: Estado de Brunei Morada de Paz, República Popular de China, República de la India, República de Indonesia, República Islámica de Irán, Estado de Israel, Japón, Federación de Malasia, Reino de Nepal, República de Filipinas, República de China (Taiwán), República Socialista Democrática de Sri Lanka, Reino de Tailandia, República de Turquía y República del Yemen.
- c) Africa: República Argelina Democrática y Popular, República del Camerún, República Centroafricana, República de Chad, República Arabe de Egipto, República Gabonesa, República de Ghana, Reino de Marruecos, Mauricio, República Popular de Mozambique, República de Kenya, República Federal de Nigeria, Islas Reunión, República de Sudáfrica, República de Túnez, República de Uganda, República de Zaire, República de Zambia y República de Zimbabwe.
- d) América: Commonwealth de Dominica, República Dominicana, Jamaica, República de Trinidad y Tobago, República de Costa Rica, República de El Salvador, República de Nicaragua, República de Panamá, Estados Unidos de América, República de Argentina, República Federativa de Brasil, República de Chile, República de Colombia, República del Ecuador, República Cooperativa de Guyana, República del Perú, República de Suriname, República Oriental del Uruguay, República de Venezuela, República de Guatemala y Belice
- e) Oceanía: Samoa Americana, Commonwealth de Australia, República de Fiji, Nueva Zelanda, Estado Independiente de Samoa Occidental, Islas Nive, Reino de Tonga, Islas Cook, Nueva Caledonia y Hawaii (E.U.A).

3.2.7. Transmisión y dispersión

a) Diversos medios

Hasta ahora, los intentos realizados por transmitir el virus de la tristeza por medio de técnicas de inoculación de savia, han fracasado rotundamente. Aunque basándose en evidencias circunstanciales, tampoco existen posibilidades de que dicha enfermedad sea transmitida por semilla; sin embargo, aunque no juega un papel importante en la dispersión natural, se confirmó que la planta parásita llamada cúscuta (*Cuscuta subinclusa*), es capaz de transmitir dicho virus de un árbol enfermo a un árbol sano lo cual puede tener interés más bien de tipo experimental (Wallace, 1978).

b) Propagación vegetativa

El virus de la tristeza se perpetúa en las yemas de árboles enfermos, por lo que el uso de yemas infectadas para injertar es quizá el medio más eficiente para incrementar y dispersar esta enfermedad. En países donde el VTC se ha generalizado, el uso de yemas infectadas para propagación de nuevos árboles se practica por necesidad, y no existe mejor alternativa que injertarlas sobre los llamados patrones tolerantes.

Por mucho tiempo, lo anterior parecía a todas luces satisfactorio, sin embargo, los efectos del Stem-Pitting en cítricos tales como limas ácidas, toronjas y la naranja dulce, independientemente del patrón, así como el acentuado enanismo de las naranjas dulces ocasionado por algunas razas del complejo viral también sobre cualesquier patrón, obligan a la realización de estudios más profundos sobre todo en el área de la protección cruzada (Wallace, 1978).

Las yemas de árboles infectados con razas severas de tristeza, tienden a producir árboles normales y vigorosos sobre patrones tolerantes, sin embargo, dichos árboles sirven para aumentar los reservorios de razas severas de tristeza que los pulgones dispersarán hacia plantaciones aledañas.

c) Insectos vectores

El virus es transmitido por varias especies de pulgones en forma semipersistente. Se ha demostrado que el pulgón “café” o “tropical”, *Toxoptera citricida* Kirkaldy es un vector sumamente eficiente y el principal agente transmisor del VTC en Sudamérica, Sudáfrica, Oeste Africano, Australia y países del lejano Oriente (Meneghini, 1948; Bennett y Costa, 1949; Grant y Costa, 1951). Dicho áfido no está presente en los Estados Unidos de Norteamérica ni en México y en los países del mediterráneo; sin embargo, reportes recientes indican la invasión de este vector en países como Panamá, Costa Rica y Nicaragua y se están confirmando brotes anunciados previamente en El Salvador, Honduras y Guatemala (Lastra, *et al*, 1991).

También se ha demostrado la capacidad de otras especies como *Aphis gossypii*, *A. citricola* y *T. aurantii* para transmitir el virus. Aunque la primera especie se considera como un vector ineficiente en comparación con *T. citricida*, 0.5-1.1% contra 20% de transmisión individual, las poblaciones extremadamente altas en ciertas zonas de California y Florida han sido adecuadas para explicar la incidencia de la enfermedad.

La efectividad relativa de *T. citricida* comparada con la de *A. gossypii*, se ha determinado recientemente. En pruebas simultáneas llevadas a cabo en la estación cuarentenaria de Maryland (EUA), se utilizaron ambos insectos para transmitir cinco razas de VTC procedentes de otros tantos países (Yokomi y Damsteegt, 1991, mencionado por Lee y Rocha Peña, 1992) con los siguientes resultados en cuanto a la probabilidad de transmisión de un solo pulgón:

País	<i>T. citricida</i>	<i>A. gossypii</i>
Brasil	25.0	0.6
Israel	24.1	1.5
España	18.0	2.7
China	11.3	2.3
Hawai	1.4	0.0

En la figura 1 se aprecia la importancia de la presencia de *T. citricida* en una región.

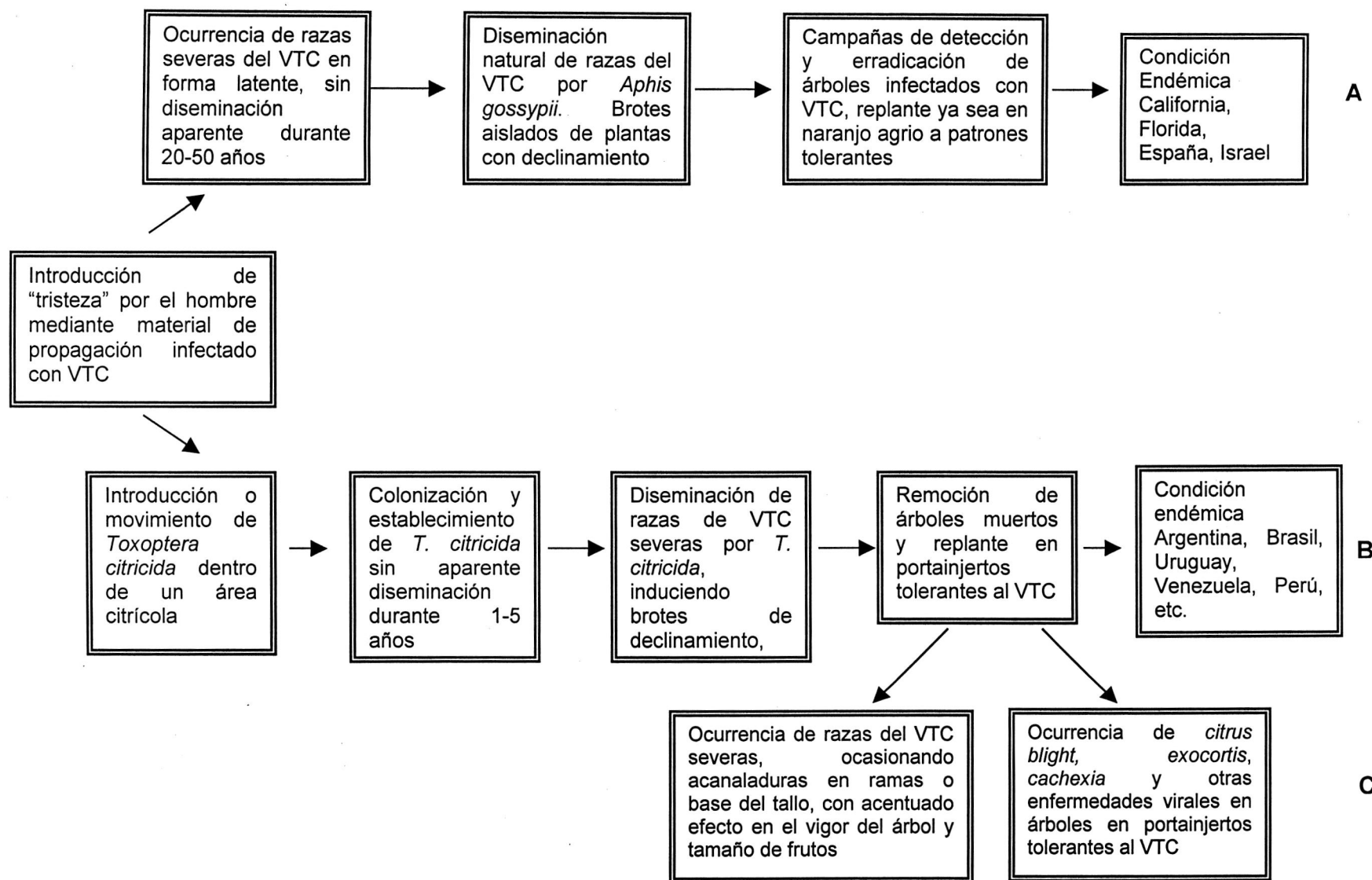


Figura 1. Introducción, diseminación y forma en que ha aparecido el virus tristeza de los cítricos (VTC) en diversas partes del mundo: A. Epifitias ocurridas en España, Israel, California y Florida, con *Aphis gossypii* como agente diseminador; B. Epifitias ocurridas en Argentina, Brasil, Venezuela, etc., con *Toxoptera citricida* como agente diseminador del virus. En ambos casos el virus fue introducido primariamente por el hombre a través de material de propagación (yemas) infectado con el virus y diseminado posteriormente por insectos vectores; C. Ocurrencia de razas del VTC del tipo picado del tallo y otras enfermedades virales como consecuencia del empleo inadvertido de material de propagación infectado sobre porta-injertos tolerantes al VTC (modificado por Rocha-Peña et al, 1992).

En Australia, Sudáfrica y California se ha demostrado que *T. citricida* y *A. gossypii* son capaces de transmitir el complejo viral del Seedling yellows (Wallace, 1978). Aparte de su importancia como vectores, ambas especies se presentan en altas poblaciones, por lo que *T. citricida* puede constituirse en un doble peligro, como vector y como plaga.

En general, se reconoce que la dispersión natural de tristeza es más rápida en naranjas y toronjas con respecto a otros cítricos. En igual forma, se acepta que la capacidad de dispersión de la enfermedad transmitida por pulgones, depende de las condiciones ambientales y de la hospedera misma. Algunas plantas son mejores fuentes de VTC y algunas son mejores receptoras que otras.

La distribución de *T. citricida* (Anónimo, 1996) es la siguiente:

- Asia: República de Indonesia, República de la India, Japón, República Popular Democrática de Corea, República de Corea, Federación de Malasia, República de Filipinas, República Socialista Democrática de Sri Lanka, República de China (Taiwán), Reino de Tailandia y República Popular de China.
- Africa: República de Camerún, República Popular del Congo, República de Ghana, República de Kenya, Mauricio, República Popular de Mozambique, República Federal de Nigeria, Islas Reunión, República de Senegal, República de Sierra Leona, República de Sudáfrica, Santa Elena, República de Sudán, República Unida de Tanzania, República de Uganda y República de Zimbabwe.
- América: Belice, República de Cuba, República Dominicana, Commonwealth de Dominica, República del Ecuador, Guadalupe, Jamaica, Martinica, Estado Libre Asociado de Puerto Rico, Santa Lucía, San Vicente y las Granadinas, República de Trinidad y Tobago, República de Costa Rica, República de El Salvador, República de Nicaragua, República de Panamá, República del Paraguay, República Argentina, República Federativa de Brasil, República de Chile, Guayana Francesa, República Cooperativa de Guyana, República del Perú, República de Suriname, República Oriental del Uruguay, Estados Unidos de América y República de Venezuela.
- Oceanía: Commonwealth de Australia, Islas Cook, República de Fiji y Hawaii (E.U.A).

3.2.8 Importancia económica

En realidad no existen estadísticas precisas sobre las pérdidas económicas totales, ocasionadas por la tristeza en diferentes países productores del mundo. Las plantaciones de Sudáfrica y Australia, han escapado en gran parte del daño de tristeza, gracias a que tanto el naranjo agrio como otros patrones susceptibles nunca se utilizaron extensivamente; otro tanto ocurrió en Japón, en donde se usa *P. trifoliata* como patrón en forma masiva. En los países mediterráneos, a excepción de España, se observa que las plantaciones están relativamente libres de daños; sin embargo, en el resto de los países productores, la tristeza está causando pérdidas muy severas cuando se usan combinaciones susceptibles.

Las estimaciones de árboles muertos por causa de la tristeza ilustran la capacidad destructiva de dicha enfermedad. Así en Argentina, desde la aparición de la enfermedad hasta 1945, habían muerto aproximadamente 10 millones de árboles, y para 1959, esa cifra se había incrementado hasta 18 millones. En Brasil, se reporta una mortandad de más de 10 millones de árboles para 1958. Aunque en California, se estima una cifra de más de 3 millones de árboles destruidos, la pérdida de árboles no es proporcional a la registrada en Sudamérica porque más de la mitad de la población de cítricos consistía en combinaciones tolerantes (Wallace, 1978).

En Florida, aunque el VTC se ha dispersado desde los años 50's, ha causado poca preocupación, debido a que grandes extensiones citrícolas se basan en patrones tolerantes, y porque la mayoría de las razas son tan benignas que aún árboles sobre naranjo agrio y con más de 7 años de infección, no han sido seriamente afectados. No obstante, se han tenido pérdidas superiores al millón de árboles. Los brotes cada vez más frecuentes de razas severas con capacidad destructiva mayor al 50%, especialmente en árboles menores de 2 años, y la existencia de grandes extensiones a base de combinaciones sobre naranjo agrio permiten prever una serie amenaza para el

futuro. Hasta ahora, el uso del naranjo agrio como patrón, se ha preferido sobre otros patrones por su tolerancia a la enfermedad conocida como blight (Brlansky, *et al*, 1986).

En España, es probable que el virus de la tristeza se haya introducido en la década de los años treinta, pero fue detectado mucho más tarde, después de su manifestación epidémica en 1957. Desde entonces, han muerto más de 10 millones de árboles injertados sobre naranjo agrio (Cambra, *et al*, 1990).

Finalmente, en Venezuela el VTC fue detectado por primera vez en el año de 1960 y para 1980 llega el principal vector *T. citricida*. A partir de entonces se presentan ataques epidémicos que ocasionan pérdidas durante los siguientes 10 años, de 3 millones de árboles en forma fulminante (Reyes, *et al*, 1991).

La cuantificación de daños causados por VTC, en países como India, China, Taiwán, Japón e Islas Filipinas, no está del todo clarificada. Algunos reportes señalan que algunas combinaciones reconocidas en otros países como tolerantes e incluso resistentes, finalmente declinan y mueren. Se sospecha la presencia de razas extremadamente virulentas, puesto que producen declinamientos severos, por ejemplo, de mandarina ponkan sobre patrones tales como *Citrus sunki*, *Poncirus trifoliata* y mandarina cleopatra, que en otros lugares se comportan como tolerantes.

Otras manifestaciones del complejo de la tristeza, que no involucran cualesquier combinación comercial injerto/patrón, son el Stem-Pitting de las toronjas y el declinamiento de las limas ácidas. De esta última hay pocos reportes, pero ocasiona graves pérdidas de plántulas jóvenes en países del oeste africano.

En lo concerniente al Stem-Pitting, en Sudáfrica se reporta un declinamiento severo que ocasiona gran mortandad de árboles alrededor de los 15 de edad, aún cuando se injerten sobre limón rugoso, un patrón donde normalmente no se desarrollan declinamientos típicos de tristeza. Esto también es importante en Brasil, Argentina y Australia, especialmente sobre toronja y algunos otros cítricos (Wallace, 1978).

3.3 La Campaña contra el VTC en México

Para enfrentar la problemática que representa la Tristeza de los Cítricos, el Gobierno Federal Mexicano, específicamente la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), por conducto de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), ha instrumentado una campaña fitosanitaria para tal fin, la cual se encuentra sujeta a revisión y reestructuración periódicas.

A fin de lograr avances en el control de la enfermedad, se actualizan las actividades, su calendarización, los responsables de ejecutarlas, el presupuesto, la incorporación de nuevas tecnologías, y se realizan adecuaciones constantes de la normatividad, con la participación del sector público (DGSV, Delegaciones de la SAGARPA en los estados, Colegio de Postgraduados, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán, entre otras instancias), del sector privado (Confederación Nacional de Citricultores, Organismos Auxiliares de Sanidad Vegetal, Asociación Nacional de Procesadores de Jugos Cítricos, Empresas comercializadoras y exportadoras de cítricos, Asociación de viveristas), así como de organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO por sus siglas en inglés), el Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA) y Gobiernos de países extranjeros.

La campaña contra el VTC considera una serie de acciones, las cuales se describen a continuación:

3.3.1 Muestreo y diagnóstico

a) Del virus

Las actividades de muestreo para evaluar la evolución y/o detección de la plaga se realizan durante todo el año, por la agresividad del virus, así como por el amplio rango de variedades susceptibles a ser atacadas y por ser un cultivo perenne. Con el fin de

obtener una alta confiabilidad se realiza un muestreo sistemático en el 10% de la superficie cultivada con las diferentes variedades de cítricos.

Además de este muestreo sistemático generalizado, también se realizan muestreos selectivos en algunas plantaciones y/o viveros, con base en los siguientes criterios:

- ♦ Plantaciones y/o viveros en que se hayan detectado síntomas sospechosos al VTC.
- ♦ Plantaciones y/o viveros aledaños a los predios con síntomas sospechosos.
- ♦ Plantaciones y/o viveros con plantas procedentes de otros países o de entidades con antecedentes de presencia de la plaga.

El muestreo en viveros está en función de los requerimientos de particulares para la movilización de plantas del vivero a una región citrícola; sin embargo, se muestrean azar, viveros productores de material propagativo en cada entidad.

En todos los casos, los árboles muestreados se identifican y manejan para su posterior seguimiento. El diagnóstico es una parte fundamental de la campaña, ya que permite conocer la presencia real del VTC en las plantaciones de cítricos en México, y va ligado a las acciones de muestreo, en el que las muestras obtenidas como parte de esta actividad se envían a diagnóstico a diversos laboratorios.

El análisis para determinar la presencia del VTC, lo realizan laboratorios de diagnóstico aprobados por la DGSV, como los de los Campos Agrícolas Experimentales de Cotaxtla, Ver. y General Terán, N.L.; y en ocasiones por el Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario de la propia DGSV, quien además, confirma los casos positivos

El método de diagnóstico utilizado es el inmunoenzimático ELISA, cuyo uso es el más generalizado por su confiabilidad, alta sensibilidad, rapidez y bajo costo. Se menciona que es posible detectar la presencia del VTC en muestras compuestas formadas de hasta 5 muestras simples, haciendo mucho más económico este método.

b) De vectores

El pulgón café *Toxoptera citricida* es el vector más eficiente del VTC, principalmente de aislamientos extremadamente severos, además de ser en sí, una plaga de consideración del cultivo de los cítricos. Cuando *T. citricida* aparece por primera vez en un país, usualmente se encuentra entremezclado con individuos de *T. aurantii*. Estas dos especies de pulgones no se cruzan entre sí, pero pueden existir asociadas. Después de que *T. citricida* se establece en una nueva área, puede competir y desplazar a *T. aurantii* hasta llegar a predominar en el árbol de cítrico.

Es muy probable que *T. citricida* se transporte en corrientes de aire hasta llegar a México, procedente de Centroamérica y/o el Caribe; por ello, se ha establecido el muestreo y una red de monitoreo en los estados citrícolas, principalmente en los del Golfo y Península de Yucatán, por donde *T. citricida* podría aparecer primero. El muestreo y la red de monitoreo, se establecen mínimamente en el 10% de la superficie citrícola de las entidades.

Para el muestreo se establecen puntos de observación permanente (POP), en número tal que se distribuyan en toda la zona citrícola de cada estado. Cada POP consta de 5 árboles, de donde se toman 4 brotes de cada punto cardinal, de cada uno de los árboles; los pulgones se depositan en frascos viales con alcohol al 70%, con etiquetas que consideren fecha, hospedero, localidad, municipio, nombre del colector y las observaciones pertinentes. Estas muestras se envían a un laboratorio de pruebas para su determinación taxonómica.

Para la red de trampeo se colocan 4 trampas amarillas de impacto con adhesivo y/o recipientes amarillos con agua y detergente por cada POP, a una distancia aproximadamente de 100 metros entre trampas, mismas que se revisan cada tercer día. Se sigue el proceso anterior para su determinación taxonómica. Las trampas se instalan y revisan durante todo el año, principalmente en las zonas citrícolas de donde proceden las corrientes de viento (cercanas al mar).

3.3.2. Control legal

a) Norma Oficial Mexicana

Para establecer de manera legal la operatividad de la campaña, se encuentra en proceso la publicación en el Diario Oficial de la Federación, de una Norma Oficial Mexicana que tenga por objeto establecer las medidas fitosanitarias que deben aplicarse para prevenir, combatir, controlar y/o erradicar al VTC en México.

b) Dispositivo nacional de emergencia

Con fundamento en el Artículo 46 de la Ley Federal de Sanidad Vegetal (Anónimo, 1994), la Secretaría ha instrumentado el Dispositivo Nacional de Emergencia en Sanidad Vegetal, cuando se detecta la presencia de VTC en tal forma que se ponga en situación de emergencia la citricultura nacional, para lo cual se publica en el Diario Oficial de la Federación, el correspondiente Acuerdo o Norma Oficial de emergencia. Con ello, se pueden eliminar los brotes que sean detectados.

c) Regulación cuarentenaria

- Nacional: Cuando se detectan brotes en vivero, la movilización de material propagativo (plantas) debe hacerse únicamente bajo el amparo de un Certificado Fitosanitario para la Movilización Nacional, previo diagnóstico negativo por un laboratorio aprobado. Esta regulación se apoya en los Puntos de Verificación Interna, así como en las casetas de vigilancia interestatales. Los viveros que produzcan, comercialicen o movilicen planta, deben presentar aviso de inicio de funcionamiento.
- Internacional: Se prohíbe la importación de germoplasma de cítricos, plantas, yemas o cualquier material propagativo, procedente de áreas donde el VTC es endémico, o de aquellos países que han sufrido la introducción del patógeno a su territorio, en virtud de que ello representa un alto riesgo de introducción del VTC y su vector, a excepción de aquellos donde se compruebe mediante verificación en origen por el

personal aprobado o acreditado de la Secretaría, que provienen de áreas libres del patógeno. Se permite la introducción de material propagativo de plántulas *in vitro*, previo cumplimiento de los requisitos fitosanitarios establecidos por la Secretaría, y certificado por el país de origen (Anónimo, 1996).

3.3.3. Certificación de material propagativo de cítricos

Una de las principales, sino la principal, medidas fitosanitarias extremas para prevenir una situación de daño casi irreversible para la citricultura en México, lo es el establecimiento de un “Centro de Producción de material propagativo de cítricos certificado” o “Viveros Certificados”, que proporcionen material propagativo tolerante certificado y de calidad varietal para la sustitución y establecimiento de nuevas plantaciones, lo cual en su momento y de acuerdo a la normatividad será obligatorio.

El uso de patrones tolerantes como alternativa para el manejo del VTC, va dirigido principalmente a contrarrestar su efecto, y significa poder explotar económicamente el cultivo, aún en presencia del VTC. En México existe una serie de patrones que se comportan como tolerantes al VTC; el término “tolerante” se refiere a la capacidad de los árboles injertados en tales patrones a resistir la infección, sin manifestar los síntomas de declinamiento y/o muerte. Pero serían potencialmente susceptibles a otras plagas (*Phytophthora*, Cachexia/Xiloporosis, Exocortis, etc) al menos que se establezca un programa nacional de certificación fitosanitaria del material propagativo a producir.

Algunos de los patrones tolerantes son: la mandarina cleopatra (*Citrus reshni*); la naranja trifoliada (*Poncirus trifoliata*); citranges (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*), tanto troyer como carrizo; citrumelos (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*), como el citrumelo Swingle; amblycarpa (*Citrus amblycarpa*); limón rugoso (*Citrus jamhiri*); limón volkameriana (*Citrus volkameriana*); citrus rangpur (*Citrus limonia*).

La selección de variedades y portainjertos a utilizar, debe basarse considerando la especie a propagar (naranja, toronja, mandarina o limón), el tipo de suelo, presencia de

enfermedades y condiciones climáticas (disponibilidad de agua, nortes, heladas, etc.) de cada región en particular

El programa implica la certificación del material propagativo, lo cual permitirá darle al productor el respaldo de que la planta que emplee tendrá la calidad fitosanitaria necesaria que se refleje en sus volúmenes de producción. Para instrumentar esta certificación, está en proceso la publicación de un proyecto de Norma Oficial Mexicana.

3.3.4. Capacitación

De la concientización y participación firme y decidida de los productores en las diversas áreas citrícolas del país, depende el tiempo en que la citricultura sufra un impacto económico negativo. Como parte de esta actividad, se realizan cursos regionales dirigidos a personal técnico de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal, así como pláticas y talleres para productores, contemplándose temas como la caracterización del VTC, metodología de muestreo, patrones tolerantes, vectores, regulación de la movilización de material de cítricos, certificación de material propagativo

3.3.5. Divulgación

Con la finalidad de dar a conocer las actividades que se desarrollan como parte de la campaña, se estableció un programa de divulgación, que incluye además, la difusión de los resultados obtenidos. Con ello se logrará concientizar a los productores, a los empacadores y comercializadores, y al público en general, y se estimulará la participación, mediante la observancia de las disposiciones fitosanitarias.

En el programa divulgativo se consideran cápsulas informativas en la radio, mensajes de televisión, desplegados en la prensa, letreros panorámicos, trípticos y folletos que abordan los siguientes temas: a) Toma de muestras; b) Trampeo para la detección de vectores; c) Movilización de plantas de cítricos; d) Destrucción de brotes positivos a la tristeza; e) Uso de patrones tolerantes; f) Resultados de la campaña contra la tristeza.

IV. RESULTADOS

4.1. Metodologías de muestreo para el VTC

El muestreo y selección de plantas para la detección del VTC, es un aspecto de primera importancia cuando se pretende conocer su grado de presencia en un área determinada o población de plantas. El muestreo a seguir se determina con base a una serie de conceptos y consideraciones que enseguida se describen, relacionados con la epidemiología del VTC y distribución de plantas infectadas en el campo.

4.1.1. Consideraciones generales

La presencia del VTC en una plantación se debe primordialmente al empleo de material de propagación (varetas) infectado; la diseminación posterior ocurre en forma natural por insectos (pulgon) vectores. Conviene saber que el VTC puede estar presente en forma asintomática, dependiendo de la raza y la combinación cultivar/portainjerto de que se trate, por lo que con frecuencia, la evaluación de la presencia del VTC en un área determinada, se efectúa aún en ausencia de síntomas de la enfermedad.

Diversos estudios sobre la epidemiología del VTC en huertas de cítricos, indican que la enfermedad se distribuye al azar y que existe poca agregación de plantas infectadas, lo cual significa que es más probable encontrar al VTC en árboles distantes a los focos iniciales de infección que en árboles adyacentes a los mismos. Aparentemente el vuelo de los insectos vectores se efectúa con mayor frecuencia a árboles distantes más que a los árboles vecinos. Por lo anterior, con fines de muestreo y para detectar niveles bajos de ocurrencia del VTC, es conveniente asumir una distribución al azar o de Poisson.

4.1.2. Los métodos de muestreo

En huertas comerciales, el muestreo se realiza al azar siguiendo un patrón en zig-zag (Figura 2). Para el muestreo en viveros, se tendrá que cuadricular imaginariamente la

superficie en distancias de 3 m² y en cada punto de intersección, muestrear plantas que se encuentren en los surcos o hileras adyacentes (Figura 3).

4.1.3. Marcado y ubicación de las plantas a muestrear

Las plantas a muestrear se marcan por debajo de la primera rama verdadera o en el patrón, según sea el caso, con pintura indeleble, procurando que la marca se encuentre lo más visiblemente posible; además, en un croquis se señala la ubicación exacta. Lo anterior tiene como finalidad el facilitar la ubicación de las plantas muestreadas en visitas posteriores.

4.1.4. Cantidad de muestras

Con el fin de obtener una alta confiabilidad, el muestreo se realiza de manera sistemática en el 10% de la superficie cultivada con las diferentes variedades, de tal manera que en 10 años se muestree la totalidad de la misma.

Las plantaciones (huertas) donde no se observen síntomas sospechosos del VTC, se dividen en cuadrantes de 5 hectáreas, muestreando el 2.2% de plantas, por lo que el número de muestras dependerá de la densidad de siembra y las diferentes variedades existentes en la huerta, ya que además, se recomienda muestrear mínimamente una hectárea por variedad o especie. En viveros se recomienda tomar 5.5% de plantas, ya sea que estén establecidos directamente en el suelo o en bolsas de plástico, recomendándose en este último caso, no mover las plantas hasta conocer los resultados.

4.1.5. Etiquetado de las muestras

Cada muestra compuesta se etiqueta con una clave que la identifique. Dicha clave debe indicar el número de la planta muestreada y el número de línea o grupo al que pertenece, ya sea dentro de una huerta o dentro de un vivero

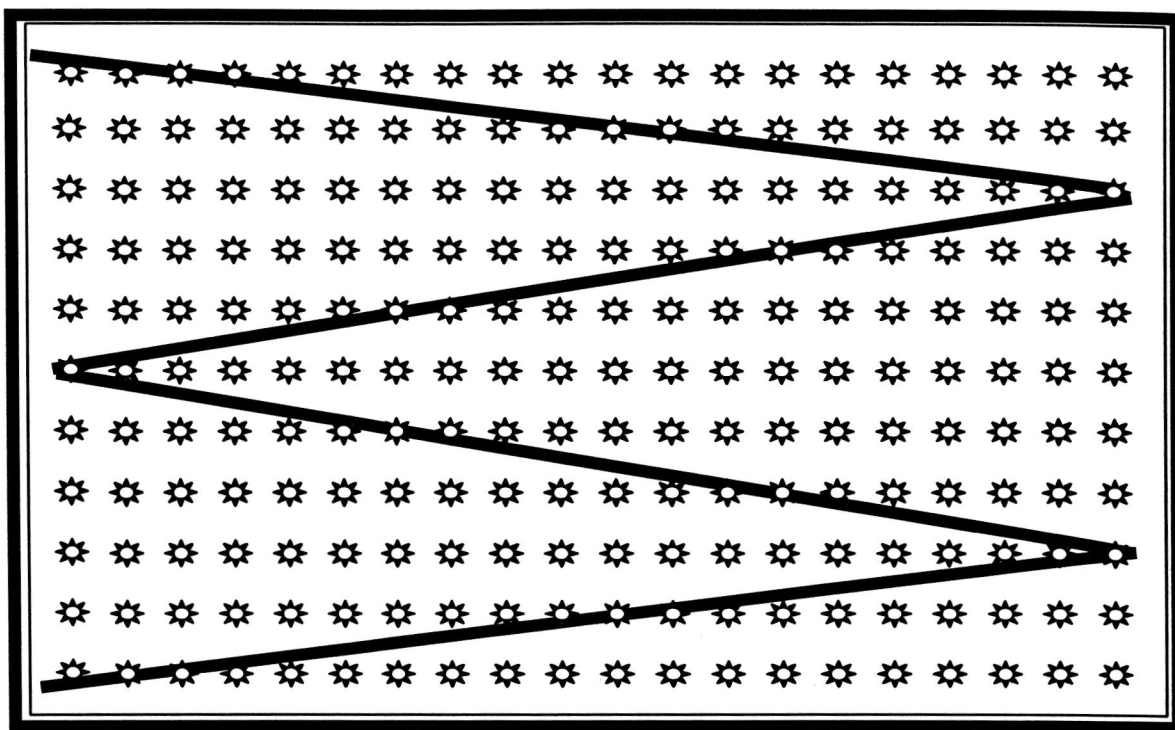


Figura 2. Modelo en zig-zag para el muestreo en huertas

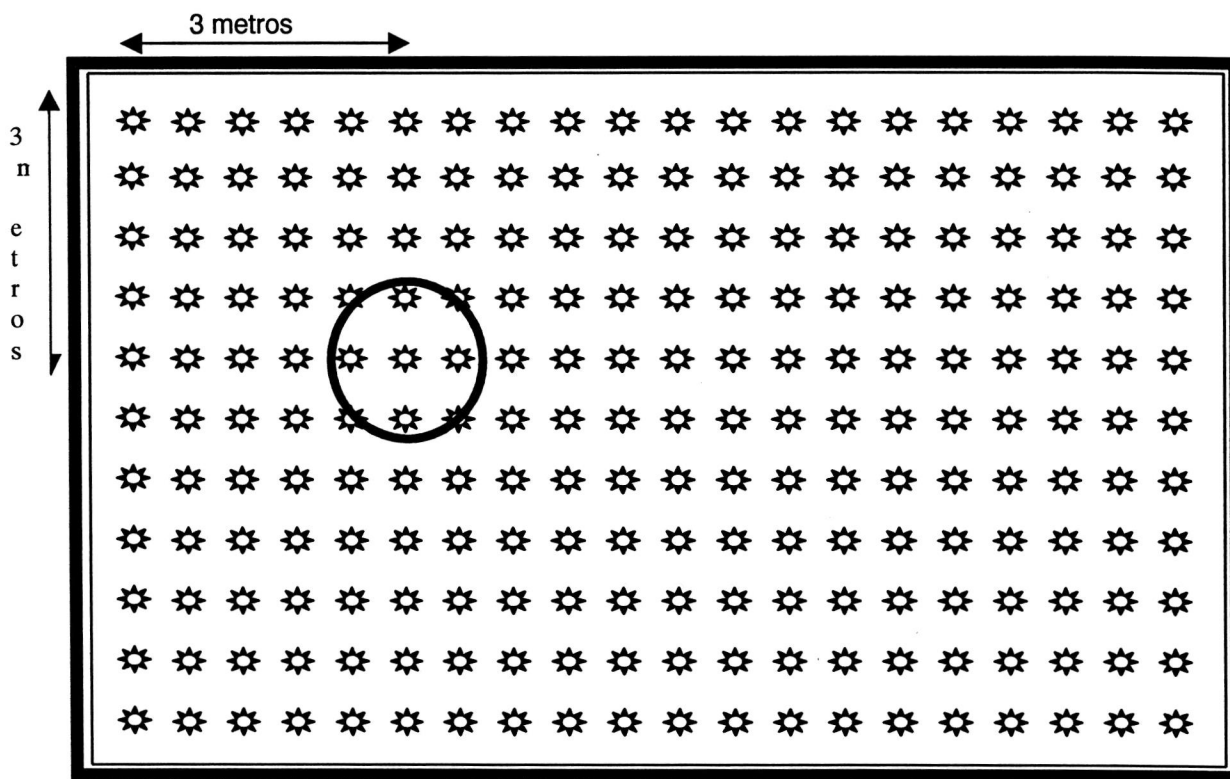


Figura 3. Modelo cuadrículado para el muestreo en viveros.

4.1.6. Toma de muestras

Una vez ubicadas y marcadas las plantas a muestrear, se procede a cortar los brotes manualmente, ya que el uso de instrumentos de corte puede ayudar a la transmisión de otras enfermedades. Para viveros, se toma una muestra compuesta de 5 plantas por punto de intersección, colectando 1 a 2 brotes jóvenes de 10-15 cm de longitud.

En huertas, se toma una muestra compuesta de 6-8 brotes tiernos de la parte apical del árbol (tratando de cubrir toda la copa), los cuales deben tener una longitud de 10 a 15 cm. Si en el recorrido de la toma de muestras se observan plantas con síntomas similares a los que ocasiona el VTC (en donde las hojas cambian de un color verde intenso a un verde claro seguido de un amarillamiento, así como aclaramiento de nervaduras), éstas se toman como muestras adicionales.

4.1.7. Preparación de muestras

Primero se elimina el follaje de los brotes jóvenes muestreados. Las muestras tomadas en cada punto forman una muestra compuesta, la cuál se envuelve en papel secante y posteriormente se colocan en bolsas de plástico. Finalmente, las muestras colectadas se depositan en una hielera (con gel congelado), para su traslado y preservación a los sitios adecuados para el descortezamiento (locales frescos, oficinas o laboratorios).

La parte utilizada para el análisis es la corteza, ya que la concentración del virus es mayor en las células del floema; por lo tanto, los brotes se descortezan manualmente, eliminando la madera. La corteza se divide con tijera en pequeños fragmentos de 2 a 4 mm², que se colocan sobre toallas secantes o papel absorbente durante un período de 24-48 horas para su secado (en lugares sin corriente de aire para evitar mezclas entre sí), ya que si se envuelven inmediatamente, la humedad presente facilita el desarrollo de hongos saprófitos. Posteriormente, la corteza se envuelve en su respectivo papel secante, sellándola con cinta adhesiva, teniendo especial cuidado de anotar las claves de las muestras por si se cambia de papel.

Al cortar una muestra compuesta a otra se deberán desinfectar las tijeras con hipoclorito de sodio o alcohol al 70%.

4.1.8. Datos de envío

Antes de enviar las muestras al laboratorio, se debe tener cuidado de anotar los siguientes datos: a) Entidad; b) Distrito de Desarrollo Rural; c) Municipio; d) Nombre del vivero o plantación; e) Nombre y dirección del productor; f) Variedad o especie; g) Edad de la plantación; h) Síntomas observados; i) Fecha de muestreo.

4.1.9. Envío de muestras

Las muestras preparadas se colocan en cajas de cartón o hieleras de unicel, que deben remitirse directamente por el productor o a través de los Organismos Auxiliares de Sanidad Vegetal, a más tardar 48 horas después de colectadas, mediante mensajería rápida o en forma personal a laboratorios aprobados por la Dirección General de Sanidad Vegetal en Diagnóstico Fitosanitario para el Virus Tristeza de los Cítricos.

Para fines de diagnóstico, se preparan muestras compuestas a partir de cinco muestras simples, considerando ésta como la que se obtiene de un árbol, con el fin de hacer más económico el análisis de laboratorio.

4.2. Primeras detecciones del VTC en México

En 1983 se detectó por primera vez, en el Estado de Tamaulipas, la presencia del virus causante de la tristeza de los cítricos (VTC) en tres variedades de cítricos; posteriormente se reportó otro brote en 1986, en el Estado de Veracruz, en 21 variedades. Ambos brotes se detectaron en lotes experimentales, los cuales fueron erradicados en su oportunidad, con fundamento en la Ley de Sanidad Fitopecuaria de los Estados Unidos Mexicanos y su Reglamento en Materia de Sanidad Vegetal (Anónimo, 1974; Anónimo 1980). Debido a ello, la Dirección General de Sanidad

Vegetal (DGSV) instrumentó el certificado libre de VTC, como requisito previo para la movilización de material propagativo y planta de vivero dentro del territorio nacional.

El 10 de junio de 1992, la DGSV comunica a la Delegación de la SAGARPA (antes SARH) en el Estado de Veracruz, la detección del VTC en el vivero “El Papayo”, la cual a su vez lo hace del conocimiento de la “Asociación Agrícola Local de Viveristas de los Municipios de Martínez de la Torre y Tlapacoyan, productores de cítricos”, instruyéndoles las medidas cuarentenarias y de erradicación.

El 29 de junio se destruyeron 70,000 plantas del mencionado vivero; sin embargo, dicha Asociación promovió juicio de amparo ante el Juzgado Primero de Distrito en Xalapa, Ver., contra la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (hoy SAGARPA), a pesar de lo cual se continuó el muestreo. Siguieron otros procedimientos jurídicos posteriores, por lo que en febrero de 1993, la DGSV notifica a la Delegación en Veracruz, la cancelación de la movilización de material vegetativo de los viveros del estado y la suspensión del muestreo hasta que se concluyera el proceso jurídico.

Durante el mes de agosto de 1992, se detectan positivos 18 árboles de una huerta del Campo Experimental del Instituto Mexicano del Café (INMECAFE) en Tlapacoyan, 3 más en la huerta denominada EX-FIRA, así como en el Vivero “Prócigo”, en Martínez de la Torre, Ver., por lo que en septiembre y octubre de ese año, se derribaron y destruyeron los árboles infectados de la huerta de INMECAFE y de EX-FIRA. En noviembre se diagnostica positivo el vivero “El Limoncito” en Martínez de la Torre.

En total, de julio a diciembre de 1992 se habían enviado 12,078 muestras al Laboratorio de diagnóstico del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de General Terán, N.L., procedentes del Campo Experimental del INMECAFE, Huerta EX - FIRA y 60 viveros. Se eliminaron 70,024 plantas y quedó pendiente la destrucción de plantas del Vivero “El Limoncito 2”. Para la atención de esta emergencia, el Gobierno Federal aportó al Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Veracruz, 700 miles de pesos.

En general, de 1992 a 1993, se habían muestreado 207 viveros y tomado 17,618 muestras (Cuadro 1). En marzo de 1993 se detecta la presencia del VTC en 5 viveros: El Jardín, Agua Nacida, Santa Consuelo 1, del Gobierno del Estado y Paso Saltillo.

Cuadro 1. Resultados del muestreo de VTC, en viveros del Estado de Veracruz, en 1992/1993.

Municipio	Viveros muestreados	Muestras Procesadas	Resultados al VTC (viveros)	
			(+)	(-)
Martínez de la Torre	41	10,651	5 *	36
Tlapacoyan	84	5,066	8 **	76
Tuxpan	30	1,229	1	29
Alamo	52	672	2	50
Total	207	17,618	16	191

* Incluye un lote experimental

** Incluye un lote demostrativo

A fin de contar con un marco legal que fundamentara las acciones contra el VTC, el 6 de junio de 1993, se publicó en el Diario Oficial de la Federación la *"Norma Oficial Mexicana 001-SARH-1993 por la que se establece con carácter obligatorio el Plan de Emergencia contra el Virus Tristeza de los Cítricos"*, mediante la cual se inició la Campaña Fitosanitaria, con el objeto de erradicar los brotes detectados en Veracruz, evitar la diseminación del patógeno en el país y establecer medidas preventivas en los demás estados productores de cítricos, entre ellas, las acciones de cuarentena en las localidades donde se detectaron brotes de VTC, para evitar la movilización de planta y material vegetativo infectado. Para ello se establecieron 4 casetas fitosanitarias (Cerro Azul, Poza Rica, Martínez de la Torre y Tlapacoyan) en el área afectada y a través de ellas se reguló la movilización de material vegetativo hacia otras entidades citrícolas.

Durante 1993 (de julio a diciembre), se eliminaron 483,900 plantas de los 6 viveros pendientes y de 3 más (Maricruz, La Guasima 2 y San Isidro) de 5 detectados durante este período, quedando pendientes 299,000 plantas de otros 2 viveros ("El Cadillo" y "Las Palmas"), las cuales fueron eliminadas en 1994. En total, de 1992 a 1994 se eliminaron en el Estado de Veracruz aproximadamente 807,624 plantas infectadas de 14 viveros y 2 huertas.

Paralelamente a la atención de la problemática en Veracruz, la DGSV ejecutó un muestreo y diagnóstico de material vegetal en 17 entidades citricolas del país. En la primera etapa (abril-mayo) se muestrearon: Yucatán, Tabasco, Quintana Roo, Campeche, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Sonora, Colima y Veracruz y en una segunda fase (noviembre-diciembre) se muestrearon 7 entidades: Jalisco, Oaxaca, Hidalgo, Guerrero, Chiapas, Michoacán y Puebla (cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados del muestreo en huertos en 17 entidades de México en 1993.

Región	Superficie (ha)	Muestras procesadas
Península de Yucatán	1,483	550
Golfo	1,779	1,687
Pacífico	3,416	2,009
Total	6,679	4,246

De este muestreo, se determinaron variantes asintomáticas de VTC en Jalisco (Atotonilco), Michoacán (Apatzingan, Chiquihuitillo), Hidalgo (Orizatlán), Puebla (San Jose Acateno), Oaxaca (Santa Rosa) y Chiapas (Ocozocuatla).

4.3. Resultados de la campaña

4.3.1. Presupuesto

Para llevar a cabo las diversas acciones de la campaña contra el VTC, la SAGARPA, por conducto de la DGSV, destinó recursos que se transfieren a los productores organizados en las figuras establecidas en la Ley Federal de Sanidad Vegetal, que son los Organismos Auxiliares de Sanidad Vegetal, quienes tienen a su cargo, la operación de la campaña. Las aportaciones federales, en su caso, son complementadas con recursos de los gobiernos de los estados y de los propios productores.

Del análisis de la distribución del presupuesto (cuadro 3), se aprecia la constancia de aportación a los estados de Veracruz, Nuevo León, Tamaulipas y Colima, en virtud de que cuentan con las superficies citrícolas más importantes. En estados con poca superficie se aprecian aportaciones altas, principalmente en los últimos tres años,

debido a que son considerados como de alto riesgo o bien se está fomentando la producción de material certificado, como Campeche, Yucatán y Quintana Roo; o como Baja California, debido a las altas detecciones de VTC, en proceso de erradicación.

Por otra parte, se observa que desde 1999 se han destinado recursos a todos los estados citrícolas, independientemente de su superficie, ya que se están realizando acciones de muestreo, pretendiéndose que en 10 años se haya cubierto la totalidad de la superficie. Esto obedece a que a partir de 1999, se determinó que el muestreo se lleve a cabo de manera sistemática en el 10% de la superficie cada año.

Cuadro 3. Aportación federal a la Campaña contra el Virus de la Tristeza de los Cítricos, durante 1996-2000.

Estado	Aportación federal (miles de pesos)					
	1996	1997	1998	1999	2000	Total
Baja California			439.16	766.80	850.00	2,055.96
Baja California Sur			108.50	144.10	213.00	465.60
Campeche	150.00	106.87	217.40	372.89	517.00	1,364.16
Colima	150.00	287.00	276.01	209.59	152.42	1,075.02
Chiapas			125.00	350.00	300.00	775.00
Guerrero				49.28	76.00	125.28
Hidalgo			125.00	113.41	181.42	419.83
Jalisco		150.00	300.00	480.00	420.00	1,350.00
Michoacán		100.00	163.00	200.00	450.00	913.00
Morelos	60.00	100.00	167.00	197.00	250.00	774.00
Nayarit					350.00	350.00
Nuevo León	500.00	400.00	314.00	400.00	340.00	1,954.00
Oaxaca		300.00	119.50	272.00	200.00	891.50
Puebla			140.00	150.00	376.00	666.00
Querétaro					58.28	58.28
Quintana Roo	300.00	270.00	689.30	564.00	900.00	2,723.30
San Luis Potosí		8.00	297.98	350.54	387.15	1,043.67
Sinaloa			100.00	200.00	350.00	650.00
Sonora			180.00	300.00	300.00	780.00
Tabasco	119.00	100.00	25.00	250.00	225.00	719.00
Tamaulipas	300.00	100.00		400.00	800.00	1,600.00
Veracruz	550.00	800.00	279.18	400.00	392.50	2,421.68
Yucatán	0	100.00	81.50	470.00	517.00	1,168.50
Total	2,129.00	2,821.87	4,147.53	6,639.61	8,605.77	24,343.78

Fuente: Dirección General de Sanidad Vegetal. Anexos Técnicos y addenda, del Programa de Sanidad Vegetal de la Alianza para el Campo

4.3.2. Muestreo

Durante 1992 y 1993 se realizaron muestreos en el estado de Veracruz (cuadro 1), además de que en 1993 también se hicieron muestreos dirigidos a algunos estados en los que se tenían sospechas de la presencia del VTC (cuadro 2).

De 1994 a 1999, el seguimiento a los muestreos realizados no fue suficiente, por lo que no se tuvo la posibilidad de llevar a cabo una sistematización consistente de los mismos, sobre todo porque las muestras obtenidas no fueron analizadas secuencialmente al muestreo. Por ello, los datos de muestras obtenidas no son coincidentes con los de muestras analizadas.

Cuadro 4. Muestras tomadas en diversas entidades de México, durante 1995/2000

Estado	No. de muestras tomadas						
	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Total
Baja California			51	2,020	1,088	1,236	4,395
Baja California Sur				1,500		718	2,218
Campeche				2,029	3,685	7,897	13,611
Colima				1,085			1,085
Chiapas						70	70
Guerrero						50	50
Hidalgo				2,023	1,347		3,370
Jalisco				565	404		969
Michoacán				10,000		4,014	14,014
Morelos					9	527	536
Nayarit						94	94
Nuevo León	18,947	3,342	5,928	3,733	961		32,911
Oaxaca				1,723	18	331	2,072
Puebla				2,595		144	2,739
Querétaro							
Quintana Roo	4,000	2,226	2,274	1,500			10,000
San Luis Potosí				838	1,462	3,033	5,333
Sinaloa				1,164		1,073	2,237
Sonora				1,590		323	1,913
Tabasco			2,280	1,020		612	3,912
Tamaulipas						957	957
Veracruz	45,508	19,367		1,320		90	66,285
Yucatán				1,292		1,417	2,709
Total	68,455	24,935	10,533	35,997	8,974	22,586	171,480

Fuente: Dirección General de Sanidad Vegetal.

En el cuadro anterior (cuadro 4) se especifican los años en que fueron colectadas las muestras, muchas de las cuales no se analizaron en ese mismo año, e incluso se desecharon sin que se hubiera llevado a cabo el diagnóstico. Ello se debió en gran parte a dos factores: a) la falta de presupuesto para el pago de los mismos; b) falta de los laboratorios aprobados, como ocurrió en el año de 1997 cuando fue suspendido el Laboratorio de Diagnóstico del Campo Agrícola Experimental de Cotaxtla, Ver.

En el cuadro 5 se especifican los años en que se realizaron los análisis y se detectaron muestras positivas, del universo indicado en el cuadro 4. De los casos positivos, no todos fueron erradicados, debido principalmente a la falta de apoyo legal por parte de las Delegaciones de la SAGARPA o porque no fue posible ubicar los árboles.

Cuadro 5. Muestras detectadas como positivas al VTC durante 1995/2000.

Estado	No. de muestras positivas						Total
	1995	1996	1997	1998	1999	2000	
Baja California			2	124			126
Campeche						19	19
Michoacán						8	8
Morelos						1	1
Nuevo León	47		7			12	66
Quintana Roo	8		10			20	38
Tabasco			3				3
Veracruz	14		423				437
Yucatán						25	25
Total	69	0	445	124	0	85	723

Fuente: Dirección General de Sanidad Vegetal.

Se observa como desde 1998 se generalizó el muestreo en toda la república, pretendiéndose que en el mediano plazo se llegue a muestrear la totalidad de la superficie citrícola en México.

Por otra parte, a partir de 1999, la DGSV ha determinado como lineamiento general, que los análisis se hagan a muestras compuestas integradas por cinco muestras simples, considerando como muestra simple la que se obtiene de un árbol en particular.

4.3.3. Capacitación

Esta es una actividad muy importante, ya que se dan a conocer diversos aspectos de la campaña, impartándose pláticas a productores, así como cursos a técnicos. En 1998 se llevaron a cabo 100 cursos y 55 pláticas; en 1999 fueron 41 cursos y en 2000 se han impartido 35 cursos.

4.3.4. Monitoreo del vector

Esta acción tiene como objetivo detectar la presencia del Pulgón café *Toxoptera citricida*, el vector mas eficiente para transmitir el VTC. En 1998 se revisaron 50,522 árboles, principalmente en la Península de Yucatán; en 1999 se revisaron 18,998, de los cuales la mitad correspondió a Quintana Roo; ello ha obedecido a que esta región de la península es el lugar de mayor riesgo para la introducción del vector.

En el año 2000, con base en los resultados de monitoreos, muestreos y diagnósticos fitosanitarios realizados por la SAGARPA, se han detectado brotes positivos del pulgón café en algunas zonas marginales de los estados de Yucatán y Quintana Roo.

4.3.5. Divulgación

Es importante lograr una mayor participación de las organizaciones de productores y de viveristas para integrar Comités Regionales y Juntas Locales de Sanidad Vegetal, con lo cual es posible realizar acciones preventivas en regiones libres de la enfermedad y además llevar a cabo funciones de vigilancia fitosanitaria para evitar la introducción de materiales que signifiquen riesgos graves para el establecimiento y dispersión del patógeno.

Lo anterior se logra a través de una campaña de divulgación ante los productores y público en genera. Durante 1998 se distribuyeron 32,961 impresos, en 1999 11,826 y en el año 2000 fueron 15,000.

4.4. Propuestas de continuidad de la campaña

En este punto, se enumeran una serie de acciones apropiadas para hacer frente a una situación de verdadera emergencia

4.4.1 Organización de un Comité Nacional

Este debe integrarse a base de un grupo selecto de individuos, representantes de productores, viveristas, empacadores, procesadores, investigadores, funcionarios del Gobierno Federal y Estatal a fin de elaborar propuestas de resolución dirigidas a los más altos niveles gubernamentales para obtener apoyo político y económico. El Comité debe supervisar, dirigir, darle seguimiento y evaluar la campaña contra la tristeza y otras enfermedades virósas.

4.4.2. Contratación y entrenamiento de personal

Este aspecto es de suma importancia para desarrollar acciones de gran trascendencia como lo son la prospección de las diversas regiones citrícolas, la selección e indexación de materiales parentales, la indexación de huertas y viveros comerciales, la operación una estación cuarentenaria a base de cultivo de tejidos, la erradicación de árboles infectados, el monitoreo de insectos vectores, la investigación, la transferencia tecnológica y la capacitación de productores y viveristas, entre otros.

Por ello, se recomienda el entrenamiento y fogueo de técnicos y científicos mexicanos en diversas partes del mundo sobre los siguientes tópicos: a) Erradicación de tristeza en Israel, España, California y Venezuela; b) Estación cuarentenaria a base de cultivo de tejidos en España; c) Manejo de viveros comerciales en California, Florida y España; d) Programas de registro y certificación de cítricos, en California, España, Venezuela y Florida; e) Participación en las reuniones trianuales de la Organización Internacional de Virólogos de los Cítricos (OIVC); f) Infraestructura necesaria para trabajos de detección, investigación y reglamentación en California, España, Israel, Florida y Venezuela

4.4.3. Fomento de la investigación

Entre las necesidades de investigación, para tratar de contener la amenaza del VTC y otras enfermedades virosas, tenemos las siguientes: a) comportamiento de patrones tolerantes o resistentes bajo diferentes condiciones; b) requerimientos de temperatura para expresión de síntomas del VTC sobre limón mexicano; c) modificaciones de invernaderos y abrigos de mallas para lograr una mejor expresión de síntomas sobre diferentes plantas indicadoras; d) mejoramiento de técnicas para la eliminación de virus aplicando técnicas de termoterapia y de biotecnología; e) técnicas serológicas para la detección de tristeza y de otras enfermedades virosas; f) control biológico de los insectos vectores y determinación del grado de transmisión por cada especie.

4.4.4. Detección de razas de tristeza

Los métodos de detección de razas del VTC y otras enfermedades virosas, consisten en muy ligeras adaptaciones de las técnicas de indexación a base de plantas indicadoras, o de la técnica serológica ELISA.

Un programa de indexación requiere una serie de facilidades: debe establecerse en alguna localidad como Xalapa, Ver., aislada de áreas citrícolas compactas, donde el número de días fríos y calientes en el año sea el mínimo posible, con lo cual se reducen los gastos de operación al disminuir las necesidades de calentamiento y ventilación de los invernaderos.

Sobre el particular, es conveniente aprovechar la reciente experiencia venezolana, la cual a su vez integra tecnologías previamente desarrolladas en otros países (Monteverde, *et al*, 1984). De cada árbol sometido a prueba, se obtienen 3 varetas al azar a fin de injertar 2 yemas de cada una para la inoculación de otras tantas plantas de limón mexicano, utilizadas como planta indicadora, de aproximadamente 6 meses de edad. Por cada prueba se tiene una planta testigo sin inocular; las plantas de limón mexicano se podan a una altura de 20 cm inmediatamente después de haberse injertado.

Las plantas inoculadas se someten a revisiones semanales para determinar el tiempo de aparición de los síntomas después de la inoculación, la intensidad y la naturaleza de los mismos. Los tiempos mínimo y máximo para la aparición de síntomas fue de 29 y 97 días respectivamente. A medida que aumenta el grado de intensidad, el tiempo de aparición es menor y viceversa (McClellan, 1963; Monteverde, *et al*, 1984).

De 126 árboles sometidos a la prueba, de acuerdo a la metodología indicada en los dos párrafos anteriores, se elaboró una clasificación tentativa en 4 grupos:

Grupo 1.- 28 árboles	sin síntomas, libres de tristeza
Grupo 2.- 70 árboles	Síntomas severos, 29-60 días después de la inoculación
Grupo 3.- 8 árboles	Síntomas moderados, 61-70 días después de la inoculación
Grupo 4.- 20 árboles	Síntomas benignos, 71-97 días después de la inoculación

El grupo 4 resulta interesante, ya que eventualmente puede aprovecharse en trabajos de preinmunización para proteger árboles contra razas más severas del VTC. En cuanto a la manifestación de síntomas sobre el limón mexicano, se encontró lo siguiente:

- Aclaramiento de nervaduras.- Se detecta en áreas muy pequeñas, aunque puede presentarse en forma generalizada a lo largo de las nervaduras. Esta sintomatología se asocia siempre con la presencia de VTC; 84 pruebas resultaron positivas.
- Clorosis y acucharamiento de hojas tiernas.- Las hojitas brotan amarillas y se acopan hacia el haz de su lámina foliar; en 48 pruebas se obtuvieron dichos síntomas.
- Acucharamiento de hojas maduras.- Este síntoma se presentó en 51 de las pruebas y consiste en la desaparición de la clorosis, pero persistiendo una especie de enrollamiento longitudinal hacia el haz.
- Clorosis de hojas maduras.- Las hojas adquieren un color amarillo verdoso en toda su superficie, conservando las nervaduras secundarias su color verde normal, dando la apariencia de deficiencias nutricionales. Apareció en 50 de las pruebas realizadas.
- Acorchamiento de las nervaduras.- Consiste en un engrosamiento corchoso de las nervaduras por el lado del envés, ocasionando una reducción severa del crecimiento

de las plántulas. Este síntoma coincide con el que produce la deficiencia de boro, solo 4 pruebas resultaron con esta sintomatología.

- Reducción del crecimiento.- Al comparar con las plántulas testigo de cada prueba, 76 presentaron reducciones de crecimiento, que varían de muy suaves a muy severas.
- Epinastia.- La lámina de la hoja se dobla hacia su envés, lo cual se acentúa por reducción de crecimiento y acorchamiento o engrosamiento de nervaduras.

La presencia de los síntomas antes descritos sobre plántulas de limón mexicano, indica que el complejo viral de la tristeza está presente en una región productora. Cada síntoma puede aparecer sobre la planta indicadora, con un grado de Intensidad que oscila del suave (inocuo) al muy severo, pasando desde luego por formas moderadas.

Un trabajo de esta naturaleza en nuestro país, debe avalarse bajo condiciones muy definidas en cuanto a los requerimientos de temperatura y de sustrato, para evitar al máximo el enmascaramiento de síntomas; además, debido a que algunas razas son altamente específicas para ciertas hospederas, su severidad debe determinarse sobre la propia hospedera. Por ejemplo, las razas que causan Stem-Pitting severo en toronja, no ocasionan declinamiento sobre árboles injertados sobre naranjo agrio, o bien una reacción a Seedling yellows en plántulas de naranjo agrio, limón o toronja indica la presencia de una raza severa, pero no necesariamente está asociada con Stem-Pitting (Garnsey, 1991).

Respecto a la aplicación de métodos serológicos para la detección de diferentes razas del VTC, es conveniente reconocer sus avances y sus limitaciones, puesto que todos se han desarrollado durante los años más recientes. Hasta 1976, las pruebas inmunoenzimáticas se utilizaban únicamente en patología clínica y serología animal. El primer estudio preliminar sobre la aplicación del método Elisa (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay), se publicó precisamente en ese año (Voller, *et al*, 1976 mencionado por Cambra, *et al*, 1979). A partir de entonces y más bien durante la última década, las adaptaciones y modificaciones de dicha técnica se aplican en la detección rápida, precisa y confiable del VTC.

Las pruebas con antisueros policlonales y la mayoría de los antisueros monoclonales, revelan si un árbol está infectado pero no indican la severidad de la raza. El uso de anticuerpos monoclonales (MCA) puede ser muy específico para diagnosticar determinadas razas o pequeños grupos de razas del VTC. En tales casos, una mezcla de varios MCA puede ser útil para detectar todas las razas del virus, lo cual sería un gran auxiliar en programas de registro y certificación donde la identificación del virus no es importante puesto que todas las plantas infectadas se eliminan (Anónimo, 1991).

Recientemente se desarrolló un anticuerpo monoclonal, el MCA 13, para distinguir razas severas de razas benignas de VTC en Florida. Dicho anticuerpo es muy útil para la eliminación de fuentes donadoras de material vegetativo infectadas de razas severas de VTC (Garnsey, 1991). En otros trabajos, también se reporta la aplicación de la técnica ELISA a base de anticuerpos policlonales para la detección de todas las razas de tristeza, y de anticuerpos monoclonales (AB) para detectar específicamente razas severas de tristeza (Lastra, *et al*, 1991).

En la infinita búsqueda de mejores y más rápidos métodos para la detección de virus y organismos similares de las plantas, se investigan en la actualidad técnicas tales como la del RNA de doble filamento (ds RNA) y su complementario DNA (c DNA).

4.4.5. Organización de un programa de registro y certificación

En el manejo integrado de las enfermedades virosas, destacan los métodos preventivos por ser los más eficaces y económicos, como un programa de registro y certificación, el cual consiste fundamentalmente en los siguientes pasos y en ese orden:

- Selección de árboles superiores adaptados y fieles a sus características varietales.
- Indexación para la detección de enfermedades virosas.
- Primera multiplicación en invernadero o en abrigo de mallas.
- Eliminación de virus contaminantes mediante termoterapia y microinjerto.
- Indexación del material para verificar que esté libre de virus.

- Establecimiento de bancos de germoplasma, lotes fundación, huertas madre y reserva, los cuales se protegen con mallas antipulgones.
- Mantenimiento de los bancos de germoplasma y verificación constante de su sanidad y apego a las características varietales.
- Registro de los árboles candidatos.
- Liberación del material registrado a los viveristas.
- Establecimiento de lotes de multiplicación de yemas, que pueden estar a cargo de instituciones o de viveristas, siempre bajo la supervisión de personal autorizado.
- Liberación de yemas registradas a viveristas, para la producción de arbolitos certificados. La certificación requiere una estrecha supervisión para que el viverista realice cada operación oportunamente, con las tecnologías más avanzadas y con los materiales más sanos y apegados a sus características varietales.

La producción de material certificado debe complementarse con el uso de los llamados patrones tolerantes, a fin de formar árboles con combinaciones injerto/patrón capaces de convivir con la tristeza y otras enfermedades virosas sin sufrir grandes daños.

En otro capítulo se describen las características específicas de un programa de certificación.

4.4.6. Establecimiento de una estación cuarentenaria basándose en cultivo de tejidos

Una revisión sobre el estado de las enfermedades virosas de los cítricos en varios países, indica que un alto porcentaje de las selecciones tradicionales están infectadas con uno o más patógenos, incluyendo tristeza, psorosis, cóncave gum, exocortis, xiloporosis, vein enation, enfermedades ampliamente distribuidas; mientras que Stubborn, Greening e Infectious Variegation son comunes en ciertas áreas pero son raras o ausentes en el resto de las regiones productoras (Roistacher, 1977). El alto grado de infectividad de dichas enfermedades, así como la introducción legal o clandestina de material vegetativo valioso de un país a otro o de una región a otra;

representan riesgos que podrían ser catastróficos para la citricultura de un país. La razón primordial de un programa cuarentenario consiste en restringir la introducción de plagas y enfermedades a un país o región donde no existen.

La necesidad de reforzar y operar estrictamente un sistema cuarentenario es evidente, puesto que la mayor parte de las enfermedades virosas tienen la capacidad de establecerse, dispersarse y mutar hacia formas más destructivas; sin embargo, el deseo legítimo de obtener las mejores especies y variedades para fines de producción e investigación, debe reconocerse como potencial de riqueza. Entre estos polos, se justifica el establecimiento de una estación cuarentenaria para asegurar la importación o movilización de material vegetativo superior.

Los procedimientos utilizados en la estación cuarentenaria a base de cultivo de tejidos en España (Navarro *et al*, 1975, Navarro *et al*, 1984), son los siguientes:

- Introducción de varetas.- Se debe disponer de la historia y descripción de los árboles donadores, incluyendo datos tales como localidad, edad, patrón, anormalidades y resultados de cualesquier indexación previa, presencia de enfermedades bacterianas o fungosas de origen desconocido. Las varetas y yemas se lavan con agua y detergente, y cuando sea necesario, se tratan con un plaguicida adecuado, empacándose de manera preferente en bolsas de polietileno transparentes.
- Inspección preliminar.- Al llegar al laboratorio, las varetas se inspeccionan sin abrir las bolsas de plástico; en caso de observar anormalidades, altas contaminaciones o infestaciones, el paquete debe destruirse en la autoclave o en el horno crematorio.
- Desinfección de varetas.- Inmediatamente después de sacar las varetas de la bolsa, se desinfectan mediante inmersión por 20 min, en una solución de hipoclorito de sodio al 2%, con 0.1% de tween 20, o cualesquier otro agente humectante y luego se enjuagan tres veces en agua destilada. Tanto el paquete como las soluciones desinfectantes se desechan después de esterilizarlas en la autoclave.

- Cultivo de yemas *in vitro*.- El medio de cultivo consiste en una solución de sales de murashige y skoog, distribuida en alícuotas de 20 ml por cada tubo de ensayo de 38 x 200 mm que contiene una arena muy fina como sustrato, mismo que se esteriliza en autoclave a 121°C por 15 min. En cada tubo se coloca una vareta con 4-6 yemas hacia arriba, con la base inserta en la arena, conservándose en una incubadora a 32°C de temperatura constante y se exponen durante 16 hrs diarias a una iluminación de 10,000 lux. Después de 10 días, más del 80% de las yemas producen brotaciones ramificadas.
- Desinfección de brotes.- Los brotes producidos *in vitro*, se cortan de las varetas bajo condiciones asépticas mediante el auxilio de unas tenazas. Después se desinfectan sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% con un 0.1% de agente humectante durante 5 min, luego se enjuagan 3 veces en agua destilada esterilizada. Las varetas de cultivo originales se destruyen en autoclave.
- Corte de ápices caulinares.- Los ápices conteniendo al meristemo apical y 3 primordios foliares, de 0.1 a 0.2 mm de longitud, se separan del punto terminal de crecimiento siguiendo el procedimiento estándar del microinjerto; si existe suficiente material, es posible utilizar ápices aún más pequeños. También se pueden utilizar las yemas auxiliares de los brotes. Los tejidos sobrantes se destruyen inmediatamente.
- Microinjerto *in vitro*.- Los ápices caulinares removidos, se injertan *in vitro* usando el patrón más apropiado para cada especie. Las plantitas injertadas se conservan por lo menos 60 días en cultivo, antes de transplantar al suelo, para permitir el posible desarrollo de cualesquier contaminación microbiana o síntomas de enfermedad. Todo cultivo que muestre anomalías debe destruirse mediante la autoclave.
- Trasplante al suelo.- Las plántulas injertadas y prendidas se transplantan en pequeñas macetas conteniendo un sustrato artificial de suelo esterilizado con vapor de agua, cubierto con una bolsa de plástico, dentro de un invernadero cuarentenado. Las bolsas se mantienen por un mínimo de 10 días, a fin de que las plantas que

muestran anomalías se destruyan antes de abrir dichas bolsas. El invernadero se divide en pequeñas secciones equipadas con sistemas de calentamiento y de enfriamiento, con ventanas y puertas protegidas con mallas a prueba de insectos.

- **Indexado.-** Se lleva a cabo sobre las plantas microinjertadas y establecidas dentro del invernadero, siguiendo los métodos rutinarios para detectar virus y otros organismos presentes en el país de donde se importó el material. Las plantas se mantienen en el invernadero hasta conocer los resultados de la indexación, lo cual requiere un período de 2 años después del trasplante, permitiendo incluso la indexación para xiloporosis; cualesquier planta que durante este tiempo presente alguna anomalía debe destruirse junto con las plantas indicadoras inoculadas. En caso de encontrar una planta contaminada, ésta puede destruirse o remitirse para repetir el microinjerto de acuerdo a la importancia del cultivar.
- **Liberación de yemas.-** La liberación del material introducido ocurre aproximadamente a los 27 meses de su importación; estas yemas se distribuyen entre los viveristas autorizados para propósitos de investigación.

Una de las principales ventajas de este procedimiento consiste en que las plagas y enfermedades conducidas o contenidas en el material vegetativo original, resultan eliminadas en las fases iniciales de la introducción. Los tubos de ensayo sustituyen a los invernaderos, en cierta forma, en este sistema cuarentenario.

4.5. Métodos de manejo y control de la enfermedad

Existen varias opciones para el manejo integrado de las enfermedades virales, incluyendo disposiciones legales, erradicación, exclusión, medidas culturales y de control biológico. Este último comprende la protección cruzada a base de razas inocuas, ingeniería genética e hibridación en busca de resistencia de clones comercialmente aceptables tanto de variedades como de patrones.

4.5.1. Métodos para el manejo de tristeza según su prevalencia

Con base en la ausencia o presencia de la enfermedad, así como de su incidencia, existen algunas recomendaciones sobre medidas a aplicar (Cambra, *et al*, 1990; Lee y Rocha Peña, 1992).

Prevalencia	Medidas disponibles
Ausente	Cuarentenas Programa de certificación y/o de materiales limpios
Presente	
Baja incidencia	Programas de erradicación-supresión Programas de certificación y/o materiales limpios
Alta incidencia	Patrones tolerantes Tolerancia varietal a Stem-Pitting Protección cruzada Resistencia por medio de ingeniería genética Programa de certificación de material vegetativo

4.5.2. Mapas regionales de distribución de la tristeza

Con base en los criterios y propuestas generadas en España (Cambra, *et al*, 1990), se elaboran mapas de distribución de la enfermedad a partir de los resultados obtenidos en los diagnósticos, estableciéndose los intervalos de incidencia y los colores a utilizar, de acuerdo a lo siguiente: a) Azul, para zonas citrícolas libres de la enfermedad, con 0 % de árboles infectados; b) Verde, para zonas con incidencia baja, de 0.1 a 2% de árboles infectados; c) Amarillo, para zonas con incidencia regular, de 2.1 a 5% de árboles infectados; d) Naranja, para zonas con incidencia mediana, de 5.1 a 20% de árboles infectados; y e) Rojo, para zonas citrícolas con alta incidencia de la

enfermedad, con mas del 20% de árboles infectados. Para cada una de estas zonas, se contempla realizar diversas acciones, como se indican a continuación:

a) Zonas libres, con 0% de incidencia.

Se deben reforzar y apoyar las medidas cuarentenarias al máximo para evitar la introducción de la enfermedad. El uso de arbolitos certificados debe destinarse al establecimiento de nuevas plantaciones, a la plantación intercalada con fines de renovación, o a la reposición de fallas y al establecimiento de bancos de germoplasma.

b) Zonas con menos del 2% de incidencia.

En estas áreas, la dispersión natural de la enfermedad es baja, generalmente con un riesgo bastante limitado para los cítricos. Por ello, las recomendaciones son:

- Analizar el 10% de los árboles de cada huerta, independientemente del patrón, para comprobar la verdadera incidencia de árboles infectados. En caso de que los resultados indiquen una infección mayor al 2%, se deben analizar todos los árboles de la huerta para identificar a aquellos enfermos.
- Si la zona donde se localiza la huerta está suficientemente aislada, se recomienda la erradicación de los árboles infectados, aún estando sobre patrones tolerantes, los cuales se reponen con arbolitos certificados. Las huertas muy infectadas suponen un alto riesgo para las plantaciones vecinas; lo mismo puede afirmarse respecto a los árboles infectados sobre patrón tolerante, los cuales se convierten en focos permanentes de la enfermedad y por tanto su eliminación es conveniente.
- Cuando la zona donde se ubica la huerta no está aislada, es recomendable arrancar todos los árboles injertados sobre naranjo agrio, susceptibles de ser infectados; de igual modo se procede en aquellos casos de árboles sobre patrón tolerante o de limones sobre naranjo agrio con un alto índice de infección, porque se constituyen en reservorios permanentes del virus. El replante de los árboles eliminados debe llevarse a cabo con arbolitos certificados procedentes de viveros autorizados.

- Cuando sea necesaria la reinjertación, debe efectuarse exclusivamente con yemas procedentes de árboles registrados en huertas madre o en bloques de multiplicación autorizados y establecidos específicamente para esa finalidad.

c). Zonas con 2.1 a 5% de incidencia.

En estas áreas es posible convivir con la enfermedad, y aunque la erradicación no es un procedimiento viable, la reducción del inóculo asegura una longevidad productiva mayor a las plantaciones sobre naranjo agrio. Por tanto, para esta zona se recomienda:

- Analizar todos los árboles injertados sobre naranjo agrio para saber cuales están infectados.
- Arrancar los árboles infectados e injertados sobre naranjo agrio y replantar con arbolitos certificados sobre patrones tolerantes producidos en viveros autorizados.
- Una vez efectuado lo anterior, realizar cualesquier reinjertación únicamente con yemas procedentes de fuentes donadoras registradas y autorizadas.

d). Zonas con 5.1% al 20% de incidencia.

Corresponde a zonas de alto riesgo para el cultivo, donde es prácticamente imposible erradicar la enfermedad y en donde se necesita estudiar la situación concreta de cada huerta. Entre las recomendaciones pertinentes sobresalen las siguientes:

- Analizar por lo menos el 10% de los árboles de cada huerta. En función del porcentaje de árboles infectados, se aplican las medidas recomendadas para zonas de alta incidencia (más del 20%) o de incidencia regular (2.1 - 5%) considerando los porcentajes de infección de los municipios plantaciones colindantes.
- Arrancar como mínimo, los árboles sobre naranjo agrio que presenten síntomas confirmados mediante análisis, aunque sean iniciales; estos árboles no se recuperan económicamente con prácticas de cultivo y tarde o temprano morirán. Los árboles arrancados se sustituyen con arbolitos certificados.

- Reinjertar exclusivamente con yemas procedentes de fuentes donadoras registradas y autorizadas.
- Se debe consultar con la autoridad sanitaria más próxima, antes de tomar decisiones sobre reposición, arranque parcial o total de árboles, interplantación o reinjertación.

e). Zonas con más del 20% de incidencia.

Generalmente se trata de zonas de alto riesgo, donde los pulgones juegan un papel muy importante en la dispersión de la enfermedad y en donde todos los árboles sobre naranjo agrio morirán en un lapso relativamente breve. Se aconseja lo siguiente:

- Arrancar todos los árboles sobre naranjo agrio y replantar arbolitos certificados sobre patrones tolerantes, según las características de suelo y clima de cada huerta en particular. No obstante, cuando los resultados económicos de una huerta sobre naranjo agrio son aceptables y permiten su mantenimiento, se pueden interplantar arbolitos certificados sobre patrones tolerantes, con fines de renovación. Estas operaciones pueden llevarse a cabo independientemente de los síntomas presentes.
- La movilización de material vegetativo procedente de estas zonas, representa un alto riesgo para la dispersión del VTC a otras zonas o regiones productoras; por tanto, el empleo de material procedente de estas zonas debe prohibirse definitivamente.
- En ningún caso debe recurrirse al sobreinjerto, para huertas sobre naranjo agrio; la vida productiva de estas plantaciones puede ser breve y el sobreinjerto una pérdida económica. El sobreinjerto debe practicarse sólo sobre patrones tolerantes y utilizando yemas procedentes de fuentes donadoras registradas y autorizadas.

Esta serie de recomendaciones son aplicables a las condiciones de la citricultura española (Cambrá, *et al*, 1990), caracterizada por: la compactación de las plantaciones comerciales, una diversificación de la producción en cuanto a especies y variedades, la prevalencia de razas severas de tristeza, la sustitución acelerada del naranjo agrio como patrón, una infraestructura muy solvente en cuanto a recursos institucionales y tecnológicos, pero todavía sin la presencia del vector más eficiente, *T. citricida*.

Sin embargo, estas recomendaciones pueden servir de guía y adaptarse a las condiciones de la citricultura mexicana, mientras no exista el vector *T. citricida* y predominen las razas benignas. Aún en el caso extremo de que aparecieran razas severas, dichas recomendaciones tendrían validez, siempre y cuando no se presente el vector antes referido.

4.5.3 Cuarentenas

Las cuarentenas constituyen las primeras líneas de defensa en zonas donde la enfermedad todavía no está presente. Los programas de materiales libres de patógenos tienen el propósito de proveer material vegetativo limpio de enfermedades transmitidas por injerto, apegado a las características varietales.

La eficiencia de dichos programas depende por un lado, del estricto reforzamiento de las cuarentenas para evitar la introducción de problemas sanitarios, y por el otro, de la flexibilidad de la reglamentación para facilitar la importación de materiales valiosos libres de virus. En este caso, se requieren facilidades para la limpieza inmediata de agentes patógenos, ya sea por termoterapia y/o microinjerto, y proceder a la respectiva indexación que ratifique su sanidad a fin de poder registrarlos (Navarro, *et al*, 1984).

Sin la flexibilidad y facilidades antes mencionadas, es difícil asegurar que la importación ilegal de varetas y plantas contaminadas dejará de ocurrir. Precisamente, este ha sido el medio más eficaz para la dispersión de las enfermedades virosas en el mundo.

A medida que las condiciones cambian o se dispone de mayores conocimientos, las cuarentenas deben corregirse rápidamente, ya sea mediante la adición de restricciones necesarias para su cumplimiento o la eliminación de requerimientos considerados innecesarios. Es decir, los sistemas cuarentenarios son procesos continuos que exigen una atención también constante, tanto cuando los objetivos se logran, como cuando los hechos prueban que los fines deseados son imposibles.

4.5.4 Erradicación

La erradicación representa el recurso preferido para eliminar el VTC en zonas donde se ha introducido recientemente, o bien que ha escapado a los esfuerzos de exclusión (cuarentenas). Esta medida, por lo general, debe llevar a la exterminación total del patógeno, para que se justifique su aplicación (Rosenberg, *Et al*, 1978). Se debe contemplar lo siguiente:

- a) Confirmar la presencia del VTC, lo cual debe realizar una Institución Oficial que cuente con medios y personal entrenado.
- b) Evaluar la situación, considerando todos los factores que afecten el alcance, la factibilidad y la conveniencia de aplicar un programa de erradicación.
- c) Delimitar el área afectada, para conocer la extensión del problema
- d) Determinar el porcentaje de incidencia de la enfermedad en cada huerta o área afectada, ya que permite estimar el costo de la operación.
- e) Determinar los porcentajes de combinaciones susceptibles, por ser un factor importante para el éxito del programa de erradicación, pues del número de árboles, de las combinaciones sobre naranjo agrio que son las más susceptibles y las especies susceptibles, depende el grado de dificultad y el costo de las operaciones.
- f) Evaluar la localidad y el habitat, para definir la dificultad con que el programa puede enfrentarse. Los problemas son diferentes en huertas comerciales a los de un parque público, una zona residencial o un lugar aislado e inaccesible.
- g) Analizar el método y la velocidad de dispersión, lo cual permite determinar el tipo y el alcance del programa de erradicación así como la calendarización de actividades de emergencia encaminadas a prevenir la dispersión de la enfermedad hacia nuevas

zonas. Es lógico que el éxito de las medidas de erradicación está en función inversa a la velocidad de dispersión, es decir, cuando la última es mayor, las posibilidades de lograr los objetivos se reducen y no tiene caso seguir insistiendo.

- h) Determinar los medios para prevenir la dispersión o la reintroducción, en virtud de que este factor es esencial cuando no existen tecnologías apropiadas de erradicación y se requiere mayor tiempo para desarrollarlas. Las principales acciones consisten en la aplicación de cuarentenas en huertas particulares o en áreas afectadas, erradicación en los puntos de origen, información y divulgación al público así como otras medidas disuasivas para la movilización de material vegetativo.
- i) Evaluar la capacidad erradicativa, lo cual consiste en precisar si existen las tecnologías y estrategias adecuadas, o bien una fase vulnerable de la enfermedad, que asegure el éxito de la erradicación cuando ésta se intente. En virtud de que la erradicación de la tristeza consiste en arrancar y destruir los árboles muertos o los infectados sobre naranjo agrio, la tarea se simplifica considerablemente.
- j) Ponderar el costo/beneficio y el impacto ecológico. Los beneficios deben sopesarse en comparación con los costos y cualquier impacto adverso sobre el ambiente; en este factor intervienen los efectos a corto plazo y los gastos erogados por un lado contra la eliminación de problemas a largo plazo por el otro. Se deben considerar con prudencia, las diferentes alternativas y sus relaciones costo/beneficio.
- k) Asumir la responsabilidad para la erradicación, lo cual implica definir la participación de la autoridad legal, obtener los fondos necesarios para la operación, suscribir un acuerdo respecto a las responsabilidades de cada acción y elaborar un plan detallado sobre cuando y como se llevarán a cabo las acciones.
- l) Confirmación del éxito en la erradicación. Esto es difícil de declarar, por lo que el programa debe aplicarse hasta que la enfermedad desaparezca y mantenerse siempre a la expectativa ante cualesquier nuevo brote.

4.5.5 Prevención

Los programas de materiales libres de patógenos y de certificación son muy efectivos para el control de enfermedades virales que no tienen vectores, pero son de menor utilidad contra enfermedades transmitidas por insectos vectores, aunque se reconoce su contribución para prevenir y limitar el daño a los cítricos (Wallace, 1978; Lee y Rocha Peña, 1992). Aún en condiciones un tanto manejables, los programas de registro y certificación deben reforzarse para evitar que algunos problemas se agudicen.

Reportes recientes en Florida señalan que la presencia de VTC, por mucho tiempo como biotipo inocuo, está empezando a crear problemas a largo plazo tales como destrucción extensiva de plantaciones y la infiltración de razas severas dentro de las fuentes donadoras de material vegetativo. El primer caso se atribuye a la transmisión por pulgones, de declinamientos que afectan a plantaciones contiguas. Se sospecha que existe el segundo problema porque un gran número de arbolitos sobre naranjo agrio no muestran un desarrollo normal tanto en el vivero como en la huerta (Calavan *et al*, 1980; Dagraca, *et al*, 1982; Fisher, 1992). Por tanto, la utilización del naranjo agrio como patrón, ha disminuido considerablemente en nuevas plantaciones.

La experiencia acumulada durante muchos años, revela que el uso exclusivo de patrones resistentes o tolerantes no resuelve definitivamente el problema de VTC. Existe la amenaza permanente de la introducción de razas severas causantes de declinamientos y de Stem-Pitting, terribles por sus daños severos sobre patrones tolerantes o sobre copas de especies y variedades económicamente importantes como naranja dulce y toronja (Roistacher, 1982; Fisher, 1992).

4.5.6 Protección cruzada

Esta medida encuentra bajo impulso y estudio intensivo en contra de las razas más virulentas, sobre todo en países donde el VTC es endémico y sin posibilidades de control por erradicación o supresión (Roistacher, *et al*, 1984; Lee y Rocha Peña, 1992).

El método consiste en la protección de una planta mediante la infección previa de una raza inocua contra el daño ocasionado por una raza virulenta del mismo virus. Se sabe que mientras algunas cepas inocuas proporcionan protección contra biotipos muy severos, la mayoría no muestra dicha facultad. Al proseguir con la línea de los autores citados, cuando se selecciona este método deben formularse ciertas consideraciones:

- a) La raza inocua utilizada debe manifestar sus características en todos los cultivares y hospederos susceptibles establecidas en la zona.
- b) La raza inocua seleccionada debe ser estable, los virus atenuados artificialmente pueden revertirse a su forma virulenta original.
- c) El beneficio obtenido debe justificar el trabajo desplegado para implementar un programa de esta naturaleza.

La mayor parte de la investigación se concentra en evaluar la protección cruzada contra formas extremadamente virulentas de VTC tales como declinamiento y Stem-Pitting, especialmente en zonas donde éstas representan problemas importantes para la producción. Desde que existen evidencias concretas sobre la bondad de la protección cruzada (Grant y Costa, 1951), las cepas se seleccionan empíricamente y se han utilizado en varios países. En Brasil hay más de 15 millones de árboles de naranja dulce protegidos contra VTC (Gonsalves y Garnsey, 1989). Este mismo proceso se aplica en gran escala en Sudáfrica y Australia para la protección de toronjas, en la India para limas y en Venezuela para limas y toronjas (Lee y Rocha Peña, 1992).

4.5.7 Ingeniería genética

Por ahora no existen medidas efectivas para matar un virus sin matar también a la planta infectada. Se considera que la mejor defensa contra un virus es evadirlo, una segunda mejor opción es inducir la resistencia a base de protección cruzada, pero otra alternativa viable consiste en la aplicación de la ingeniería genética. Aunque existen varias estrategias, en general se trata de transferir genes virales a plantas, procedimiento denominado como transformación genética, el cual involucra colocar una

pieza específica de RNA o DNA dentro de una célula para luego inducir el desarrollo de está en una planta transgénica (Cline, 1992).

Así por ejemplo, la técnica del satélite, utiliza como vector a la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* que transfiere naturalmente segmentos de DNA dentro de las células vegetales; esto ya se está haciendo para transformar tejidos cítricos. Aunque el método de la ingeniería genética es altamente prometedor, se estima que su aplicación práctica en el campo, llevará todavía años o quizá décadas. El problema mayor no está en lograr la resistencia a enfermedades tan peligrosas, sino en no modificar las características agronómicas de las especies y variedades.

4.6 Programa de certificación de material propagativo

La clave para establecer plantaciones de cítricos de interés comercial con altos rendimientos, es la producción y plantación de material de propagación certificado con garantías genéticas y sanitarias, tanto de los patrones como de las variedades a plantar. Este es el elemento fundamental de la tecnología para la producción de los cítricos, sin el cual no se pueden expresar los potenciales productivos de cada una de las combinaciones patrón/ injerto ni obtener los altos rendimientos deseados, aunque se ejecuten satisfactoriamente el resto de las actividades que requiere el cultivo.

Un programa completo requiere de dos componentes básicos, a decir, un Centro de Propagación, que provea todo el material propagativo como semillas, patrones y yemas, así como un Vivero Comercial, donde se realice todo el proceso de producción de la planta que se ofrece al productor.

4.6.1 Centro de propagación

En un Centro de Propagación se realizan actividades como la producción de yemas comerciales y parentales libres de virus; producción de estacas enraizadas y acodos aéreos; producción de semilla para patrones; refrigeración de semilla; selección y

registro de material vegetativo; indexación (cotejar) de material vegetativo; producción de otros materiales libres de virus. Su infraestructura comprende: maquinaria e implementos; cámaras de refrigeración; cámara de nebulización; invernaderos; medias sombras; abrigo de mallas; laboratorios de cultivo de tejidos; bloques de multiplicación de yemas libres de virus; huertas madre; sistema de riego; oficinas; debe contar con personal altamente calificado y un responsable técnico acreditado.

Un Centro de Propagación se conformaría de las siguientes áreas: a) Banco de Germoplasma, b) Lotes Fundación, c) huerta productora de yemas y d) huerta madre productora de semilla, bajo la responsabilidad única de un solo organismo o institución. Sin embargo, cada una de estas áreas pueden estar ubicadas en distintos lugares, con responsables diversos, en cuyo caso no conformarían un verdadero Centro.

4.6.1.1 Banco de germoplasma

Es un lote de árboles establecido con material genético de pureza varietal y de calidad fitosanitaria, con fines de investigación, mejoramiento o propagación. Dicho banco debe cumplir una serie de especificaciones, como son:

- a) Contar con los resultados de las pruebas de sanidad efectuadas por un Laboratorio de Pruebas; o de saneamiento por una Estación Cuarentenaria registrada.
- b) En caso de material ya establecido, debe contar, además, con las evaluaciones agronómicas y fitosanitarias del último año, los registros de producción de fruta durante los tres últimos ciclos y las evidencias de que conservan su tipo varietal.
- c) El material propagativo importado que formará parte de un banco de germoplasma, debe provenir de un banco de germoplasma avalado por la autoridad sanitaria nacional, y acompañarse de documentación que avale su fitosanidad.
- d) Tener por lo menos dos plantas por cada variedad, plantadas individualmente en bolsas de polietileno, protegidas dentro de una estructura con malla a prueba de insectos vectores (antesala de doble puerta) y con protección contra heladas en invierno o cualquier otro fenómeno meteorológico.

- e) Mantener las plantas a una altura máxima de 2 metros, mediante podas periódicas. Todo árbol debe tener un número de registro a través de una etiqueta permanente, utilizando un código por especie, variedad, año, número progresivo y categoría.
- f) Contar con un libro de registro de la producción y comercialización de material propagativo, que indique la especie citrícola, cantidad comercializada, nombre del comprador y destino final; asimismo la clave de identificación del árbol.
- g) Aplicar un programa de manejo integrado de plagas y un reglamento de entrada a las instalaciones.
- h) Disponer de un responsable técnico aprobado en la campaña contra VTC.

4.6.1.2 Lote Fundación

Es un grupo de especies o variedades cítricos, de las cuales se tiene interés de obtener semillas o yemas certificadas con propósito comercial, manteniendo la pureza varietal. Debe contemplar las siguientes características:

- a) Los árboles deben provenir de yemas de un árbol registrado en un banco de germoplasma o de un Lote Fundación avalado por la autoridad sanitaria.
- b) Contar con los resultados de las pruebas de sanidad, efectuadas por un Laboratorio de pruebas; o de saneamiento por una Estación Cuarentenaria registrada
- c) Los árboles deben estar plantados en campo, en arreglo topológico comercial de acuerdo a la variedad.
- d) Todo árbol debe tener un número de registro, utilizando un código por especie, variedad, año de plantación y un número progresivo.
- e) Llevar un libro de registro de la producción y comercialización de la semilla y yema, en el que se indique el árbol donador, especie citrícola, cantidad comercializada, nombre del comprador y destino final.
- f) Los árboles que proveerán yemas deben tener al menos 5 años de edad. La vigencia de producción de yemas será de 15 años; al término de la cual deben ser sustituidos.
- g) Contar con un programa de manejo integrado de plagas.
- h) Disponer de un responsable técnico aprobado en la campaña contra el VTC.

- i) Verificar la fitosanidad por medio de plantas indicadoras, cada 3 años para exocortis y psorosis, cada 8 años para xiloporosis y cada año para VTC. Además, anualmente para VTC y exocortis mediante ELISA y/o PCR.

4.6.1.3 Huerta madre productora de semilla

Es una huerta que se establece con semilla y yemas provenientes de árboles de lotes fundación o de otra huerta madre productora de semilla registrada, y que ha sido seleccionada por sus características deseables para la producción de semillas certificadas. Para esta huerta se requiere lo siguiente:

- a) Los patrones utilizados deben ser tolerantes al VTC, y provenir de semillas de lotes fundación o de huertas productoras de semillas autorizadas. Las yemas para injertar los patrones utilizados en la huerta, deben provenir de árboles establecidos en lotes fundación o bancos de germoplasma autorizados.
- b) Debe establecerse bajo un diseño comercial, según los requisitos de la variedad. Para huertas ya establecidas, se deben comprobar la identidad y origen de la planta.
- c) Tener un plano de la huerta para facilitar la ubicación de los árboles.
- d) No intercalar entre la huerta, variedades comerciales de cítricos u otras especies.
- e) Contar con un libro de registro de producción y comercialización de semillas, donde se indique la especie, cantidad comercializada, nombre del comprador y destino final, así como la clave de identificación del árbol de procedencia de la semilla.
- f) Los árboles tendrán una vigencia de producción indeterminada.
- g) Contar con un programa de manejo integrado.
- h) Contar con un responsable técnico aprobado en la campaña contra el VTC.

4.6.1.4 Huerta productora de yemas

Es una huerta establecida con el fin expreso de obtener yemas para realizar los injertos en los viveros o centros de producción de planta certificada. Las características de esta huerta son las siguientes:

- a) Deben estar bajo la protección de una estructura con malla a prueba de insectos.
- b) Con excepción de limón mexicano, deben estar formados por árboles originados de semilla tolerante al VTC, injertados con yemas de las variedades de interés, provenientes de un banco de germoplasma o lote fundación aprobado.
- c) Las plantas tendrán una vigencia de 5 años a partir de la primera cosecha de yemas, después de este tiempo ya no se consideran aptas para producir yemas.
- d) Contar con un libro de registro de producción y comercialización de yemas que indique la especie, cantidad comercializada, nombre del comprador y destino final, así como la clave de identificación del árbol.
- e) Contar con un programa de manejo integrado de plagas.
- f) Disponer de un responsable técnico aprobado en la campaña contra el VTC.

4.6.2 Vivero Comercial o Centro productor de planta

En este sitio es donde se concreta la producción de plantas certificadas, mismas que se ofertan a los usuarios finales, que son los citricultores, para el establecimiento de plantaciones, o para en su caso, sustituir árboles.

4.6.2.1 Características generales

Debe ubicarse por lo menos a 25 m de distancia de cualquier árbol o huerta comercial establecida, ya que la concentración de árboles de la misma especie y variedad favorece la proliferación de patógenos, que se convierten en focos de contaminación. Los portainjertos deben provenir de semilla de una huerta productora de semilla certificada o de una similar en el extranjero avalada por la autoridad sanitaria, y que nunca hayan sido injertados; asimismo, las yemas utilizadas para injertar los patrones o portainjertos deben provenir de huertos productores de yemas certificadas.

Se debe tener un libro de registro de la producción y comercialización, que indique la especie, portainjerto, cantidad comercializada, nombre del comprador y destino final, así como un programa de manejo integrado de plagas y un responsable técnico aprobado

en la campaña contra el VTC. Para verificar y comprobar la fitosanidad del vivero, se requiere muestrear y analizar el 2% de las plantas a comercializar, además de cumplir con otras especificaciones que determine la Autoridad para su movilización.

Un vivero consta de terreno plano y delimitado; tanque o depósito de agua; materiales y equipo para tratamientos fitosanitarios; herramientas de cultivo y de injertación; bodega o cobertizo. Para su establecimiento debe considerarse lo siguiente:

- a) Ubicarlo en lugares con características de clima y suelo parecidas a las de los terrenos donde se establecerán las huertas: El peligro de heladas debe ser mínimo.
- b) Contar con agua para riego, suelo con buen drenaje, de textura ligera, profundo, libre de acumulaciones salinas y sin piedras, con un pH entre 6.5 y 7.
- c) Se requiere protección contra vientos de alta velocidad. Si no existe, se deben establecer cortinas rompevientos, generalmente con especies de rápido crecimiento y de gran flexibilidad; tales como casuarina, carrizo, tamarix, entre otras.
- d) Caminos de acceso hacia dentro del propio vivero para facilitar prácticas de cultivo, la verificación, certificación, extracción y transporte de la planta.
- e) No deben existir infestaciones de nemátodos fitoparásitos en el suelo que puedan ocasionar problemas en el desarrollo de los arbolitos.

4.6.2.2 Métodos de plantación

Un vivero puede establecerse en bolsas de polietileno o bien directamente en el suelo. Para el primer caso, previamente se establece un semillero, donde se siembran los patrones y se obtienen las plántulas que luego se pasan a las bolsas; para el segundo caso, todo el desarrollo de los patrones y la obtención final de plantas se da en el suelo.

En viveros al suelo, las densidades varían según la especie o variedad, la combinación patrón-injerto, la fertilidad del suelo, etc., cuidando siempre que las plantas se puedan observar individualmente; se recomienda organizar el vivero en hileras rectas sembrando los patrones a 25-30 cm de distancia entre sí, para que al arrancar los

arbolitos se provoque poco daño al sistema radical. La distancia entre hileras debe ser de 30 cm, aunque otro arreglo consiste en plantar una doble hilera de patrones a 25-30 cm entre sí, a 30 cm entre hileras y con calle de 60 cm entre cada doble hilera.

Para viveros en bolsas de polietileno, generalmente se sigue un arreglo en camas con un numero constante de arbolitos, para facilitar el levantamiento de inventarios; cada cama cuenta con 2 grupos de 2 hileras cada uno, separados por una pequeña calle interna de 20 cm; cada hilera tiene 100 arbolitos de fondo y las calles en ambos sentidos entre camas deben ser de 80 cm. Este sistema presenta las siguientes ventajas: a) mayor control de infestaciones por hongos y nemátodos; b) mayor desarrollo de plantas al usar mezclas de suelo adecuadas; c) no se pierde suelo agrícola; d) poco daño del sistema radical al transplantar los arbolitos a la huerta.

4.6.2.3 Labores culturales

a) Desinfección del suelo

La desinfección de los suelos o mezclas utilizadas en semilleros, viveros al suelo, viveros en tubos de polietileno o en recipientes análogos, es práctica obligatoria para evitar la presencia negativa de enfermedades, plagas y malezas. Los tratamientos utilizados con mayor frecuencia para la desinfección del suelo son los siguientes:

- Bromuro de Metilo: Por 24 a 48 horas de exposición y a dosis de 5 libras por cada 5.4 m³ de suelo, esto se logra preparando trincheras de 1.2 m de base, 0.6 m de corona, 10 m de longitud y 0.6 m de altura.
- Vapor de agua caliente: Es quizá el método mas seguro y efectivo. El vapor se usa a temperaturas de 82-100 °C durante lapsos de 30-60 minutos.
- Formol o formaldehído: El producto (37-49% de concentración) se diluye al 4% en agua, solución de la cual se usan 20 litros por cada m² y 0.4 m de espesor. Se aconseja aplicar la mitad de dicho volumen sobre la superficie, voltear el suelo y aplicar la otra mitad; el suelo tratado se cubre con tela de plástico por 24 horas.

- Solarización: El suelo húmedo se cubre con un plástico transparente durante los meses cálidos del año, aumentando la temperatura a niveles letales para muchos patógenos, semillas y plántulas de malezas, nemátodos e insectos del suelo, normalmente periodos de exposición de 4-6 semanas son suficientes.

b) Fertilización

La aplicación de fertilizantes es necesaria en pequeñas pero frecuentes dosis. En semilleros se emplean 10 g/m² de formulas tales como las 10-30-10 o 12-24-12 semanalmente, según el tipo de suelo; en vivero se utilizan formulas mas completas, en dosis de 2-5 gramos por planta, y con aplicaciones cada 20-30 días según la edad del arbolito y la precipitación. Lo anterior se refuerza con aplicaciones quincenales de fertilizantes foliares, basados en elementos secundarios y microelementos.

Los excesos nutricionales causan crecimiento vegetativo en exceso, estimulando la incidencia de enfermedades, por lo que el programa de fertilización debe ajustarse de acuerdo a un análisis del suelo y a las experiencias particulares de cada viverista.

c) Control de malezas

El control de malezas debe realizarse periódicamente en semillero, camas, bolsas de polietileno y entrecalles, ya sea en forma manual o mediante herbicidas autorizados; con el fin de evitar su competencia por espacio, luz, nutrientes y humedad con los arbolitos. Los herbicidas deben usarse con suma precaución pues los arbolitos en sus estados de plántula son extremadamente susceptibles. Las malezas son controladas de una manera más fácil y efectiva, al germinar o un poco después.

d) Prácticas de riego

El crecimiento y la sanidad de las plántulas en el vivero dependen primordialmente de un aprovisionamiento suficiente de humedad en el suelo. Cuando la precipitación es

insuficiente o mal distribuida, debe establecerse un sistema de riego. La frecuencia e intensidad de los riegos depende del tipo de suelo, temperatura, precipitación, edad y tamaño de la plántula, densidad de plantación, sistema de irrigación, etc.. Para semilleros y plántulas recién transplantadas los riegos son frecuentes y ligeros, y a medida que estas avanzan en su desarrollo son cada vez mas pesados aunque no tan seguidos.

Tanto el exceso como las deficiencias de agua causan muchos problemas; el primero ocasiona mal drenaje y problemas fitosanitarios, clorosis y estancamiento del crecimiento mientras que las segundas reducen el desarrollo y afectan desfavorablemente la unión entre yema y patrón al injertar.

e) Plagas y enfermedades.

Al igual que otros cultivos, los cítricos son susceptibles al ataque de plagas y enfermedades capaces de ocasionar daños considerables, por lo que se debe seguir un programa fitosanitario de control y prevención para reducir sus daños.

Un punto clave para abatir la incidencia de enfermedades, es el manejo prudente del riego y la desinfección del suelo previa a la siembra o al transplante; los plaguicidas deben utilizarse juiciosamente, disminuyendo el intervalo entre aplicaciones durante los periodos de mayor crecimiento y/o de mayor lluvia. Una buena practica consiste en realizar inspecciones oculares con una frecuencia de 2-3 veces por semana en el caso de las plagas, y así estar siempre alerta para combatir cualquier problema. Las enfermedades por el contrario, se deben prevenir mediante aplicaciones anticipadas a la presencia de los patógenos, sobre todo si se trata de hongos y bacterias

Casi siempre, los problemas fitosanitarios que se presentan en los viveros se originan en el mal manejo del suelo, el agua y el material vegetativo. Algunos factores contribuyen a agravar tales problemas, tales como la falta de esterilización del suelo; tirar tierra sobre las plantas; trabajar con manos y herramientas sucias; exceso de

materia orgánica; exceso de nitrógeno; permitir el tránsito libre dentro del vivero, de vehículos, gente e implementos; el mal drenaje, la sequía, luminosidad insuficiente, falta de ventilación y el uso de semillas sin seleccionar y sin desinfectar; falta de desinfección de herramientas para injertar y podar, uso de material vegetativo proveniente de árboles contaminados y sin indexar.

4.6.2.4 Preparación del patrón y selección del material vegetativo

La preparación del patrón tiene como objetivo lograr un tallo recto donde se facilite la injertación, recomendándose la practica de enrollar sobre el tallo un tubo de 20-25cm de papel aluminio, papel estaño, plástico o cartón corrugado. Normalmente se remueven las ramillas laterales (desbrotar) y las espinas hasta un poco mas arriba de donde se colocara el injerto.

El material vegetativo (varetas o yemas) debe provenir de Lotes Productores de Yemas Certificadas, Bancos de Germoplasma o Lotes Fundación. Las varetas seleccionadas deben tener de preferencia una longitud de 20 a 30 cm, estar frescas o con pocos días de haberse cortado, y deben ser portadoras de yemas bien formadas; las yemas se separan de las varetas al momento de injertarlas de la siguiente manera:

1. Defoliar las varetas sin eliminar el pecíolo y desinfectarlas por inmersión en una solución a partir de cobre u otro fungicida.
2. Las varetas ya desinfectadas se agrupan y se guardan en bolsas de polietileno, herméticamente cerradas y se procede a su refrigeración.
3. Todas las varetas deben estar perfectamente etiquetadas, con el nombre de la variedad de la que proceden, para evitar cualquier error en el momento de injertar.

Debe injertarse cuando el cambium esté activo y la corteza presente las mejores características (dureza y flexibilidad) que permitan desprenderla fácilmente de la madera. Esta condición se presenta en ciertos periodos de primavera, verano y otoño según la localidad.

La experiencia indica que el mejor tamaño de los patrones para injertarse, es cuando alcanzan aproximadamente el grosor de un centímetro a la altura donde se injertará. Diámetros menores o mayores provocan que no se force el crecimiento de la yema.

4.6.2.5 Métodos de injerto

Los injertos, normalmente se clasifican en 3 grupos: a) Injertos de yema; b) Injertos de vareta; c) Injertos de aproximación. Para fines de propagación, en cítricos se emplean comercialmente los dos primeros, mientras el tercero se usa cuando el patrón esta en malas condiciones y se desea rescatar al árbol.

Los Injertos de yema mas conocidos son los de "t" invertida o escudete, de placa o astilla, de parche, y de púa terminal o enchape lateral modificado. En cítricos, los más usuales, efectivos y fáciles son los de yema, ya sea en t invertida o de placa.

La injertación se realiza a partir de los dos ó tres meses del transplante al vivero, previa fertilización nitrogenada dos semanas antes y cuando los patrones han alcanzado un diámetro entre 5 y 15 mm. Un día antes de injertar, se eliminan las espinas presentes entre los 25 y 35 centímetros del patrón.

La labor de injertación se realiza con una cuchilla de injertar y se desinfecta antes de iniciar el corte en cada planta. El sistema de t invertida requiere de un corte vertical de la corteza de aproximadamente 1.5-2.0 cm. a una altura de 30-40 cm. del suelo, para evitar salpicaduras de la lluvia que podrían causar infecciones de *Phytophthora*. Posteriormente se realiza un corte transversal de la corteza, en la parte inferior del corte anterior, para formar la "t".

Para obtener la yema se hace un corte rebanador transversalmente al eje de la vareta y debajo de cada yema, teniendo la precaución de no tocar la superficie interna del corte; la yema se introduce dentro de la "t", luego se procede al amarre con una cinta de

plástico transparente, empezando de abajo hacia arriba y estirándola con firmeza alrededor del tronco hasta cubrir totalmente el corte vertical.

Cuando la corteza del patrón no se desprende con facilidad se recomienda el injerto tipo de placa, por su rapidez y mayor aprovechamiento de yemas. Consiste en remover una pequeña porción de corteza del patrón, aproximadamente del tamaño de la yema que se utilizará; en la parte inferior de este corte se hace una pequeña lengüeta en la corteza, que sirve para sostener la yema en su lugar. La yema se obtiene de la manera descrita para el injerto en “t” invertida; el amarre también se hace en la misma forma.

Normalmente, a la injertación realizada en primavera le sigue el desamarre del plástico a los 14-18 días y excepcionalmente hasta los 30 días después de injertar, antes del desamarre debe realizarse una inspección para apreciar la formación de callo, es decir la cicatrización de los tejidos circundantes a los cortes efectuados al injertar.

4.6.2.6 Preparación de las plantas injertadas

a) Recorte del portainjerto o patrón.

Cuando el brote de la yema injertada alcanza unos 10-15 cm de longitud y a medida que se desarrolla, el patrón se va recortando gradualmente hasta eliminarse por completo. Los cortes deben protegerse con pintura de agua de color blanco.

b) Agobio del patrón.

Otra alternativa consiste en doblar o agobiar al patrón inmediatamente después del injerto para favorecer el crecimiento de la yema recién injertada. Esta actividad se realiza antes de desamarrar y permite continuar nutriendo al brote emitido por la yema injertada; no obstante que esta practica es benéfica para el desarrollo del injerto, en nuestro medio se usa poco debido a que se incrementan los costos.

c) Tutoreado.

Cuando el brote del injerto mide de 5-10 cm de largo, se coloca una estaca que le ofrece protección y soporte, a los 10-15 cm, el brote se amarra a la estaca con una cinta delgada de plástico para prevenir su desgajamiento, después de los 30-40 cm de crecimiento, se remueve la fracción restante del patrón a la altura de la unión del injerto mediante un corte liso. Mientras más tiempo se sostenga al patrón conviviendo con el brote derivado de la yema, mayor posibilidad existe de que se presenten infestaciones de insectos, ácaros y enfermedades foliares.

d) Despunte.

Cuando el brote del injerto alcanza una altura de 45-50 cm, siempre atado a la estaca, debe despuntarse para estimular la ramificación lateral y darle formación de 3-4 ejes a la copa de los arbolitos.

4.6.2.7 Transplante al campo

En viveros al suelo que sean pequeños, se sacan con pala recta o espada tratando de lastimar lo menos posible al sistema radical; mientras que en viveros de mayor tamaño, se utiliza una cuchilla de subsuelo remolcada por un tractor y que va cortando las raíces a cierta profundidad; en ambos casos, se trata de sacudir o lavar el suelo a fin de dejar los arbolitos a raíz desnuda. Hecho lo anterior, a los arbolitos se les cortan las hojas dejándoles solo las bases de los pecíolos, se agrupan en manojos de 25 a 50 y se desinfectan en una suspensión a base de Captan 50, a razón de 5 gramos por litro de agua durante lapsos de 1 a 2 minutos. Esta serie de maniobras debe llevarse a cabo en forma rápida, de manera que la deshidratación de raíces sea mínima para lo cual debe trabajarse bajo sombra y donde se puedan regar frecuentemente las raíces.

Una vez hecho lo anterior, los arbolitos se empacan en cajas de cartón apropiadas, alternando los manojos dentro de las cajas, es decir, las raíces de uno para un lado y

en contacto con las puntas del siguiente y así sucesivamente. Las raíces de cada manojo se cubren muy bien con materiales humedecidos tales como turba, aserrín, fibra de coco o cualquier otro parecido. El contenido de cada caja debe ser siempre constante en cuanto al número de manojos o de plantas.

En el exterior de cada empaque se debe señalar el nombre del vivero, la localidad, la especie, la variedad, el patrón, el número de arbolitos y la fecha de remisión; en el interior se debe incluir un instructivo sencillo para manejar la planta desde su arribo hasta un mes después del trasplante, en realidad algunos de estos datos se expresan en la etiquetas que se fijan a cada arbolito certificado por la autoridad competente.

En el sistema de viveros en bolsas de polietileno, los arbolitos no se exponen a muchas de las maniobras antes descritas, que le son desfavorables; se reduce trabajo, gasto y van a responder mejor después del trasplante. Parte de los datos se pueden imprimir en los tubos y parte se anexan en las etiquetas de certificación.

En ocasiones, la muerte o desarrollo insatisfactorio de arbolitos recién trasplantados se atribuye a negligencia en su manejo durante alguna fase entre las operaciones finales del vivero y las iniciales para el establecimiento de la huerta. Entre las principales causas para la deshidratación de las raíces figuran el riego inadecuado; la exposición a vientos y al calor después del arranque, durante el transporte y la distribución en el terreno antes de plantar. Debe procurarse el máximo de cuidados para asegurar que los arbolitos lleguen en buenas condiciones al lugar donde se establecerán y además que el productor este adoptando medidas adecuadas para el pre y post-trasplante.

En casos de alta mortalidad de arbolitos, unas semanas después del trasplante, resulta muy difícil determinar las responsabilidades del viverista y del productor, normalmente, se acepta que al viverista corresponde entregar la planta en buenas condiciones, así como un instructivo para el manejo de la planta a partir del vivero hasta un mes después del trasplante, mientras que al productor le toca velar por el trasplante y cuidados post-trasplante.

4.6.3. Selección del patrón

Un factor muy importante en el programa de certificación es la selección adecuada del patrón, en virtud de que una mala selección conllevará a que la planta obtenida y que se establece en campo, tiene pocas posibilidades de éxito.

El patrón perfecto no existe, si se toman en cuenta las afectaciones que pueden sufrir por la acción de los factores del medio, o la influencia que pueden tener sobre el comportamiento de las combinaciones injerto/patrón a utilizar. La selección del patrón a emplear, por lo tanto, está sujeta a las condiciones específicas del lugar, a los conocimientos, criterios, objetivos e intereses particulares que se tengan para el establecimiento de una plantación. Entre las principales características a tener en cuenta se señalan:

- ♦ Fácil manejo durante las fases de semillero y vivero.
- ♦ Buena adaptación a diferentes tipos de suelos y factores edáficos desfavorables.
- ♦ Tolerancia a los distintos patógenos del suelo, según la región.

4.6.4 La experiencia cubana

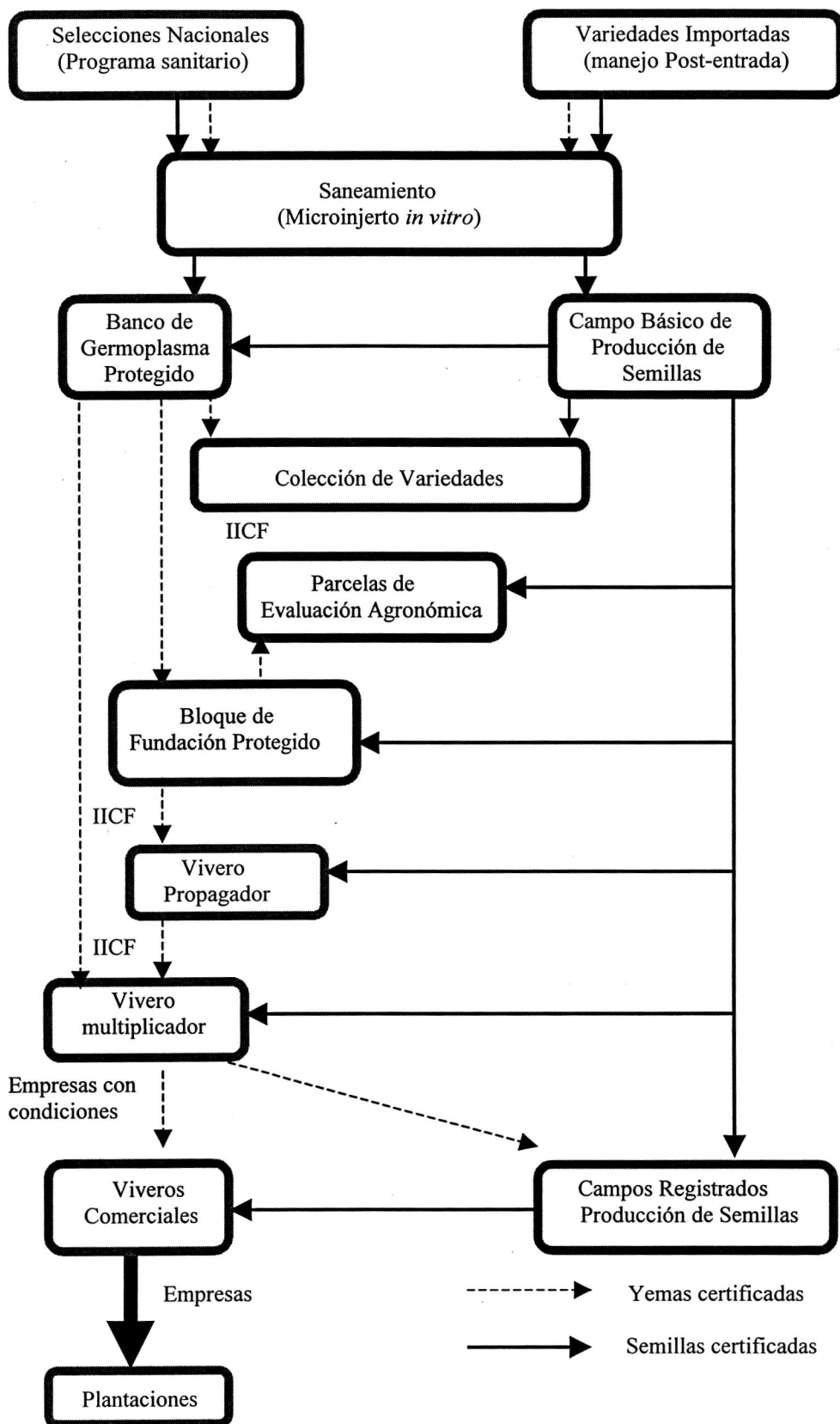
En Cuba, la producción de plantas de cítricos con óptima calidad se logra a partir de la utilización de semillas y yemas certificadas en las distintas etapas del “Sistema de producción de material de propagación certificado”. Los semilleros deben estar protegidos por una instalación de 6 m de altura (mínimo), con las paredes forradas con malla antipulgones y el techo con polietileno transparente difuso de 150 micras. En su interior las temperaturas no deben sobrepasar los 37°C.

Este sistema es rigurosamente controlado por el Instituto de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales (IICF), que tiene la responsabilidad de garantizar la calidad de las yemas y las semillas certificadas hasta su entrega a los viveros multiplicadores de las empresas particulares.

4.6.4.1 Requisitos para la producción de material de propagación certificado

- a). Se debe llevar a cabo de acuerdo al flujo que se presenta en la Figura 4, “Sistema de producción de material de propagación certificado en Cuba”.
- b). Las áreas destinadas a la producción del material certificado, deben estar cercadas perimetralmente y los viveros propagador y multiplicadores deben además, contar con un vado para la desinfección de los vehículos con acceso permitido.
- c). Cumplir estrictamente con la desinfección del calzado y neumáticos con formol o hipoclorito de sodio 2%, para el acceso a las distintas áreas; desinfección de las manos con alcohol 70% y de los instrumentos de corte con hipoclorito de sodio 1%; exigir el uso del vestuario específico en las áreas que lo requieran.
- c). Los instrumentos de trabajo (cuchillas de injertar, tijeras de poda y otros) deben ser designados para el uso exclusivo de cada área y deben desinfectarse antes de realizar las labores en cada una de las plantas.
- d). Las plantas en los aisladores deben poseer la correcta señalización del cultivar y el patrón, la procedencia y la fecha de propagación.
- e). Deben cumplirse las atenciones fitotécnicas recomendadas en cada área con especial cuidado en el control fitosanitario.
- f). Los brotes deben dejarse crecer libremente para realizar los cortes cada tres meses.
- g). Los vástagos previos al corte deben tener una longitud aproximada de 20 cm y no se utilizarán las yemas de los extremos para injertar.
- h). Mantener una manipulación cuidadosa de los vástagos y semillas durante todo el movimiento y uso del material de propagación.

Figura 4 Sistema de Producción de Material de Propagación Certificado en Cuba



- i). Para el traslado y/o almacenamiento de los vástagos y semillas se procede como se indica a continuación:
- ♦ Desinfección de las semillas con Benomyl y TMTD (3 g/kg de semilla), así como de los vástagos por inmersión durante 1-2 minutos en una solución de Benomyl y TMTD (6 g/l) mas Folimat (1,5 ml/l), los cuales se secan al aire.
 - ♦ Embalaje de los vástagos y las semillas en bolsas de nylon transparentes, selladas convenientemente.
 - ♦ Rotular correctamente las bolsas del material de propagación con el nombre del cultivar o patrón, categoría del material, cantidad de yemas o semillas, fecha de extracción y tratamiento de conservación empleado.
 - ♦ Almacenaje de las semillas en cámaras refrigeradas a temperatura de entre 4 y 7°C. Para los vástagos, las temperaturas serán de entre 8 y 10°C, con HR 85%, por un período máximo de seis meses.
 - ♦ Inspeccionar periódicamente las bolsas y eliminar cualquier semilla y/o vástago afectado o los peciolo caídos. Repetir el tratamiento indicado anteriormente y cambiar el embalaje del material que se decide mantener en conservación.
 - ♦ Realizar pruebas de viabilidad y/o germinación mensualmente en el caso de las semillas, mientras dure el almacenaje.
- j). Cumplir con lo establecido sobre la máxima duración de los viveros, que son: tres años el propagador, dos años los multiplicadores, dos años los viveros comerciales (con rotación dentro de las áreas seleccionadas).

4.6.4.2. Patrones mas utilizados

En Cuba se han realizado diversas evaluaciones a los distintos patrones existentes, obteniéndose los resultados que se indican en las tablas 3, 4 y 5, respecto a su influencia sobre el cultivar injertado, respuesta a algunos factores del suelo y características de sus frutos y semillas.

Tabla 3. Principales características de los patrones de cítricos más utilizados y su influencia sobre algunos indicadores del cultivar injertado.

Patrones	Desarrollo en semillero y vivero	Facilidad para injertación	Entrada en producción	Producción del cultivar	Calidad de los frutos
Citrango Troyer	B	M B	Normal	Media	B
Citrango Carrizo	B	M B	Normal	Media	B
Citumelo Swingle	M B	M B	Normal	Media	B
<i>Poncirus trifoliata</i>	B	B	Normal	Media	B
Naranja agrio	B	M B	Normal	Media	B
Mandarina Cleopatra	M	M	Lenta	Media	B
<i>Citrus amblycarpa</i>	M	M	Lenta	Alta	B - R
<i>Citrus macrophylla</i>	M B	B	Muy rápida	Muy Alta	R
<i>Citrus volkameriana</i>	M B	M B	Muy rápida	Muy Alta	R
Limón Rugoso	M B	M	Rápida	Muy Alta	R
Lima Rangpur	B	B	Rápida	Muy Alta	R
Citremón 1452	B	B	Normal	Muy Alta	R

Tabla 4. Comportamiento de los patrones de cítricos más utilizados ante algunos factores del suelo.

Patrones	Cloruros	Calcáreos	Drenaje pobre	Sequía	Suelos arenosos	Suelos arcillosos
Citrango Troyer	M	M	M	M	-	B
Citrango Carrizo	M	M	M	M	-	B
Citumelo Swingle	R	M	R	B	R	R
Naranja agrio	R	B	B	R	M	B
Mandarina Cleopatra	B	R	M	R	B	B
<i>Citrus macrophylla</i>	R	R	B	R	B	B
<i>C. volkameriana</i>	R	B	B	R	B	B
Limón Rugoso	M	B	M	R	B	M
Lima Rangpur	B	B	M	B	B	B

Tabla 5. Características de los frutos y las semillas de los principales patrones.

Patrones	Masa/fruto (g)	Nº semillas/fruto	Nº semillas/kg de semillas	kg de semillas/ton de fruta
Citrango Troyer	100.4	14	3700	38
Citrango Carrizo	100.0	13	3700	35
Citumelo Swingle	120.0	13	6100	17
Naranja agrio	234.8	37	5790	27
Mandarina Cleopatra	50.1	6	9100	13
<i>Citrus amblycarpa</i>	24.3	12	13600	36
<i>C. macrophylla</i>	558.6	46	7800	10
<i>C. volkameriana</i>	184.5	14	11600	6.5
Limón Rugoso	183.8	23	11100	11
Lima Rangpur	100.9	14	11300	12
Citremón 1452	125.0	10	8250	10

Notas: MB = muy bueno, B = Bueno, R = regular y M = malo.

V. CONCLUSIONES

La tristeza de los cítricos es una enfermedad que en el mediano plazo será un problema en México, ya que de acuerdo a los muestreos realizados, el virus que lo ocasiona se encuentra presente en nuestro país. Para determinar la gravedad del problema, es necesario que se determinen los porcentajes de infección, lo cual implica que se concluya con el muestreo sistemático en toda la superficie citrícola; asimismo, deben identificarse las variantes o razas presentes.

Debido a que el vector más eficiente, el pulgón café *Toxoptera citricida*, no se encuentra presente en México, no se ha presentado un caso de verdadera emergencia en cuanto a la presencia de síntomas y muerte de árboles. De introducirse este vector, existe un alto riesgo de que la enfermedad adquiera carácter de epifitía.

El Programa de Certificación de material de propagación libre de virus, es una estrategia prioritaria, ya que de presentarse las condiciones que pudieran generar una epifitía, se contaría con material tolerante certificado para enfrentar esta emergencia, además de que en general proporciona sanidad y sustentabilidad a la citricultura. Sin embargo, es necesario que la instrumentación de este programa contemple:

- La validación en campo de los distintos patrones, sobre todo en cuanto a su adaptabilidad a las diversas condiciones de clima y suelo existentes en México, así como la influencia que puedan tener sobre los cultivares o variedades de cítricos que se producen.
- Determinar quienes serán los responsables de los distintos procesos o áreas que conforman el Programa. De acuerdo a las características de los citricultores y viveristas en México, es necesario que por lo menos los bancos de germoplasma y lotes fundación estén a cargo de una Institución Gubernamental, como una institución de investigación o la propia SAGARPA, pudiendo los particulares

establecer y manejar las huertas productoras de yemas y de semillas, así como los viveros comerciales, bajo ciertas regulaciones.

Es urgente fortalecer el programa de divulgación, dándole un enfoque de cambio de cultura, pero sobre todo de actitud, de los citricultores y de todos los que intervienen en la cadena productiva (viveristas, comercializadores, industriales), a fin de que las estrategias que se instrumenten para el manejo de la enfermedad sean aplicados en la realidad.

El éxito del Programa de Certificación que se tiene en Cuba, se debe a ciertas condiciones muy particulares como: a) el tipo de gobierno centralista, que permite un gran control sobre las empresas que producen comercialmente las plantas; b) el manejo directo por parte del gobierno, de todo el proceso de producción del material básico de propagación, ya que únicamente libera la producción comercial a los particulares; c) por ser una isla, se encuentra libre y protegida de muchos problemas fitosanitarios.

VI. LITERATURA CITADA

Anónimo, 1974. Ley de Sanidad Fitopecuaria de los Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial de la Federación del 13 de diciembre de 1974.

Anónimo, 1980. Reglamento de la Ley de Sanidad Fitopecuaria de los Estados Unidos Mexicanos en Materia de Sanidad Vegetal. Diario Oficial de la Federación del 18 de enero de 1980.

Anónimo, 1991. Fruit tree nursery stock certification. Controlling diseases through the use of disease-free planting stock. European and Mediterranean Plant Protection Organization.

Anónimo, 1994. Ley Federal de Sanidad Vegetal. Diario Oficial de la Federación del 5 de enero de 1994.

Anónimo, 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-Fito-011-1995, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas de los cítricos. Diario Oficial de la Federación del 24 de septiembre de 1996.

Anónimo, 1997a. Campañas Fitosanitarias-Situación actual y perspectivas. Dirección General de Sanidad Vegetal-SAGAR. Carpeta informativa.

Anónimo, 1997b. Diagnóstico del VTC en Veracruz, Tabasco, Quintana Roo y Campeche. Dirección General de Sanidad Vegetal-SAGAR. Carpeta informativa.

Anónimo, 1997c. Campaña contra el VTC: estrategias de erradicación de brotes. Dirección General de Sanidad Vegetal-SAGAR. Carpeta informativa.

Anónimo, 1997d. Campaña Nacional contra el Virus Tristeza de los Cítricos. Dirección General de Sanidad Vegetal-SAGAR. 11 pp.

Anónimo, 2000a. Acuerdo por el que se instrumenta el Dispositivo Nacional de Emergencia en los términos del artículo 46 de la Ley Federal de Sanidad Vegetal, con el objeto de confinar, erradicar y prevenir la dispersión del pulgón café *Toxoptera citricida* y del virus tristeza de los cítricos en las zonas del territorio nacional donde se detecte la presencia de estas plagas. Diario Oficial de la Federación del 7 de febrero de 2000.

Anónimo, 2000b. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Centro de Estadística Agropecuaria, tomo I. México, D.F.

Balaraman, K. y K. Ramakrishnan, 1980. Strain variation and cross protection in citrus tristeza virus on acid lime. Proc. 8th Conferences IVOC.

Bennett, C. W. y A. S. Costa, 1949. Tristeza disease of citrus. Journal Agricultural Research 78: pp. 207-237.

Brlansky, R. H., R. R. Pelosi, S. M. Garnsey, C. O. Youtsey, R. F. Lee, R. K. Yokomi y R. M. Sonoda, 1986. Tristeza quick decline epidemic in south Florida. Proc. Fla. State Hort. Soc. 99: pp. 66-69.

Brown, L. G., H. A. Denmark y R. K. Yokomi, 1988. Citrus tristeza virus and its vectors in Florida Plant Path. Circ. No. 311. Florida Dept. Agric. and Consumer Services.

Calavan, E. C.; S. T. Mather y H. Mac Eachern. 1978. Registration certification and indexing of citrus trees. Chapter 3, the citrus industry vol. IV. Univ. of California.

Calavan, E. C., M. K. Harjung, R. L. Blue, C. N. Roistacher, D. J. Gumpf y P. W. Moore, 1980. Natural spread of seedling yellows and sweet orange and grape fruit Stem-Pitting tristeza viruses at the University of California, Riverside. Proc. 8th Conf. OIVC, pp. 69-75.

- Cambra, M., P. Moreno y L. Navarro, 1979. Detección rápida del virus de la tristeza de los cítricos (CTV), mediante la técnica inmunoenzimática Elisa-Sandwich. INIA. Valencia, España 17: pp. 115-125.
- Cambra, M., J. Serra, J.C. Bonet y D. Villalba. 1990. Situación de la tristeza de los cítricos en la comunidad valenciana. Folleto de Divulgación No. 3-90. Ivia. España.
- Cline, k., 1992. New approaches to developing tristeza tolerant citrus. Fruit Crops Dept. Ifas Univ. of Florida. pp. 22-23.
- Dagraca, J. V., L. J. Marais y L. A. Von Broembsen, 1982. Severe tristeza Stem-pitting in young grape-fruit. Citrus and subtropical fruit journal. pp. 18.
- Fawcett, H. S. y J. M. Wallace, 1946. Evidence of virus nature citrus quick decline. Calif. Citrog. 32, pp 88-89.
- Ferguson, J. J. y S.M. Garnsey, 1987. Citrus virus and virus-like diseases. Section XIV. Fla. Citrus Int. Pest ad Crop Manag. Handbook. Ifas. Univ. of Florida. pp. XIV-1 XIV-24.
- Fisher, J., 1992. Nurserymen assn. Sponsors short course. Citrus industry, vol. 73, No. 6. pp. 29-31-70.
- Garnsey, S. M., 1991. What citrus nursery managers should know and do about citrus tristeza virus. Fruits Crops Dept. Ifas Univ. of Florida. pp. 4-7.
- Garnsey, S. M., Civerolo, E. L., Gumpf, D. J., Yokomi, R. K. and Lee, R. F., 1991 Development of a worldwide collection of citrus tristeza virus isolates. In: Proc. 11th conf. International Organ. Citrus Virol., Riverside, California. Pp. 113-120.

- Garnsey, S. M., Gumpf, D. J., Roistacher, C. N., Civerolo, E. L., Lee, R. F. and Yokomi, R. K., 1987. Toward a standardized evaluation of the biological properties of citrus tristeza virus. *Phytophylactica* 19:151-157.
- Gonsalves, D. y S. M. Garnsey, 1989. Cross-protection techniques for control of plant virus diseases in the tropics. *Plant Disease* vol. 73. pp. 73, 592.
- Grant, T.J., 1959. Tristeza virus strains in relation to different citrus species used as test plant. *Phytopathology* 49: pp. 823-827.
- Klotz, L. J., E. C. Calavan y L. G. Weathers, 1972. Virus and virus-like diseases of citrus. *Circ.* 559. Univ. of California, pp. 42.
- Lastra, R., R. F. Lee, M. Rocha Peña, C. L. Niblett, S. M. Garnsey y R. K. Yokomi, 1991. Survey for presence of citrus tristeza virus and *Toxoptera citricidus* in México and Central American. Florida Dept. Agric and Consumer Services. pp. 18-20.
- Lee, R. F. y M. A. Rocha Peña, 1992. Citrus tristeza virus. In: *Plant diseases of International Importance*, Vol. III Chap. 9 Diseases of fruit groups. Prentice Hall. New Jersey pp. 226-249.
- Lee, R. F., Baker, P.S., and Rocha-Peña M. A., 1994. Citrus Tristeza Virus (CTV): An introduction to current priorities, with especial reference to the worsening situation in Central America and the Caribbean International Institute of Biological Control, Center for Agriculture and BioSciences (CAB) International. Food and Agricultural Organization (FAO) United Kingdom. pp. 197.
- McClellan, A. P. D., 1963. The tristeza virus complex: its variability in field-grown citrus in South Africa. *So. Africa Jour. Agric. Sci.*, 6: pp. 303-332.

Meneghini, M., 1946. Sobre a natureza e transmissibilidade do doencia "tristeza" Dos Citrus. O. Biológico volumen 12: pp 285-287.

Meneghini, M., 1948. Experiencias de transmissao doenca "tristeza" dos citros pelo pulgao preto de laranja. O. Biológico 14 (5): pp 116-118.

Monteverde, E. E., J. R. Ruiz y M. Espinoza, 1984. Observaciones preliminares sobre las razas del virus de la tristeza presentes en Venezuela. Agronomía Tropical Vol. 34, No. 1-3, pp. 189-198.

Moreno, P., Guerri, J., Ballester-Olmos, J. F. and Martínez, M. E., 1991. Segregation of citrus tristeza virus as evidenced by double stranded RNA (dsRNA) analysis. In: Proc. 10th Conf. International Organ. Citrus Virol., Riverside, California. Pp. 20-24.

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

Navarro, L., 1976. The citrus variety improvement program in Spain, Proc. 7th, Conf. IOVC. Pp.198-203.

Navarro, L., J. Juárez, J. A. Piña y J. F. Bellester, 1984. The citrus quarantine in Spain. Proc. 9th Conference IOVC. pp. 365-370.

Orozco, S. M., y González , G. R., 1986. Estimación del daño causado por la caída de fruto pequeño y su control químico en naranja valencia. Resúmenes del XI Congreso Nacional de Fitopatología. San Luis Potosí, S.L.P. México. pp. 64.

Reyes, F., E. E. Monteverde y G. Laborem, 1991. Programa de Certificación de plantas cítricas en Venezuela. FONAIAP, pp.15.

- Rocha-Peña, M. A., Peña del Río, M. A. y Lee, R. F., 1992. El virus de la Tristeza y sus insectos vectores: amenaza potencial para la citricultura de México. Publicación especial N° 1, Campo Experimental General Terán. INIFAP/SARH, México.
- Rocha-Peña y Padrón-Chávez, J. E., 1992. Precauciones y usos de portainjertos de cítricos tolerantes al virus de la tristeza. Publicación especial N° 2, Campo Experimental General Terán. INIFAP/SARH, México.
- Rocha-Peña, M. A. y Bierly-Murphy, K. F., 1994. Manejo Integrado de la Tristeza de los Cítricos: Escenario potencial en México. Simposium de Ingenieros Agrónomos Parasitólogos, A.C., Mazatlán, Sin, Mex. (mimeografiado).
- Roistacher, C. N., 1977. Concepts and procedures for importation of citrus budwood. Proc. Intl. Soc. Citriculture Vol. 1. pp. 133-136.
- Roistacher, C. N., M. Bar-Joseph y D. J. Gumpf, 1984. transmission of tristeza and seedling yellows-tristeza virus by small production of *Aphis gossypii*. Plant disease, 68. pp. 494-496.
- Rosenberg, D. Y., E. H. McEarchen, F. L. Blanc, D. W. Robinson y H. L. Foote, 1978. Regulatory measures for pest and disease control, chap. 4 The citrus industry vol. 4, Univ. Of California. pp. 223-236.
- Schneider, H., 1952. Necrosis of sieve tubes below bud-union of lemon trees on sour orange root-stock. Citrus Leaves 32 (3): pp. 10-11, 35-37.
- Schneider, H., 1954. Anatomy of bark of bud-union, trunk, and roots of quik decline-affected sweet orange trees on sour orange rootstock. Hilgardia 22: pp. 567- 601.
- Stout, G. L., 1945. Report of a statewide survey for quick decline of oranges trees in California. Calif. Dept. Agric., Bull. 34: pp. 108-115.

- Swingle, W. T., 1990. The limitation of the satsuma-orange to trifoliolate-orange stock. USDA Bur. Plant. Ind., circ. 46, pp. 10.
- Wallace, J. M., Oberholzer y J. D. J. Hofmeyer, 1956. Distribution of viruses of tristeza and other diseases of citrus in propagative material. Plan Diseases Report. 40:3-10.
- Wallace, J. M., 1978.- Virus and virus-like disease. Chap. 2. vol. IV The Citrus Industry. Univ. of California. pp. 67-184.
- Weber, H. J., 1943. The "tristeza" disease of sour orange root-stock. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 43: pp 160-168.

