











# Desarrollo Banco de Germoplasma de Cítricos

Dra. Ximena Besoain Biol. M.Sc Natalia Riquelme

24 de noviembre, 2021

## Fundamentos para formar un Banco de Germoplasma

Necesidad de producción de material sano

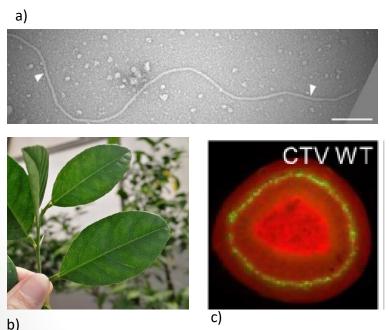


#### Objetivos:

- Propagación.
- Generación de nuevos huertos de cítricos.



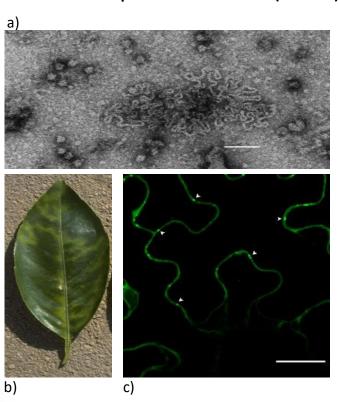
- Enfermedades provocadas por virus y viroides
  - > Citrus tristeza virus



- ✓ Genero: Closterovirus.
- ✓ Genoma: ARN.
- ✓ Virión de forma filamentosa.
- ✓ Ubicación: Floema.
- ✓ Vector: Áfidos.
- ✓ Se considera como el patógeno viral más destructivo de los cítricos.
- ✓ Causante de la enfermedad de la «tristeza».

**Figurá 1**. a) Virión de CTV (TEM). b) Aclaramiento de venas. c) Corte transversal de tallo de planta infectada con CTV marcado con GFP. Visualización con microscopio de fluorescencia.

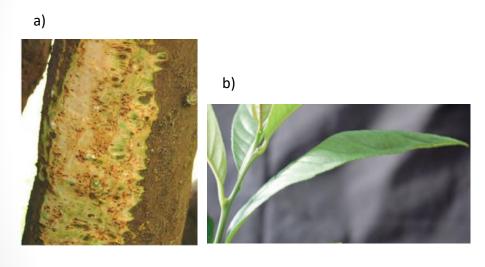
#### Citrus psorosis virus (CPsV)



- ✓ Genero: Ophiovirus
- ✓ Genoma: ARN.
- ✓ Virión de forma espiral filamentosa.
- ✓ Ubicación: CPsV aparece en floema y parénquima de los cítricos.
- ✓ Transmisión: por injerto.
- ✓ Se observó por primera vez en 1980 en Florida y California.

**Figura 2**. a) Virión de CPsV (TEM). b) Síntoma de flecking. c) Proteína MP de CPsV marcada con GFP. Visualización con microscopio de fluorescencia.

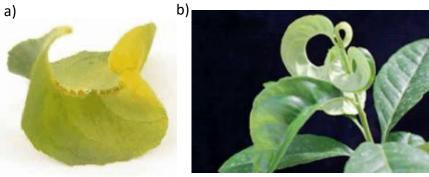
#### Citrus cachexia viroid (HSVd)



**Figura 3**. a-b) Sintomatología asociada a viroide HSVd en un Mandarino de hoja de sauce y en Cidro Arizona 861-S.

- ✓ Genero: Hostuviroid
- ✓ Genoma: ARN.
- ✓ Transmisión: por injerto.
- ✓ Descrito por primera vez en entre 1948-1950.
- ✓ Se han descrito cepas «patogénicas» y «no patogénicas»

#### Citrus exocortis viroid (CEVd)





- ✓ Genero: Pospiviroid
- ✓ Genoma: ARN.
- ✓ Transmisión: por injerto.
- ✓ Descrito por primera vez en entre 1948-1950.
- ✓ Se han descrito cepas «patogénicas» y «no patogénicas»

**Figura 4**. a-c) Sintomatología asociada a viroide CEVd en *Citrus medica*, Cidro Arizona 861-S y *Poncirus trifoliata*.

# Programa de Certificación de Cítricos de Chile.

- ➤ El programa se inicia en 1991, gracias a la adjudicación del proyecto Fondef Al-04 "Agricultura limpia para la exportación de especies subtropicales".
- Se logró producir la primera planta certificada a nivel de vivero el año 1998.
- Durante el año 2010 y debido a caída en la producción de plantas de cítricos a nivel de viveros a causa de la crisis asiática, el programa debió cerrar.



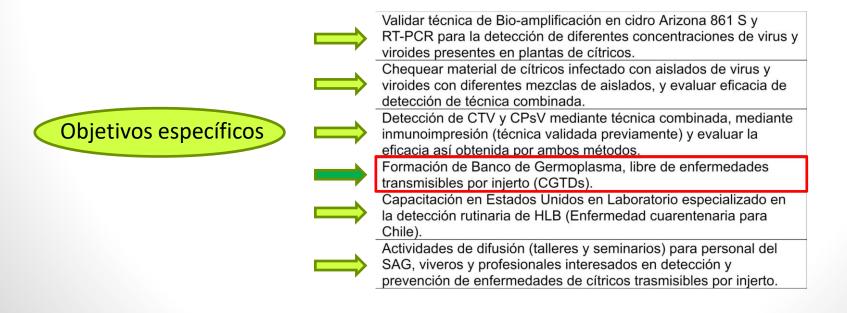
**Fig. 5**. Visita técnica al California Citrus Clonal Protection Program, EEUU.

Agosto 2018

• En el mes de noviembre de 2021 se da inicio al proyecto FIA PYT-2020-0219 titulado: "Nuevo servicio de detección de virus y viroides para determinar la sanidad de plantas de cítricos en Chile"

#### **Objetivo General**

Implementar la técnica combinada de bio-amplificacion en Cidro Arizona 861S y RT-PCR, para la detección de los principales virus y viroides (CGTPs) que afectan a las plantas de cítricos en Chile, y capacitación en detección de HLB en California, USA



# Proyecto FIA I+D Investigación

#### Trabajo en Laboratorio

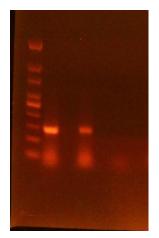
- Detección de virus y viroides mediante RT-PCR
  - Extracción de material genético (ARN)
  - Estandarización protocolos de RT-PCR
- Detección de virus y viroides mediante
   ELISA e IIELISA

#### Trabajo en Invernadero

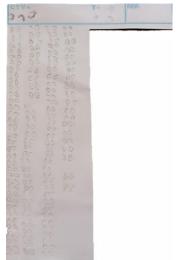
- Manejo Agronómico de plagas
- Propagación de plantas indicadoras
- Propagación de plantas para ensayos

#### Trabajo en Laboratorio

Detección de virus y viroides mediante RT-PCR.



Detección de virus mediante ELISA (CTV y CPsV) e II-ELISA para CPsV



#### Trabajo en Invernadero

Manejo Agronómico de plagas



Propagación de plantas para ensayos



Propagación de plantas indicadoras





Formación de Banco de Germoplasma, libre de enfermedades transmisibles por injerto (CGTDs)

 Etapas asociadas a la adquisición de ramillas para la formación del Banco de Germoplasma (BG):

Generación de lista de variedades que formaran parte del BG

Solicitud de ramillas a USDA-ARS National Clonal Germoplasm Repository for Citrus & Dates (NCGR)

Recepción de ramillas por parte del Servicio Agrícola y Ganadero

Injerto de yemas de variedades sobre portainjertos de C. macrophylla

Generación de lista de variedades que formarán parte del BG



Selección de proveedor del material

Selección de 40 variedades

Selección de portainjertos

Para cada una de estas etapas se contó con la colaboración de profesionales de:

- Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- Comité de Cítricos de Chile.
- Asociación Gremial de Viveros.
- Servicio Agrícola y Ganadero.

Solicitud de ramillas a USDA-ARS National Clonal Germoplasm Repository for Citrus & Dates (NCGR)



Solicitud de variedades seleccionadas en plataforma del NCGR

Para esta etapas se contó con la colaboración de profesionales de:

- Estación Experimental la Palma
- Ing. Agr. Verónica Herrera, CCC-ASOEX

Recepción de ramillas por parte del Servicio Agrícola y Ganadero



Gestión de documentación para aduana

Gestión de documentación para el Servicio Agrícola y Ganadero

Para esta etapas se contó con la colaboración de profesionales de:

- Servicio Agrícola y Ganadero
- Asociación Gremial de Viveros









Injerto de yemas de variedades sobre portainjertos de C. macrophylla



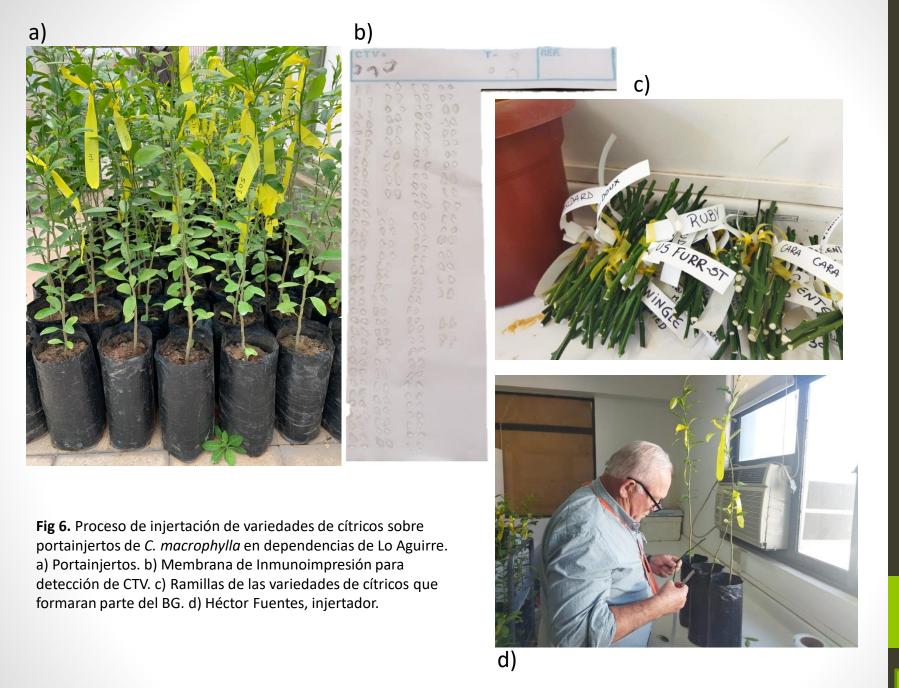
Recepción de plantas de C. macrophylla (portainjerto)

Análisis de 120 portainjertos, libres de CTV

Proceso de injerto de yemas de variedades

Para esta etapas se contó con la colaboración de profesionales de:

- Estación Experimental La Palma
- Servicio Agrícola y Ganadero (personal de Lo Aguirre)
- Héctor Fuentes, injertador PUCV



# Material de cítricos introducido

### Naranjas (Citrus sinensis)

- Parent Washington
- Cara Cara
- Lane Late
- Fukumoto
- Summer Gold
- Palmer

- Boukhobza
- California Roja
- Cutter
- Olinda

# Material de cítricos introducido

#### Limonero Citrus limon

- Messina
- Fino
- Improved Meyer
- Frost Eureka
- Alien Gold Budline
- Variegated Budline
- Variegated Pink

# Mandarinas, Clementinas e híbridos

- Nules
- W. Murkott
- Shiranui Dekopon
- US Furr
- USDA 88-2
- US Furr-ST

# Material de cítricos introducido

#### Pomelos e híbridos

- Star Ruby
- Oroblanco
- Orogold

### **Portainjertos**

- Carrizo
- C-35
- US-812
- Ethrog
- Swingle
- Rubidoux
- X639
- Bitters
- Carpenter
- US852
- C. macrophylla

# Equipo de Trabajo





**Técnicos**: Aldo Salinas, Ing. Agrónomo

Natalia Riquelme, Biól., MSc.

Alejandra Larach, Ing. Agr., M Sc.

Estudiante Magister: Claudio Henríquez, Ing. Agrónomo



Directora Alterna: Monserrat Valenzuela, Ing. Agrónoma

Comité Ejecutivo: Juan Enrique Ortúzar., Ing. Agrónomo

Juan Pablo Barroso, Ing. Agrónomo Maritrini Lapuente, Ing. Agrónoma Verónica Herrera, Ing. Agrónoma



**Representante AGV:** Margarita Torres, Ing.

Agrónoma



Representante Servicio Agrícola y

Ganadero: José Quintana

# Agradecimientos

Proyecto FIA PYT-2020-0219

