











# Formación de nuevo Banco de Germoplasma de Cítricos y Actualización de técnicas moleculares de detección de virus y viroides

Proyecto FIA PYT 2020-0219

Coordinadora Principal: Dra. Ximena Besoain Investigadora: M.Sc., Natalia Riquelme A.

Investigadora y Expositora: Ing. Agr., M.Sc Alejandra Larach













- Proyecto FIA PYT-2020-0219
- Banco de germoplasma de cítricos libres de virus y viroides



### 2 Actualización de técnicas moleculares de detección de virus y viroides

- Capacitación en el laboratorio del Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riverside (UCR).
- Visita al «Delfino Family Plant Laboratory» e Instalaciones USDA, Rubidoux, Ca.







- Proyecto originado a partir del compromiso adquirido con el Comité de Cítricos, luego de dos años de trabajo en la detección de patógenos asociados a cítricos.
- Detección de enfermedades transmisibles por injerto (CGTDs) mediante técnica combinada de bioamplificación en Cidro Arizona 861-S y RT-PCR.
- Capacitación en el laboratorio del Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riverside (UCR).
- Formación de Banco de Germoplasma de Cítricos (BGC) libres de virus y viroides.







- Proyecto originado a partir del compromiso adquirido con el Comité de Cítricos luego de dos años de trabajo en la detección de patógenos asociados a cítricos.
- Detección de enfermedades transmisibles por injerto (CGTDs) mediante técnica combinada de bioamplificación en Cidro Arizona 861-S y RT-PCR.
- Capacitación en el laboratorio del Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riversida (UCR).
- Formación de Banco de Germoplasma de Cítricos (BGC) libres de virus y viroides.







- Proyecto originado a partir del compromiso adquirido con el Comité de Cítricos luego de dos años de trabajo en la detección de patógenos asociados a cítricos.
- Detección de enfermedades transmisibles por injerto (CGTDs) mediante técnica combinada de bioamplificación en Cidro Arizona 861-S y RT-PCR.

• Capacitación en el laboratorio del Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riverside (UCR).

Formación de Banco de Germoplasma de Cítricos (BGC) libres de virus y viroides.







- Proyecto originado a partir del compromiso adquirido con el Comité de Cítricos luego de dos años de trabajo en la detección de patógenos asociados a cítricos.
- Detección de enfermedades transmisibles por injerto (CGTDs) mediante técnica combinada de bioamplificación en Cidro Arizona 861-S y RT-PCR.
- Capacitación en el laboratorio del Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riversida (UCR).
- Formación de Banco de Germoplasma de Cítricos (BGC) libres de virus y viroides.







### Enfermedades transmisibles por injerto (CGTDs) y Huanlongbing (HLB)

- Patógenos presentes en Chile: Citrus tristeza virus (CTV) y Hop Stunt viroid (HSVd).
- Amenaza para la citricultura chilena: Huanglongbing. Sus vectores: *Diaphorina citri* y *Tryoza eritra*e (ausentes en nuestro país).
- HLB: Presente en más de 50 países en África, Asia, Oceanía, y América (Sur, Norte, Centroamérica, y el Caribe) (CABI, 2017; EPPO, 2017).









### Banco de Germoplasma de cítricos libre de virus y viroides. Relevancia.

- Producción de material sano para propagar, disminuyendo el impacto de enfermedades.
- Detectar y evitar la dispersión de virus y viroides.
- Contar con material para formar plantas madres de cítricos y mejorar la calidad de la planta corriente.
- Adquirir material sano, asegura al productor la sanidad de su huerto, su productividad y rentabilidad.







### Banco de Germoplasma de cítricos libre de virus y viroides

- En el año 1991 comienza el Programa para la Certificación de Plantas de Cítricos.
- Financiado por: FONDEF, FONDECYT, FONDO-SAG y Proyectos PUCV.
- El Programa funcionó hasta el año 2010.
- Actualidad: Res. 8911 Exenta.
  - 3. De la relación plagas-hospedantes:
  - 3.1 De acuerdo con los criterios de evaluación y a la calificación obtenida en el proceso de análisis de riesgo, declárense Plagas No Cuarentenarias Reglamentadas (PNCR), en el material de propagación en las especies vegetales incluidas en los géneros Citrus spp. y en sus híbridos inter-especies; Poncirus spp. y Fortunella spp., excepto las especies ornamentales, en adelante llamados cítricos, a las siguientes plagas:
    - a. Citrus tristeza virus (CTV).
    - b. Citrus psorosis virus (CPsV).
    - c. Hop stunt viroid (HSVd).







### Banco de Germoplasma de cítricos libre de virus y viroides

El nuevo BGC, uno de los hitos principales del proyecto.

Generación de lista de variedades que formaran parte del BG

Mayo, 2021



Selección de 37 variedades

Selección de portainjertos

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

Septiembre, 2021



Solicitud de variedades seleccionadas en plataforma del NCGR

#### Formación de nuevo Banco de Germoplasma de Cítricos y actualización de técnicas moleculares de detección de virus y viroides.











Noviembre, 2021

























Proceso de injerto de yemas de variedades

Noviembre, 2021







ESPECIE	CULTIVAR
Citrus sinensis x Poncirus trifoliata	Carrizo
Citrus sinensis x Poncirus trifoliata	C-35
Citrus reticulata x Poncirus trifoliata	US-812
Citrus medica	Ethrog
Citrus paradisi x Poncirus trifoliata	Swingle
Citrus clementina	Nules
Citrus paradisi	Star Ruby
Citrus maxima x Citrus paradisi	Oroblanco
Citrus limón	Limonero Messina
Citrus limón	Limonero Fino
Citrus limón	Frost Eureka
Citrus limón	Allen old budline
Citrus limón	Variegated Pink
Citrus reticulata	W. Murcott (Afourer)
Citrus reticulata	Shiranui Dekopon
Citrus reticulata	US Furr
Citrus reticulata	USDA 88-2
Citrus reticulata	US Furr-ST
Citrus sinensis	Parent Washington

ESPECIE	CULTIVAR
Citrus sinensis	Cara Cara
Citrus sinensis	Lane Late
Citrus sinensis	Fukumoto
Citrus sinensis	Palmer
Citrus celebica	Citrus macrophylla
Citrus sinensis	Madame Vinous
Citrus sinensis	Boukhobza
Citrus sinensis	California roja
Poncirus trifoliata	Rubidoux
Citrus reshni x Poncirus trifoliata	X639
Citrus sunki x Poncirus trifoliata	Bitters
Citrus sunki x Poncirus trifoliata	Carpenter
Poncirus trifoliata x Citrus reticulata	US-852
Citrus sinensis	Cutter
Citrus sinensis	Olinda
Citrus máxima	Chandler
Citrus grandis x C. paradisi	Melogold
Citrus aurantium	Standard

Plantas terminadas
Liberadas de cuarentena SAG. Primera semana de diciembre de 2022.







### Banco de Germoplasma de cítricos libre de virus y viroides.





El recinto cuenta con un radier con base estabilizada y con una malla C-92 para otorgar una mejor resistencia. La losa es de hormigón pulido.







### Banco de Germoplasma de cítricos libre de virus y viroides



Estructura metálica galvanizada de techo curvo con doble puerta de ingreso y cierre perimetral.















## Capacitación en el laboratorio del Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riverside (UCR).

- Nuevos desafíos planteados debido a la formación del BGC.
- Colaboración con el Dr. Giorgios Vidalakis (Departamento de Microbiología & Fitopatología).
- Planificación de actividades relacionadas con la detección de virus y viroides de cítricos.
- Planificación de visitas a **recintos de interés** para el trabajo con cítricos.







## Actualización de técnicas moleculares de detección de virus y viroides: Capacitación

Natalia Riquelme, Biólogoa MSc, equipo técnico

### **Actividades de Laboratorio**

- > Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riverside (UCR).
- Delfino Family Plant Laboratory

### Actividades de campo

- Delfino Family Plant Laboratory
- Visita a instalaciones Laboratory oficialUSDA.







### 1. Capacitación en el Laboratorio del Dr. Giorgios Vidalakis en la Universidad de California, Riverside (UCR).







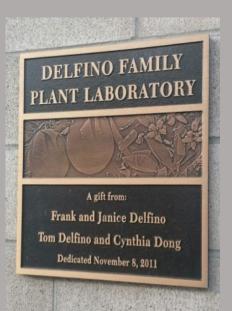
Procedimientos realizados a las muestras recibidas en el laboratorio de análisis molecular. Las muestras son recibidas, procesadas para extracción de ARN y analizadas mediante la técnica de RTqPCR para los diversos patógenos (virus, viroides y HLB) presentes en cítricos de California y otros lugares de USA.







### 2. Visita al «Delfino Family Plant Laboratory» e Instalaciones USDA, Rubidoux, Ca.





«Delfino Family Plant Laboratory»: Laboratorio ubicado en Rubidoux, Riverside, cuentan tanto con el servicio de identificación de virus y viroides como con el de limpieza de material vegetal.







### Visita al «Delfino Family Plant Laboratory» e Instalaciones USDA, Rubidoux, Ca.







Visualización de sintomatología en plantas indicadoras, a) *Citrus tristeza virus* (CTV) en lima m<mark>exicana</mark>; b) *Hop stunt viroid* (HSVd) en Cidro; c) *Citrus psorosis virus* (CPsV) en *Pineapple sweet orang*e.







### 3. Visita a Instalaciones USDA, Rubidoux, Ca.









USDA: Cuenta con un laboratorio de análisis molecular, invernaderos donde se mantienen una colección de patógenos (virus y viroides) presentes en plantas de cítricos, USDA-ARS National Clonal Germoplasm Repository for Citrus & Dates (NCGR) y sector de crio-preservación de material para propagación.







### Conclusiones

- o Formación del Banco de Germoplasma: protección citricultura
- o Detección: identificar momentos claves para la detección de virus y viroides
- Capacitación: integración con otros centros de investigación y posibles colaboraciones.



### **Profesionales Asociados al proyecto FIA PYT 2020-0219**







Coordinadora del Proyecto: Dra. Ximena Besoain

**Profesionales**: Natalia Riquelme, MSc. Biólogo.

Alejandra Larach, MSc. Ing. Agrónoma.

• Estudiante Magister: Claudio Henríquez, Ing. Agrónomo.



Coordinadora Alterna: Monserrat Valenzuela, Ing. Agrónoma.
Comité Ejecutivo: Juan Enrique Ortúzar, Ing. Agrónomo.

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



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



Representante Servicio Agrícola y Ganadero: José Quintana









### Agradecimientos



















# Formación de nuevo Banco de Germoplasma de Cítricos y Actualización de técnicas moleculares de detección de virus y viroides.

Proyecto FIA PYT 2020-0219

Coordinadora Principal: Dra. Ximena Besoain Investigadora: M.Sc., Natalia Riquelme A.

Investigadora y Expositora: Ing. Agr., M.Sc Alejandra Larach

