

Microinjertación: Una Técnica para la Eliminación de Virus, Viroides y Bacterias

Ing. Jaime Sánchez Hernández, Enlace de Cuarentena y Saneamiento Vegetal, SENASICA/DGSV/CNRF-Estación Nacional de Epidemiología Cuarentena y Saneamiento Vegetal. Correspondencia: jameshdz@yahoo.com.mx

Una citricultura competitiva requiere una máxima eficiencia en todas sus fases y un elemento fundamental para alcanzarla, es el establecimiento de huertas altamente productivas que permitan una rentabilidad adecuada, para esto es imprescindible la disponibilidad de plantas de excelente calidad genética y sanitaria.

Actualmente la técnica más eficiente en la obtención de plantas de cítricos de alta calidad es el microinjerto de ápices caulinares *in vitro*, que permite la obtención de plantas libres de virus, viroides y bacterias, es la técnica más utilizada en los países citrícolas más avanzados.

La técnica se sustenta en la utilización de ápices caulinares, menores a 200 micras, conformados por el meristemo y 1 a 3 primordios foliares, que normalmente se encuentran libres de patógenos aunque el resto de los tejidos de las plantas estén infectados. La ausencia de patógenos en los ápices, se ha explicado por la ausencia de tejidos vasculares en ellos, lo que delimita el movimiento e infección de los patógenos y también por la utilización de las células meristemáticas de las moléculas necesarias para la replicación y proteínas de necesarias para el movimiento de los virus.

El microinjerto también se ha utilizado con éxito en la obtención de plantas sanas de melocotonero, almendro, ciruelo, cerezo, pistache, manzano, peral y vid.

El procedimiento estándar es descrito por Navarro y col. (1975) y consta de las siguientes etapas:

Preparación del patrón. Cualquier patrón que sea compatible con la variedad que sobre él se injerte puede ser usado para el microinjerto. El patrón más utilizado ha sido el citrange 'Troyer' (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. X *Citrus sinensis* (L.) Osb.).

En esta etapa se eliminan manualmente los tegumentos de las semillas, se desinfectan por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 % mas Tween 20 al 0.1 %, durante 10 min, se enjuagan tres veces con agua destilada estéril. Las semillas se siembran en tubos de ensayo de 25 x 150 mm, con 25 mL de medio de germinación compuesto por las sales minerales de Murashige y Skoog (MS) solidificado con 1 % de bacto agar. Los tubos son incubados a 27 °C y oscuridad constante, por 2 - 3 semanas hasta que las plántulas alcanzan su desarrollo óptimo para su uso en el microinjerto.

Preparación del ápice. Los ápices caulinares pueden obtenerse de brotes de diversas fuentes: directamente en árboles en campo, plantas cultivadas en invernadero y varetas cultivadas *in vitro*. Se utilizan brotes menores de 5 cm. A cada brote se le eliminan las hojas mayores y se separa la parte terminal con una longitud de 1 cm, se realiza la esterilización de superficie por inmersión

en una solución de hipoclorito de sodio al 0.25 % más 0.1 % de Tween 20 durante cinco minutos y se enjuaga tres veces con agua destilada estéril. En condiciones asépticas, con el auxilio de un microscopio estereoscópico, se eliminan las hojas restantes y se corta un ápice con el meristemo y 2 - 3 primordios foliares más jóvenes.

Microinjerto. En condiciones asépticas, el portainjerto se extrae del tubo de ensayo, se decapita dejando aprox. 1.5 cm del epicotilo, se corta la raíz hasta 4 - 6 cm y se eliminan los cotiledones junto con sus yemas axilares. El injerto puede ser hecho por dos métodos, arriba del epicotilo decapitado, colocando el ápice en contacto con el anillo vascular o colocando el ápice dentro de la incisión "T" invertida, con dimensiones de 1 mm, realizada en el extremo del epicotilo decapitado.

Cultivo *in vitro* de las plantas microinjertadas. Las plantas microinjertadas se cultivan en medio líquido compuesto por las sales minerales MS, las vitaminas de White y 75 g/lit de sacarosa, en tubos de ensayo con soporte de papel donde se colocan individualmente y se mantienen a 27 °C con un régimen de iluminación de 16 h de luz (40 - 50 me/m²s).

Transferencia de los microinjertos logrados. A las 5-8 semanas, con al menos dos hojas expandidas, las plantas microinjertadas se llevan a condiciones ambientales externas, mediante su trasplante a macetas con un sustrato apropiado y en condiciones de humedad y sombreado que favorezcan su desarrollo, o injertándolas sobre patrones vigorosos. La técnica de microinjerto se complementa con las pruebas de diagnóstico de patógenos que sea preciso realizar en cada caso, para garantizar la calidad sanitaria del material de propagación obtenido.

El microinjerto solo o combinado con termoterapia se ha demostrado eficiente en la eliminación de exocortis, cachexia, stubborn, tristeza, infection variegation y vein enation, tatter leaf, dweet mottle, psorosis, cancrrosis, clorosis variegada y huanglongbing entre otros.

Referencias Bibliográficas

- Navarro, L. C. N. Roistacher and T. Murashige. 1975. Improvement of Shoot-tip Grafting *in vitro* for Virus-free Citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100:47- 479.
- Navarro, L. 1991. Citrus Shoot-tip Grafting and its Applications: a Review. Proc. Int. Soc. Citriculture 1:452- 456.
- Navarro, L., L. Civerolo, J. Juárez and S. M. Garnsey. 1991. Improving Therapy Methods for Citrus Germplasm Exchange. Proc. 11th Conf. IOCV, p. 400- 408.