

# Importancia del Diagnóstico de Procariontes Fitopatógenos en la Movilización de Productos Agrícolas

**Dr. Gustavo Alberto Frías Treviño**, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. Correspondencia: servesa\_gfriast@hotmail.com

**Introducción.** El diagnóstico fitosanitario de procariontes es un requisito para importar y movilizar plantas y sus productos (vegetales regulados) cuando estos representan un riesgo fitosanitario; es decir que son posibles vías para introducir procariontes exóticos a México o para dispersarlos de un Estado o Municipio de México en donde está presente a otro libre del patógeno. Las restricciones a la importación y movilización de vegetales regulados se establecen en Normas Oficiales Mexicanas (NOM's) Acuerdos y en el Modulo de Requisitos Fitosanitarios para la Importación de Mercancías Reguladas por la SAGARPA publicados en el Diario Oficial de la Federación (1-4). En estas publicaciones se mencionan a 75 bacterias, y 2 Fitoplasmas que podrían introducirse a México o dispersarse de un Estado a otro. A continuación se analizan los principales factores que deben considerarse cuando se realizan diagnósticos para restringir la importación y movilización de vegetales regulados en México.

**1. Tamaño de muestra.** Un aspecto esencial que limita la utilidad de un diagnóstico es el tamaño de la muestra que se analiza. Aunque el protocolo de diagnóstico sea 100% efectivo (detecta todas las muestras positivas), las conclusiones que puedan derivarse de la detección de un procarionte aplicarán única y exclusivamente a la muestra y por lo tanto, tener una muestra representativa de la mercancía que se importará o movilizará es indispensable si se pretende minimizar el riesgo de introducir procariontes al país o alguna región del mismo en donde no está presente. Por ejemplo para el caso de un lote de semilla de sandía con una incidencia de 0.25% semillas infectadas con *Acidovorax avenae* pv. *citrulli* (1 semilla infectada en 400), tomar y procesar muestras de menos de 400 semillas se reflejaría en un alto riesgo de introducir este procarionte en las zonas en donde no está presente. Desafortunadamente el número de semillas de sandía en lotes de importación es menor a 400. En la Figura 1 se puede observar un ejemplo de una muestra de sandía de importación con 36 semillas que la Oficinas de Inspección de Sanidad Agropecuaria tomó para enviar a los laboratorios aprobados que realizan el protocolo de detección de *Acidovorax avenae* pv. *citrulli* (Acc). Si consideramos que se debe dejar la mitad de la semilla para pruebas de corroboración, solo se procesaron 18 semillas. La incidencia mínima que debe tener la muestra para resultar positiva es de 5.55 %, que es una incidencia que probablemente causará una epidemia, pérdidas inaceptables y un alto riesgo de establecimiento del procarionte en el lugar de siembra. Si agregamos a esto que, en embarques compuestos de varios lotes solo se muestrea uno de ellos, el riesgo de introducir este procarionte en lotes de semilla que se producen en países, estados o municipios en donde está presente, es muy alto.

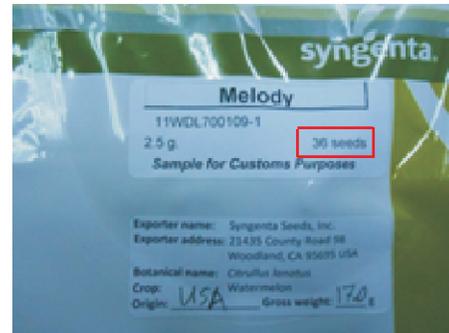


Figura 1. Ejemplo de un sobre que contiene la muestra que envía la Oficinas de Inspección en la Frontera a los Laboratorios aprobados por la SAGARPA para aplicar el protocolo de detección de *Acidovorax avenae* pv. *citrulli*.

La representatividad de una muestra, por lo tanto, depende de la incidencia de semillas infectadas. Para un lote de semilla con incidencias de 0.25 %, 15 semillas no son representativas ni nos permitirán concluir que el lote está libre del procarionte, lo más que podremos decir es que la muestra tiene una incidencia menor a 5.55 %.

**2. Nivel de detección.** El nivel de detección del Kit de ELISA distribuido por AGDIA y usado por los laboratorios de diagnóstico para detectar Acc, es de  $4 \times 10^4$  células por ml es decir, si una muestra (por ejemplo de 18 semilla) tiene solo una semilla infectada (incidencia de 5.55%), y al homogeneizarla y suspenderla en el amortiguador de extracción genera menos de 10,000 células de Acc por mililitro, el resultado de la prueba será negativo, es decir la prueba de diagnóstico dará lugar a un falso negativo. El nivel de detección es por lo tanto un factor importante a considerar para determinar el tamaño de muestra representativa, bajos niveles de detección deben ser compensados con mayor tamaño de muestra. Otros métodos de detección como el PCR tienen niveles de detección teóricos de hasta una célula del procarionte (ADN) en la mezcla de reacción. En este caso no es necesario compensar con un mayor tamaño de muestra.

**3. Especificidad del Antisuero o iniciadores usados en las pruebas de ELISA y PCR, respectivamente.** La reacción inespecífica de los antisueros en el caso de la prueba de ELISA o de los iniciadores en la reacción de PCR puede dar un resultado positivo cuando en realidad el vegetal regulado no está infectado con el procarionte que se pretende detectar (falso positivo). Un

caso reciente (12 de octubre del 2011) es el falso positivo de Huanglongbing de los cítricos (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) detectado por PCR en cítricos originarios de Veracruz. Por un período de 2 meses se restringió la movilización de material propagativo y de la fruta de cítricos producida en Veracruz, una acción que sin duda tuvo un impacto económico serio.

**4. Selección de la prueba de diagnóstico.** Es importante considerar que dos de las pruebas más usadas en el diagnóstico rápido de procariontes, la prueba de ELISA y la de PCR detectan a los procariontes o sus partes aún cuando estos no están viables y por lo tanto los vegetales regulados no están infectados o por lo menos no producirán plantas infectadas. Este hecho debe considerarse para aplicar las medidas de restricción de la movilización que adecuadas.

**Conclusión.** El diagnóstico de procariontes es esencial para aplicar las disposiciones legales que limitan la importación y movilización de vegetales; sin embargo, los

factores analizados en este documento raramente se consideran para elaborar las regulaciones y para la toma de decisiones relacionadas con la importación y movilización de vegetales regulados.

#### **Referencias Bibliográficas**

Norma Oficial Mexicana 041

Acuerdo por el que se dan a conocer las medidas fitosanitarias que deberán aplicarse para el control del Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter* sp.) y su vector.

Acuerdo por el que se establece el módulo de requisitos fitosanitarios para la importación de mercancías reguladas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación, en materia de sanidad vegetal.

Circular 147. Oficio de notificación de detección de HLB. Dirección General de Sanidad Vegetal, 12 de Octubre del 2011.

Aviso 172. Oficio de notificación del 8 de diciembre del 2011 cambiando las disposiciones de la Circular 147