

Fecha: 29/07/25

De: Ing. Agr. Julia Figueroa y Lic. María Florencia Palacios

Para: Dr. Santiago Ostengo- DATA

Asunto: Informe de Asistencia a “XXIII Conference of the International Organization of Citrus Virologists” (IOCV)

Entre los días 16 al 22 de marzo del corriente año, participamos del XXIII Congreso y post congreso de la “International Organization of Citrus Virologists” en Mildura y Sydney, Australia.

A continuación presentamos el informe de los temas expuestos en las diferentes sesiones y visitas técnicas.

Problemáticas actuales de Huanglongbing en distintas regiones productoras

Se trataron los avances y desafíos relacionados con el manejo y diagnóstico de Huanglongbing (HLB) y otras enfermedades de los cítricos en distintos contextos geográficos en donde se vio reflejada la complejidad del manejo cada una con particularidades epidemiológicas, económicas y sociales. Se reafirmó la necesidad de **enfoques integrados**, adaptados localmente que incluyan no solo medidas técnicas sino también estrategias de articulación institucional y participación comunitaria.

Australia expuso la experiencia de más de 35 años del programa *Northern Australia Quarantine Strategy (NAQS)* financiado por el gobierno y enfocado en la detección temprana de plagas y enfermedades exóticas, en las que además incluye la detección y monitoreo de HLB en Nueva Guinea e Indonesia, muy próximas y con HLB. California exhibió el programa de manejo de HLB que incluye cuarentenas regionales, monitoreo intensivo, diagnóstico a plantas de campo, liberación masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* y fuertes campañas de educación a la población. Florida planteó su objetivo en mitigar el impacto con el ensayo de portainjertos tolerantes, la utilización de cobertores individuales en plantas jóvenes, inyecciones de oxitetraciclina (OTC) y aplicaciones de brasinoesteroides (BRs) y activadores de resistencia sistémica adquirida (SARs) indicando que están logrando una reducción significativa de la severidad de síntomas y en la caída de frutos. Finalmente, de Texas, se desarrolló la implementación del programa estatal de uso de material de propagación de sanidad controlada a partir de 1990 destacándose las regulaciones de producción bajo cubierta.

Avances genéticos y de manejo en la lucha contra el Huanglongbing (HLB)

Las estrategias de mediano y largo plazo para enfrentar el HLB incluyen programas de biotecnología, mejoramiento genético, estudios fisiológicos, evaluación de portainjertos tolerantes y terapias experimentales, con una fuerte presencia de investigaciones de Australia, Estados Unidos y Brasil que reflejan el esfuerzo global por encontrar soluciones sostenibles y adaptadas a su manejo en cada contexto. Merece destacarse que en el mejoramiento, la búsqueda de resistencia parte en la utilización de especies silvestres como *C. glauca*, *C. australasica*, *C. australis* y *C. inodora* y géneros afines: *Eremocitrus glauca* y *Microcitrus* pero que además sean comercialmente viables y con buena aceptación por parte del consumidor (no transgénicos). Otra línea de trabajo planteada fue la evaluación de portainjertos tolerantes al HLB importados de los programas de mejoramiento de otros centros mundiales.

Avances en el manejo de enfermedades vasculares: HLB y CVC

Se expuso sobre los avances en la comprensión, diagnóstico y manejo de la Clorosis Variegada de los Cítricos (CVC) y el Huanglongbing (HLB) reiterándose el concepto de enfoque integral que combinan control del vector, mejora genética y biotecnología aplicada, enfatizando el diagnóstico temprano y la reducción de síntomas en las plantas infectadas. Se desarrollaron aspectos epidemiológicos, moleculares y aplicados, destacando tanto desde enfoques clásicos

como con herramientas emergentes (vectores virales y modulación de la respuesta del hospedero). Puede mencionarse la implementación de prácticas culturales y de control como poda estructural, aplicación de caolín, trampeo sistemático del vector y el desarrollo de plantas tolerantes mediante edición génica o selección. Se expusieron estudios sobre la acción de la bacteria en la respuesta inmune del hospedero. El *Citrus Research International* analizó la distribución espacio-temporal de *Ca. Liberibacter africanus* (CLaf) en cítricos de Sudáfrica remarcando una colonización desigual dentro del árbol y la dependencia de la manifestación de síntomas según la temperatura y finalmente Florida presentó estudios sobre el empleo de clones avirulentos de CTV como vector combinado con péptidos antimicrobianos y RNAi para mitigar los efectos del HLB y potenciar el control del psílido.

Estudios sobre virus emergentes y estrategias de manejo en citricultura

Se presentaron avances en el conocimiento sobre virus que afectan a cítricos y sus estrategias de manejo incluyendo estudios sobre *Citrus tristeza virus* (CTV), *Citrus yellow vein clearing virus* (CYVCV) y *Citrus vein enation virus* (CVEV). Se abordaron enfoques desde la ingeniería genética y la caracterización molecular hasta la transmisión y defensa antiviral, reflejando la diversidad de herramientas utilizadas para enfrentar estas enfermedades.

Puede destacarse la generación de líneas transgénicas de naranjo agrio con incorporación de resistencia a CTV mediante interferencia por ARN (RNAi) para recuperar el uso de naranjo agrio como portainjerto resistente a tristeza. También se menciona la dinámica evolutiva del virus que para estudiar la emergencia de genotipos recombinantes en infecciones mixtas, comunes en Florida y la posible aparición de nuevas variantes.

En el estudio de CYVCV se confirmó la transmisión mecánica a herbáceas pero no por vectores ni por polen y se destacó la interacción sinérgica entre CVEV y CYVaV, ambos de baja patogenicidad en infecciones individuales pero con síntomas severos y aumento de título de ambos virus en infecciones mixtas, particularmente de CYVaV. En cuanto a avances, describieron un mecanismo molecular de defensa antiviral en el cual la proteína ClBeclin1 favorece la defensa antiviral en limón Eureka frente a CYVCV mediante la activación de la autofagia y la degradación de la proteína antioxidante ClAPX1.

También se abordaron diferentes aspectos de virus emergentes y reemergentes haciendo foco en su biología molecular, capacidad de transmisión, mecanismos de defensa antiviral en las plantas hospedantes y las consecuencias de las coinfecciones. Se presentaron estudios funcionales que identifican proteínas virales clave en la patogenicidad y supresión de la respuesta antiviral del hospedero (CVEV). Referido a la leprosis en Estados Unidos, se presentó un trabajo sobre detección de virus asociados, transmitidos por ácaros del género *Brevipalpus* en cítricos, orquídeas y ornamentales de California, Florida y Hawai. También expusieron sobre la detección, utilizando RT-qPCR y NGS, de variantes del *Orchid fleck virus* (OFV) y *Citrus leprosis virus C2* (CiLV-C2H) en múltiples especies en California. Esto, junto con la amplia distribución de hospederos alternativos, alertaron sobre la necesidad de vigilancia activa para prevenir la reemergencia de la leprosis en Estados Unidos. Fue novedoso un trabajo sobre modificación de compuestos volátiles como herramienta para el manejo ecológico de plagas y enfermedades en cítricos. Presentaron avances en líneas de naranjo modificados genéticamente para repeler plagas como *Diaphorina citri*, *Phyllocnistis citrella*, bacterias como *Xanthomonas citri* y hongos como *Penicillium* cuyos resultados muestran un enfoque prometedor y sostenible para el control integrado.

Finalmente, se expuso una caracterización de *Citrus tatter leaf virus* en el cual se identificó dos supresores virales de silenciamiento de ARN (VSRs): la proteína de movimiento (MP) y la proteína de la cápside (CP) que abren nuevas vías para el desarrollo de estrategias de manejo.

Actualización en taxonomía: nomenclatura binomial para virus y viroides

El Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) alineado con los criterios usados para otros organismos biológicos realizó una actualización en la taxonomía, la cual combina el

nombre del género con un epíteto específico (por ejemplo, *Closterovirus tristeza* para CTV), buscando estandarizar la identificación científica de especies, sin reemplazar los nombres comunes en el uso aplicado. Este cambio facilitará la comunicación científica, la precisión diagnóstica y la claridad en los programas de manejo sanitario.

Programas de certificación, cuarentena y desafíos globales en la citricultura

Se expusieron experiencias contrastantes en programas de certificación sanitaria y cuarentena, destacando su rol estratégico ante los desafíos actuales de la citricultura global. Se remarcó la necesidad de políticas integrales, inversión sostenida y articulación público-privada para garantizar la disponibilidad de material vegetal y preservar la sanidad del cultivo. Como ejemplos, el *Citrus Clonal Protection Program* de California lleva más de 65 años asegurando la provisión de material cítrico libre de patógenos en coordinación con organismos oficiales y el sector productivo; Sudáfrica cuenta con un esquema de cuarentena post-ingreso que recibe material de 24 países, con análisis específicos según los riesgos fitosanitarios del país de origen y el sistema australiano liderado por Auscitrus, iniciado en 1928, único proveedor nacional de yemas certificadas. En el extremo opuesto, Pakistán, donde la ausencia de políticas fitosanitarias adecuadas, sumada a eventos climáticos extremos ha favorecido la propagación de enfermedades como cancro, tristeza, phytophthora y melanosis, están generando un panorama crítico para la actividad.

Investigaciones recientes en virus y viroides de cítricos

En este segmento se agruparon diversas investigaciones centradas en la detección, caracterización y evaluación de impacto de virus y viroides en cítricos. Se destacaron ensayos de campo, estudios moleculares, análisis evolutivos y estrategias de manejo, con especial énfasis en el rol de los portainjertos, la transmisión por injerto y la distribución geográfica de los patógenos.

Las presentaciones demostraron la importancia de caracterizar la variabilidad patógena, optimizar el diagnóstico, comprender la interacción patógeno-hospedador y desarrollar estrategias de manejo ajustadas a las condiciones locales. También se destacó el potencial de enfoques innovadores como el análisis de muestras históricas y el uso de RT-qPCR multiplex para monitoreo sanitario, herramientas claves para una citricultura sostenible. Finalmente se remarcó la necesidad de reforzar los programas de diagnóstico, mejoramiento genético y manejo sanitario sustentable. Brevemente, Sudáfrica presentó estudios de sensibilidad de nuevos portainjertos cítricos, comerciales y experimentales frente al *Citrus dwarfing viroid* (CDVd) y *Hop stunt viroid* (HSVd) en ensayo de campo y de invernadero comentando que la práctica de cambio de copa y el uso de yemas de campo están aumentando la dispersión. Australia expuso resultados de la prevalencia de viroides cítricos mediante RT-qPCR múltiple, concluyendo que el más prevalente fue CDVd (14%), seguido por *Citrus exocortis viroid* (CEVd) y HSVd (~5%). Estudios moleculares de China determinaron la función del dominio terminal derecho en la acumulación y patogenicidad de CEVd con lo cual amplían el conocimiento sobre los mecanismos moleculares que explican la variabilidad en los síntomas y su intensidad en hospedantes leñosos.

En este segmento, además expusieron sobre el estado actual y futuro de las enfermedades transmitidas por injerto en Pakistán: virus y viroides, CTV y HLB y la reciente aparición de *Citrus yellow vein clearing virus* (CYVCV) y nuevos mandarivirus. Muy interesante fue un trabajo de arqueovirología vegetal, en el cual mediante análisis por NGS de muestras herbáceas recolectadas entre 1932 y 1975 se obtuvo valiosa información sobre evolución viral y distribución histórica de patógenos en América Latina.

Innovaciones en diagnóstico molecular de patógenos cítricos

Se expusieron avances tecnológicos en el diagnóstico de virus, viroides y bacterias en cítricos. Las presentaciones incluyeron optimización de protocolos de extracción de ARN según el

patógeno analizado (Sudáfrica), métodos portátiles para detección en campo, desarrollo de técnicas multiplex (California) y estrategias bioinformáticas aplicadas a secuenciación de alto rendimiento. Se evidenció el esfuerzo global por mejorar la sensibilidad, especificidad, rapidez y accesibilidad del diagnóstico en pos de una citricultura más segura y sostenible. El USDA presentó un ensayo RT-PCR cuádruple para detectar CiLV-N, CiCSV y OFV, asociados al complejo de la leprosis cítrica. También se presentó un protocolo de PCR en tiempo real que permite detectar simultáneamente 24 patógenos cítricos (virales y bacterianos) en solo 90 minutos que incluye reacciones dúplex y controles internos y fue validado con plantas infectadas y análisis por NGS. Este enfoque modular, adaptable y rápido representa una herramienta para lograr el intercambio seguro de germoplasma y fortalecer programas de certificación y cuarentena. Finalmente, se expuso un trabajo en el cual desarrollaron un conjunto de sondas electrónicas (e-probes) específicas para la detección de 20 patógenos de transmisión por injerto a partir de datos de secuenciación masiva, utilizando la plataforma MiFi®. Las pruebas demostraron alta precisión, reproducibilidad y capacidad de multiplexado, sin comprometer sensibilidad por lo cual hay un análisis simultáneo de múltiples patógenos a partir de una sola muestra, optimizando el diagnóstico en programas de cuarentena y producción de material libre de patógenos.

Saneamiento por microinjerto de ápices caulinares

Se desarrolló un trabajo sobre el efecto de la temperatura y contenido de humedad en el almacenamiento de la semilla para obtener los plantines que se utilizan en la técnica de microinjertación. Las semillas almacenadas en condiciones adecuadas (Humedad > 30%) mostraron mejor desarrollo de raíces y brotes. Por otro lado, ensayaron distintos medios de cultivo para optimizar la germinación y desarrollo de plantines logrando mayores tasas de germinación (>90%) y mayor número de plántulas viables mediante la implementación de la práctica de un cambio de medios de cultivo a las 5-6 semanas que favorecen el crecimiento del meristema microinjertado.

VISITAS TÉCNICAS

Auscitrus (Australian Citrus Propagation Association Incorporated)

Esta organización nacional provee yemas y semillas de calidad genética y sanitaria a los viveros y empresas y, si bien no es obligatorio el uso del material de propagación de este origen, su utilización es generalizada. Aunque es una entidad sin fines de lucro, se autofinancia a través de la venta de yemas y semillas y recibe apoyo adicional mediante subvenciones de la industria para la importación y evaluación de nuevas variedades. La visita a esta institución fue muy interesante ya que pudimos ver las instalaciones, el manejo, su capacidad productiva, periodicidad de retesteo de enfermedades entre otros puntos y comparar el manejo que realizan con lo que hacemos en nuestro centro de saneamiento.

Las plantas madres saneadas en Sydney, en el Elizabeth Mc Carty Institute, son mantenidas en invernaderos protegidos (foto 1) pero las yemas que se entregan para planta terminada, se cosechan de las plantas que están a campo. También gestiona las introducciones de variedades de uso público. Entregan solo yemas de incremento, producidas en C. Troyer o Carrizo. Cada planta de incremento rinde aproximadamente 75 yemas por año (3 cosechas de 25 yemas) y tienen un potencial de producción de alrededor de millón de yemas por año. Renuevan cada 6 años, por probables mutaciones y para no equivocarse por que no ven frutos. En 2024 vendieron 1,1 millones de yemas y 1 tonelada de semillas. Del total entregado, el 76% de las yemas corresponde a naranja, 16 % mandarina, 5,5 % a limoneros y limas y 2,5 % a pomelos y los portainjertos de mayor uso son los Citranges (Carrizo, Troyer, C35, Citrange Benton y C. Cox).

Referido a la periodicidad de retesteo, al igual que en nuestro país, tristeza y viroides se realiza cada uno y tres años respectivamente mientras que psorosis cada 10 años.



Foto 1: Bloques de multiplicación de Auscitrus previo a la plantación en campo

Dareton Primary Industries Institute (DPII)

Es un centro de investigación agrícola de frutales, especialmente dedicado a los cítricos, uvas y almendras. Fundado en 1948, ha sido fundamental en el desarrollo de prácticas sostenibles y en la mejora de la calidad de los cítricos en Australia. A continuación enumeramos información relevante que aportó la visita.

- Mantiene plantas semilleras y variedades a campo por convenio con Auscitrus, quien es el responsable de su mantenimiento.
- En razón que realizan cuarentena para mover cítricos entre Queensland y el sur, que tiene razas más severas de CTV y stem pitting en naranjas, realizan cuarentena y las liberan luego de 4 años.
- Realiza ensayos de portainjertos y nuevas variedades de Australia o del exterior y en 6-8 años obtienen los resultados ya que evalúan 3 cosechas.
- La mayoría de los ensayos los realizan en citrange Carrizo, que es el más difundido pero también trabajan con Troyer, C 35, Benton, Trifolio, Cook, Cleopatra, C4475, C146, C22, para ver compatibilidad, maduración, etc.

Los ensayos que vimos fueron los siguientes:

Variedades y portainjertos. Tiene una colección iniciada en 1955, la mayor de Australia, que se utiliza para la evaluación y desarrollo de nuevas variedades y portainjertos adaptados a sus condiciones: Flying Dragon no es recomendado por ser poco productivo en sus condiciones

mientras que Citrange Carrizo es muy buen portainjerto por su tolerancia a la sequía. Actualmente cuentan con varios portainjertos de origen chino, no híbridos sino selecciones, varias de ellas enanizantes.

Marco denso de plantación. Ensayos con viroides enanizantes (simples y en mezclas) en citrange Troyer.

Riego. El objetivo es optimizar el uso del agua para mejorar la producción de los cítricos.

Tolerancia a enfermedades. Participa en proyectos internacionales para evaluar portainjertos tolerantes al huanglongbing (HLB), aún no presente en Australia.

Visitamos el predio experimental, en donde pudimos ver ensayos de evaluación de portainjertos con efecto enanizante para permitir plantaciones de alta densidad, aumentar la eficiencia y productividad así como también ensayos en los que las plantas están inoculadas con viroides cítricos para la reducción de tamaño.

Pudimos también ver un ensayo de producción de cítricos en “espalderas” (foto 2). El mismo se encontraba en etapa inicial, por lo cual observamos las estructuras y las plantas colocadas para la producción con este sistema. El objetivo es comparar este sistema de producción con el de alta densidad por uso de portainjertos semienanizantes y plantas inoculadas con viroides que afectan el crecimiento.



Foto 2. Producción de cítricos en espalderas

Instituto Agrícola Elizabeth Macarthur (EMAI)

Este instituto es el principal centro de bioseguridad de Nueva Gales del Sur (NSW DPI). Visitamos tanto los laboratorios de saneamiento y molecular como los invernaderos de diagnósticos, interactuamos con los responsables de cada área realizando consultas propias de la actividad. Aunque nuestra atención se centró en el área de investigación relacionada con la citricultura, es importante destacar la envergadura de sus instalaciones y el papel integral que desempeña en la protección y el avance de las industrias primarias ya que realiza investigación científica, diagnóstico especializado y conservación ambiental para garantizar la seguridad alimentaria y la sostenibilidad agrícola del país. Sus laboratorios de virología, bacteriología y parasitología forman parte de la respuesta estatal a eventos de enfermedades animales de emergencia (como la erradicación de la influenza equina en 2007 y 2008) y la incursión de plagas. También realiza investigaciones avanzadas en enfermedades infecciosas que afectan a animales terrestres y acuáticos, así como a plantas, contribuyendo al mantenimiento del estatus libre de enfermedades de Australia que le da ventajas comerciales significativas en los mercados internacionales.

Vivero comercial “Eyles Citrus”

Finalmente, resultó interesante conocer las instalaciones de un vivero cuya producción se realiza mayormente a cielo abierto. Pudimos observar su sistema de producción en macetas de volumen muy reducido, biodegradables por lo cual no requieren transplante (foto 3). Nos recibió el dueño del vivero, quien informó sobre las variaciones del mercado y un marcado incremento de demanda de *Citrus australásica* con destino ornamental, de la cual tienen 7 selecciones diferentes en cuanto a tamaño, color de cáscara y color de pulpa.



Foto 3. Planta de citrus australasica en maceta biodegradable

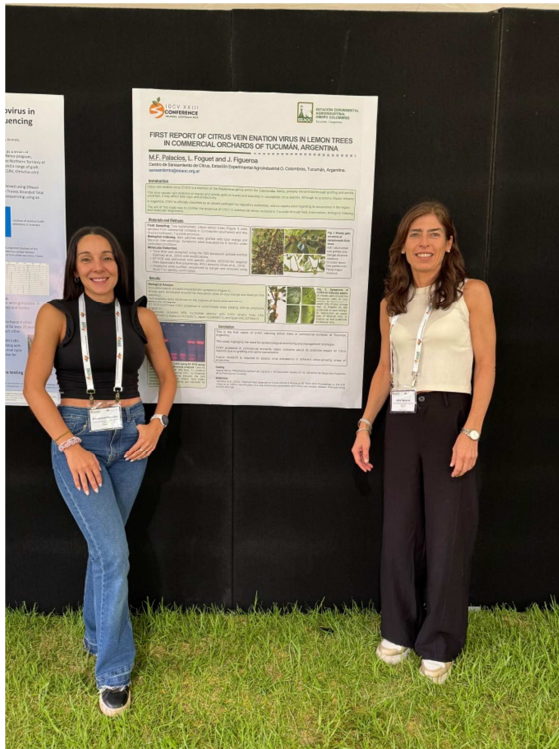
Consideraciones finales

El XXII Congreso del IOCV tuvo un muy buen nivel académico, destacándose la amplitud de los temas abordados y la rigurosidad científica de los trabajos. Este congreso es una gran oportunidad para actualizarnos sobre la situación de los diferentes programas de saneamiento y certificación de los países citrícolas; interactuar con

investigadores de importantes centros de referencia mundial que generosamente aportan con enseñanzas, sugerencias y observaciones a quienes llevamos a cabo la tarea de preservar la sanidad del material de propagación cítrico de cada país y además, nosotras, contribuimos con la experiencia de nuestro centro. Merece destacarse el interés de los investigadores de Sudáfrica por el programa argentino de prevención de HLB y los de Australia en lo referido a nuestros trabajos de viroides.

Fueron muy interesantes las visitas técnicas ya que permitieron el contacto con los investigadores y sus trabajos y la posibilidad de aprender, comparar y al regreso incorporar aquello que resulte en beneficio y sea factible para nosotros.

El Centro de Saneamiento de Citrus participó en el congreso con un poster que presentaba la primera detección del *Citrus vein enation virus* en Argentina (foto 4). El trabajo fue expuesto y tuvo una muy buena aceptación y recibió elogios e interesantes aportes. Merece mencionarse que hubo otros trabajos de este agente causal.



Finalmente, en el congreso se reafirmó el concepto del rol clave que tienen los programas de saneamiento, cuarentena y certificación para la protección, recuperación, mantenimiento y/o incremento de los niveles productivos de la industria cítrica mundial.