



**NAPPO**

North American Plant Protection Organization  
Organización Norteamericana de Protección a las Plantas  
**MEXICO - USA - CANADA**

## **PROTOCOLO DE TRATAMIENTOS DE LA NAPPO**

### **PT 01 TERMOTERAPIA**

Secretaría de la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas  
1431 Merivale Road, 3rd. Floor, Room 140  
Ottawa, Ontario, Canadá, K2B0B9  
3 de agosto de 2015

Ingrediente activo	N/A
Tipo de tratamiento	Térmico: Temperaturas altas.
Plaga objetivo	Virus: <i>Citrus tristeza closterovirus</i> , <i>Citrus psorosis virus</i> , <i>Citrus variegation ilarvirus</i> , citrus vein enation, agente transmisible por injerto de citrus tatter leaf virus/citrango stunt virus (= <i>Apple stem groove virus</i> ), otros virus de cítricos, virus similares y agentes transmisibles por injerto.
Artículos reglamentados objetivo	<i>Citrus</i> spp e híbridos.
Calendario del tratamiento	La termoterapia se aplica en función de los resultados de las pruebas iniciales de patógenos. El procedimiento requiere 2 - 4 semanas de tratamiento previo y 12 - 16 semanas de termoterapia como tal (ver protocolo).
Otra información pertinente	<p>La termoterapia es un tratamiento que debería emplearse como parte de las medidas aplicadas en un programa de certificación de material propagativo libre de patógenos. El siguiente diagrama presenta el flujo normal de los procedimientos usados para los tratamientos de termoterapia y microinjerto de ápices caulinares:</p> <pre> graph TD     Start[/Vareta/] --&gt; Cond1{Buena condición}     Cond1 -- No --&gt; Destruir[Esterilizar y destruir]     Cond1 -- Sí --&gt; Prop1[Propagación para establecimiento de fuente de plantas (yemas injertadas sobre patrón vigoroso, opcional)]     Prop1 --&gt; Diag1[Diagnóstico inicial * (atención en patógenos tolerantes al calor, opcional)]     Diag1 --&gt; Cond2{Sano}     Cond2 -- No --&gt; Destruir     Cond2 -- Sí --&gt; Prop2[Propagación y preacondicionamiento ** (yemas injertadas sobre patrón resistente/tolerante al calor)]     Prop2 --&gt; Term[Termoterapia]     Term --&gt; Cult[Cultivo in vitro y microinjerto***]     Cult --&gt; Diag2[Diagnóstico específico (atención en patógenos detectados previamente)]     Diag2 --&gt; Cond3{Sano}     Cond3 -- No --&gt; Prop2     Cond3 -- Sí --&gt; Diag3[Diagnóstico completo y "final"]     Diag3 --&gt; Cond4{Sano}     Cond4 -- No --&gt; Prop2     Cond4 -- Sí --&gt; Liber[Liberación]   </pre> <p>*Se recomienda un diagnóstico inicial. Esto ayudará a comparar la condición fitosanitaria del material antes y después del tratamiento para esos patógenos que se detectaron (no todos los patógenos se detectan con el diagnóstico inicial). Sin embargo, el material propagativo** puede someterse directamente a termoterapia y/o microinjerto de ápices caulinares.</p> <p>***La termoterapia y el microinjerto pueden ser tratamientos complementarios. El material vegetal puede someterse a ambos tratamientos o a uno u otro. Este protocolo se refiere específicamente a la termoterapia.</p>

Referencias	<p>Brown L. G., L. L. Breman. 1996. Introduction of Citrus Germplasm into Florida. Plant Pathology Circular No. 379. Fla. Dept. Agric. &amp; Consumer Services.</p> <p>Calavan E.C., C.N. Roistacher, E.M. Nauer. 1972. Thermotherapy of citrus for inactivation of certain viruses. Plant Disease Reporter 56:976-980.</p> <p>Fifaei R., B. Golein., H. Taheri, Y. Tadjvar. 2007. Elimination of Citrus Tristeza Virus of Washington Navel Orange (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Obeck) Through Shoot – Tip Grafting. Citrus Research Institute, Ramsar – Irán.</p> <p>Frison E., M. Taher. 1991. Technical Guidelines for the Safe Movement of Citrus Germplasm. FAO/IBPGR.</p> <p>Hiroyuki Ieki, Shun – ichi Yamada. 1980. Inactivation of Citrus Tristeza Virus (CTV) with Heat Treatment: Heat Tolerance and Inactivation of CTV on Rootstock – Scion Combinations. p. 20 – 24. In: Proc. 8<sup>th</sup> Conf. IOCV., IOCV, Riverside.</p> <p>Koizumi M. 1984. Elimination of Tatter Leaf – Citrange Stunt Virus from Satsuma Mandarin by Shoot – Tip Grafting following Pre – Heat – Treatment. p. 229 – 233. In: Proc. 9<sup>th</sup> Conf. IOCV., IOCV, Riverside.</p> <p>NRMF 16. 2013. <i>Medidas integradas para la movilización de material propagativo de cítricos</i>. Ottawa, NAPPO.</p> <p>Roistacher C. N. 1993. Psorosis a – Review. p.139 – 162. En: Proc. 12<sup>th</sup> Conf. IOCV., IOCV, Riverside.</p> <p>Roistacher, C.N. y E.C. Calavan. 1974. Inactivation of five citrus viruses in plants held at warm glasshouse temperatures. Plant Disease Report 58:850-853.</p> <p>Roistacher C.N. 1977. Elimination of citrus pathogens in propagative budwood. I. Budwood selection, indexing and thermotherapy. Proc. Intl. Soc. Citriculture. 3:965-972.</p> <p>Wisler G. C., Brown L. G., Schoulties C. L. 1996. A Manual for Introduction of Citrus Germplasm into Florida. Fla. Dept. Agric. &amp; Consumer Services.</p> <p>Zhang T. 1996. Effective Methods for the Elimination of Citrus Tatter Leaf Virus by Thermotherapy and Shoot – Tip Grafting. p. 310 – 312. En: Proc. 13<sup>th</sup> Conf. IOCV., IOCV, Riverside</p>
-------------	---

## Factibilidad y aplicabilidad

### Procedimiento que debe aplicarse para realizar el tratamiento fitosanitario

**Varetas:** Primero, se inspeccionan las varetas para cerciorarse que el material sea apto para el tratamiento de termoterapia. Si éste presenta signos de oxidación del tejido, descomposición o infestación de hongos fitopatógenos, debería esterilizarse (p. ej., usando una autoclave) y destruirse posteriormente.

Las varetas deben desinfectarse por inmersión durante 10 a 15 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% con agente humectante al 0.1% (tween 20). Enjuáguelas tres veces con agua destilada estéril y déjelas secar al aire .

De cada vareta, se injertan una o dos yemas sobre un patrón tolerante al calor como citranges 'Carrizo' o 'Troyer', de aproximadamente 4-9 meses de edad o de un centímetro de diámetro al que se le realiza un corte en forma de T a 10-20 cm del suelo. La yema debe desprenderse realizando un corte diagonal, la cual se injerta en el corte T. El injerto se sujeta con cinta plástica para injertar formando una cámara húmeda para favorecer la hidratación y el prendimiento. Para realizar el injerto se utiliza una cuchilla y entre corte y corte se desinfecta con hipoclorito de sodio al 2%.

**Tratamiento:** Las plantas con yemas, primero se preacondicionan en un invernadero caliente con temperaturas entre 32-40 °C (día) y 26-30 °C (noche) por 2-4 semanas antes de pasarlas a la cámara de crecimiento, o éstas pueden preacondicionarse en una cámara de crecimiento con un incremento gradual de la temperatura (comenzando a 30-32 °C y aumentando 1 grado por semana) durante 4-6 semanas. Las plantas injertadas se colocan en cámaras de crecimiento con las luces fluorescentes e incandescentes (intensidad de aproximadamente 2000 lux, a 1 m de las lámparas) y una humedad relativa de 50-60% (si la humedad relativa es regulable). La mayoría de los virus asociados a cítricos se eliminan con éxito cuando las plantas injertadas se mantienen a 40 °C /30 °C (día/noche de 16 hr/8 hr) por un período de 8-12 semanas. Sin embargo, algunos virus son difíciles de eliminar como el agente transmisible por injerto Dweet moteado y citrus tatter leaf, que pueden requerir un tratamiento adicional a temperaturas más altas o el uso de un tratamiento alternativo tal como el microinjerto de ápices caulinares. Las condiciones apropiadas en estos casos es generalmente 40 °C/30 °C durante 8 semanas, seguidos de dos semanas adicionales a 42 °C /30 °C, y las dos semanas finales a 44 °C/30 °C (día/noche de 16 hr/8 hr).

**Postratamiento:** Después de la termoterapia se estimula el crecimiento de las yemas, doblando el patrón hacia abajo. En algunos casos, las yemas pueden estimularse mientras las plantas aún se encuentran en la cámara de crecimiento (4-5 semanas). Las yemas que han sido estimuladas a crecer requieren cuidados como si fuera el único brote o brote apical. El crecimiento vegetal procedente de las yemas estimuladas provee tejido para el diagnóstico.

**Diagnóstico:** Las pruebas de diagnóstico se deberían realizar en el material sometido al tratamiento térmico para corroborar su condición fitosanitaria. Diversas metodologías se pueden utilizar para este objetivo. En un programa de certificación de plantas, se realiza el diagnóstico biológico a través del indexado (a saber, injerto del material sometido a tratamiento en diversas plantas indicadoras de enfermedades) y/o a través de un diagnóstico de laboratorio usando técnicas serológicas y moleculares. El anexo 1 y 2 de la NRMF 16: 2013 presenta las pruebas de diagnósticos aceptadas para los diversos patógenos que infestan a los cítricos.

Las plantas que se han sometido a termoterapia generalmente se indexan o analizan para patógenos específicos de interés, después de la termoterapia. Las plantas que resultan libres de esos patógenos específicos son candidatas para pruebas/indexados completos. Si las plantas sometidas a pruebas están libres de un patógeno de interés pero no de otros, es necesario realizar un tratamiento de termoterapia adicional o microinjerto de ápices caulinares (véase el diagrama de flujo).

**Costo de una instalación tipo para el tratamiento y gastos de funcionamiento, de ser apropiado**

Para aplicar el tratamiento de termoterapia, se requieren invernaderos con temperatura controlada y cámaras de crecimiento que alcancen temperaturas de 45° C.

**Importancia comercial, incluyendo su asequibilidad**

Las enfermedades producidas por virus, viroides y otros organismos similares producen importantes pérdidas económicas en los cítricos de todo el mundo. Algunas enfermedades provocan la muerte de las plantas y otras disminuyen la producción y la calidad de la fruta, causando pérdida de vigor y de longevidad de la planta. Las virosis y otras enfermedades pueden transmitirse mediante el injerto de yemas. Una vez hecho el injerto, la planta puede permanecer con la enfermedad latente (sin manifestar síntoma o enfermedad) durante muchos años. Por ende, se puede transmitir el vector y/o podrá haber otro tipo de transmisión por injerto debido a que las yemas que se extraigan de una planta con enfermedad latente originarán plantas enfermas.

Los países con citricultura avanzada han basado su éxito en el empleo de programas de certificación utilizando plantas certificadas libres de enfermedades, especialmente las causadas por virus u organismos similares. Estas plantas libres de virus se obtienen a partir de plantas de variedades cítricas agrónomicamente ideales pero afectadas por uno o más patógenos. Para esto se recurre a técnicas que permitan la obtención de plantas libres de virus y organismos similares a partir de individuos enfermos. La termoterapia es una técnica usada para conseguir tal objetivo.

La termoterapia y el microinjerto de ápices caulinares son tratamientos que generalmente realizan entidades específicas encargadas de proporcionar materiales limpios, como los programas de certificación. Así, la asequibilidad del proceso se extiende a grupos enteros de productores que utilicen los materiales proporcionados por el programa (si se supone que están apoyados por los productores).

**Hasta qué punto otras ONPF han aprobado el tratamiento como medida fitosanitaria**

Los países que cuentan con un programa de certificación de material propagativo como Brasil, EE. UU, España, etc., utilizan la termoterapia en sus programas de saneamiento.

**Disponibilidad de los conocimientos especializados necesarios para aplicar el tratamiento fitosanitario**

- Conocimiento de variedades utilizadas como patrón que sean resistentes al calor.
- Fisiología de la planta, para establecer períodos de preacondicionamiento.
- Conocimientos o experiencia en pruebas de diagnóstico tales como indexado, serología y técnicas moleculares.

**Versatilidad del tratamiento fitosanitario**

El calendario del tratamiento debe aplicarse de manera estricta.

**En qué medida el tratamiento fitosanitario complementa otras medidas fitosanitarias**

La termoterapia es una técnica complementaria a la técnica de microinjerto de ápices caulinares, ambas utilizadas en un programa de saneamiento de plantas de interés comercial. Con la combinación de las técnicas de termoterapia y de microinjerto de ápices caulinares *in vitro* es posible obtener plantas cítricas libres de virus y de otros patógenos.

**Resumen de la información disponible sobre posibles efectos indeseables**

La termoterapia por sí sola, no es capaz de eliminar al 100% todos los virus que posiblemente

estén en una planta y no es recomendable para eliminar viroides o espiroplasmas.
<b>Aplicabilidad del tratamiento con respecto a combinaciones específicas de artículos/plagas reglamentados</b>
La termoterapia es un tratamiento efectivo para eliminar virus como: <i>Citrus tristeza closterovirus</i> , <i>Citrus psorosis virus</i> , <i>Citrus variegation ilarvirus</i> , el agente transmisible por injerto de citrus vein enation, citrus tatter leaf virus/citrange stunt virus (= <i>Apple stem groove virus</i> ), otros virus de cítricos, virus similares y agentes transmisibles por injerto.
<b>Viabilidad técnica</b>
Este tratamiento se acepta y aplica de manera extensiva en la introducción y el saneamiento.
<b>Fitotoxicidad y otros efectos en la calidad de los artículos reglamentados, cuando proceda</b>
No se presentan daños fitotóxicos utilizando el calendario de tratamientos establecido.
<b>Consideración del riesgo de que el organismo objetivo tenga o desarrolle resistencia al tratamiento.</b>
Bajo riesgo de desarrollo de resistencia a un tratamiento térmico.

### Revisión

Los Protocolos de Tratamiento y Diagnóstico Fitosanitario de la NAPPO están sujetos a revisiones y enmiendas periódicas. La fecha de la próxima revisión de este protocolo de la NAPPO es 2020. De solicitarlo un país miembro de la NAPPO, se pueden llevar a cabo revisiones de cualquier protocolo de la NAPPO en cualquier momento.

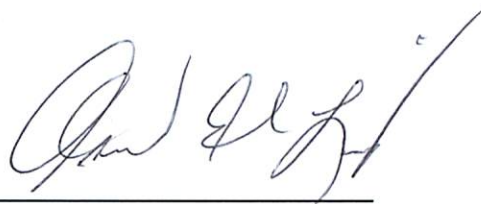
### Aprobación

El presente protocolo fue aprobado por el Comité Ejecutivo de la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas el 19 de octubre del 2009 y revisada el 3 de agosto de 2015; entrará en vigor a partir de esta fecha.

Aprobado por:



\_\_\_\_\_  
 Greg Wolff  
 Miembro del Comité Ejecutivo  
 Canadá



\_\_\_\_\_  
 Osama El-Lissy  
 Miembro del Comité Ejecutivo  
 Estados Unidos

\_\_\_\_\_  
 Francisco Javier Trujillo Arriaga  
 Miembro del Comité Ejecutivo  
 México