

# Termoterapia in vitro para frutales

El rendimiento de la producción se ve altamente limitado por las enfermedades de origen vírico que afectan a los frutales. En general, en los frutales de hueso, los virus más frecuentes son los pertenecientes al grupo Iarvirus que ocasionan importantes pérdidas económicas, con el agravante añadido de producir enfermedades altamente transmisibles por injerto. Esto provoca un alto riesgo de encontrar en el mercado material vegetal frutal del que no se puede asegurar su estado sanitario y hace necesaria la aplicación de métodos efectivos de detección y saneamiento que aseguren la propagación de material en perfectas condiciones sanitarias. En este trabajo se presenta un método de saneamiento sencillo y eficaz para especies frutales que permita asegurar la utilización por el fruticultor de material vegetal sano.

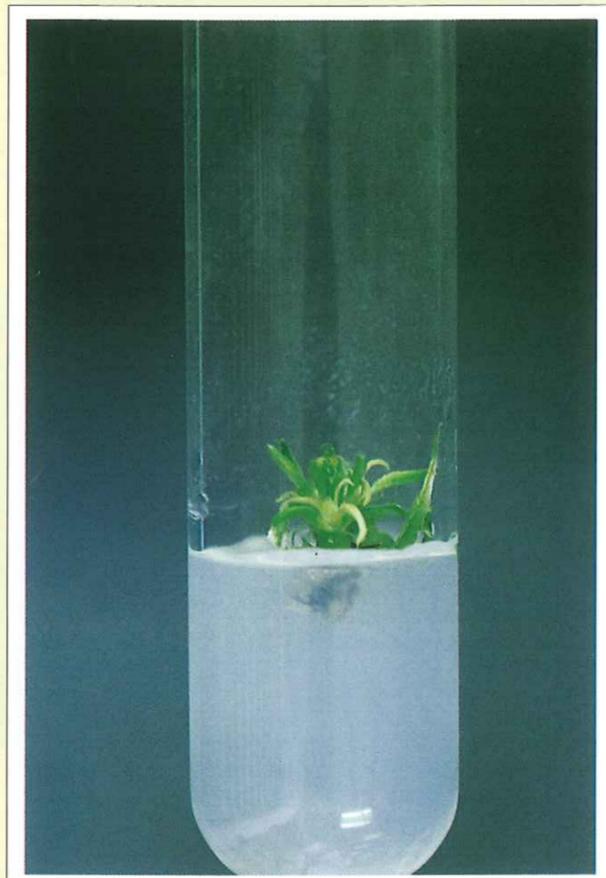
R. GELLA / P. ERREA(\*)

La selección sanitaria de los árboles frutales resulta una etapa indispensable en el desarrollo del esquema de certificación europeo según las directivas de la Unión Europea (Anexo IV-A-II), directiva 77/93 CE). Asimismo es importante que las nuevas variedades y patrones que aparecen en el mercado se encuentren libres de enfermedades transmisibles por el injerto para que puedan tener una difusión segura. Para asegurar este movimiento de material sano, es importante llevar a cabo por un lado, efectivos métodos de detección del virus, y en muchas ocasiones la aplicación de técnicas de saneamiento del material infectado.

Las enfermedades producidas por virus en árboles frutales son incurables ya que no existen métodos de lucha curativos propiamente dichos y el único método de defensa es la utilización de planta sana cuando se realiza una nueva plantación. Para disponer de planta sana, existen métodos de regeneración de la misma que permiten obtener ápices sanos, libres de virus, a partir de plantas enfermas.

## La termoterapia

El método tradicional de termoterapia consiste en someter a las plantas a una temperatura aproximada de



Técnica «in vitro». Facilita el control de las condiciones ambientales.

37-38° dentro de los límites de su tolerancia fisiológica durante diferentes periodos de tiempo, variable entre varias semanas a meses. Con esto se trata, bien de inactivar el patógeno en la planta o bien de inhibir su multiplicación, de forma que los ápices que se han desarrollado en este tiempo de reproducción acelerada, estén libres de virus, aunque el resto de la planta siga infectada. Este método ha sido el único aplicado a gran escala en árboles frutales para lograr su saneamiento, y a pesar de ser una técnica de sencilla aplicación. Este tratamiento requiere muchas consideraciones ya que su éxito depende de lograr la temperatura adecuada que permita la óptima eliminación de los patógenos, sin afectar negativamente a la supervivencia de la planta. En el caso de los frutales existen muchas especies que son altamente sensibles a elevadas temperaturas y su supervivencia a los tratamientos por termoterapia tradicional es muy baja.

La tendencia actual es aplicar este tratamiento terapéutico sobre material cultivado in vitro, donde pueden tratarse al mismo tiempo un gran número de plantas incrementando la probabilidad de supervivencia de las plantas tratadas. En la termoterapia in vitro, el tratamiento se realiza a partir de plantas micropropagadas

que se encuentran creciendo in vitro. Se eligen brotes de estos cultivos con una longitud entre 1,5 y 2 cm. Estos brotes se descabezan para forzar el desarrollo de yemas axilares y se colocan de forma individual en tubos de cultivo. Estos tubos son introducidos en la cámara de termoterapia con una temperatura de 37°+1 y 16-h de fotoperiodo. Al final del periodo de tratamiento por calor, se aíslan los ápices desarrollados de aproximadamente 1 a 2 mm de longitud que sobreviven al tratamiento térmico y se colocan en medio nuevo para su multiplicación en la cámara de crecimiento. Cuando ya se dispone de una pequeña planta se procede al testado mediante el test Elisa. Las plantas que resultan saneadas siguen proliferando hasta realizar posteriores controles, y más tarde son transferidas a un nuevo medio para que desarrollen raíces. Tan pronto como las raíces se forman se trasplantan individualmente a maceta en invernadero.

**Multiplicación.** La posibilidad de utilizar material in vitro permite realizar un alto número de repeticiones en un pequeño espacio y facilitar el control de las condiciones ambientales a las que se encuentra sometida la planta que va a ser tratada.

## Aplicación de termoterapia in vitro para el saneamiento de albaricoquero, melocotonero y cerezo.

En este trabajo, la variedad de albaricoquero «Bulida», las variedades de melocotonero «Carson» y «Lamone» y de cerezo «Silvia» y «Celeste» infectadas por inoculación con PNRSV (Prune Necrotic Ringspot Virus) y CLSV (Chlorotic Leafspot virus) fueron seleccionadas para evaluar la respuesta al tratamiento de termoterapia para conseguir la eliminación de los virus. Las yemas procedentes de estas plantas se establecieron en un medio sin hormonas consistente en sales minerales procedentes del medio Murashige y Skoog. Después de dos semanas fueron trasplantadas a un nuevo medio con hormonas y vitaminas para su proliferación, y se eligieron los brotes que tras ser descabezados, fueron introducidos en la cámara de termoterapia para su tratamiento térmico. Después del periodo de tratamiento (variable de 2 a 5 semanas), los ápices aislados se desarrollaron y mantuvieron en una cámara de crecimiento y las plantas resultantes se testaron mediante la técnica Elisa durante varios meses. Las plantas que resultaban sanas continuaron su de-

sarrollo, primero en un medio específico para que desarrollaran raíces y posteriormente en invernadero. Durante todo este tiempo los controles periódicos mediante la técnica Elisa confirmaron el perfecto estado sanitario de la planta, incluso cuando ya estaba establecida en campo.

**Tratamiento.** Brote descabezado que va a ser sometido al tratamiento de termoterapia in vitro. El éxito de este tratamiento consiste en

seleccionar la temperatura y el tiempo adecuado para conseguir tanto la supervivencia de la planta como la eliminación del virus.

**Control.** El testado de las plantas sanas se realizó mediante reacción negativa del test Elisa.

Los resultados obtenidos mediante esta técnica confirman la eficacia de este método en especies como el albaricoquero, melocotonero y cerezo que resultan altamente sensibles a los tratamientos por termoterapia tradicional. La gran ventaja de este método es que una vez establecido el cultivo in vitro se pueden realizar tratamientos a lo largo de todo el año. Por otro lado, la posibilidad de acelerar y hacer más eficaz no sólo el proceso de saneamiento, sino también de multiplicación de este material frutal mediante técnicas in vitro permite garantizar el suministro de material sano al sector viverístico. ■



Genética. Brote descabezado listo para tratamiento.



Control. Testado de las plantas sanas.

(\*) UNIDAD DE FRUTICULTURA  
SERVICIO DE INVESTIGACIÓN AGROALIMENTARIA,  
DIPUTACIÓN GENERAL DE ARAGÓN

	DÍAS DE TRATAMIENTO	% PLANTAS SANAS DESPUÉS DE 8 MESES	
		PNRSV	CLSV
Bulida (P. armeniaca)	15		66,6 %
	16		100 %
	17		83 %
	18		100 %
Carson (P. persica)	21	100 %	75 %
	22	57 %	100 %
	23	55 %	90 %
	26	100 %	100 %
	36	100 %	100 %
Lamone (P. persica)	23	37 %	60 %
	26	73 %	60 %
Silvia (P. avium)	21	94 %	
	24	100 %	
Celeste (P. avium)	22		100 %