

# Etiología, Historia, Situación Mundial, y Control del Virus Tristeza de los Cítricos y sus Vectores

Robert R Krueger

USDA-ARS-NCGRCD

Luís Ángel Villareal

SAGARPA – Nuevo León

# Tópicos

- Historia
- Situación mundial
- Etiología
- Vectores
- Detección
- Epidemiología
- Control
- Situación en México
- Resumen

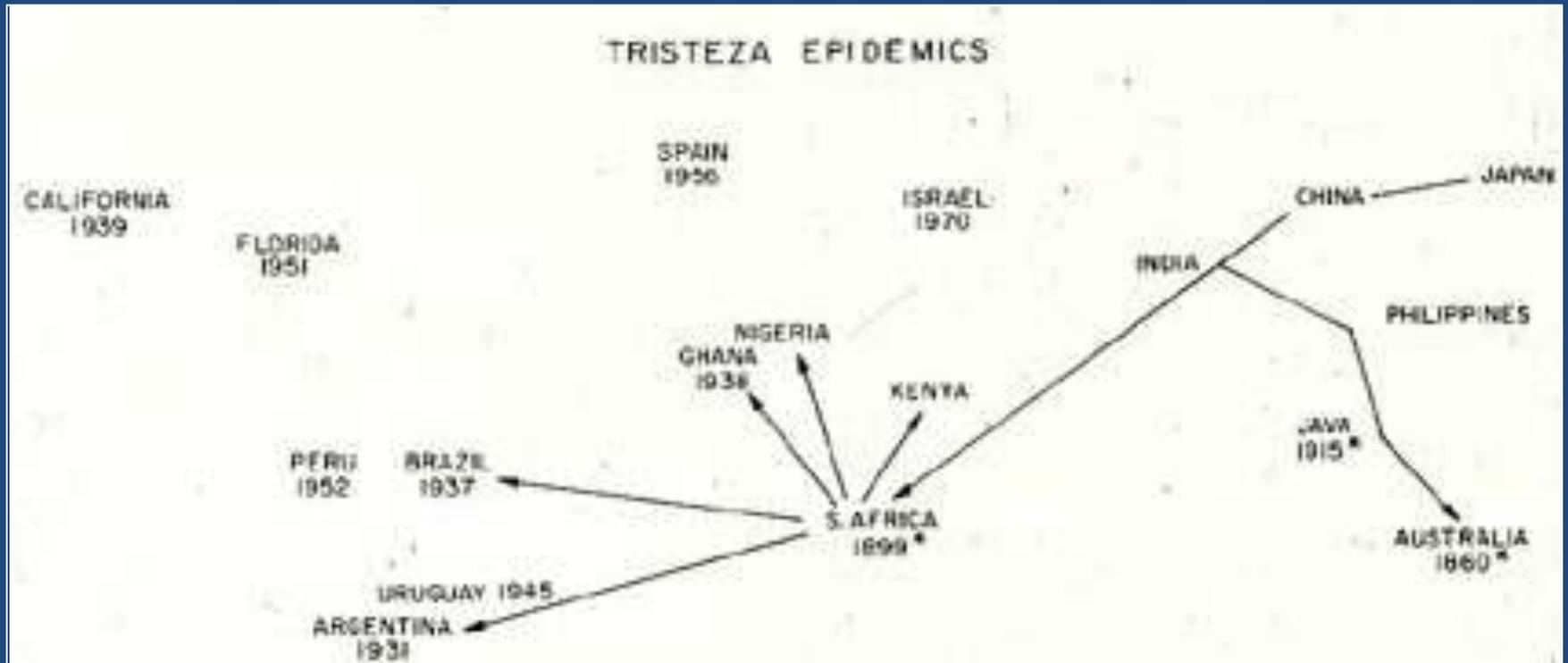
# Orígenes de Cítricos y del VTC

- Centro de origen y diversidad de los cítricos: sur de China, norte de India, Indochina, Australasia
- Probablemente también el sitio de origen del VTC
- Propagación al Medio Este y posteriormente a Europa
  - Semillas: VTC y otras enfermedades transmisibles por injerto no propagadas

# Epidemias de Tristeza – Siglo XX

- Australia y Sur Africa (principios del siglo)
  - Uso extenso de naranja agria como patrón + VTC + vector eficiente (*Toxoptera citricida*)
  - Al principio, creído una incompatibilidad
- Sur América
  - Argentina (1930): “Podredumbre de las raicillas”
  - Brasil (1933): “Podrido das radículas” O “tristeza”

# Epidemias de Tristeza



# “Declinio Súbito” en Sur de California

- Primer informe 1939
- Naranja dulce injertada en naranja agria
- Declinio y muerte rápidos en la primavera
- 1945: mas que 20,000 árboles perdidos
- Asociado con necrosis de células de floema del tejido cambio en naranja agria
- Causa desconocida

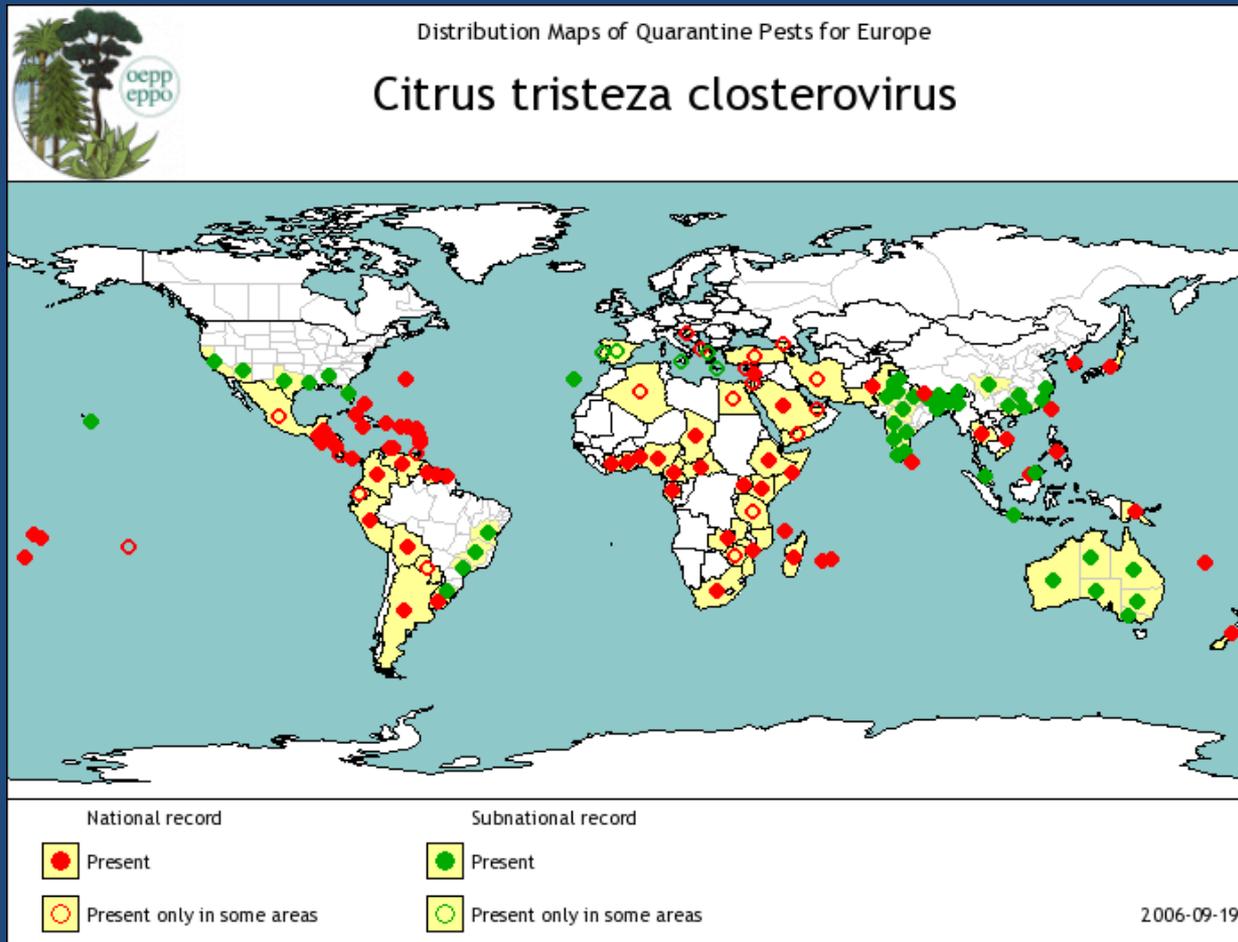


(R Burns)

# Relación de Tristeza, Declinio súbito, y otras enfermedades

- Creencia que tristeza, declinio súbito, las enfermedades de Sur Africa y Australia, y el declinio de limones en Africa era parecidos, basado en etiología
- Descubrimiento de limón mexicano como planta indicadora (Hughes y Lister) permitió la demostración que todas tenían la misma causa

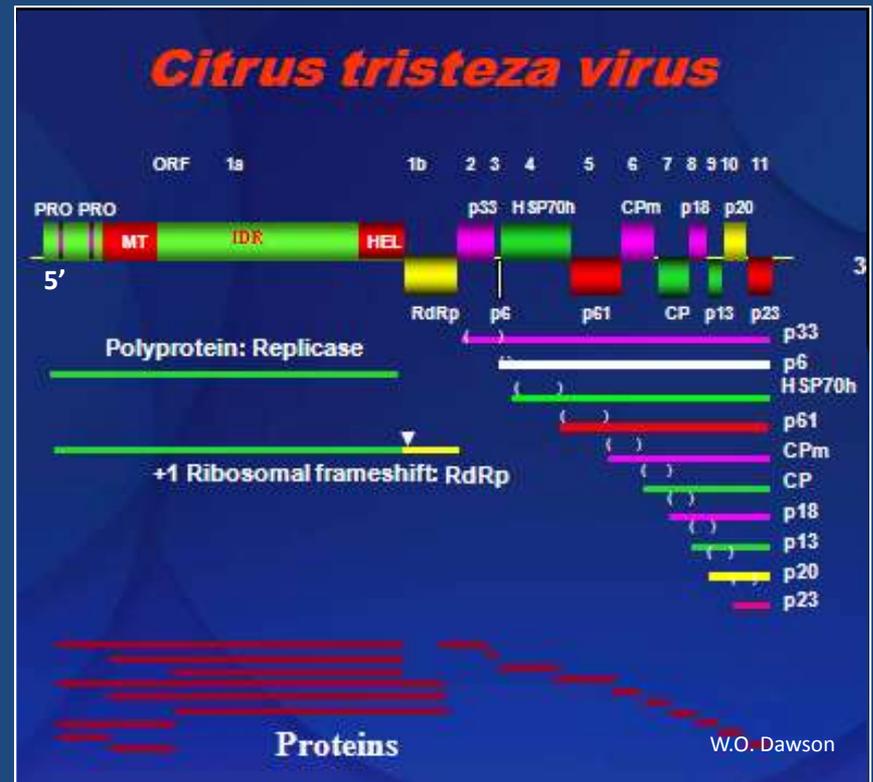
# Situación Mundial



(EPPO)

# Agente Causal: Closterovirus Citrus tristeza virus

- Partículas filamentosas
- Tamaño ~ 2000 X 11 nm
- ~ 20 kb ARN de cadena sencilla, sentido positivo
- 12 marcas de lectura abierta

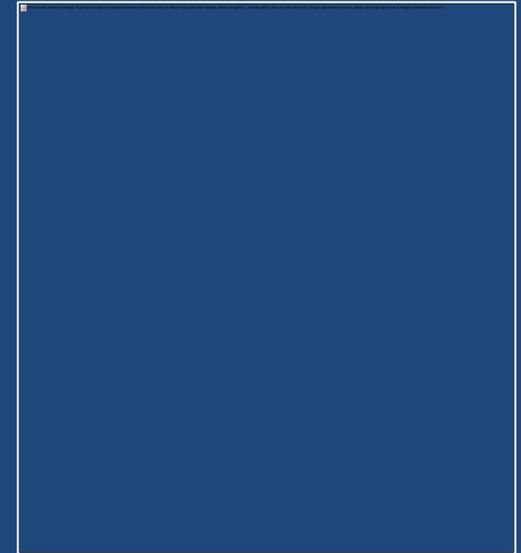


# Etiología - Transmisión

- Virus restringido a floema
- Transmisible por injerto
  - Responsable por introducción a nuevas areas
- Transmisible por áfidos
  - Responsable por propagación local
- No transmisible por semilla

# Etiología – Transmisión por Áfidos

- Transmisible por manera semi-persistente
- Restringido a intestino anterior
- No retenido después de muda de cutícula
- Adquisición 24 hra
- Sin período de latencia
- Transmisión 24 – 48 hra



# Etiología - Vectores

- 4 especies de áfidos vectores principales
  - *Toxoptera citricida*
  - *Aphis gossypii*
  - *Toxoptera aurantii*
  - *Aphis spiraecola*
- Otros áfidos pueden transmitir VTC pero no son importantes
- Varian en eficiencia
- Varian en rango de plantas huéspedes

# Etiología – Rango de Huéspedes

- Huéspedes económicos: *Citrus* spp, *Fortunella* spp, híbridos de *Citrus* y otros géneros
- Otros géneros de la subfamilia Aurantioideae de la familia Rutaceae pueden infectarse experimentalmente
- *Passiflora* spp (fuera de la familia)

# Etiología - Sintomología

- 3 clases de síntomas
  - Declinio VTC (declinio súbito) (Quick decline)
  - Orificios en la madera/Picado de tallo (stem pitting)
  - Amarilleamiento de plántulas (seedling yellows)

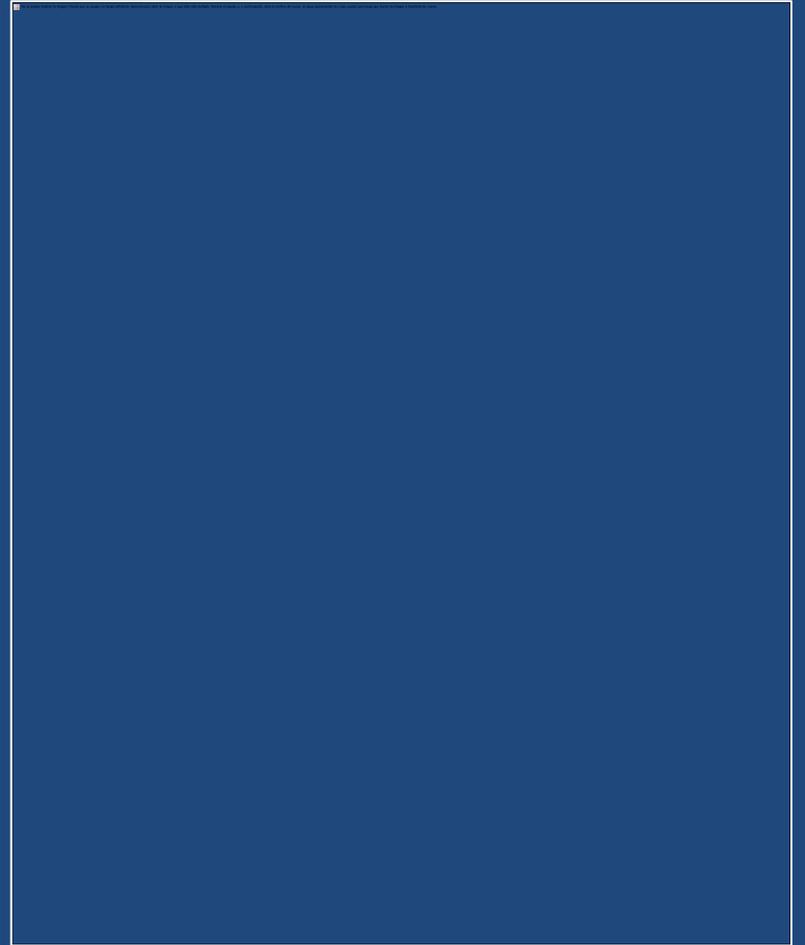
# Declinio VTC

- Necrosis de floema de patrones susceptibles de VTC (naranja agria, etc)
- Anillazación de árbol causando disminuización de almidón en los raíces
- Disminuización del sistema radicular
- Colapso súbito (QD) o prolongado
- Control con patrones resistentes o tolerantes

# “Declinio Súbito”



(CCPP)



(H Schneider)

# Orificios en la Madera/Picado de Tallo

- Causados por interrupciones en crecimiento radial resultando en depresiones locales
- Aislados severos causan reducciones en rendimiento, tamaño del frutos, tamaño del árbol
- Aislados de importancia comercial afectan naranjas y toronjas
- Enfermedad del injerto que no se puede controlar por patrón

# Orificios en la Madera



(CN Roistacher)



Normal



SP

(USDA)

# Amarilleamiento de Plántulas

- Achaparramiento/amarilleamiento de plántulas de naranja agria, toronja, limón
- Plántulas en invernadero, raramente visto en campo
  - A veces con árboles reinjertados
- Razas severas de VTC
- Enfermedad de injerto, no se puede controlar por patrón



# Detección de VTC

- Indexaje biológico
- Serología
- Basado en AN (PCR)

# Indexaje Biológico

- Técnica clásica
- Indicadora: limon mexicano
- Invernadero a temperaturas 24-28 °C (día) y 17-21 °C (noche) por un período de dos a cuatro meses
- Síntomas:
  - Aclareo de nervios
  - Acucharado de hojas

# Indexaje Biológico - Síntomas

Aclareo de nervios



Acucharado de hojas



# Serología

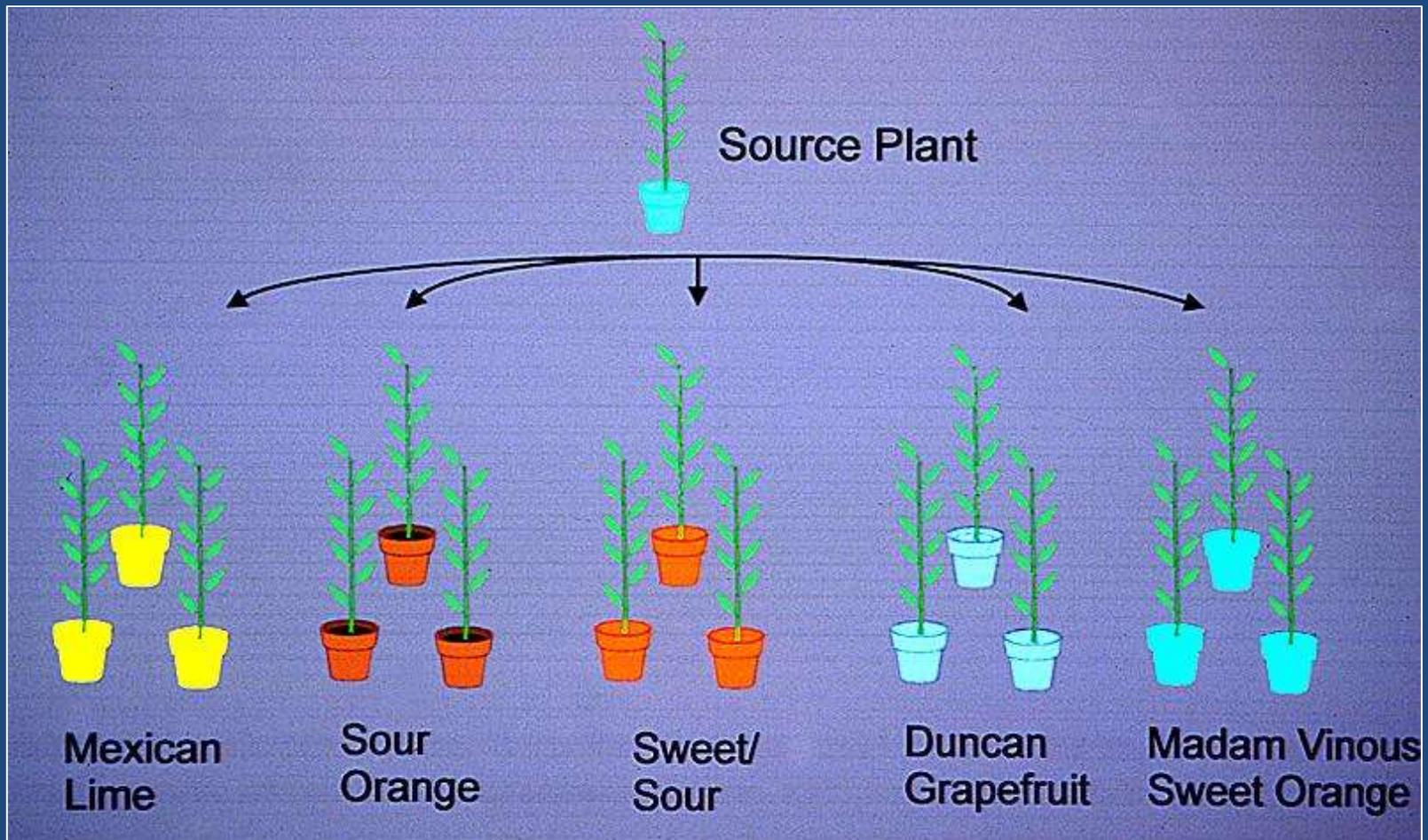
- Serología (anti-cuerpos)
  - Proteínas de capa de virus
  - Policlonal
  - Monoclonal
  - ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas)
  - Mancha de tejido

# PCR

- RT-PCR  
(transcripción  
reversa)
  - Primers de secuencias  
específicas
  - Convencional (1 día)
  - Tiempo real (1 hora)



# Biocaracterización de Aislados de VTC



(SM Garnsey)

# Biocaracterización – Orificios en Madera/Picados de Tallo



# Biocaracterización – Amareamiento de Plántulas



(CN Roistacher)

# Biocaracterización - Índice

## BIOCHACTERIZATION (1-YEAR)

Hypothetical sample data sheet

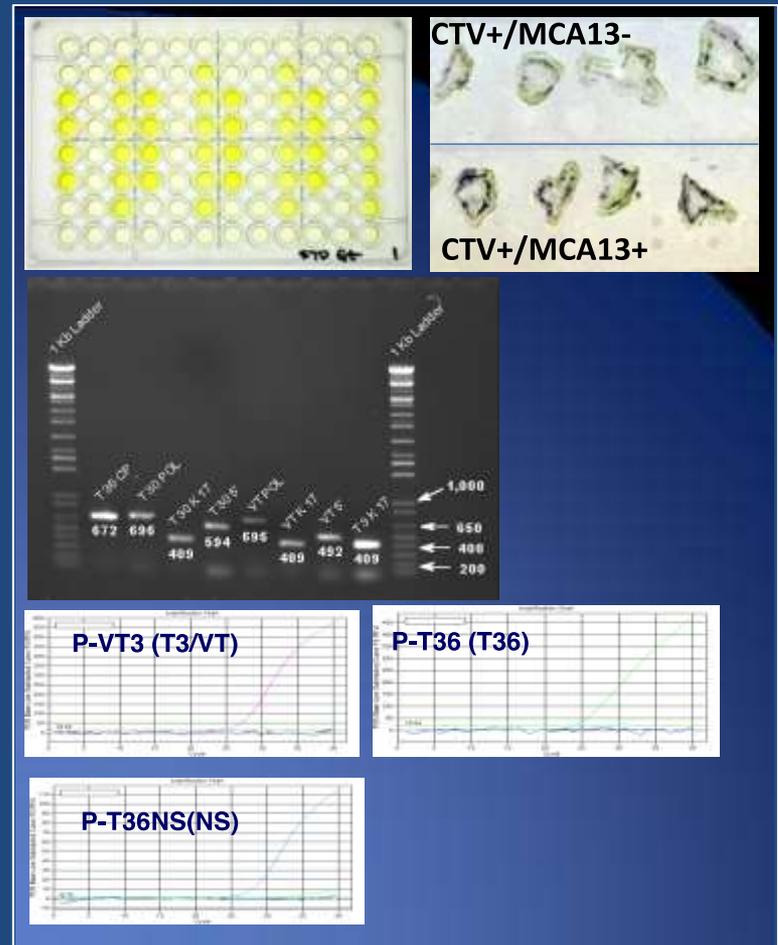


Strain (isolate)	Lime	Decline	Seedling yellows	Grapefruit stem pitting	Orange stem pitting	$\Sigma$ score	Reaction
1	2	0	0	0	0	2	Mild
2	3	1	2	1	0	7	Moderate
3	3	2	2	2	1	10	Mod-severe
4	3	3	3	2	3	14	Severe
Healthy control	0	0	0	0	0	0	Healthy

Score – 0 = symptomless; 1 = mild; 2= moderate; 3= severe

# “Bio”-caracterización en Laboratorio

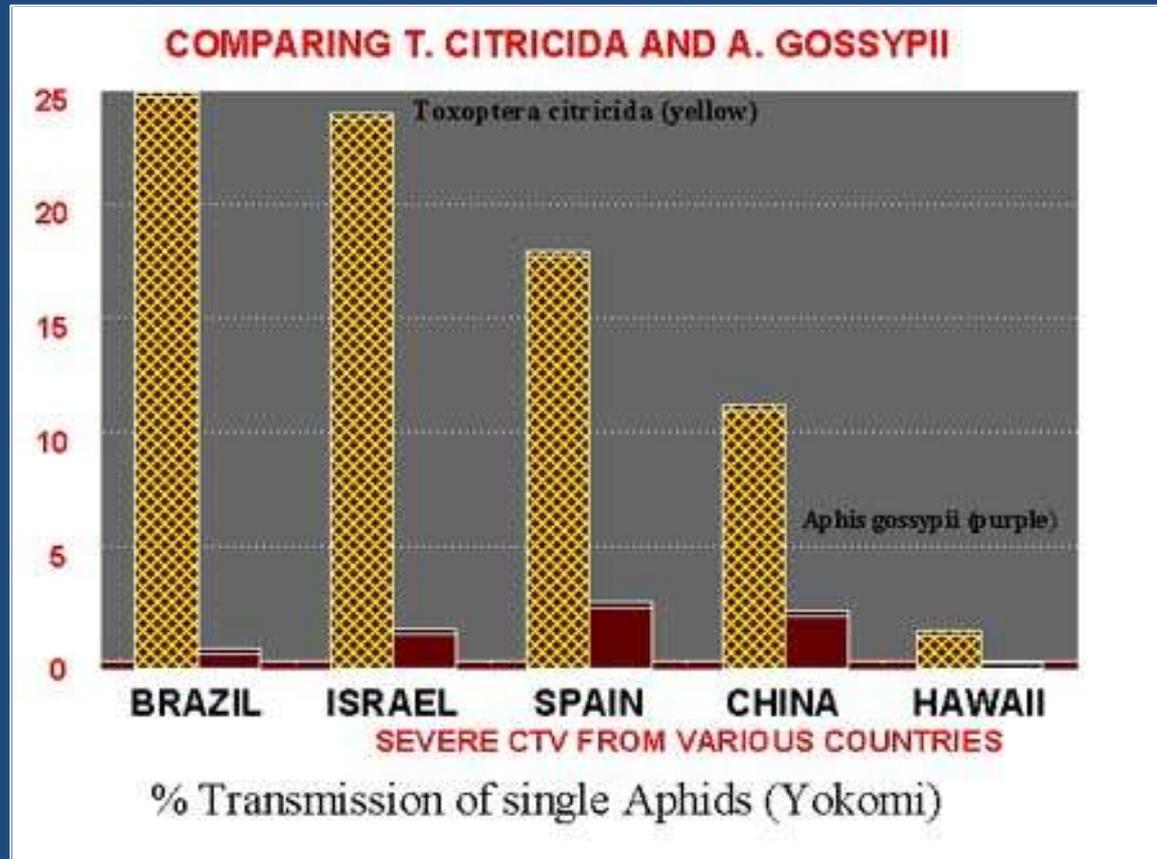
- Anticuerpo MCA-13
  - Aislados causando declinio y orificios en madera
- RT-PCR Convencional
- RT-PCR multiplex en tiempo real



# Epidemiología - Básicos

- 2 vectores principales
  - *T citricida*
  - *A gossypii*
- Varian en características de transmisión, propagación
- Presencia/ausencia de vectores influyen tasa y patrón de propagación, desarrollo de epidemias
- Otros factores (clima, clase de cítricos) tienen menores efectos

# Tasa de Transmisión



*T citricida* es un vector mas eficiente  
que *A gossypii*



Migrantes de *T citricida* se dispersan de cítrico a cítrico para formar nuevas colonias

Migrantes de *A gossypii* son polífagos, se dispersan a varios huéspedes para formar nuevas colonias

### Migrantes (*A gossypii*)

- Infecciones difusas
- Aparentemente aleatorio
- Propagación por largas distancias

### Colonizadores (*T citricida*)

- Infecciones agregadas
- Propagación de orígenes puntuales
- Propagación localizada por mayor parte

### Mezcla de especies migrantes, colonizadores

- Propagación difusa sobre largas distancias por especies migrantes, luego propagación localizada y muy eficiente por especies colonizadores



# Curvas Teóricas de Progreso de VTC Asociado con Especies Predominantes de Áfidos



# Control de Tristeza

- Cuarentena
- Plantas limpias
- Erradicación
- Control de vectores
- Patrones resistentes/tolerantes
- Injertos tolerantes
- Protección mediante cruzamiento de cepas leves (cross protection)

# Control - Cuarentena

- Tristeza, enfermedad de significancia cuarentenaria
- Prevenir introducción de la enfermedad o de razas mas severas
- Regulada por mayoría de países productores de cítricos
- A veces, regulada al nivel estatal (EEUU)

# Control – Plantas Limpias

- Programas de certificación
- Propagación permitida solamente con fuentes probados y aparentemente libres de todos patógenos transmisibles por injerto
- Nivel Federal, Estatal, Regional
- Programas de importación, probar, terapia, mantenimiento protegido, etc

# Control - Erradicación

- Por ejemplo, California Citrus Pest & Disease Detection Program (anteriormente, Central California Tristeza Eradication Agency)
- Mostreo, pruebas, eliminación de árboles infectados, sistema de restitución por pérdidas económicas
- No factible en zonas ya con incidencias altas

# Control – Control de Vectores

- VTC requiere períodos breves para adquisición y inoculación
- Control por insecticidas generalmente no funciona bien
- Es necesario un programa de control regional de control de vectores y eliminación de inoculo (árboles infectados)
- Control biológico ?

# Control – Medidas Hortícolas

- Razas de VTC que causan declinio: uso de patrones resistentes/tolerantes
  - Trifoliados y híbridos
  - Evidencia que resistencia se falla en algunos casos
- Con razas severas (SP), uso de injertos tolerantes (mandarinas)
- Mantenimiento de árboles en estados sanos

# Control - Protección mediante cruzamiento de cepas leves (cross protection)

- Cepas o razas leves de VTC previene co-infección por un subsiguiente introducción de una raza mas severa
  - Modo de funcionamiento desconocido
  - Teoría 1: replicación de raza leve a niveles altos domina la población de VTC → características enfermales son las de la raza leve
  - Teoría 2: silenciar de genes post-translacional
- Eficacia de razas determinada empíricamente
  - Árboles sanos en zonas infectadas
  - Filtro por *Pasiflora* spp

# Agradecimientos

- Roy Yokomi, USDA, Parlier, CA
- Chet Roistacher, UC Riverside
- Steve Garnsey, USDA (ret), FL
- Tim Gottwald, USDA, Fort Pierce, FL
- Bill Dawson, Univ of FL