

Diagnóstico del Virus de la Tristeza de los Cítricos y su Vector en Costa Rica¹

R. Lastra*, G. Leandro**, R. Meneses***

ABSTRACT

A study was carried out to confirm the presence and distribution of the Citrus Tristeza Virus (CTV) in Costa Rica. The most important citrus plantations in the provinces of San Jose, Alajuela, Guanacaste, Puntarenas and Limon were sampled for the virus. Two-hundred-and-seventy-two samples were analyzed by the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique. The results of this study indicated the presence of CTV in Costa Rica, mainly in Alajuela Province. The *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy), the most efficient vector of CTV, was identified in the samples collected in Limon, Costa Rica in 1989.

COMPENDIO

La presencia del virus CTV en Costa Rica fue determinada mediante la técnica inmunológica conocida como "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay" (ELISA). Se tomaron 272 muestras de las cuales 74 resultaron positivas en las plantaciones más importantes de las provincias de Alajuela, San José, Guanacaste, Limón y Puntarenas. Se recolectaron muestras de áfidos de los mismos lugares para determinar la presencia del vector más eficiente de la enfermedad, el áfido *Toxoptera citricidus* Kirk. Los resultados obtenidos indicaron que el CTV se encuentra en Costa Rica y está distribuido en la provincia de Alajuela, principalmente en los cantones de San Carlos, Guatuso, Atenas y Orotina. El áfido *Toxoptera citricidus* Kirk, vector más eficiente del CTV, se identificó en muestras de estos insectos recolectadas en Limón, Costa Rica.

INTRODUCCION

La tristeza de los cítricos (CTV), es una enfermedad de origen viral, la cual se encuentra ampliamente difundida en los campos donde se cultivan cítricos.

Esta enfermedad, probablemente originaria de China, lugar de donde provienen muchas especies de cítricos (8), apareció en Africa del Sur a finales del siglo XIX y en 1930 fue introducida a la Argentina con la importación de plantas de cítricos de ese país. La enfermedad apareció en Brasil en 1937 extendiéndose a continuación por todos los países del continente americano (1). Durante 1980, se desató en Venezuela una epidemia de esta enfermedad posiblemente relacionada con la aparición del vector más eficiente de este virus, el áfido *Toxoptera citricidus* Kirk el cual penetró al país a través de la frontera con Brasil (4).

En Costa Rica, el cultivo de los cítricos se encuentra en una etapa de expansión iniciada en 1987, la cual podría afectar a unas 4 000 hectáreas que hay actualmente sembradas en la zona norte del país.

Síntomas similares a los presentados por la CTV se observaron en 1982 en Costa Rica, razón por la cual se enviaron algunas muestras a Alemania. Los resultados de este diagnóstico comprobaron la presencia de la enfermedad en el país (Solís, Vera 1989. Síntomas de la presencia de virus de la tristeza de los cítricos MAG San José, Costa Rica. Comunicación personal). En las fuentes consultadas no se encontró otra información sobre el tema a nivel de Costa Rica.

Debido al incremento de la citricultura y a su importancia en Costa Rica, se llevó a cabo este estudio con el fin de analizar la presencia del virus en el país y evaluar la diseminación del mismo en áreas productoras. Una evaluación de los áfidos presentes en las plantaciones de cítricos se llevó a cabo para determinar la presencia del vector más eficiente, el áfido *Toxoptera citricidus*.

MATERIALES Y METODOS

Con el fin de determinar la presencia de la enfermedad en Costa Rica, se realizó un muestreo a nivel nacional entre junio y noviembre de 1986, en el cual se incluyeron las áreas productivas más importantes (Cuadro I).

La identificación del virus se llevó a cabo mediante la técnica serológica de ELISA. La inmunoglobulina conjugada para llevar a cabo esta prueba fue suministrada

¹ Recibido para publicación el 10 de agosto 1990.

* Virólogo, Coordinador Programa de Estudios de Posgrado CATIE 7170 Turrialba, Costa Rica

** Fitopatólogo Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, Costa Rica.

*** Asistente de Investigación. Manejo Integrado de Plagas CATIE 7170 Turrialba, Costa Rica.

trada por el Dr. Stephen M. Gainsey, USDA, Orlando, Florida. También se utilizó una prueba comercial para CTV (AGDIA Inc., Indiana, USA).

Las muestras de tejido vegetal recolectadas en el campo fueron analizadas en el Laboratorio de Fitopatología del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) en San José, Costa Rica.

De cada árbol estudiado se recolectaron varias ramas jóvenes con la corteza verde, a las cuales se les eliminaron las hojas y se colocaron en bolsas de plástico dentro de un recipiente con hielo para su traslado al laboratorio. Después de tomar cada muestra, se lavaron las tijeras en una solución de cloo al 5% para evitar posibles contaminaciones.

El tejido cortical se cortó con un bisturí, incluyendo el tejido del *cambium* y se maceró en un mortero usando un homogenizador de tejidos a una dilución 1/20 (p/v) en PBS-Tween, pH 7.4, con 2% de polivinilpirrolidona (PVP-40) para su utilización en la técnica ELISA de inmunoabsorción con una enzima conjugada (6). Los platos de las pruebas de ELISA fueron leídos visualmente.

Simultáneamente a la recolección de muestras de plantas se recolectaron especímenes de áfidos presentes en el cultivo. Los áfidos se recolectaron en alcohol al 70% y se llevaron al laboratorio para su montaje e identificación con base en la técnica utilizada por Holman (3).

RESULTADOS

Mediante la técnica serológica ELISA se confirmó la presencia del CTV en Costa Rica. De un total de 272 muestras examinadas, 74 resultaron positivas a la presencia del CTV (Cuadro 1).

El Muelle de San Carlos fue el sitio en donde se encontró un mayor porcentaje de muestras positivas, en comparación con los demás lugares que se revisaron durante el presente trabajo. Dada la importancia de este resultado para el país, se realizó un segundo muestreo que lo reconfirmó.

En un muestreo realizado en 1989 en la provincia de Limón se capturaron especímenes de *T. citricidus*. También se aprehendieron áfidos de otras especies, entre ellas *Aphis gossypii* Glover, *A. citricola* Van der Goot y *Rhopalosiphum rufiabdominalis* Sasaki. En las muestras de áfidos de la provincia de Limón, límite con Panamá, se identificó el áfido *Toxoptera citricidus* Kirk reportado como la especie más eficiente en la transmisión de este virus (2).

DISCUSION

La presencia del CTV en Costa Rica fue reconfirmada con el muestreo que se llevó a cabo como parte de esta investigación, la cual no incluyó estudios para la identificación de las cepas del CTV que se encuentran presentes en Costa Rica pero en la actualidad se están realizando pruebas con el fin de identificarlas.

Cuadro 1. Resultados del análisis de muestras de cítricos para determinar el CTV en Costa Rica, 1987.

Fecha de muestreo	Procedencia			Resultado (ELISA)	
	Localidad	Provincia	No. de muestras	(-)	(+)
17-6-86	Acosta	San José	13	13	0
15-7-86	EEI BM-UCR	Alajuela	50	50	0
15-7-86	El Muelle, SC	Alajuela	112	41	71
16-7-86	Sarapiquí, SC	Alajuela	3	3	0
16-7-86	Sta. Clara, SC	Alajuela	1	1	0
16-7-86	Guatuso, SC	Alajuela	1	0	1
14-8-86	Pococí, EELD	Limón	6	6	0
22-8-86	Atenas-Orotina	Alajuela	44	42	2
28-8-86	Liberia	Alajuela	10	10	0
28-8-86	DAISA	Alajuela	4	4	0
28-8-86	Filadelfia	Alajuela	5	5	0
28-8-86	Cañas, E.JN	Alajuela	9	9	0
31-10-86	Buenos Aires	Puntarenas	13	13	0
31-10-86	Pejibaye	San José	1	1	0
Total			272	198	74

La citricultura en Costa Rica se está desarrollando a gran escala en la zona de San Carlos en la vertiente Atlántica. En esta zona fue donde se confirmó por primera vez a fines de 1989 la presencia de *T. citricidus*. Dicha combinación del virus y su vector crea una situación potencialmente peligrosa para el desarrollo de este cultivo y la dispersión del virus podría ser más rápida en el futuro debido a la eficiencia como vector de *T. citricidus* (7).

Una de las medidas que mejor resultado ha dado en Venezuela para el manejo de esta enfermedad es el uso de patrones tolerantes o resistentes. Los patrones trifoliados citranger Troyer y Carrizo y el citrumelo Swingle presentaron un comportamiento excelente tanto en producción como en calidad interna de la fruta. Los patrones Volkameriano y Cleopatra se comportaron adecuadamente (5).

La mayoría de las nuevas plantaciones de cítricos están siendo sembradas en Costa Rica con plantas injertadas sobre patrones tolerantes a CTV, con lo cual se espera que el impacto de dicha enfermedad sea bastante atenuado.

Algunos estudios realizados en Florida han permitido determinar que la idea de sustituir los patrones de naranja agria por naranja dulce, pueden tener más inconvenientes debido a que los patrones conocidos como tolerantes a CTV son sensibles a gomosis (*Phytophthora citrophthora*), lo cual puede ser un proble-

ma en lugares de tan alta pluviosidad como Costa Rica.

LITERATURA CITADA

- 1 CARRERO, J.M. 1982. Virosis y enfermedades afines de los cítricos. Publicaciones Extensión Agraria. Madrid, Ministerio Agricultura y Pesca 411 p.
- 2 DICKSON, R.C.; FLOCK, R.A. 1959. Insect vectors of tristeza virus. *Citrus virus diseases*. University of California s.p.
- 3 HOLMAN, J. 1980. Los áfidos de Cuba. La Habana, Academia p. 27-29.
- 4 MENDI, R.; PLAZA, G.; BOSCAN, R.; MARTINEZ, J.; LASTRA, R. 1983. Spread of citrus tristeza virus and evaluation of tolerant rootstock in Venezuela. In Conference International Organization Citrus Virologist (9). Proceedings p. 95-99.
5. NORMAN, G. *et al.* 1961. Ten years of tristeza in Florida. *Citrus Industry* 42(12):224.
6. PLAZA, G.; LASTRA, R.; MARTINEZ, J.E. 1984. Incidencia del virus de la tristeza de los cítricos en Venezuela. *Turrialba* 34(2):125-128.
- 7 ROISTACHER, C.N.; BAR-JOSEPH, M. 1987. Aphid transmission of Citrus Tristeza Virus: a review. *Phytophylactica* 19:163-167.
8. ROISTACHER, C.N. 1981. A blueprint for disaster. *Citrograph* 67(1):4-5.
- 9 SMITH, K.M.A. 1972. *Textbook of plant virus disease*. New York, Academic Press 680 p.