

ÍNDICE

RESUMEN, ABSTRACT, RESUMO	I - II
LISTADO DE FIGURAS	III - IV
LISTADO DE CUADROS	V - VI

1. INTRODUCCIÓN

1.1 LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS: ANTECEDENTES HISTÓRICOS E IMPORTANCIA ECONÓMICA.	3
1.2 SÍNDROMES DE TRISTEZA	5
1.2.1 Decaimiento rápido o lento	6
1.2.2 Acanaladuras en la madera	7
1.2.3 Amarillez de plántulas francas de pie	8
1.3 AGENTE CAUSAL: EL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS-CTV.	8
1.3.1 Antecedentes taxonómicos	8
1.3.2 Características genómicas y diversidad de aislados	8
1.4 PRINCIPALES HOSPEDADORES	11
1.5 DIAGNÓSTICO: DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CTV.	12
1.5.1 Detección de CTV. Técnicas biológicas, serológicas y moleculares	12
1.5.2 Caracterización de aislados de CTV	15
1.6 EPIDEMIOLOGÍA	19
1.6.1 Transmisión por injerto	19
1.6.2 Transmisión mecánica experimental	20

1.6.3 Transmisión por pulgones	20
1.7 ESTRATEGIAS DE CONTROL	25
1.7.1 Control de cuarentena y exclusión	25
1.7.2 Programas de Saneamiento, Certificación y Mejora sanitaria	27
1.7.3 Protección cruzada	28
1.7.4 Resistencia genética	29
2. OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GENERAL	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3. PARTE EXPERIMENTAL	35
3.1 ESTIMA DE LA INCIDENCIA DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS EN CHILE	37
3.1.1 Introducción	37
3.1.2 Materiales y métodos	40
3.1.3 Resultados y discusión	42
3.2 CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DE AISLADOS CHILENOS DE CTV	50
3.2.1 Introducción	50
3.2.2 Materiales y métodos	51
3.2.3 Resultados y discusión	53
3.3 CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA DE AISLADOS CHILENOS	60
3.3.1 Introducción	60
3.3.2 Materiales y métodos	63
3.3.3 Resultados y discusión	64

3.4 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS CHILENOS	69
3.4.1 Introducción	69
3.4.2 Materiales y métodos	72
3.4.3 Resultados y discusión	74
3.5 EPIDEMIOLOGÍA. ENSAYOS DE TRANSMISIÓN Y ANÁLISIS ESPACIO-TEMPORAL DE LA DISPERSIÓN DE CTV EN CHILE.	77
3.5.1 Introducción	77
3.5.2 Materiales y métodos	79
3.5.3 Resultados y discusión	84
4. DISCUSIÓN GENERAL	95
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	105
5.1 CONCLUSIONES	107
5.2 RECOMENDACIONES	108
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

LISTADO DE FIGURAS

FIGURA

- 1.1. Representación esquemática del genoma del virus de la tristeza de los cítricos. Números correlativos indican los 12 marcos de lectura abierta. Las cajas representan los genes y las anotaciones inferiores a los números indican las proteínas que codifican (Fagoaga *et al.*, 2005). 9
- 3.1. Regiones citrícolas de Chile. En el esquema se indican las siete regiones muestreadas, y las principales especies de cítricos presentes en cada región. 39
- A. Síntomas de acordonamiento de árbol de pomelo cv. Marsh injertado sobre *C. macrophylla*, en donde se observa deformación de tronco y ramas principales. B. Árbol de pomelo cv. Star Ruby injertado sobre *C. macrophylla*, en donde se aprecian acanaladuras en la madera y sobrecrecimiento de la corteza. C. Acanaladuras presentes en portainjerto *C. macrophylla*. Fotos A, B y C fueron tomadas en oasis de Pica. D. Planta indicadora de pomelo cv. Duncan inoculada con aislado capaz de inducir síntomas de acanaladuras en la madera. E. Acanaladura presente en portainjerto *C. macrophylla* injertado con limonero, localidad de Ovalle. 46
- 3.3. Síntomas desarrollados en pruebas biológicas. A. Síntoma de acanaladura de la madera en planta de naranjo dulce cv. Madame Vinous inoculada con aislado 508. Acorchamiento de vena desarrollada en planta de naranjo amargo. C. Izq. síntoma de amarillez de plántulas ("seedling yellows") desarrollado en naranjo amargo de semilla. D. Síntoma de acorchamiento de venas en lima mejicana. E. Acanaladuras en la madera desarrolladas en lima mejicana. 58
- 3.4. A. Vista parcial del oasis de Pica (I Región), en donde se aprecia la aridez del desierto que lo rodea. B. Brote de cítrico altamente atacado por mosquita blanca. C. Planta de naranjo dulce en proceso de transmisión de CTV por pulgones desde brote de algodón. A la derecha planta receptora. D. Brote de naranjo dulce, con presencia de pulgones luego de 24 horas de alimentación (adquisición). E. Planta donante de lima mejicana injertada sobre citrange Troyer con síntomas de acucharamiento de hojas, y a su lado derecho plantas receptoras. 89
- 3.5. Parcelas 1, 2 y 3 ubicadas en huertos mixtos de cítricos y localizadas los oasis de Pica y Matilla, I Región de Chile, en donde se observa la evolución espacio-temporal de los árboles infectados con CTV. 91
- 3.6. Parcelas ubicadas en 3 huertos de cítricos localizados en la zona central de Chile, en donde se observa la evolución espacio-temporal de los árboles infectados con CTV. 92

3.7. Evolución temporal (2000-2005) del porcentaje de incidencia de CTV, en seis parcelas experimentales localizadas en la I Región (Predio 1 y 2 de Pica) y en la zona central (Ovalle, Limache y Paine) de Chile.

LISTADO DE CUADROS

CUADRO

3.1. Incidencia del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) por especies hospederas en Chile.	437
3.2. Distribución de aislados de CTV por regiones y especie hospedera.	47
3.3 Detección de CTV en diferentes regiones de Chile entre los años 1999-2002. Detalle del número de fincas prospectadas, superficie, número de árboles muestreados por región e incidencia.	48
3.4. Incidencia estimada del virus de la tristeza de los cítricos (%) en 20 fincas diferentes localizadas en seis regiones de Chile, en contraste con la incidencia real calculada 1-4 años después.	49
3.5. Origen y expresión de síntomas de cien aislados chilenos del virus de la tristeza (CTV), después de ser inoculados mediante injerto a 5 diferentes combinaciones de plantas indicadoras según Garnsey <i>et al.</i> (1987) más caracterización de su capacidad de provocar decaimiento según Pina <i>et al.</i> (2004).	56
3.6. Grupos biológicos obtenidos mediante la caracterización biológica de cien aislados chilenos del virus de la tristeza de los cítricos (CTV).	59
3.7. Serogrupos (8 en total) establecidos con 100 aislados chilenos de CTV, obtenidos mediante análisis ELISA-DASI empleando 12 anticuerpos monoclonales diferentes.	66
3.8. Caracterización biológica y serológica de 100 aislados de CTV chilenos, en donde se representan con colores los 8 serogrupos obtenidos.	67
3.9. Clasificación y caracterización molecular de aislados mediante el empleo de 11 pares de iniciadores de PCR según Hilf <i>et al.</i> (2005).	76
3.10. Número de individuos de pulgones/especie capturados mediante el método de brote pegajoso, durante otoño y primavera de 2003 al 2005, y número de pulgones CTV positivos/especie, detectados mediante variantes de RT-PCR.	88
3.11. Aislados chilenos de CTV empleados en ensayos de transmisión mediante el uso de <i>Aphis gossypii</i> como vector.	90
3.12. Clasificación general de 100 aislados chilenos de CTV, considerando lugar de origen, especie hospedante, caracterización biológica, serológica y molecular, esta última por RT-PCR utilizando 11 pares de iniciadores diferentes.	100

- 3.13. Agrupación de 100 aislados chilenos del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) de acuerdo a sus características biológicas, serológicas y moleculares. Cuadro resumen. 102
- 3.14. Resumen de los resultados obtenidos en la caracterización biológica de cien aislados chilenos del virus de la tristeza de los cítricos (CTV). 103