



DETERMINACIÓN DE LA MEJOR ÉPOCA DE MUESTREO PARA EL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE DAS-ELISA.

Roldán Antonio Romero Mandujano; Antonio Novelo Cocom¹; Juan Jasso Argumedo¹ y *Juan Manuel Zaldívar-Cruz².

¹Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Yucatán. ²Colegio de Posgraduados-Campus Tabasco

¹Calle 19 # 207 x 26 y 28, Cd. Industrial, Mérida, Yucatán. C.P. 97118

Tel y Fax: 01 (999) 946-00-10, e-mail: zaldivar@colpos.mx

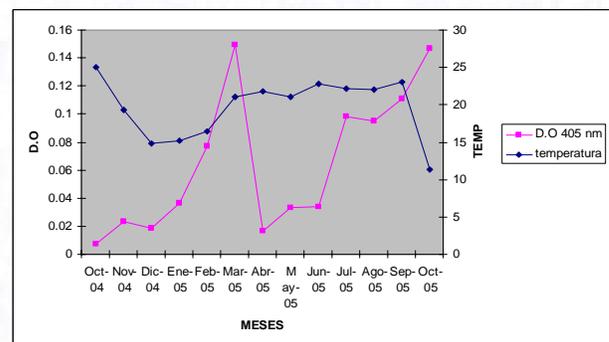
Palabras clave: virus, DAS-ELISA, cítricos

Introducción. En el estado de Yucatán, el cultivo de los cítricos representa una alternativa para el desarrollo de la actividad agropecuaria, además de ser de gran importancia para la entidad ya que proporciona fruta para el consumo local y para la industria, representando de esta manera un apoyo directo a la economía de los productores. Actualmente la citricultura en el estado, se ve amenazada por la presencia del virus de la tristeza de los cítricos (VTC), una enfermedad importante en cítricos que es considerada la más destructiva, ya que disminuye la longevidad del huerto y su capacidad productiva cuando se tiene naranjo agrio (*Citrus aurantium* L) como patrón. En Yucatán, el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Yucatán (CESVY) colecta un número determinado de muestras para detectar el VTC y cumplir sus metas programadas. Esto puede llevarles de entre 8-10 meses, independientemente de la época del año, aunque en algunas épocas, las concentraciones del VTC por medio de la Técnica de DAS-ELISA no sean detectables. Es por eso que se necesita conocer la mejor época en la cual la concentración del VTC es elevada para llevar a cabo un muestreo solamente en esos meses del año, por lo que el objetivo del trabajo fue determinar la mejor época de muestreo del VTC en una plantación comercial de cítricos utilizando la prueba de DAS-ELISA (Prueba de sándwich de doble anticuerpo directo).

Metodología. Para la detección del VTC se seleccionaron 5 árboles de naranja dulce (*Citrus sinensis* L.) que habían dado positivo al VTC con la prueba de inmunimpresión. Estos árboles se encuentran localizados en un huerto ubicado en Yotholin municipio de Ticul y fueron muestreados durante un año (octubre del 2004 a octubre del 2005). Se emplearon brotes tiernos y/u hojas, dependiendo de la época del año. De cada árbol se cortaron de 8-10 brotes tiernos que tuvieran las hojas recién expandidas (Silva-Vara, *et al.*, 2001). Para el caso de hojas se colectaron entre 20-25 hojas jóvenes alrededor de la copa y preferentemente de la parte superior. Las varetas fueron descortezadas y picadas para su secado, lo mismo que las nervaduras centrales de las hojas en porciones de 1-2 mm². A las muestras se les extrajo la savia con un homogenizador Modelo 4Z522 y ésta fue analizada mediante la prueba de DAS-ELISA (Rocha-Peña y Lee, 1991) empleando reactivos de AGDIA. Las lecturas de la Densidad Óptica (D.O.) fueron realizadas en un lector de placas Marca BIOTRAK Amersham.

Resultados y Discusión. Las lecturas de D.O. de las muestras, alcanzaron valores desde 0.0070 y 0.1493 (Fig. 1).

Fig.1 Comportamiento de la concentración del VTC (D.O.) con respecto a la temperatura durante un año de muestreo, en una huerta de cítricos del estado de Yucatán.



El valor más elevado se obtuvo en el 2005, en el mes de marzo (D.O._{405 nm} = 0.1493), disminuyendo hasta el mes de abril e incrementándose gradualmente hasta el mes de octubre del mismo año. Los valores más bajos se obtuvieron en los meses de octubre del 2004 y abril del 2005 (D.O._{405 nm} 0.007 y 0.0166 respectivamente) cuando los valores de absorbancia cayeron hasta 2.5 veces que el control negativo (Fig. 1).

Conclusiones. Es en la primavera la mejor época para la detección del VTC bajo condiciones de campo y el mejor mes para muestrear fue abril.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Yucatán.

Bibliografía.

- Silva-Vara, S, Peña del Río, M., Peña-Martínez, R, Villegas-Jiménez N, Byerly-Murphy, K. y Rocha-Peña, M. (2001). Distribución del virus de la tristeza en tres plantaciones comerciales de cítricos del estado de Nuevo León, México. *Agrociencia*. 35:441-450.
- Rocha-Peña, M. and Lee, R. (1991). Serological techniques for detection of citrus tristeza virus. *Journal of Virol. Methods*. 34:311-331.