

RAZAS DEL VIRUS TRISTEZA DE LOS CITRICOS (VTC) Y SUS IMPLICACIONES PARA UNA CAMPAÑA FITOSANITARIA DE CONTROL

Gustavo Mora Aguilera
Colegio de Postgraduados
Lab. Nal. de Ref. Epidemiológica
Fitosanitaria (LANREF)
morag@colpos.mx

**3 Taller Internacional sobre Plagas Cuarentenarias de los Cítricos
Manzanillo 27-30 agosto 2013**

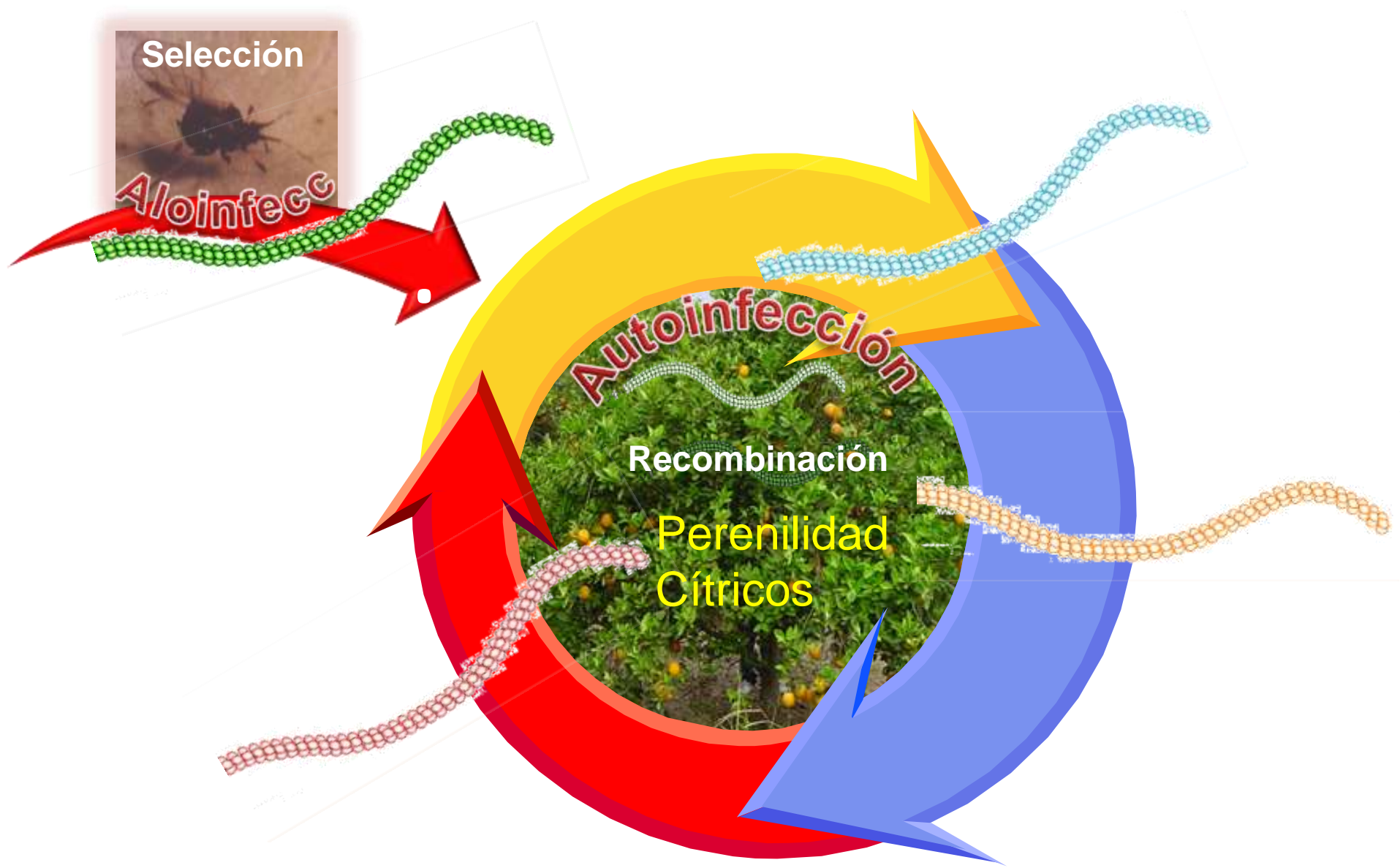


ESTADO DEL CONOCIMIENTO

La variabilidad del VTC es una propiedad fuertemente determinada por ***n*-eventos de recombinación viral** e influenciada por ***n*-procesos de reinfección-selección** producto de una compleja interacción planta-vector.

Broadbent *et al.*, 1996; Ayllón, 1999; Brlansky *et al.*, 2003; Halbert *et al.*, 2004; Powell and Lin, 2005; Weng *et al.*, 2007 PloS One e917; Rivas *et al.* 2008; Loeza *et al.*, 2008.

LA TRISTEZA → MEZCLA DE VARIANTES VIRALES



LA TRISTEZA

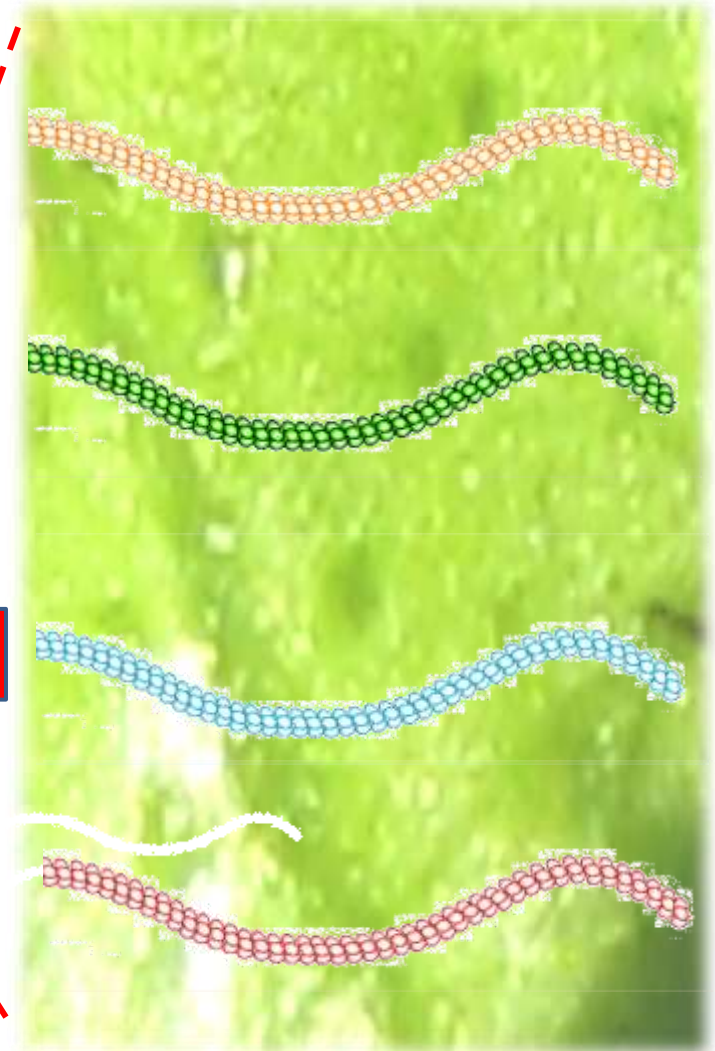
MEZCLA DE VARIANTES VIRALES

Razas (Haplotipos,
Aislado, Variantes)
de VTC

Afidos Vectores



Toxoptera citricida
T. aurantii
Aphis gossypii
A. craccivora
A. spiraecola
Uroleucon jaceae



TESIS 1

La endemicidad sub-epidémica es una condición de estabilidad poblacional del CTV determinada por la gradual prevalencia en tiempo y espacio de razas y haplotipos moderados en detrimento de aislados severos.

TESIS 2

La estructura poblacional del VTC, i.e. la frecuencia de razas y haplotipos, es dinámica y puede ser influenciada pero de no determinada por *Toxoptera citricida* considerado el vector mas eficiente y con capacidad de seleccionar razas de tipo severo.

CONCEPTOS

Raza: Población de una especie viral con una caracterización biológica, serológica y molecular única y trazable en tiempo y espacio.

Haplotipo: Subpoblación viral asociada a una raza caracterizada por un perfil electroforético (o variante de secuencia) y cuya estabilidad esta sujeta procesos de adaptabilidad y competencia.

Implicaciones del Parasitismo en la Estructura Poblacional de razas



RAZA MODERADA

- Población estable
- No se reduce la carga de inóculo
- No es afectado por semipersistencia

**Raza Moderada T30
Yucatán**



**Raza Severa tipo T36
Tamaulipas**



2003

Haplotipos de Razas tipo T30

arbol	H	V	H	V	H
1-17					

España: en una condición endémica

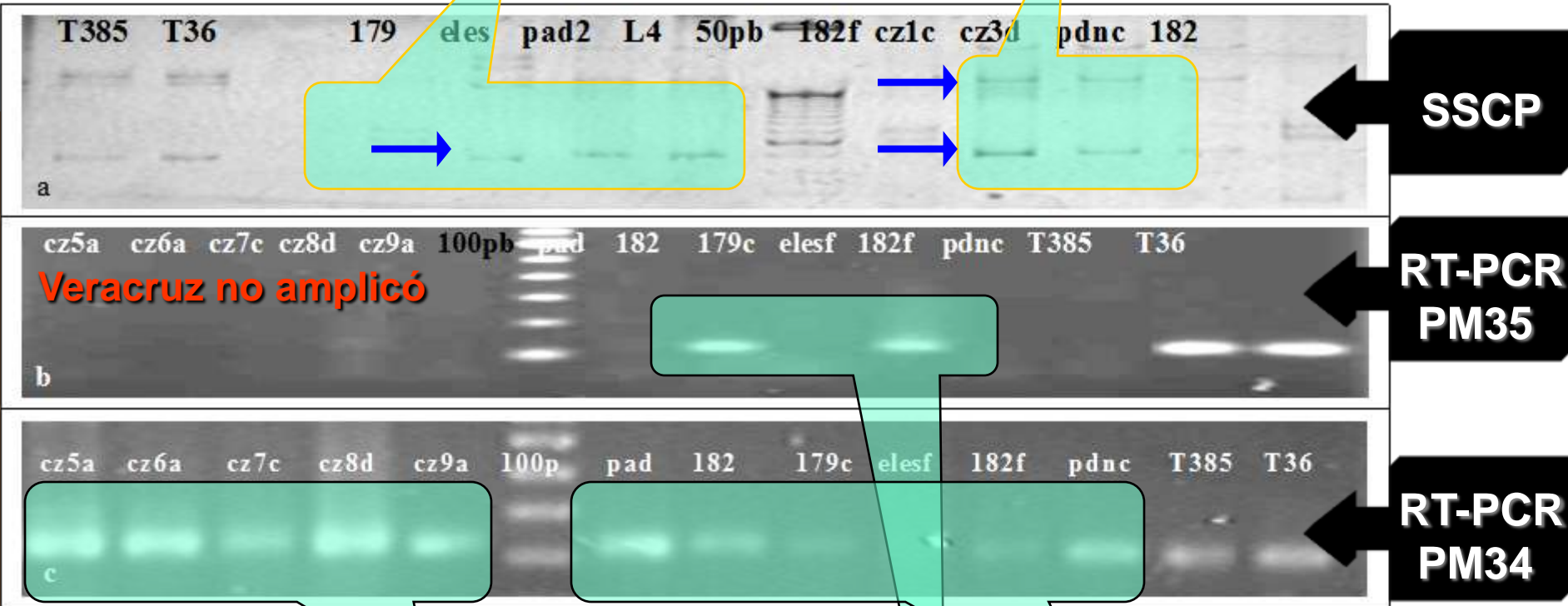


- Expresión asintomática
- 23 haplotipos / árbol de > 20 años
- Haplotipos prevalentes: raza moderada
- Raza severa presente y suprimida parasíticamente

Variabilidad del CTV

Haplotipos Tamaulipas

Haplotipos Veracruz



SSCP

RT-PCR
PM35

RT-PCR
PM34

Veracruz no amplificó

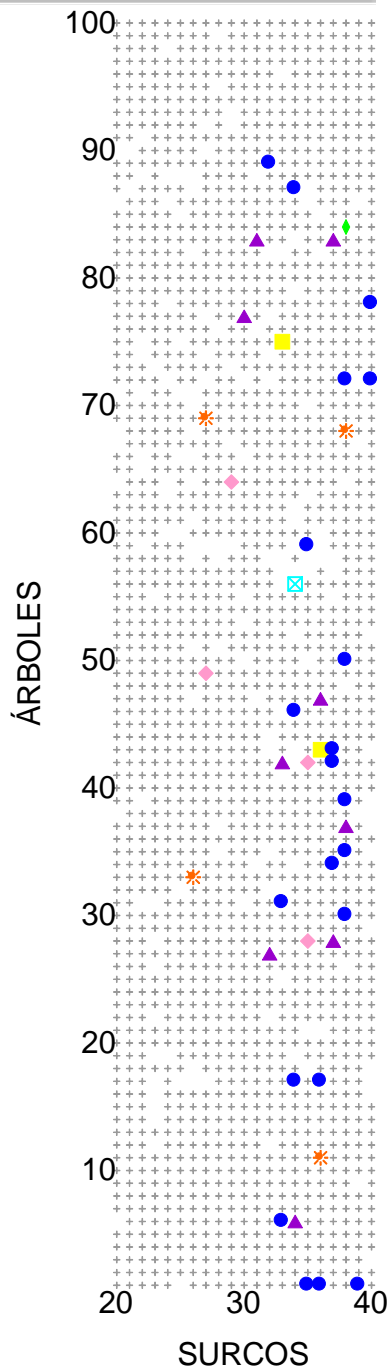
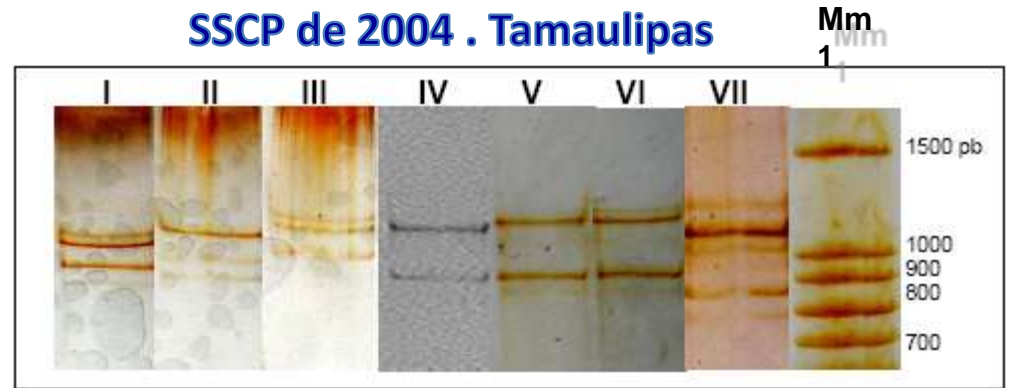
Raza Moderada / Ver.

Raza Moderado / Tam.

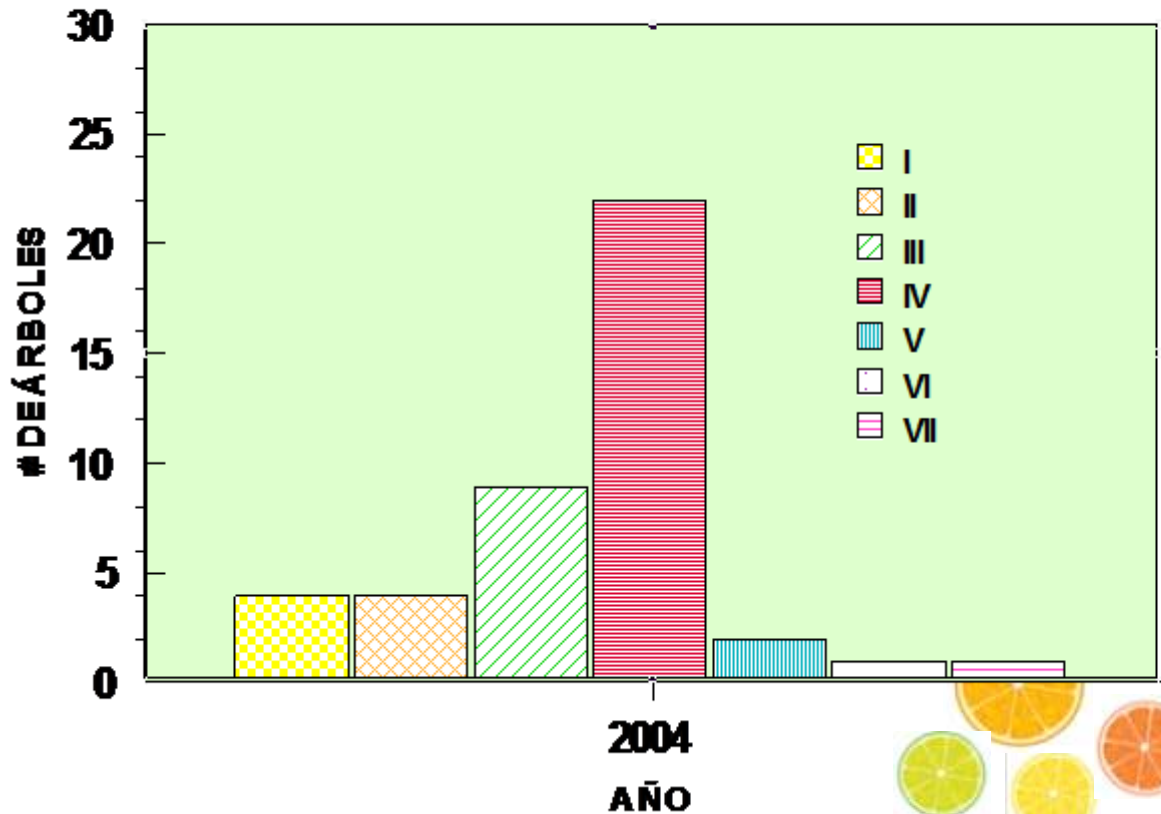
Raza Severa T36 Tam.

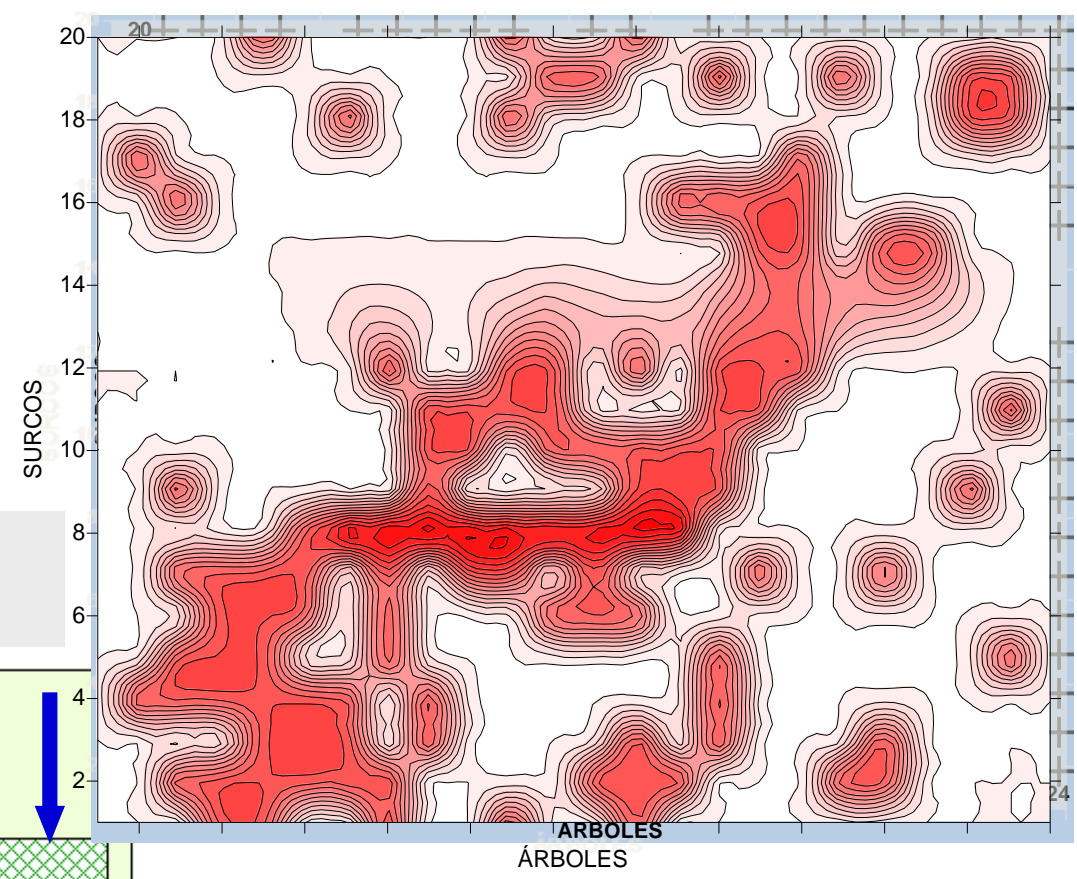
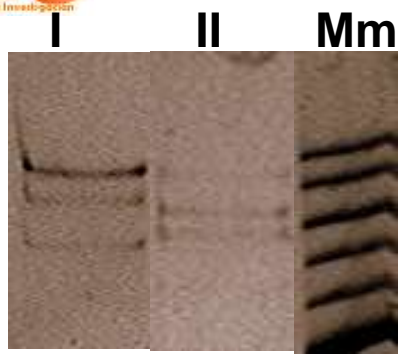


Patrones electroforéticos de aislamientos de CTV SSCP de 2004 . Tamaulipas

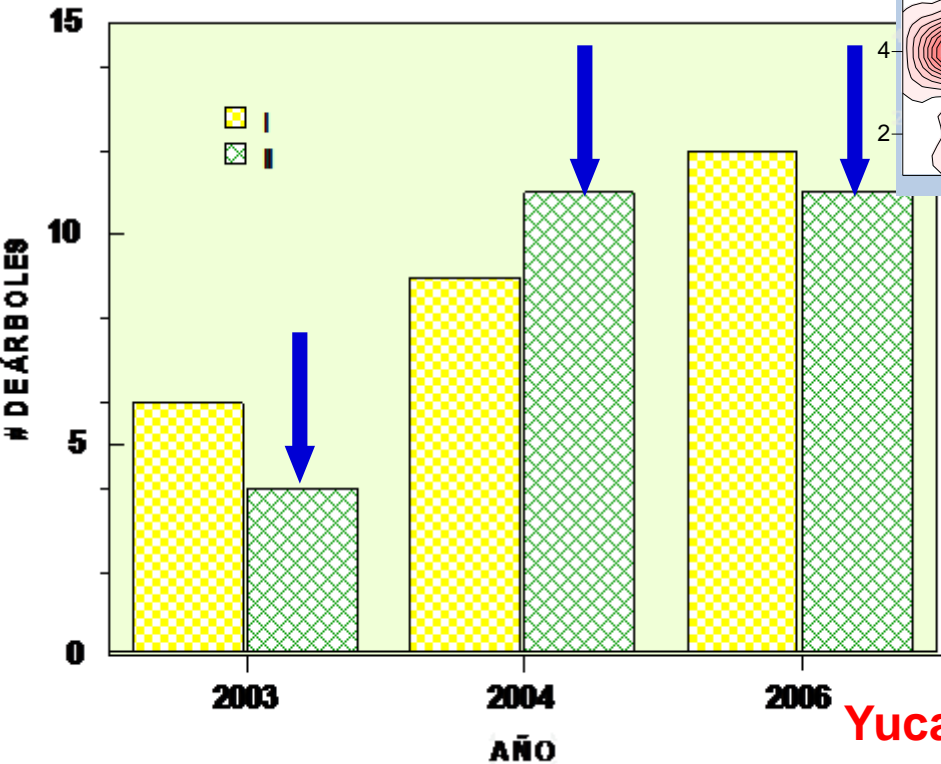


- + Árbol sano
- ✱ PATRÓN I
- ◆ PATRÓN II
- ▲ PATRÓN III
- PATRÓN IV
- PATRÓN V
- ⊠ PATRÓN VI
- ◆ PATRÓN VII





Procesos de aloinfección=ENDODEMIA



- + ÁRBOL SANO
- + OTRO FRUTAL
- PATRÓN I (2003)
- PATRÓN II (2003)
- ▲ PATRÓN I (2004)
- ▲ PATRÓN II (2004)
- ☀ PATRÓN I (2006)
- ☀ PATRÓN II (2006)
- ⊗ ÁRBOL ERRADICADO (2002)

Yucatan (Sur Mex.) *T. citricida* + (2000)

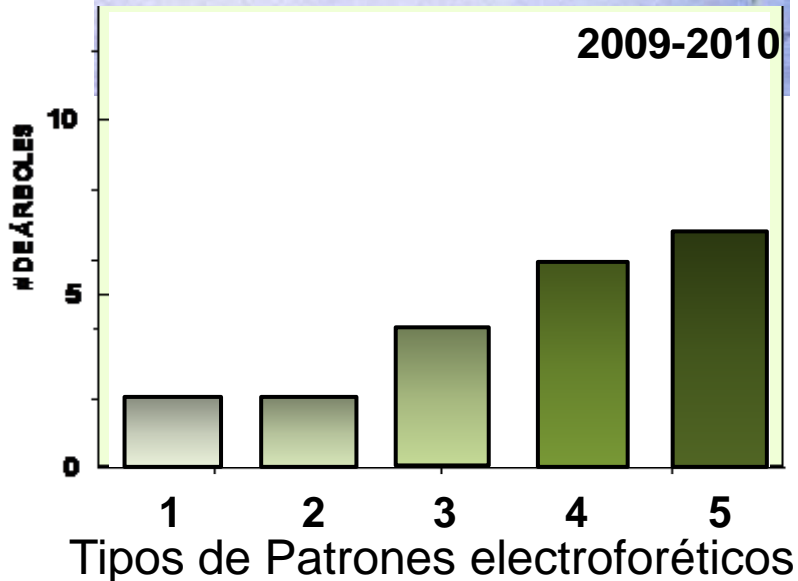
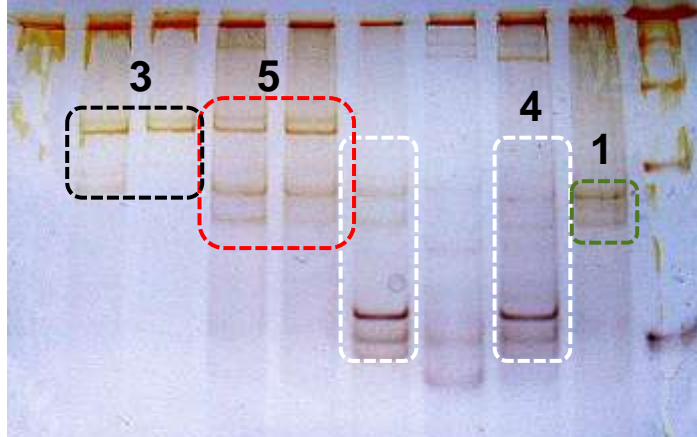


Patrones electroforéticos de aislamientos de VTC SSCP 2009-2010.

Yucatán

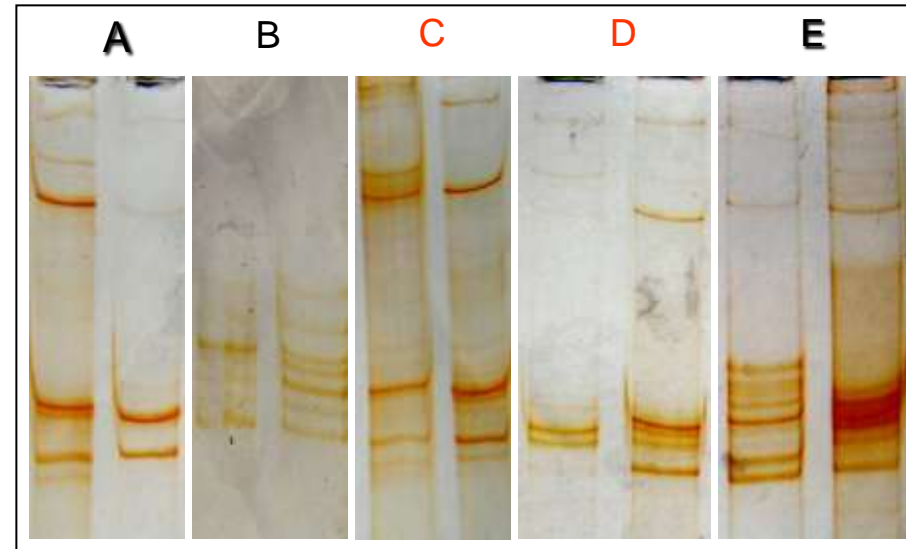
Razas moderadas T30

Cada banda es un muestra de un árbol



Brasil

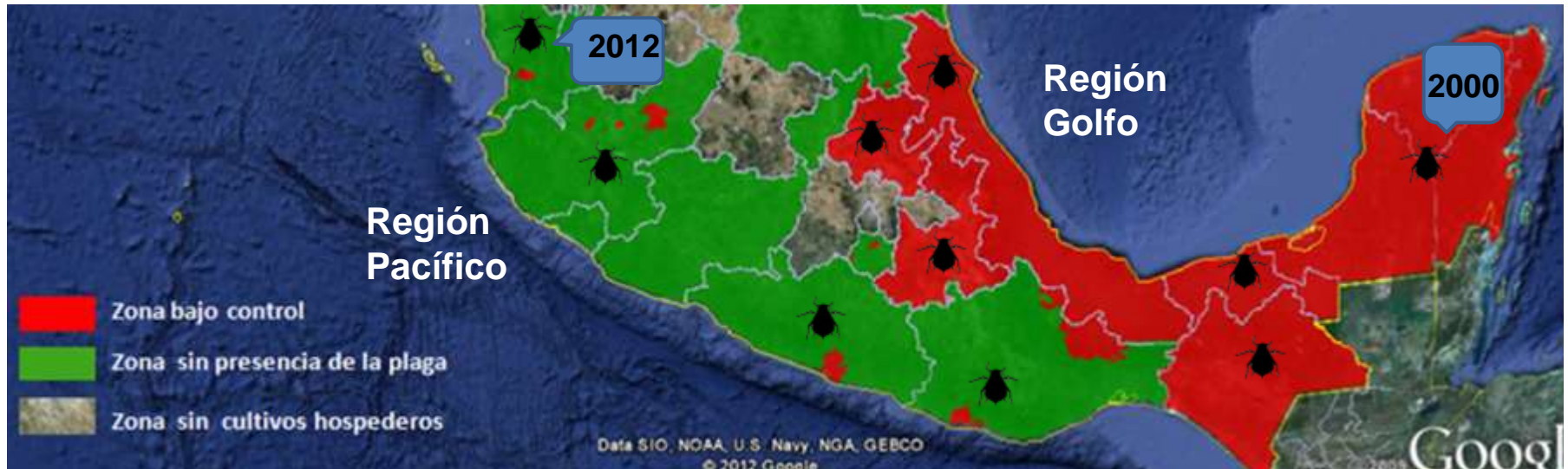
Razas severa y moderadas



Región SP y Minas Gerais

- A) Capela do Alto
- B) Capão Bonito
- C) Comendador Gomes
- D) Uberlândia
- E) Botucatu

¿Qué riesgo representa *T. citricida* bajo su estatus actual de dispersión y de la composición de razas del VTC?



Sinavef 2012

En una región endémica similar virulificidad

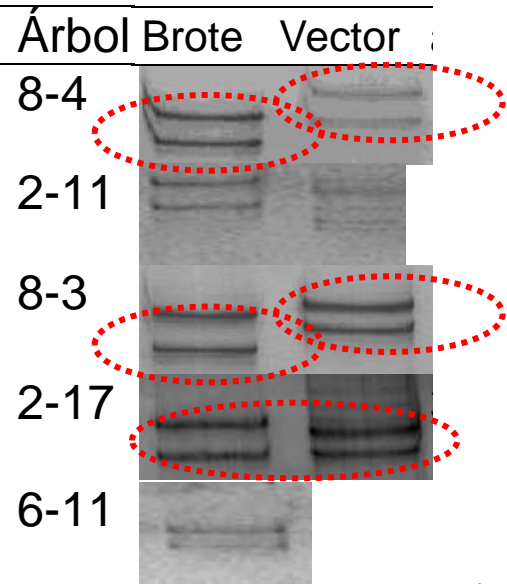
Brasil Región SP	<i>Toxoptera citricida</i>	<i>Aphis spiraecola</i>
Total insectos +	55/56	27/30
Porcentaje	98%	90%

Loeza, 2008

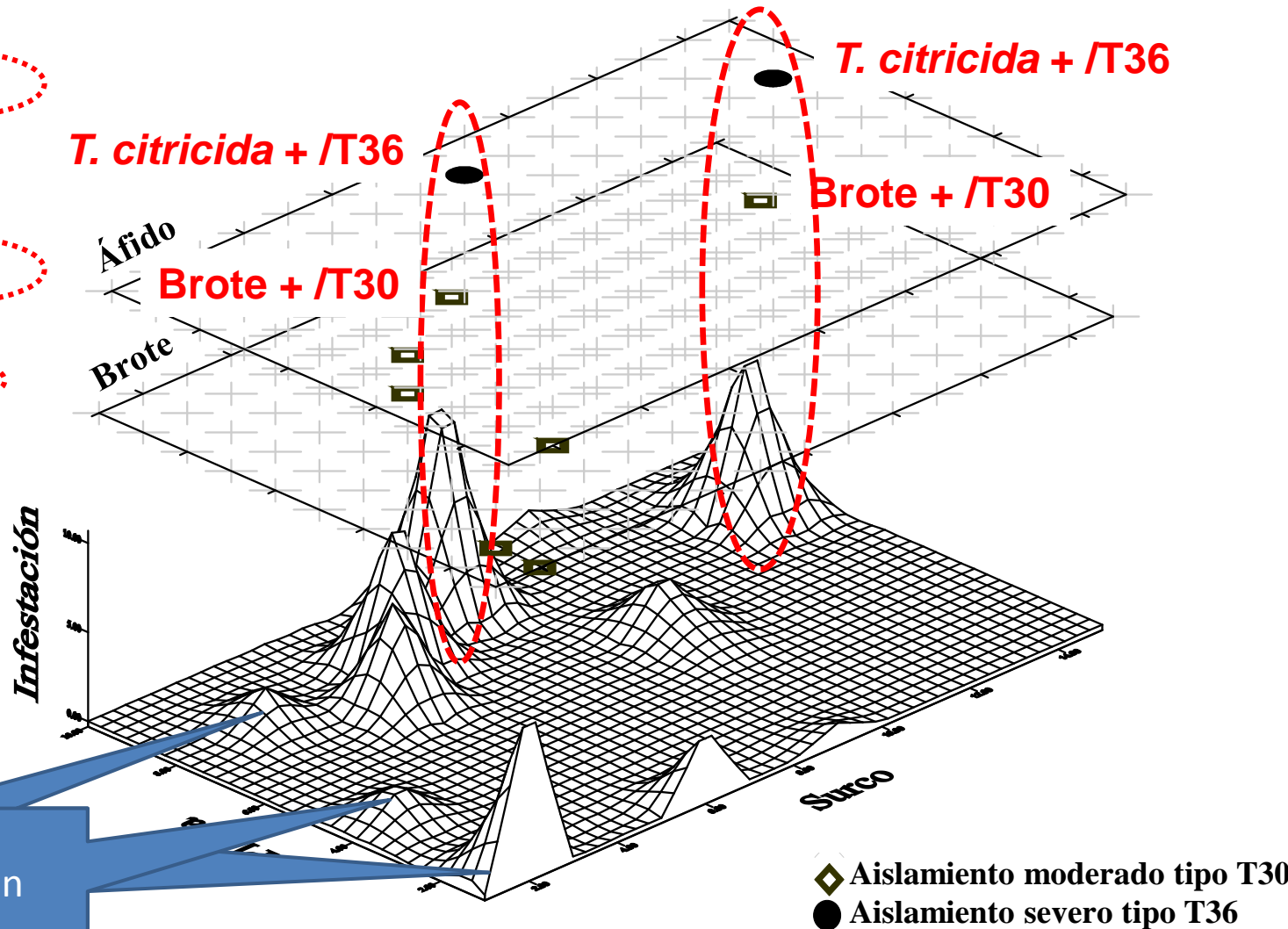


Fuente: GIIC

Patrones de colonización de *T. citricida* y razas de VTC en un huerto *C. latifolia*, Campeche 2012

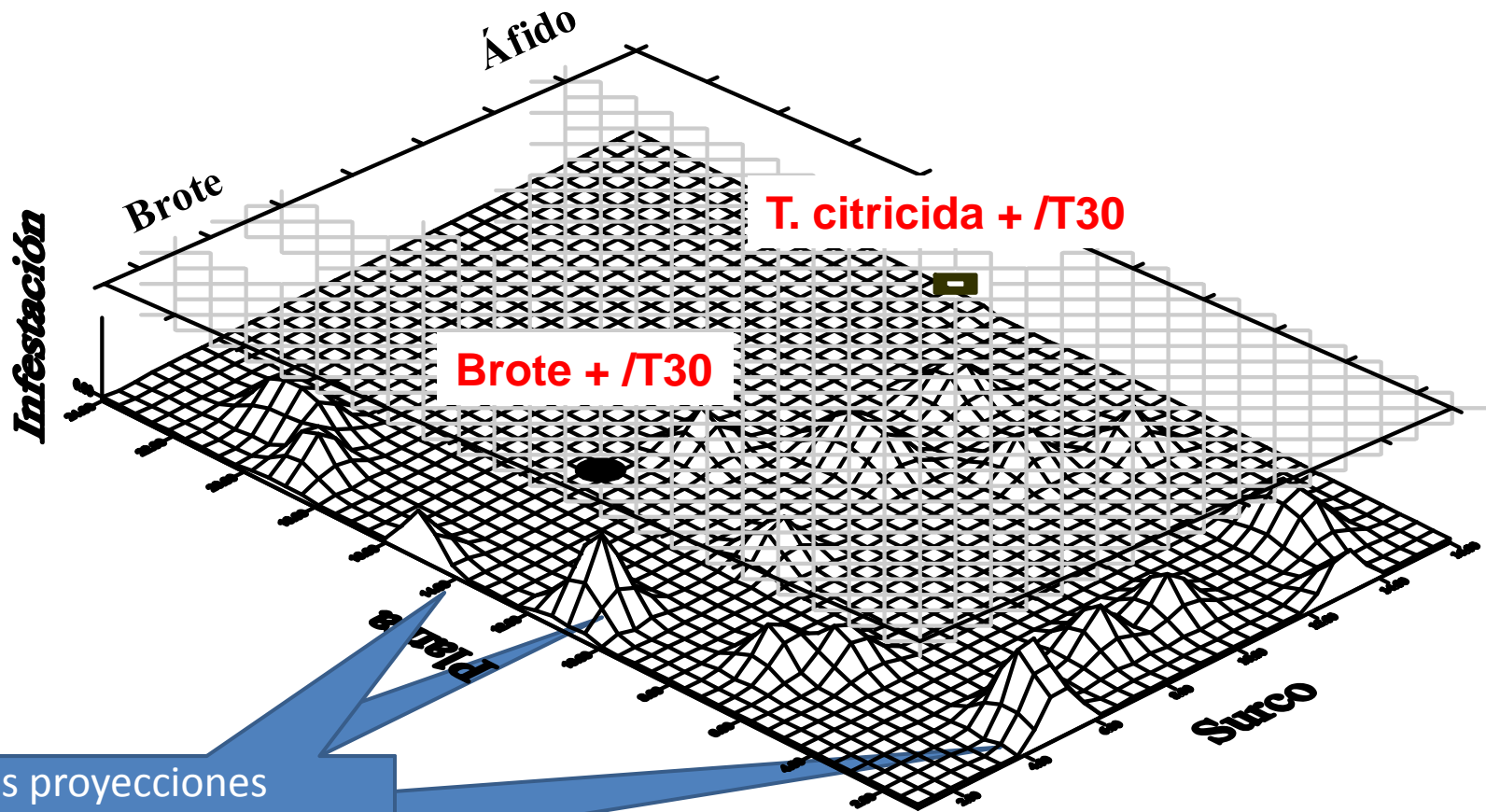


Loeza, 2008



Las proyecciones indican colonización de *T. citricida* negativos a CTV

Patrones de colonización de *T. citricida* y razas de VTC en un huerto *C. sinensis*, Yucatán 2012



Las proyecciones indican colonización de *T. citricida* negativos a CTV

- ◆ Aislamiento moderado tipo T30 áfido
- Aislamiento moderado tipo T30 brote

Distribución de Razas de VTC en la Península de Yucatán

Secuenciación de productos PCR

gi|4239714|emb|Y18420.1|CITV18420 Citrus tristeza
Length = 19259

Score = 2333 bits (1177), Expect = 0.0
Identities = 1199/1205 (99%), Gaps = 1/1205
Strand = Plus / Plus

Query: 236 tgaggtaocatgagttcttagtcaactagtt
Sbjct: 18056 tgaggtaocatgagttc-tagtcaactagtt
*18072

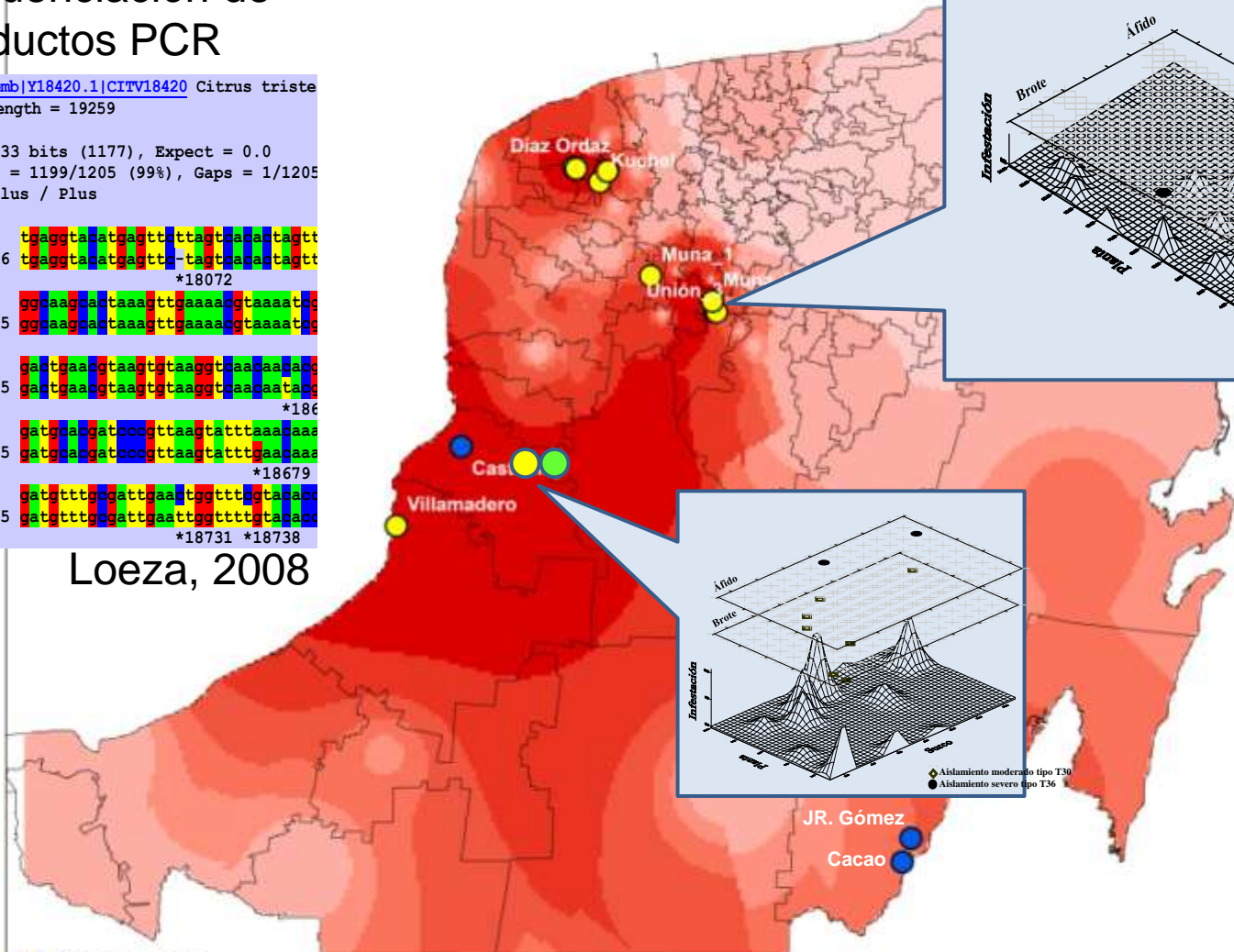
Query: 596 ggcaagcaactaaagttgaaaaagtaaaatcg
Sbjct: 18415 ggcaagcaactaaagttgaaaaagtaaaatcg

Query: 776 gactgaacgtaagtgtaaggtcaacaacacg
Sbjct: 18595 gactgaacgtaagtgtaaggtcaacaacacg
*186

Query: 836 gatgcaagatcccgtaagttatttaaacaa
Sbjct: 18655 gatgcaagatcccgtaagttatttaaacaa
*18679

Query: 896 gatggtttggattgaaatgggtttggtacacg
Sbjct: 18715 gatggtttggattgaaatgggtttggtacacg
*18731 *18738

Loeza, 2008



- Sin secuencia
- Raza moderada T30 en planta
- Raza severa T36 en vector

Identificación de Razas de VTC en Plantas de Cítricos en la Península de Yucatán 2011 y 2013

Estado	Municipio	Huerto	Número de secuencias	Número de Aislamientos		CTV	Secuencia NCBI	Porcentaje de similitud	Tipo de aislamiento
				2011	2013				
Yucatán	Kinchil	Díaz Ordaz	1	1	0	(+)	Citrus tristeza virus T30	99%	Moderado
		San Manuel 2	14	12	0	(+)	Citrus tristeza virus T30	98%	Moderado
	Samahil	Kuchel	4	4	0	(+)	Citrus tristeza virus T30	99%	Moderado
		Buenaventura	2	1	0	(+)	Citrus tristeza virus T30	93%	Moderado
	Ticul	Unión 2	1	1	0	(+)	Citrus tristeza virus T30	99%	Moderado
		Cabache 2	4	1	2	(+)	Citrus tristeza virus T30	98%	Moderado
		Unión 3	4	3	0	(+)	Citrus tristeza virus T30	99%	Moderado
	Muna	Muna 1	13	5	6	(+)	Citrus tristeza virus FS703-T30	100%	Moderado
Dzan	Yoh But 1	3	0	1	(+)	Citrus tristeza virus CT-W7	84%	Moderado	
Campeche	Champotón	Villamadero	1	1	0	(+)	Citrus tristeza virus T30	99%	Moderado
	Campeche	San A. Cayal	2	0	0	(-)	(-)	(-)	(-)
		Castamay	1	0	0	(-)	(-)	(-)	(-)
Q. Roo	OPB	Cacao	6	0	0	(-)	(-)	(-)	(-)
		JR Gómez	1	0	0	(-)	(-)	(-)	(-)
TOTAL			57	29	9				

GIIC, Domínguez, 2013

Condición de huertas y muestras a CTV	Injerto/portainjerto ¹	
	Valencia/Agrio	Limón P/Cleopatra
Huertas muestreadas	16/18	2/18
Muestras positivas áfidos	12/25 (48%)	27/65 (41%)
Muestras positivas brote	10/25	44/65

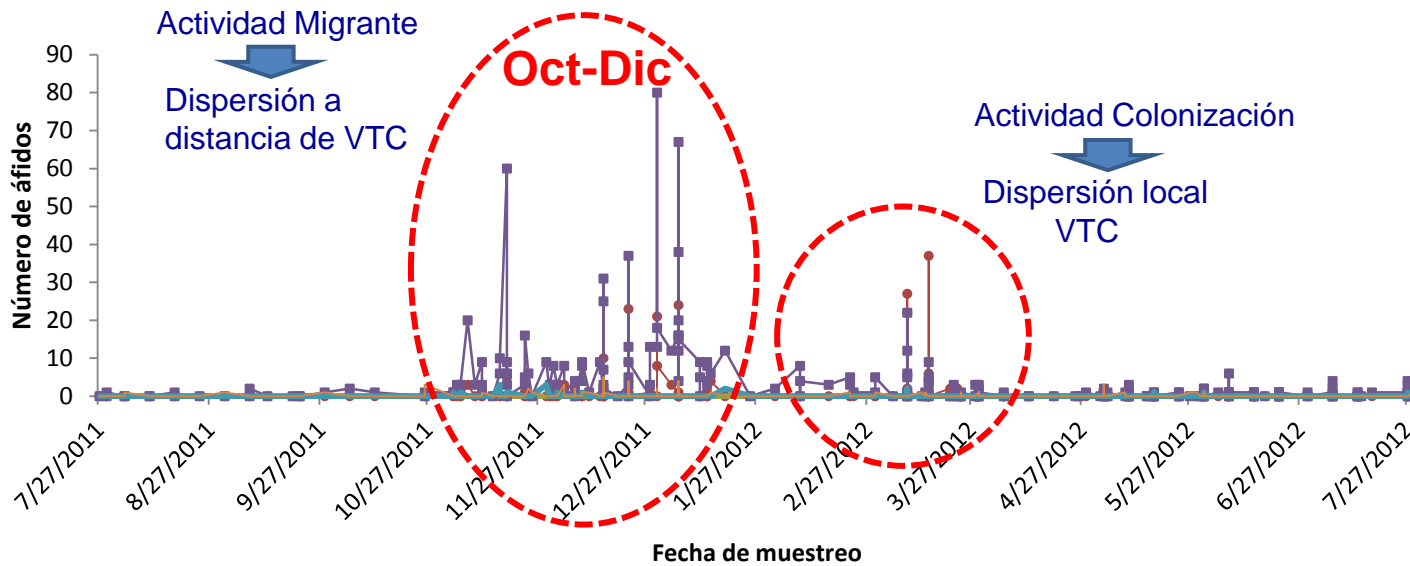
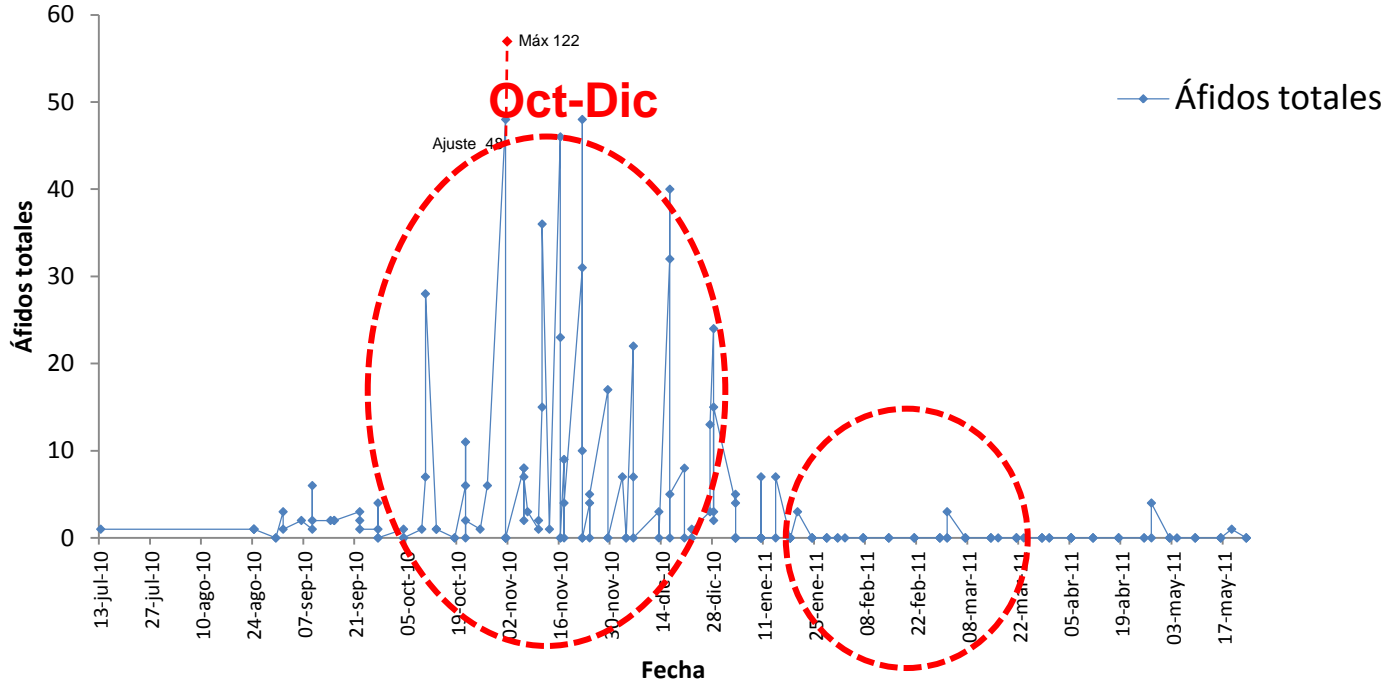
Resultados de RT-PCR de muestras de *T. citricida* colectados por cinco Comités Estatales de Sanidad Vegetal. 2013.
(Veracruz pendiente).

No. De muestra	Entidad/No. Muestras	Especie de áfido	Estatus al CTV
1	Guerrero /10	<i>T. citricida</i>	Negativo
2	Guerrero	<i>T. citricida</i>	Negativo
3	Oaxaca /10	<i>T. citricida</i>	Negativo
4	Oaxaca	<i>T. citricida</i>	Negativo
5	Puebla / 4	<i>T. citricida</i>	Negativo
6	Puebla	<i>T. citricida</i>	Negativo
7	SLP / 10	<i>T. citricida</i>	Negativo
8	SLP	<i>T. citricida</i>	Negativo
9	Chiapas / 9	<i>T. citricida</i>	Negativo
10	Chiapas	<i>T. citricida</i>	Negativo

¹ Muestra compuesta, constituida por 10 insectos adultos ápteros.

Fluctuación Poblacional de áfidos vectores del VTC en trampas amarillas. Península de Yucatán 2010-2012

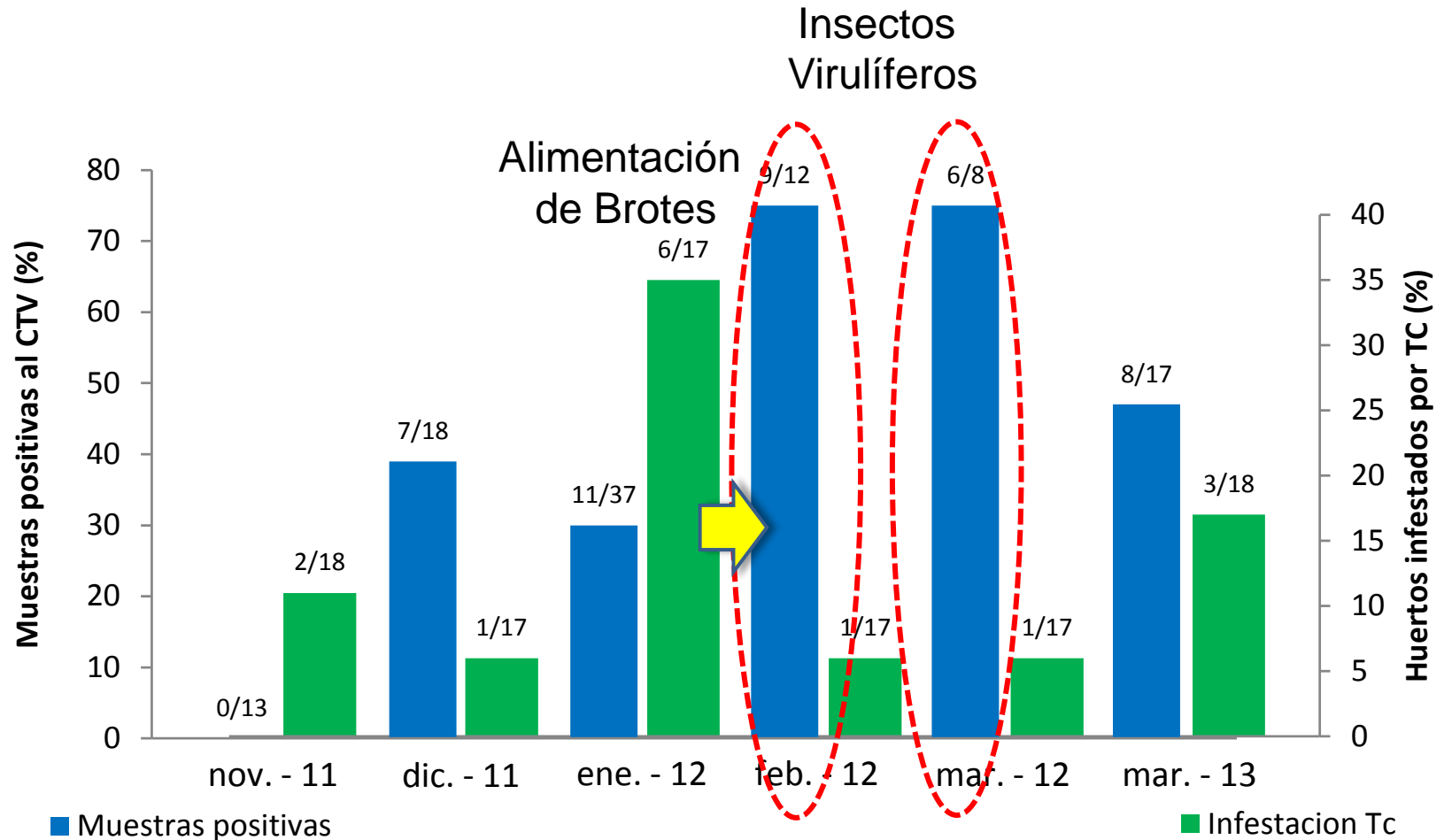
Julio 2010-Mayo 2011



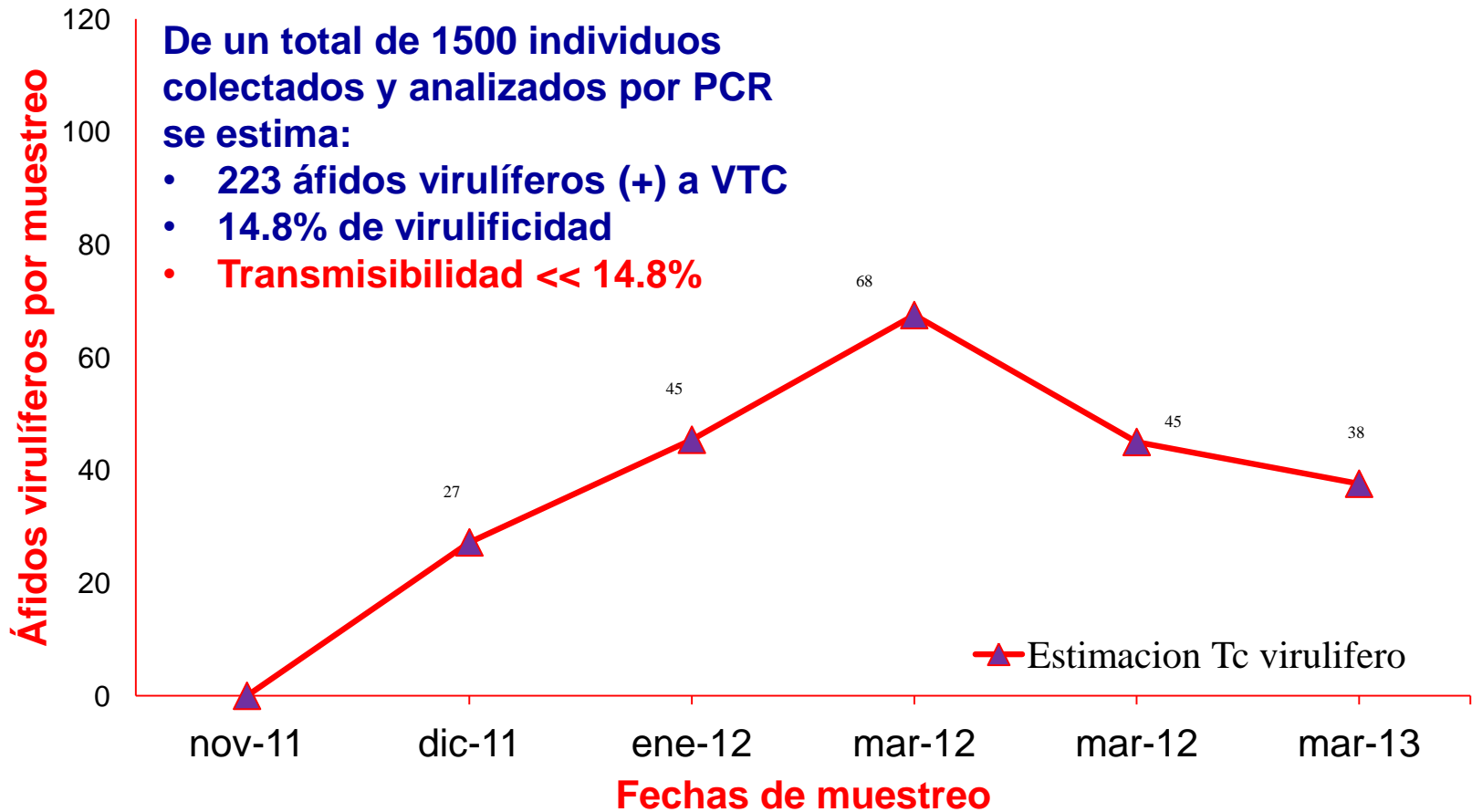
Julio 2011-Julio 2012

- *T. citricida*
- *T. aurantii*
- *A. spiraeicola*
- *A. craccivora*
- *A. gossypii*

Infestación regional de *T. citricida* en huertos comerciales de la Península de Yucatán



Proporción de *T. citricida* virulíferos (+ VTC) en Península de Yucatán



$$\widehat{Afv} = \left(\left(\frac{\#Mu_{Pos}}{\#Mu_{Tot}} \right) (\#Ins_{pr}) \right) * \left(\#Mu_{Pos} \right)$$

\widehat{Afv} = Áfidos virulíferos estimados

$\#Mu_{Pos}$ = Número de muestras positivas

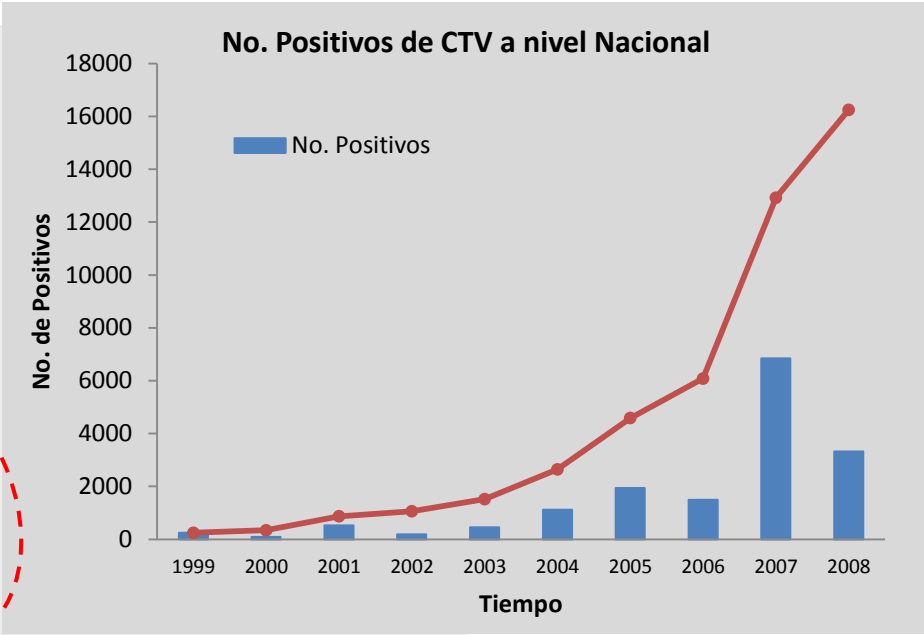
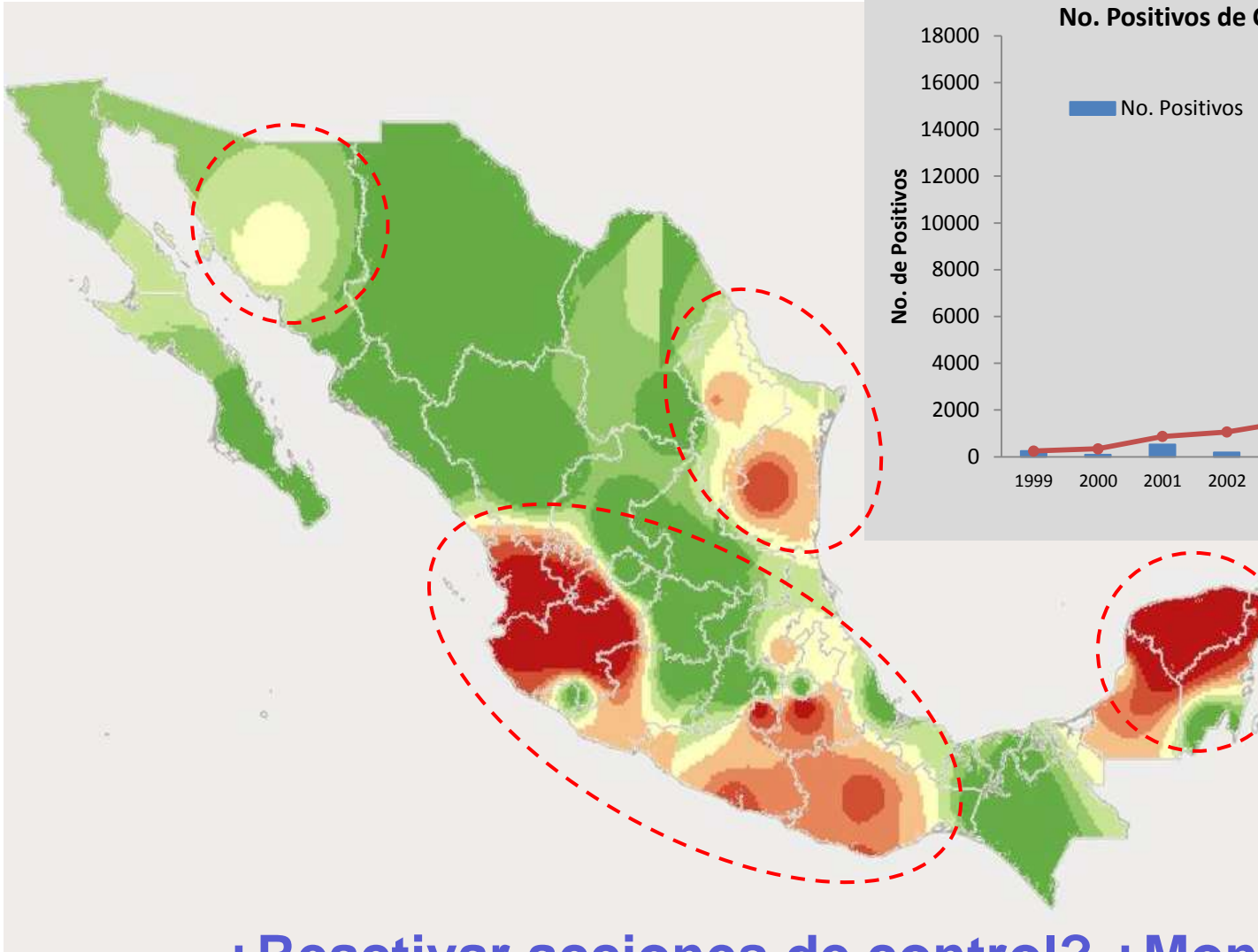
$\#Mu_{Tot}$ = Número de muestras totales

$\#Ins_{pr}$ = Número de insectos procesados

Tesis 3

Una nueva estrategia fitosanitaria podría enfocarse, en una primera fase, a determinar el estatus de razas a nivel regional con énfasis en el vector(es) con el fin de prevenir cambios de intensidad epidémica. Esto puede implicar un modelo de vigilancia transversal a otras plagas de riesgo a cítricos con el propósito de optimizar el beneficio-costos.

Mapa de dispersión de CTV interpolado a nivel nacional y arboles positivos hasta 2008 (NOM-031-FITO-2000).



GIIC con datos de SENASICA a 2008

¿Reactivar acciones de control? ¿Monitoreo?

Pronósticos regionales no indican un inminente riesgo epidémico para el área (P. Yuc.) con mayor tiempo de presencia de *T. citricida*.

Excel spreadsheet titled "Simulación Monte Carlo. CTV en la Península de Yucatán."

1 Simulación Monte Carlo. CTV en la Península de Yucatán.

Bibliografía: Mora-Aguilera, G. y Acevedo, S. G. 2011. Proyección de la incidencia de Tristeza y aparición de haplotipos de CTV en la Península de Yucatán. No Publicado. Colegio de Postgraduados. mora@colpos.mx. Winstan, J.W. 2004. Monte Carlo Simulation in Excel: A Practical Guide at Vortex42.com.

Predicción de la tristeza y aparición de haplotipos del CTV: Caso Península de Yuc

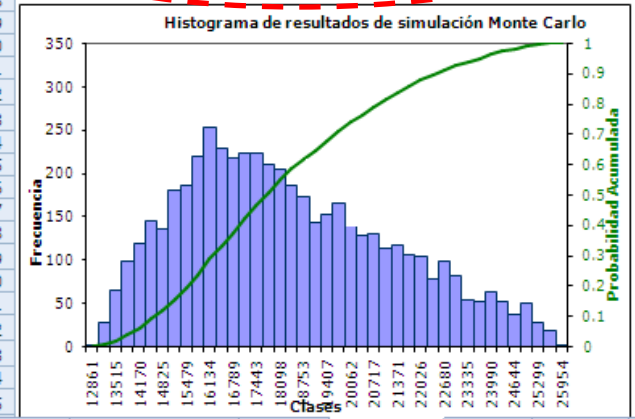
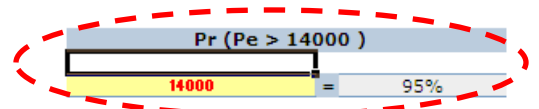
Parámetros (input)

	Valor	Mín	Máx	Est. Estocástica
Índice epidémico, t/b:	0.33	0.21	0.69	0.46
Forma de curva, c:	0.85	0.44	1.26	1.12
Haplotipos <i>A. gossypii</i> , Ha:	0.038	0.030	0.046	0.042
Haplotipos/ <i>T. citricida</i> , Ht:	0.045	0.036	0.054	0.049
No. de plantas totales, Nt:	30,000			
Tiempo de proyección, t:	123 meses = 10 años			

Resultado de la Simulación (n=5000) Nueva Simulación (5000)

	Est. Determinística	Est. Estocástica
No. Haplotipos/ <i>T. citricida</i> :	5.54	6.05
No. Haplotipos/ <i>A. gossypii</i> :	4.67	5.18
No. Plantas Enfermas:	9,608	10,199
No. Plantas a Cosecha:	9,608	10,199
No. Haplotipo prevalente:	3.3	

Simulación Monte Carlo (Reporte Resumido)



Presentación	Gráfico	Modelo	MCsim	Weibull	
Castamag	10,000	502.18	<input type="checkbox"/>	2.55	201.
Cagal	10,000	736.20	<input type="checkbox"/>	0.97	488.
Esperanza	10,000	276.52	<input type="checkbox"/>	2.40	186.
Kuchel	10,000	428.84	<input type="checkbox"/>	0.77	260.
San Manuel	30,000	376.53	<input checked="" type="checkbox"/>	0.85	177.

M. Weibull: $y = 1 - \exp(-t/b)^c$; $b_1, b_2, c_1, y c_2$

Ver Weibull

2. Escenario Epidémico con *T. citricida* en :

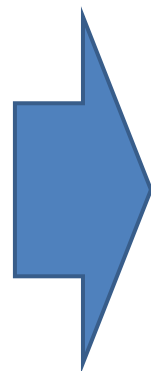
Haplotipos		
Conceptos	No. Haplotipos	Rango
Haplotipos	0.045	±0.0
	20 %	

**En 10 años
33% incidencia
con predominancia
de aislados moderados**

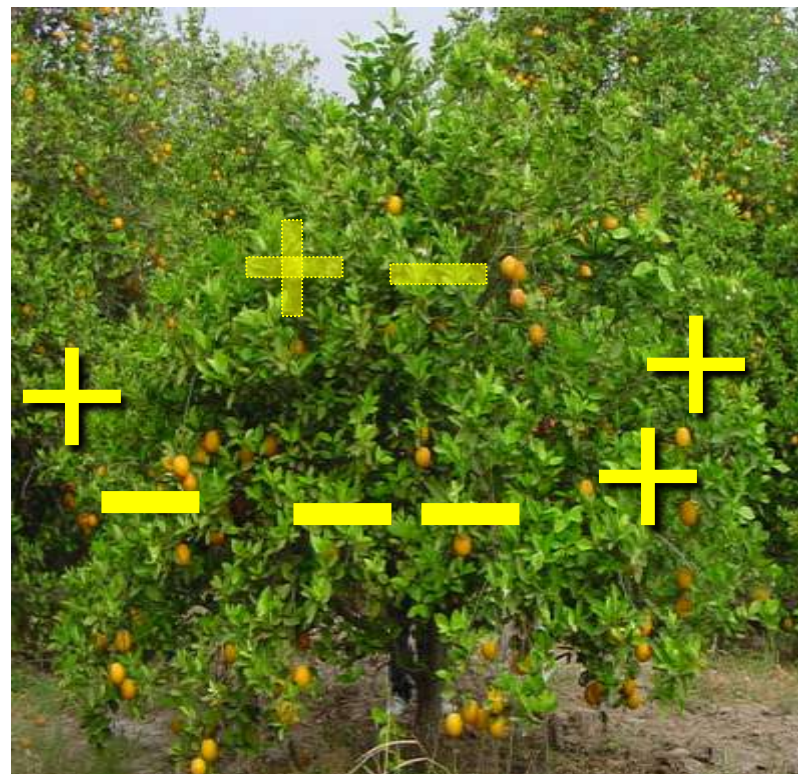
Propuesta: Un enfoque de Monitoreo Nacional por 1-2 ciclos productivos. ¿Qué implica?

Fase 1: áfidos RT-PCR > Secuenciación
RT-qPCR > Carga viral / Riesgo regional

Caso de positivos
Muestreo dirigido en
Un radio de 5 km



Fase 2: Planta RT-PCR > Secuenciación

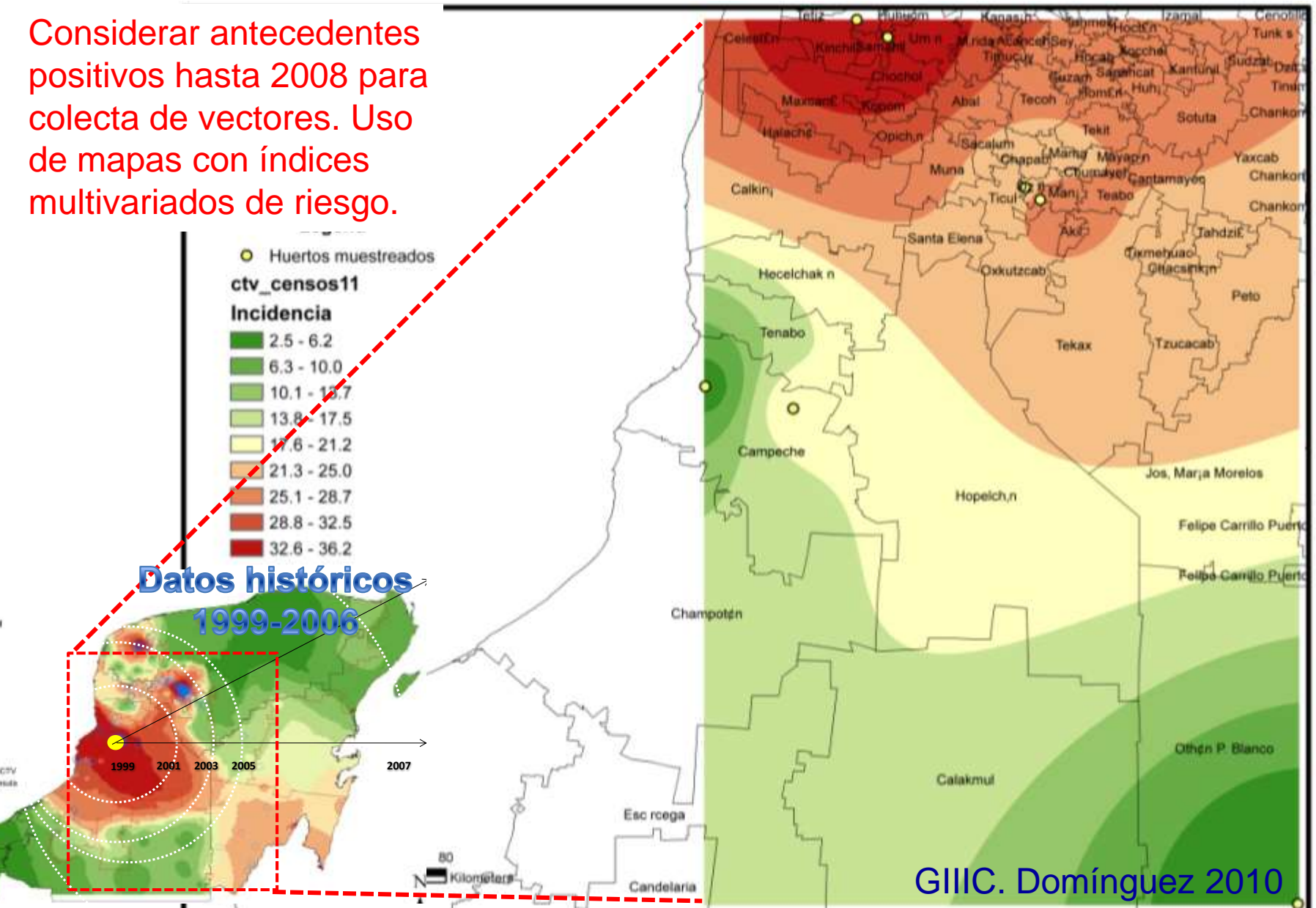


Ruíz et al., 2009.
Gottwald et al., 2002

Fuerte heterogeneidad del virus en la planta y posible supresión de razas severas.

Aplicar el concepto de riesgo regional para fines ponderativos

Considerar antecedentes positivos hasta 2008 para colecta de vectores. Uso de mapas con índices multivariados de riesgo.



CONCLUSIONES, En México:

Aislamientos de tipo severo: Silva-Vara *et al.*, 2001; Loeza-Kuk 2003; Herrera-Isidrón *et al.*, 2009; Iracheta-Cardenas *et al.*, 2010; Hernandez 2013 (en *T. citricida*).
Tamaulipas y NL.

Aislamientos moderados: Rivas-Valencia, 2008; Loeza-Kuk, 2008; Domínguez, 2013; Hernández, 2013.
Veracruz, Tamaulipas, NL, Península de Yucatán

Es recomendable iniciar acciones de monitoreo de razas en vector(es) a nivel regional al menos durante dos periodos productivos.

Se debe continuar con los trabajos de caracterización de razas incluyendo el posible efecto supresivo o de protección cruzada en campo.



Grupo Interdisciplinario Interinstitucional de Investigación en Cítricos (GIIC) y Colaboradores

Nota: En rojo investigadores con aportes a esta ponencia

Emiliano Loeza Kuk INIFAP
Patricia Rivas Valencia INIFAP
Ma. Alejandra Gutiérrez Espinosa CP
Guadalupe Valdovinos Ponce CP
Refugio Lomelí Flores CP
Esteban Rodríguez Leyva CP
Hipólito Cortés Madrigal IPN
Daniel Ochoa Martínez CP
Gustavo Mora Aguilera CP
Ioban Alanis Patiño

Sarah Patiño CP-Ent.
Nuvia Orduño CP-Ent.
Gabriel Hernández CP-Fit
Jorge Flores Sánchez CP-Fit
Fabiola Esquivel Chávez CP-Fit
Santiago Domínguez Monge CP-Fit

Edwin Catarino Chan INIFAP-Est.
Gerardo Acevedo Sánchez CP
Noemí de la Rosa Sánchez CP

Gracias!

FUENTE DE SOPORTE:
SENASICA-DGSV (PM09-4002)

CESVY
CESVQROO
CESVCAM