

DIFERENCIACIÓN MOLECULAR DE RAZAS SEVERAS Y DÉBILES DE AISLAMIENTOS DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS EN MÉXICO

MOLECULAR DIFFERENTIATION OF WEAK AND SEVERE CITRUS TRISTEZA VIRUS ISOLATES IN MÉXICO

Alberto Mendoza*, César Salazar, Omar Alvarado y Ma. Antonia Cruz y Hugo Barrera

Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional. Blvd. del Maestro/Elias Piña, Col. Narciso Mendoza, C.P. 77810. Cd. Reynosa, Tam. Tel. 01 (899) 924-3627. Fax: 01 (899) 925-1656. Correo electrónico: amendoza@mail.cbg.ipn.mx

* Autor responsable

RESUMEN

La tristeza de los cítricos es la enfermedad viral más importante de los cítricos a nivel mundial, debido a que en los últimos 20 años ha causado la muerte de más de 100 millones de árboles en América del Sur, Estados Unidos, Israel y España. El Citrus Tristeza Closterovirus (Virus de la Tristeza de los Cítricos, VTC) se transmite principalmente por el áfido *Toxoptera citricida* y por material vegetativo infectado (injertos). El áfido *T. citricida* ha sido recientemente detectado en el sureste de México. La presencia del virus y del áfido en el territorio mexicano es relevante, ya que la mayoría de las plantas comerciales (> 90 %) están injertadas sobre naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) que es susceptible al VTC, por lo que se podría ocasionar una epidemia. La caracterización molecular de diferentes razas, la cual incluye la secuenciación completa del genoma del VTC, ha abierto la puerta para hacer diversos estudios encaminados a contrarrestar los daños causados por este complejo viral. Este trabajo de investigación tuvo como objetivo desarrollar un método para diferenciar razas del VTC, basado en la caracterización molecular del genoma viral. Para lograrlo, se amplificó la secuencia del gen de la cápside, posteriormente se buscaron polimorfismos con enzimas de restricción que permitieran diferenciar razas débiles de severas. Los resultados mostraron que al realizar los RFLPs mediante la enzima *Hae* III se lograron diferenciar las razas débiles (CBG-T2, CBG-V2) de las severas (CBG-NL1, CBG-NL2, CBG-VI, H33). De igual forma, el uso de la enzima *Kpn* I discriminó las razas que ocasionan picado de tallo de las que inducen el declinamiento. Los dendogramas derivados del alineamiento múltiple de las secuencias de aminoácidos mostraron la separación de las razas débiles de las severas. El análisis de la secuencia nucleotídica del gen p25 en las posiciones 49, 63 y 124 mostró a los aminoácidos glicina y treonina y fenilalanina presentes en las razas severas, que parecen involucrados en la patogenicidad del VTC.

Palabras clave: VTC, raza débil, raza severa, picado del tallo, declinamiento

SUMMARY

The Citrus Tristeza Closterovirus (CTV) is the more important viral disease of citrus trees in the world. Over 100 million trees were lost in the past 20 years in South America, U.S.A, Israel and Spain. The CTV is transmitted by the aphid *Toxoptera citricida* and by infected vegetative material. The presence of the virus and the aphid in the Mexican territory constitute a real menace, since most of the commercial plants (> 90 %) are grafted on *C. aurantium* which is susceptible to CTV, so there could be an epidemic. The molecular characterization of different races, including the complete genome sequence of the CTV, has allowed progresses in obtaining transgenic citric cultivars resistant to this virus. This study was aimed to develop a method for the differentiation of CTV races, based on the molecular characterization of the viral genome. For that purpose we amplified the coat protein gene, and we examined its polymorphisms with restriction enzymes that might allow differentiation between weak and severe races. Our results show that using the enzyme *Hae* III in PCR products of the gene p25, was possible to relate its genetic profiles to the different CTV races. The use of *Hae* III allowed to distinguish the weak (CBG-T2, CBG-V2) from the severe (CBG-NL1, CBG-NL2, CBG-V1, H33) races. Furthermore, the enzyme *Kpn* I allowed to differentiate those races causing stem pitting from those inducing decline. The analysis of the sequence of the gene p25 showed three possible amino acids (glycine, threonine and phenylalanine) in positions 49 and 63 and 124, respectively, that could be involved in the pathogenicity of the CTV, since they are conserved in the severe races.

Index words: CTV, weak race, severe race, stem pitting, tree decline.