

PRESENCIA DE ALGUNOS VIROIDES DE CITRICOS EN COSTA RICA

William Villalobos y Carmen Rivera

Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica

Rosemarie Hammond

Molecular Plant Pathology Laboratory, USDA/ARS, Beltsville, Maryland, USA

Los cítricos en Costa Rica han tomado un lugar importante como cultivo no tradicional. Actualmente se encuentran cultivadas en el país aprox. 20 mil hectáreas, siendo la zona norte la principal productora de esta fruta. La especie más cultivada es la naranja dulce (*Citrus sinensis*), pero además se cultivan limón (*C. limon*), "grapefruit" (*C. paradisi*) y mandarina (*C. deliciosa*). La mayoría de estas especies se injertan sobre patrones trifoliados (*Poncirus trifoliata*) los cuales son resistentes al virus de la tristeza de los cítricos (CTV), pero a su vez susceptibles a viroides. Debido a informes previos de enanismo de las plantas y de agrietamiento en la base de los árboles, y al antecedente de la susceptibilidad del patrón trifoliado, es posible esperar la presencia de viroides en los cultivos de cítricos locales.

Para identificar las diferentes razas de viroides que están afectando los cítricos en nuestro país, se tomaron muestras de la corteza de un total de 48 árboles (*Citrus sinensis* y *C. limon*) de las tres principales zonas productoras de Costa Rica y de la Estación Experimental Fabio Baudrit en

Alajuela. De las muestras de campo colectadas y de algunos controles sanos se extrajeron los ácidos nucleicos totales (ANT), a partir de los cuales se purificaron los viroides empleando cloruro de litio y resina CF11. Mediante comparación de los patrones electroforéticos (geles de dos dimensiones y retorno) de las plantas procedentes del campo con los de las plantas sanas se logró detectar la presencia de viroides. Los ANT de las plantas positivas para viroides se sometieron a hibridaciones sobre papel de nylon (Northern Blot), las cuales se revelaron con sondas específicas para citrus exocortis viroid (CEVd) y citrus viroid II (CVd-IIa y CVd-IIb), y a PCR empleando imprimadores para CEVd, CVd-I, CVd-IIa, CVd-IIb, CVd-IIIb y CVd-IVa.

Mediante los análisis mencionados se logró identificar la presencia en las plantaciones comerciales de cítricos en Costa Rica de: CEVd, CVd-Ib, CVd-IIa y IIb (cachexia), y CVd-IIIb; éstos pertenecen a cuatro de los cinco grupos de viroides para cítricos reportados en la literatura. En la mayoría de las plantas infectadas se encontró infección mixta por dos o más viroides.

Viroides	Numero de árboles infectados			
	Nicoya	La Cruz	San Carlos	Alajuela
CEVd	2	5	7	-
CVd-Ib	7	-	-	-
CVd-IIa	9	1	7	2
CVd-IIb	3	6	11	2
CVd-IIIb	9	1	7	-
CVd-IV	-	-	-	-

El presente trabajo ha revelado información importante sobre los viroides de cítricos en Costa Rica, sin embargo para conocer la distribución real de los viroides de cítricos en el país es necesario hacer un muestreo mayor empleando

un mayor número de imprimadores específicos que permitan identificar otros viroides de cítricos aún no identificados.