

Reunión Técnica QIA – SAG

Resultados Prospección: ToRSV/TRSV

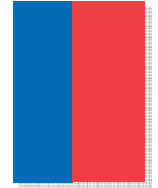


**Gobierno
de Chile**

Marco Muñoz Fuenzalida
Jefe Subdepto. Vigilancia y Control Oficial Agrícola

4 de Julio de 2012, Santiago-Chile

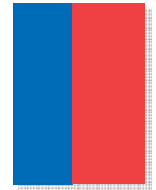
Tópicos



1. Introducción: Tomato ring spot virus (ToRSV) y Tobacco ring spot virus (TRSV) en Chile.
2. Prospección virus: ToRSV y TRSV.
3. Medidas de Control y mitigación.



2. Situación ToRSV y TRSV en Chile

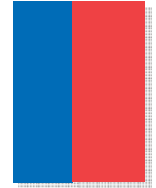


ToRSV

- **Hospedantes:** Frutilla, manzano, damasco, duraznero, ciruelo, cerezo, guindo, *Rubus* spp.(mora, frambueso), vid, membrillero, peral, arándano, melón, pepino, pimiento, sandia, zarzaparrilla, tomate.
- **Distribución**
Desde zona central hasta al sur del país.



1. Situación ToRSV y TRSV en Chile



ToRSV

Síntomas en arándano

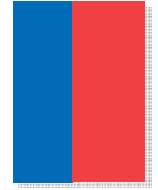
- Requiere algunos años para la manifestación de síntomas: Las plantas son más pequeñas y menos vigorosas.
- En hojas jóvenes: distintos grados de mosaicos, las que también tienden a ser alargadas y deformes.
- Los brotes pueden presentar manchas necróticas. Eventualmente las ramas pueden decaer y morir las plantas afectadas.
- Menor calidad y producción de fruta
- En las variedades: Atlantic, Bluecrop, Blueray, Dixi y Jersey la infección avanza lentamente



La incidencia de este virus es muy baja en el cultivo de arándano en el país.



2. Situación ToRSV y TRSV en Chile

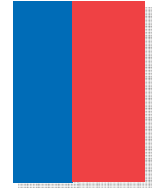


TRSV

- **Hosts:** arándano, *lilium* sp. (lilium), tomate.
- **Distribución**
Desde la Región de Coquimbo hasta La Araucanía y Los Ríos.



2. Situación ToRSV y TRSV en Chile



TRSV

Síntomas en arándano

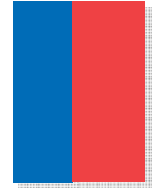
- Varían en agresividad según el cultivar.
- Las hojas presentan lesiones necróticas de 2-3 mm. de diámetro.
- Las plantas son de menor tamaño y los brotes crecen en forma de roseta debido a presentan entrenudos cortos.



La incidencia de este virus es muy baja en el cultivo de arándano en el país.



Prospección Tomato ringspot virus (ToRSV) y Tobacco ringspot virus (TRSV)



ANTECEDENTES GENERALES

Objetivo

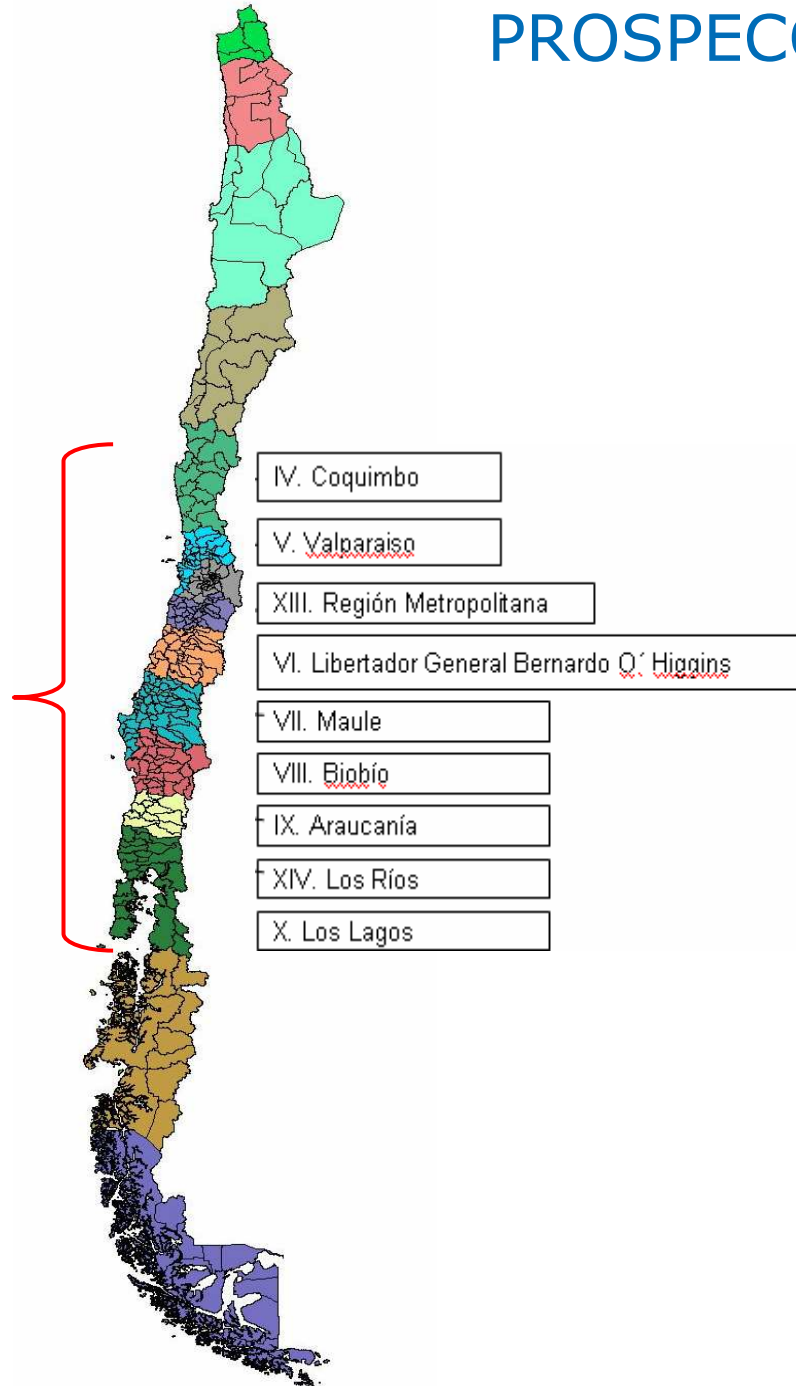
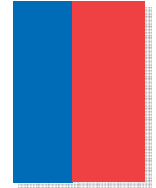
- Generar información técnica sobre la incidencia de los nepovirus ToRSV y TRSV en cultivos de arándanos.

Actividad analítica

- Laboratorio de Virología Agrícola, Subdepto. Laboratorios y Estación de Cuarentena Agrícola, Lo Aguirre del SAG.



PROSPECCIÓN



- **Muestreo dirigido a síntomas** de ambos virus en el área productiva de arándanos.
- **Época:** Noviembre y Diciembre.
- **¿Por qué durante estos meses?**
Altas temperaturas permiten una mayor expresión de síntomas.
- Se prospectaron **116 huertos** entre la regiones de Coquimbo y Los Lagos.
- **La Prospección representa más del 10 % de la superficie total productiva de arándanos del país.**



Número de huertos prospectados y muestras colectadas por región

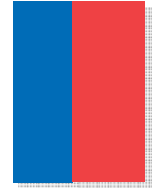


Región	N° Huertos	Hectáreas	N° total muestras
Coquimbo	4	25	8
Valparaíso	2	23	4
Metropolitana	3	64	6
General Bdo. O'Higgins	13	115	26
Maule	27	528	54
Bio Bío	18	340	36
Araucanía	29	874	58
Los Ríos	4	169	8
Los Lagos	16	561	32
Total	116	2.699	232

Superficie productiva de arándanos en Chile:10.763 ha (Censo Frutícola, 2007)



Muestreo



Sitio de Prospección (estación)

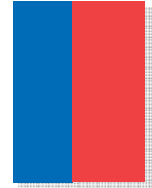
- Es la superficie representativa del cultivo donde se realiza la inspección (examen visual oficial de plantas), detección y evaluación de plagas presentes.
- Dentro del huerto debe seleccionarse el tamaño del Sitio de prospección según la superficie de éste, de acuerdo al cuadro 1.

Cuadro 1. Selección del Sitio de Prospección.

Superficie de cultivo (ha)	Sitio a prospectar
< 1 ha	total
1 – 5 ha	1 ha
>5 < 12 ha	2 ha
>12 < 30 ha	4 ha
>30 ha	5 ha

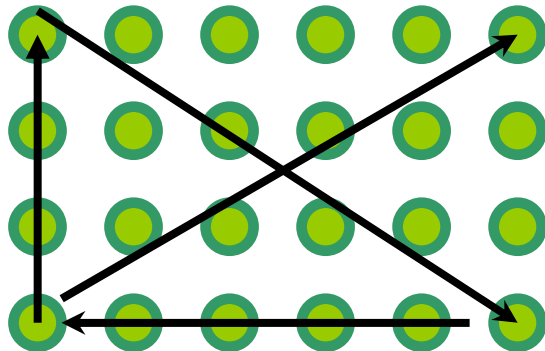


Muestreo



Recorrido

- Recorrer el predio en diagonal o en z (figura 1).
- Objetivo → identificar plantas con síntomas sospechosos a los nepovirus.



(figura 1)

Número de muestra/ estación

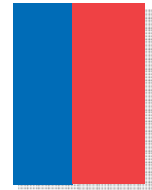
- 2 muestras/estación.

Tipo de muestra

- Muestra:
8 ramillas terminales (crecimiento de la temporada anterior) de 15 cm de largo, provenientes de 4 plantas diferentes.



MÉTODOS DE ANÁLISIS



- Las muestras fueron analizadas mediante 2 técnicas: ELISA y PCR.

Técnica Serológica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

- Los fabricantes utilizados: Agdia (USA) y Prime Diagnostic (Holanda), ambos kit de tipo Policlonales.
- En cada reacción se incluye un control positivo y negativo.

Técnica molecular PCR (Polymerase chain reaction)

- Método de extracción de Litio (obtención de RNA total de cada.
- Primers:

ToRSV

D1 5' - TCCGTCCAATCACGCGAATA -
3' antisense

U1 5' - GACGAAGTTATCAATGGCAGC - 3' sense

Griesbach et al. (1995) (449 bp)

94°C 5 min
94°C 45 seg
59°C 1 min - 35 cicles
72°C 1 min
72°C 7 min

TRSV

TRSV - R 5' -ACTTGTGCCAGGAGAGCTA
- 3' antisense

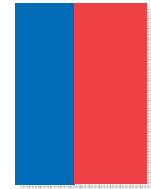
TRSV - F 5' -CTTGCGGCCCAAATCTATAA -
3' sense

Jossey & Babadoost (2006) (351 bp)

94°C 5 min
94°C 45 seg
54°C 45 seg - 35 cicles
72°C 45 seg
72°C 7 min



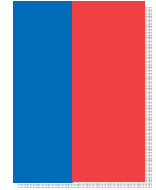
RESULTADOS



Región	N° muestras analizadas	Resultados ELISA (ToRSV- TRSV)	Resultados PCR (ToRSV- TRSV)
Coquimbo	8	Negativo	Negativo
Valparaíso	4	Negativo	Negativo
Metropolitana	6	Negativo	Negativo
General Bdo. O'Higgins	26	Negativo	Negativo
Maule	54	Negativo	Negativo
Bio Bío	36	Negativo	Negativo
Araucanía	58	Negativo	Negativo
Los Ríos	8	Negativo	Negativo
Los Lagos	32	Negativo	Negativo
Total	232	100% Negativo	100% Negativo

Los resultados confirman que la incidencia y el impacto económico causado por estos virus en el cultivo de arándano es muy baja, considerando que la prospección realizada cubre más del 10% del área productiva del cultivo a nivel nacional.

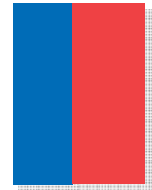




3. Control y medidas de mitigación para ToRSV y TRSV en huertos comerciales de arándanos

- **Control preventivo.**
- **Análisis de nematodos antes de la plantación.**
- **Evitar plantar en suelos contaminados con *Xiphinema* sp.**
- **Si esto no es posible, fumigar el suelo e incorporar estiércol maduro.**
- **Utilizar material vegetal libre de virus, los que provienen de viveros inscritos en el SAG, la mayoría de las plantas proviene de material in vitro.**





3. Control y medidas de mitigación para ToRSV y TRSV en huertos comerciales de arándanos

- **Control de malezas (hospedantes alternativos)**
- **Colectar muestras de plantas sospechosas durante primavera para análisis de virus mediante las técnicas de ELISA y RT-PCR**
- **Eliminar plantas infectadas incluyendo raíces y suelo circundante.**
- **Analizar plantas vecinas de la misma hilera y las cercanas.**
- **Si es que son positivas eliminar las plantas y analizar nuevamente las plantas cercanas al foco.**



Muchas Gracias

Marco Muñoz Fuenzalida

Jefe Subdepto. Vigilancia y Control Oficial Agrícola

marco.munoz@sag.gob.cl



Gobierno
de Chile

www.gob.cl