

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Origen y distribución de los Cítricos	5
2.2 Importancia económica de la citricultura	5
2.3 La tristeza de los cítricos: Origen y distribución	8
2.3.1 Virus de la tristeza de los cítricos	12
2.3.2 Principal vector del virus de la tristeza de los cítricos: <i>Toxoptera citricidus</i>	12
2.4 El virus de la tristeza de los cítricos en México.	13
2.5 Diagnóstico del virus de la tristeza de los cítricos.	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
A. Materiales	
3.1 Material	19
3.1.1 Controles positivos	19
3.1.2 Controles negativos	19
3.1.3 Reactivos empleados	19
3.2 Equipo	21
B. Métodos	
3.3 Instrumentación de la técnica de inmunoabsorción ligada a enzima (ELISA) para su uso rutinario en el laboratorio.	22
3.3.1 Ingenasa	22
3.3.2 Sanofi	24
3.3.3 Agdia	24
3.4 Comparación de los anticuerpos de las compañías comerciales: Ingenasa, Sanofi y Agdia en cuanto a la capacidad de diagnóstico y sensibilidad.	26
3.4.1 Determinación de la capacidad de diagnóstico	26
3.4.2 Determinación de la sensibilidad	26
3.5 Diagnóstico del virus de la tristeza de los cítricos en el municipio de Oxfutzcab	27
3.5.1 Área de estudio	27
3.5.2 Colecta de las muestras	28

3.5.3 Diagnóstico del CTV de las muestras colectadas	29
4. RESULTADOS	30
4.1 Instrumentación de la técnica de inmunoadsorción ligada a enzima (ELISA) para su uso rutinario en el laboratorio.	30
4.2 Comparación de los anticuerpos de las marcas comerciales: Ingenasa, Sanofi y Agdia en cuanto a la capacidad de diagnóstico y sensibilidad.	33
4.2.1 Determinación de la capacidad de diagnóstico.	33
4.2.2 Determinación de la sensibilidad	33
4.3 Diagnóstico del CTV en el municipio de Oxfutzcab.	38
5. DISCUSIÓN	44
6. CONCLUSIÓN	50
7. SUGERENCIAS	52
8. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	53
APÉNDICE	58

LISTA DE TABLAS

TABLA I. Principales países productores de naranja. Datos de 1991 (F.A.O.).	7
TABLA II. Países de América severamente afectados por el CTV. Se señalan los años de su introducción, así como el período durante el cual causó los daños más severos.	11
TABLA III. Comparación de los protocolos de la técnica de ELISA de las marcas comerciales: Ingenasa, Sanofi y Agdia.	25
TABLA IV. Valores de los resultados del ANDEVA de una vía para las preparaciones positivas analizadas entre las diferentes marcas comerciales: Ingenasa, Sanofi y Agdia. Las marcas de anticuerpos subrayadas son estadísticamente iguales.	32

TABLA V. Valores de los resultados del ANDEVA de una vía para las muestras de condición fitosanitaria desconocida analizadas por los anticuerpos de las tres marcas comerciales empleadas. Las marcas de anticuerpos subrayadas son estadísticamente iguales.	34
TABLA VI. Valores de los resultados del ANDEVA de una vía para las diluciones de las preparaciones positivas analizadas por las tres diferentes marcas comerciales empleadas.	36
TABLA VII. Listado de los pozos de riego correspondientes al municipio de Oxfutzcab. Los pozos seleccionados se encuentran marcados con asteriscos.	39
TABLA VIII. Resultados de los pozos de riego muestreados del municipio de Oxfutzcab	42

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Distribución del CTV y <i>Toxoptera citricida</i> en América	14
FIGURA 2. Pasos principales de la técnica de ELISA	17
FIGURA 3. Resultados del análisis de las preparaciones positivas y controles negativos con los anticuerpos de Ingenasa, Sanofi y Agdia. T-300 y T-308: controles positivos, CPS: control positivo Sanofi, CPA: control positivo Agdia, CN: control negativo y CNS: control negativo Sanofi.	31

FIGURA 4. Resultados de las muestras de condición fitosanitaria desconocida analizadas con los anticuerpos de Ingenasa, Sanofi y Agdia. Muestras: 1,2,3,4, y 5; CN: control negativo y CP: control positivo	35
FIGURA 5. Resultados del análisis con los anticuerpos de Ingenasa, Sanofi y Agdia para las diluciones de las preparaciones positivas T-300 y T-308. Diluciones: A,B,C,D, y E; CN: control negativo; CP: control positivo	37
FIGURA 6. Area de estudio. Municipio de Oxfutzcab. Se señalan con un punto negro los pozos de riego muestreados	41
FIGURA 7. Resultados del primer muestreo realizado el 20 de nov. de 1993. A excepción del árbol 8, todos son positivos a CTV.	43
FIGURA 8. Resultados del muestreo realizado el 26 de julio de 1994 para verificar el estado fitosanitario de los ocho árboles positivos a CTV	43

RESUMEN

El virus de la tristeza de los cítricos (CTV) es el causante de una de las enfermedades más importantes debido a su efecto devastador, la tristeza de los cítricos. La diseminación de este virus ocurre naturalmente por áfidos y mediante prácticas de cultivo por el hombre. En México las plantaciones citrícolas han sido establecidas sin control fitosanitario y utilizando materiales provenientes de diversas partes del mundo donde el CTV es endémico, por lo tanto es posible que esta enfermedad se encuentre latente en nuestro país. Las plantaciones citrícolas del estado de Yucatán, no son la excepción. Por tal motivo, en este trabajo se plantea el diagnóstico preliminar con respecto al CTV en el principal municipio citrícola del Estado de Yucatán, Oxfutzcab, mediante la técnica de inmunoabsorción ligada a enzima (ELISA). Para lo cual se comparó la especificidad y sensibilidad de los anticuerpos de las marcas comerciales Ingenasa, Sanofi y Agdia; cuyos resultados de absorbancia fueron evaluados mediante el análisis de varianza de una vía y la prueba de Tukey para la comparación de medias. Para el diagnóstico se muestrearon un total de 1204 árboles en el municipio de Oxfutzcab aplicando el método estadístico de conglomerados en dos etapas. El muestreo se realizó durante los meses de octubre de 1993 a marzo de 1994. Las muestras fueron analizadas mediante la prueba de ELISA empleando los anticuerpos de la marca Ingenasa. Los resultados experimentales y estadísticos señalan que los anticuerpos de Sanofi e Ingenasa son confiables para diagnosticar la presencia del CTV. Con respecto al diagnóstico ocho árboles resultaron positivos al CTV. En un segundo monitoreo realizado para verificación de estos árboles positivos, los resultados no fueron corroborados. Por lo tanto el diagnóstico para este monitoreo es negativo al CTV. Sin embargo, no debe descartarse la posibilidad de que este virus pueda estar presente en las plantaciones citrícolas del Estado, por lo que es recomendable realizar monitoreos periódicos en las plantaciones del Estado de Yucatán.