

## **INICIO DE LA ERRADICACIÓN DEL AVOCADO SUNBLOTCH VIROID (ASBVd) Y POTATO SPIDLE TUBER VIROID (PSTVD) EN PALTO**

C. Barrera y H. Rojas

Dirección de Extensión del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) Av. La Molina 1981 Casilla 2791 Lima Perú. Correo electrónico [cbarrera@inia.gob.pe](mailto:cbarrera@inia.gob.pe)

Muestras de follaje de 473 plantas de palto (*Persea americana* Mill) de 35 cultivares del Centro Experimental La Molina del INIA fueron colectadas para evaluar la presencia de los viroides Avocado sunblotech Viroid (ASBVd) y Potato spindle tuber viroid (PSTVd) La detección de ambos viroides se realizó en los laboratorios del Centro Internacional de la Papa (CIP) para el que se utilizó la técnica de hibridación de ácidos nucleicos (NASH). Del total de muestra evaluadas, 93 (19.6 %) y 55 (11.6 %) resultaron infectadas con ASBVd y PSTVd respectivamente. Los cultivares en los que se registraron la presencia de infecciones mixtas fueron Villacampa, Collinred, Naval, Hass y Bacon. Todas las plantas que resultaron infectadas fueron descartadas con la finalidad de evitar la diseminación de ambos viroides. En la actualidad se tienen identificadas plantas madres libres de ambos patógenos a partir del que se están generando portainjertos y yemas para multiplicar material de propagación de calidad. En el futuro estos resultados permitirán que los viveristas mejoren la calidad de los plantones que producen, los agricultores tengan acceso a plantas de mejor calidad y la exportación de la palta tenga sostenibilidad en el tiempo.

## **PRELIMINARY RESULTS OF ERADICATION OF AVOCADO SUNBLOTCH VIROID (ASBVd) AND POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVd) IN AVOCADO**

C. Barrera and H. Rojas

Dirección de Extensión del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) Av. La Molina 1981 Casilla 2791 Lima Perú Telefax (51-1) 349-2600. Correo electrónico [cbarrera@inia.gob.pe](mailto:cbarrera@inia.gob.pe)

Leaf samples of 473 avocado (*Persea americana* Mill) plants of 35 varieties grown at La Molina Experimental Station – INIA, Peru, were studied to identify the Avocado sunblotch viroid (ASBVd), and the Potato spindle tuber viroid (PSTVd). Detection of the two viroids was carried out at the International Potato Center's laboratories, La Molina, Peru by means of the nucleic acid spot hybridization (NASH) technique. Our first results show that 93 (19.6%), and 55 (11.6 %) of the studied samples were infected by ASBVd and PSTVd respectively. The varieties showing the two diseases were: villacampa, collinred, naval, hass, and bacon. All the plants showing to be NASH positive were rooted out and burned to prevent dissemination of the viroids. We have currently identified viroid-free plants to propagate avocado either as rootstocks, buds for grafting, or the two strategies. Our results will benefit nursery avocado activities, and avocado growers, which in turn will result in a sustainable commercialization domestically and abroad.

Key words: sunblotch, viroid detection, avocado, potato spindle tuber viroid

## INTRODUCCION

En el Perú en los últimos años, la exportación de palto ha experimentado un incremento significativo al pasar de 5 millones de dólares americanos en el 2002 a 38 millones en el 2006 (Grozo José et al 2006). Sin embargo, en estos años las innovaciones tecnológicas no han recibido la suficiente atención como para mantener un crecimiento sostenido. La enfermedad llamado avocado sunblotch viroid (ASBVd) o “manchado solar” constituye una de las principales limitaciones fitosanitarias de la producción de palto; en el Perú este viroide fue detectado tanto en plantaciones comerciales como en los viveros (Vargas et al 1991). En trabajos de detección de ASBVd se llegaron a identificar también la presencia del viroide potato spindle tuber viroid (PSTVd) en palto (Querci et al 1995). Trabajos de diagnosis en el laboratorio utilizando la técnica de hibridación de ácidos nucleicos, permitieron optimizar la detección de ambos viroides (Salazar et al 1988), esta técnica tiene la virtud de ser confiable y rápida como para procesar un gran número de muestras con fines de indexación. En el presente trabajo utilizando NASH se pretende erradicar ambos viroides en las plantaciones de palto del INIA y contribuir a generar material de propagación de calidad para luego poner a disposición de los viveristas.

## MATERIALES Y METODOS

Se enumeraron cuidadosamente las 473 plantas de los 35 cultivares de palto instaladas en el campo del Centro Experimental La Molina del Instituto Nacional de Investigación Agraria, quedando al final cada planta de palto identificada con un número .

En cada planta se tomaron hojas provenientes de tres ramas diferentes, las cuales fueron luego colectadas en bolsas de polietileno; cada bolsa fue identificada con el número de la planta de la cual fueron tomada la muestra, una vez que se colectaron las muestras fueron llevadas al laboratorio para el respectivo procesamiento. De cada muestra se tomó una pequeña sub muestra de aproximadamente 1 gramo, para lo que se utilizó un sacabocado; cada sub muestra fue colocada en otra bolsa de polietileno debidamente identificada.

Las sub muestras fueron maceradas para extraer primero la savia y los ácidos nucleicos utilizando el método descrito por Salazar et al, 1988. De los ácidos nucleicos extraídos 4ul fueron aplicados en una membrana de nitrocelulosa, luego se fijaron a 80 °C por 2 horas. Las membranas fueron hibridizadas con sonda de fósforo 32. En cada membrana fueron incluidas muestras infectadas y sanas como controles positivos y negativos de la prueba respectivamente.

## RESULTADOS

De las 473 plantas evaluadas, 93 (19.6 %) y 55 (11.6 %) resultaron infectadas con ASBVd y PSTVd respectivamente. Los principales síntomas producidos por la presencia de ASBVd fueron amarillamiento tanto en hojas como en frutos acompañados de depresiones en la superficie de estos últimos. En cambio las plantas infectadas con PSTVd mostraron una marcada proliferación de la inflorescencia acompañada de la presencia de ramas erectas. Los cultivares en los que se registraron la presencia de ambos viroides (infecciones mixtas) fueron *villacampa*, *collinred*, *naval*, *hass* y *bacon* en los que se observaron además de los síntomas descritos una marcada reducción del tamaño de la planta, desarrollo lateralizado y carencia en la fructificación.

## DISCUSION

Los resultados obtenidos son muy importantes porque han permitido identificar plantas sanas e infectadas (no deseables) las cuales fueron inmediatamente descartadas del campo. Todas las plantas que resultaron libres de infección fueron nuevamente evaluadas con la finalidad de evitar posibles escapes. Esta técnica que rutinariamente es utilizada en el CIP para la detección de Potato spindle tuber viroid en papa, fue exitosamente adaptada para utilizarla en la detección de ASBVd y PSTVd en palto, técnica que permitirá iniciar la generación de plantas madres. No obstante que NASH es una técnica sensible que permite evaluar grandes números de muestras, actualmente hay la necesidad de innovarla para no depender del fósforo 32, reactivo que complica su uso rutinario

## CONCLUSIONES

La prueba de hibridación de ácidos nucleicos ha permitido al INIA identificar plantas madres de palto libres de ASBVd y PSTVd, a partir del cual se están generando material de propagación de calidad para los viveristas. Esperamos que este trabajo brinde el soporte tecnológico en el tema de sanidad a las futuras actividades de agro exportación.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen la colaboración del Dr. Luis Salazar del Centro Internacional de la papa y del Dr. Carlos Arbizu por sugerencias y comentarios en el desarrollo del presente artículo

## BIBLIOGRAFIA

1. Grozo Jose, L. Riva y B. Catacora. 2006. Palto: Producto en ascenso *In* Inform@cción Agraria (39): 08 y 09.
2. Querci, M., R.A. Owens, C.Vargas and L.F. Salazar. 1995 Detection of Potato Tuber Viroid in Avocado Growing in Perú. *Plant Disease* 79:196 – 202.
3. Salazar, L. F., I. Balbo and R.A. Owens. Comparison of four radioactive probes for the diagnosis of potato spindle tuber viroid by nucleic acid spot hybridization. *Potato Research* 31: 431-442.
4. Vargas, C. O., Querci, M., and Salazar, L. F. 1991. Identificación y estado de diseminación del viroide del manchado solar del palto (*Persea americana* L.) en el Perú y la existencia de otros viroides en palto. *Fitopatología* 26: 23 – 27