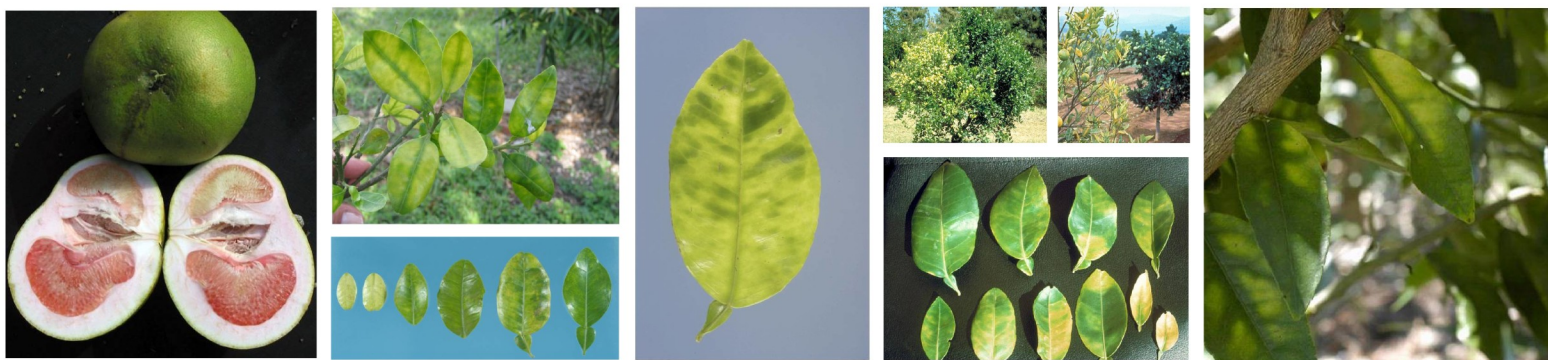




Con la colaboración del Dr. Gustavo Mora Aguilera  
Colegio de Postgraduados

## Ficha Técnica **HLB** *Huanglongbing*



### Identidad

#### Nombre.

*Candidatus Liberibacter* spp.

#### Sinonimia.

Especie asiática	Especie africana	Especie americana
<i>Candidatus Liberobacter asiaticus</i>	<i>Candidatus Liberobacter africanus</i>	<i>Candidatus Liberobacter americanus</i>
<i>Candidatus Liberobacter asiaticum</i>	<i>Candidatus Liberobacter africanum</i>	<i>Candidatus Liberobacter americanum</i>
<i>Liberibacter asiaticus</i>	<i>Liberibacter africanus</i>	<i>Liberibacter americanus</i>
' <i>Candidatus Liberobacter asiaticus</i> '*	' <i>Candidatus Liberobacter africanus</i> '*	' <i>Candidatus Liberobacter americanus</i> '*

#### Taxonomía.

**Clase:** *Alphaproteobacteria*

**Orden:** *Rhizobiales*

**Familia:** *Rhizobiaceae*

**Género:** *Candidatus Liberibacter*

**Especie:** '*Candidatus Liberibacter africanus*' (Jagoueix *et al.*, 1994)  
'*Candidatus Liberobacter asiaticus*' (Jagoueix *et al.*, 1994)  
'*Candidatus Liberibacter americanus*' (Texeira *et al.*, 2005b)

#### Nombre común.

**Español:** Enfermedad de los brotes amarillos,  
Dragón amarillo

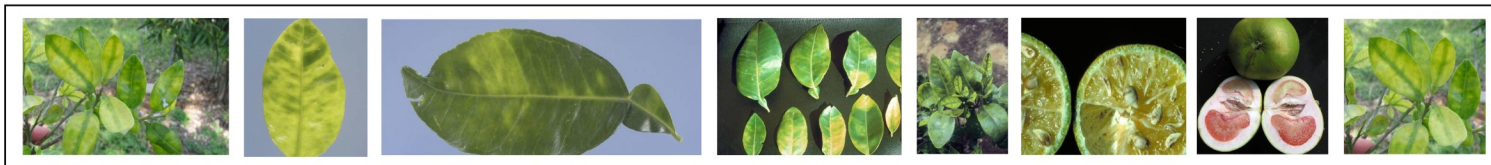
**Inglés:** Huanglongbing, Greening

#### Código EPPO (32):

Especie asiática	Especie africana	Especie americana
LIBEAS	LIBEAF	LIBEAM

#### Categoría reglamentaria:

Plaga Presente (P5), existen reportes de su presencia en Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Chiapas, Hidalgo, Baja California Sur y San Luis Potosí (SENASICA, 2011).



## HOSPEDEROS.

El HLB es una enfermedad que afecta plantas de la familia Rutaceae (Cuadro 1). Afecta severamente a la naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y tangerina (*Citrus deliciosa*) pero muchas otras especies de cítricos

enfermedad con diferentes niveles de expresión. Las afectaciones son menores o inexistentes en naranja trifoliada con sus híbridos, lima mexicana (*Citrus aurantifolia*) y pomelo (*Citrus paradisi*) (INISAV, 1999).

**Cuadro 1.** Relación de especies en las que se ha encontrado HLB y su nombre común (Halbert y Manjunath, 2004).

FAMILIA	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN EN INGLÉS	NOMBRE COMÚN EN ESPAÑOL
Apocynaceae	<i>Catharantus roseus</i>	Periwinkle	Vinca
Convolvulaceae	<i>Cuscuta australis</i>		Cúscuta
Rutaceae	<i>Citrus aurantifolia</i>	Key lime	Lima mexicana
	<i>Citrus aurantium</i>	Sour orange	Naranja agria
	<i>Citrus grandis</i>	Grapefruit	Pomelo
	<i>Citrus limon</i>	Lemon	Limón
	<i>Citrus paradisi</i>	Grapefruit	Toronja
	<i>Citrus sinensis</i>	Sweet orange	Naranja dulce
	<i>Citrus sp.</i>		Cítricos en general
	<i>Murraya paniculata</i>	Orange jazmine	Limonaria

## DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

### HLB en el mundo

La enfermedad se reportó por primera vez en el continente asiático en China a finales del siglo XIX (Zhao, 1981), de ahí la nomenclatura de 'Ca. L. asiaticus'. Posteriormente se reportó en 1920 en Taiwan y las islas Filipinas (Otake, 1990). A finales de ese mismo año se detecta una nueva especie de *Candidatus* en Sudáfrica (Van Der Merwe and Andersen, 1937), la cual fue nombrada 'Ca. L. africanus' (Fig. 1 y Anexo 1).

### HLB en el continente Americano

En el 2004 se detectó la especie asiaticus en la localidad de Aracuara, Sao Paulo, Brasil (Coleta-Filho *et al.*, 2004).

Posteriormente, se reportó una nueva especie de '*Candidatus Liberibacter*' en cítricos a la que se nombró 'Ca. L. americanus' (Teixeira *et al.*, 2005b). En 2005, se reportó a 'Ca. L. asiaticus' en Florida, EUA, (Fig. 1).

### HLB en México

El HLB de la especie 'Ca. L. asiaticus' se reportó por primera vez en México en Julio de 2009 en la localidad de El Cuyo en el municipio de Tizimín, Yucatán (SENASICA, 2009 y 2010). En noviembre del mismo año, un nuevo foco de la misma especie es reportado en los estados de Jalisco y Nayarit. En 2010 Sinaloa y Colima reportan presencia de la enfermedad (Fig. 2 y Anexo 2).



Ficha Técnica *Huanglongbing*

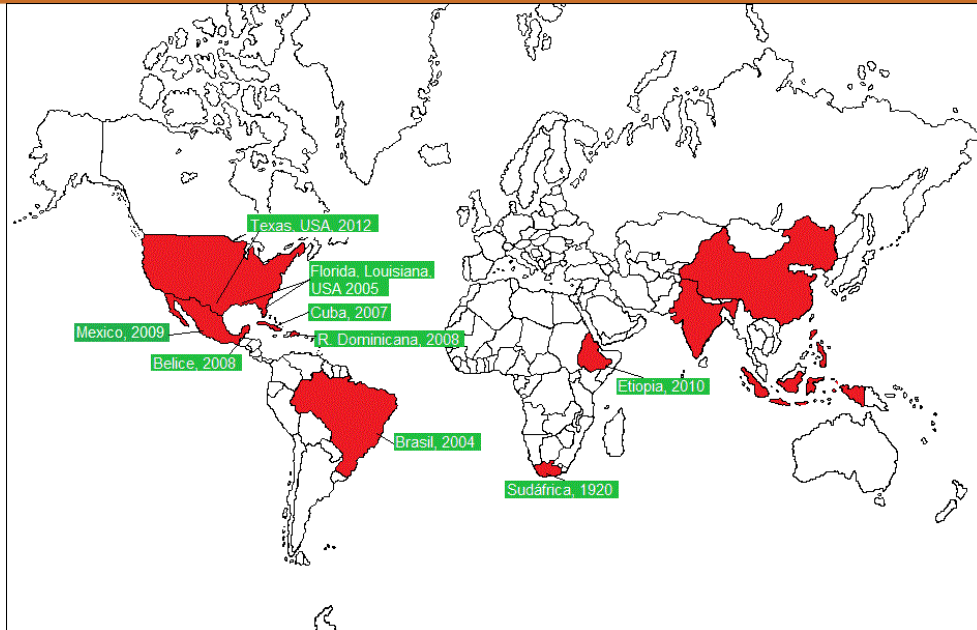


Figura 1. Distribución mundial de 'Ca. L. asiaticus', 'Ca. L. africanus' y 'Ca. L. americanus'.



Figura 2. Distribución mundial de 'Ca. L. asiaticus' en México. Elaborada con datos de SENASICA, 2011.



## DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN

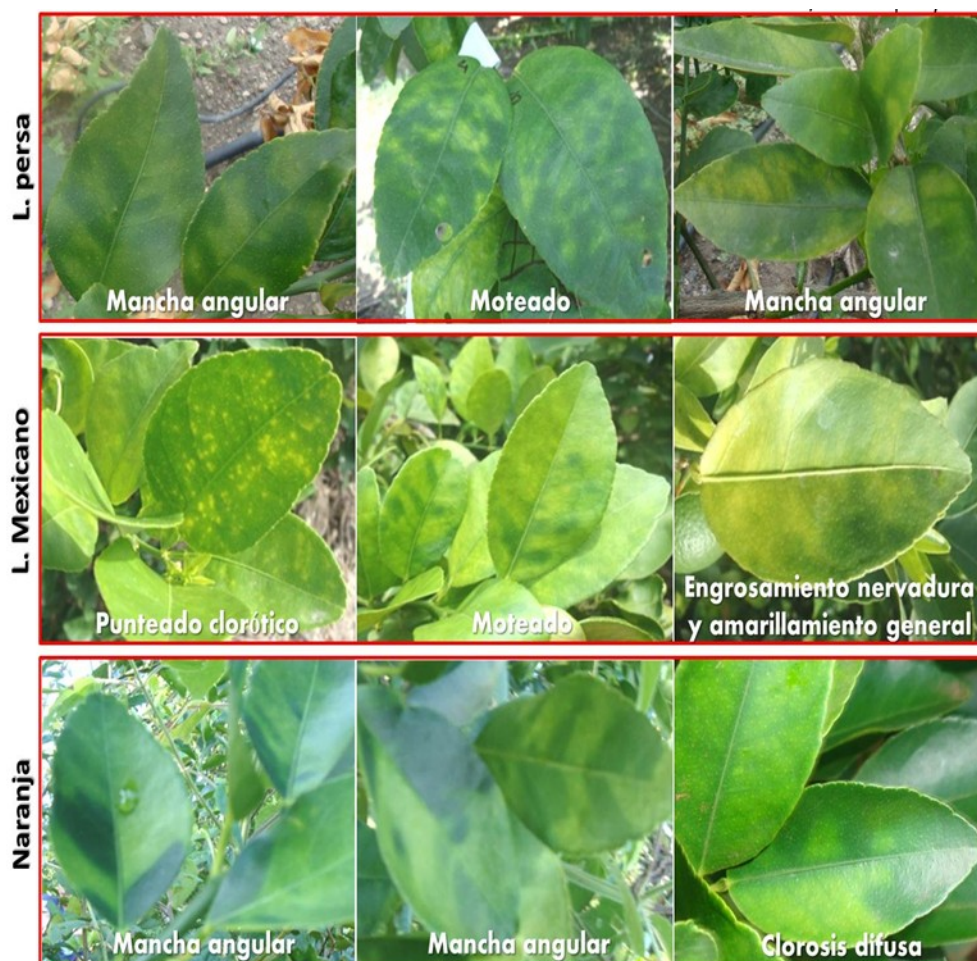
### Síntomas

#### Visualización externa

En Brasil y Florida los síntomas reportados son frecuentemente más severos en naranjo dulce y mandarina. En sus híbridos, toronja, limón y naranjo agrio aparentemente son moderados; mientras que en lima, pomelo y naranjo trifoliado están considerados como más tolerantes (Manicom y van Vuuren, 1990). Sin embargo, estudios realizados en México en la península de Yucatán y la zona del pacífico donde se detectó a la enfermedad, indican que los síntomas son más severos en cítricos agrios como limón mexicano, limón persa, limón volkameriano y naranja agria; en contraste con los cítricos dulces como naranja dulce y mandarina, los cuales expresaron síntomas menos severos y con un periodo de

incubación mayor (Esquivel-Chávez *et al.*, 2010 y Flores-Sánchez *et al.*, 2010) (Cuadro 2).

En las condiciones de México y de acuerdo con la normatividad y plan de acción para el manejo del Huanglongbing establecido por SENASICA, donde imperó el principio de erradicación en la mayoría de los árboles positivos, la visualización de los síntomas se limita a hojas y frutos; en hojas es posible observar una progresión de síntomas: desde puntos cloróticos, manchas angulares, acorchamiento y engrosamiento de nervaduras, moteados y clorosis difusa hasta que el amarillamiento en la lámina foliar es generalizado y ocurre la defoliación (Fig. 3) (Comunicación personal (GIIC), no publicado). En frutos, solo en limón mexicano se ha observado el fenómeno de maduración irregular iniciando por un color amarillento en la parte basal (Robles-González *et al.*, 2010); así como deformación o desarrollo asimétrico de los frutos de naranja dulce de árboles de Yucatán que fueron confirmados como positivos siete meses previos a alcanzar



**Figura 3.** Síntomas de HLB observados en hojas de limón persa, lima mexicana y naranja dulce. (Foto: GIIC-CP. F. Esquivel y J. Flores, 2010)



Ficha Técnica Huanglongbing



Figura 4. Síntoma de maduración irregular en frutos de limón mexicano (Foto: J. Velázquez, 2010. INIFAP-Colima). Asimetría de Fruto en naranja dulce afectado por HLB en Yucatán, GIIC.

Cuadro 2. Síntomas comunes en diferentes órganos del árbol.

Órgano	Color	Tamaño	Forma	Localización	Cita
<b>Hojas</b>	Moteado, zonas amarillas rodeadas de verde normal	Se reduce el tamaño de hojas	Irregular	Irregular, puede iniciar en la parte basal, pero no necesariamente	Bové, 2006
<b>Brotes</b>	Amarillo	Normal	Normal	En la zona basal del brote	FUNDECITRUS, 2009
<b>Frutos</b>	Maduración irregular, amarillándose primero el ápice	Puede ser pequeño o regular según etapa de infección	Asimétricos	En la zona basal	Bové, 2006; Brlansky <i>et al.</i> , 2009; INISAV, 1999
<b>Semillas</b>	Café obscuro	Pequeño	Irregular	En toda la semilla	Bové, 2006; Gómez, 2008; Robles, 2008
<b>Árbol</b>	Amarillo cuando la enfermedad está muy avanzada	Árboles jóvenes pueden permanecer pequeños hasta su muerte	Irregular, con ramas y hojas enfermas erectas	Dosel del árbol	FUNDECITRUS, 2009; Bové, 2006

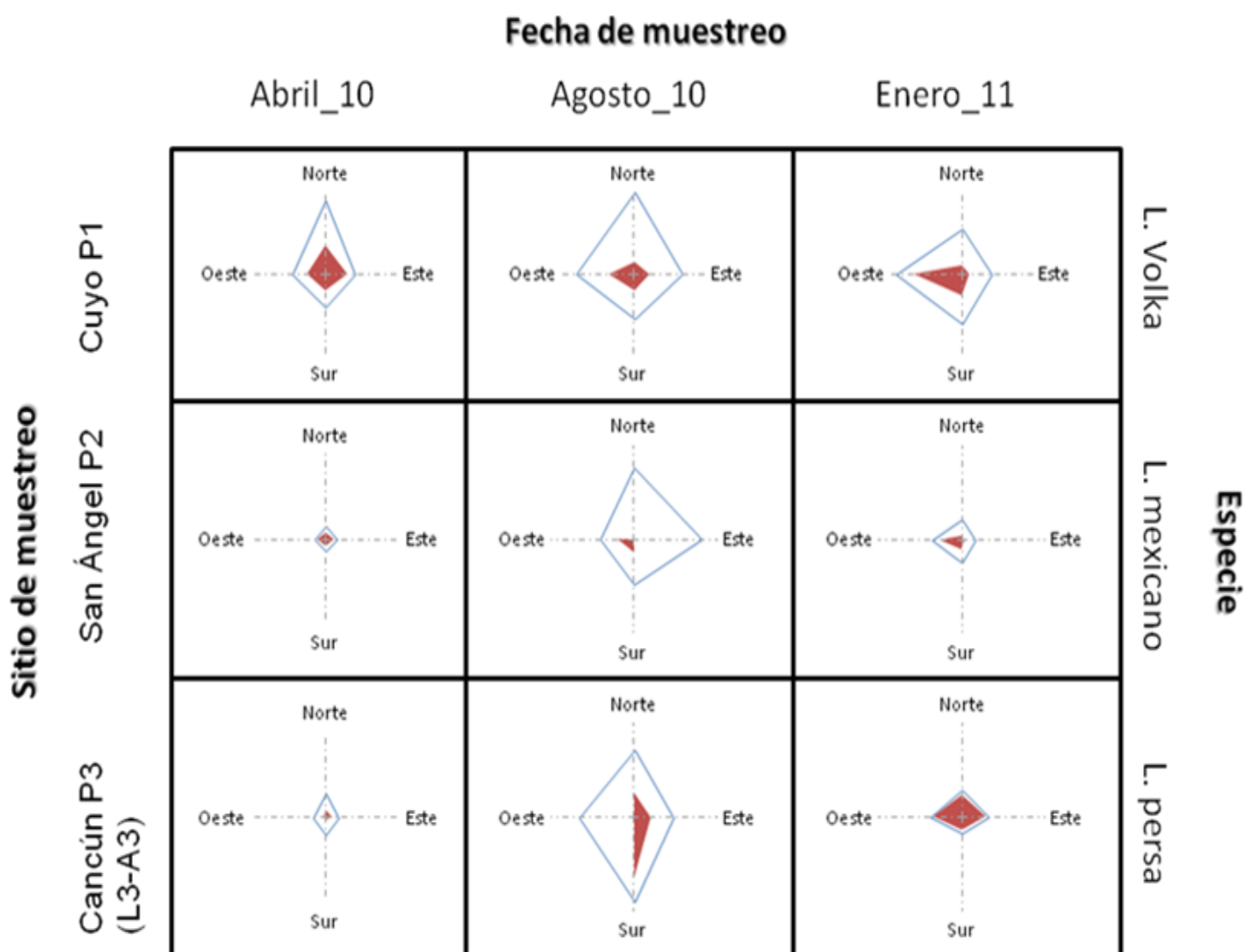


### Severidad de HLB

El GIIC lleva a cabo un estudio para determinar la incidencia y severidad del HLB en hojas y brotes de cítricos presentes en transectos (dos en Yucatán y dos en Quintana Roo) y en cada punto cardinal (norte, sur, este y oeste) del dosel del árbol y por cada especie encontrada en la península de Yucatán. Los resultados preliminares muestran que aparentemente la infección de brotes como de hojas son variables por especies de cítricos y estacionalidad.

La especie con mayor incidencia inicial de la enfermedad en las condiciones de la Península de Yucatán fue *L. volkameiriano* y posteriormente lima persa y limón mexicano (Fig 6).

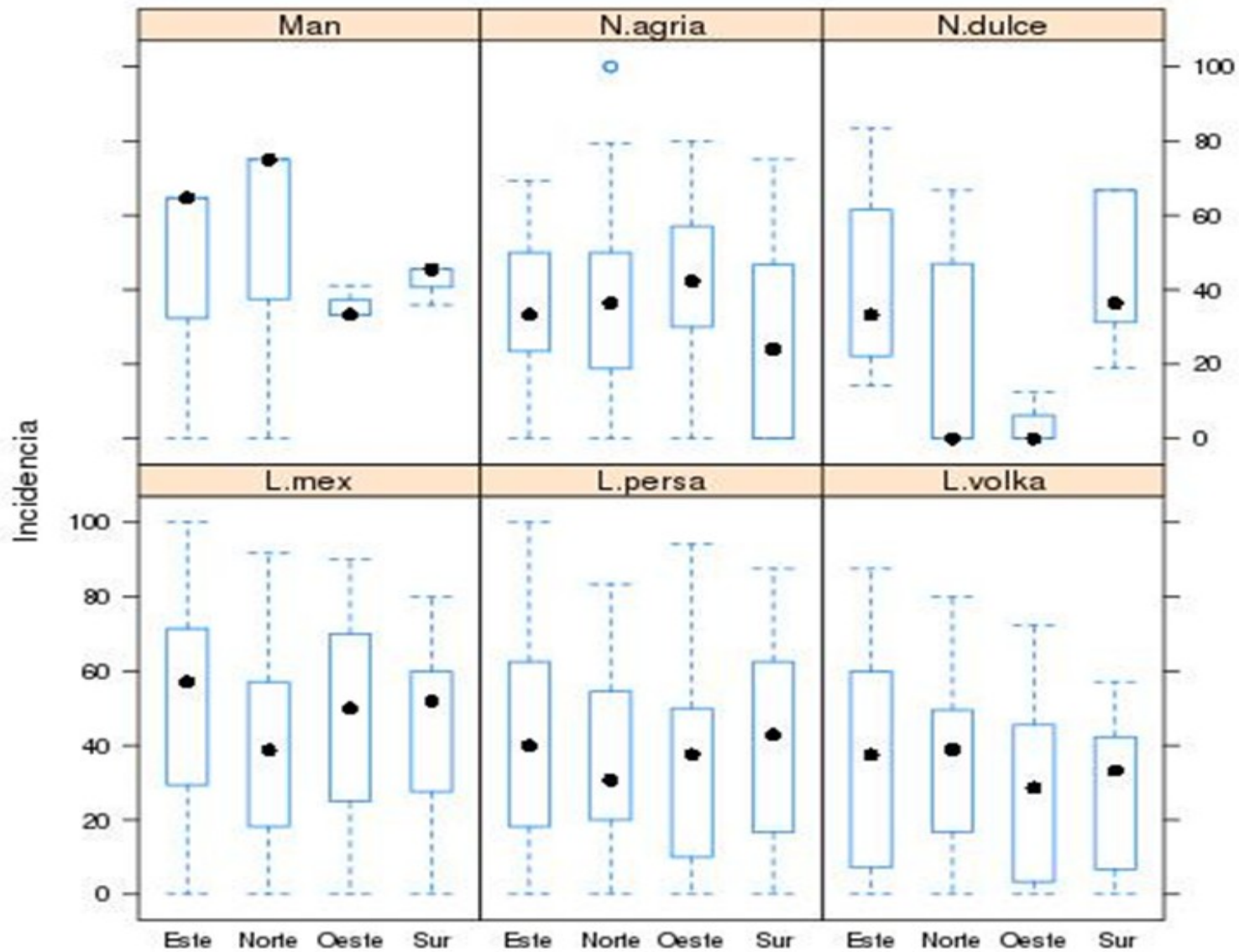
En relación a la estacionalidad, se presupone que los periodos de adquisición de la bacteria por *Diaphorina citri* son más exitosos en los meses de brotación ya que la distribución de los síntomas se presentan de manera homogénea en el dosel del árbol (Flores-Sánchez, 2011) (Figura 5 y 6).



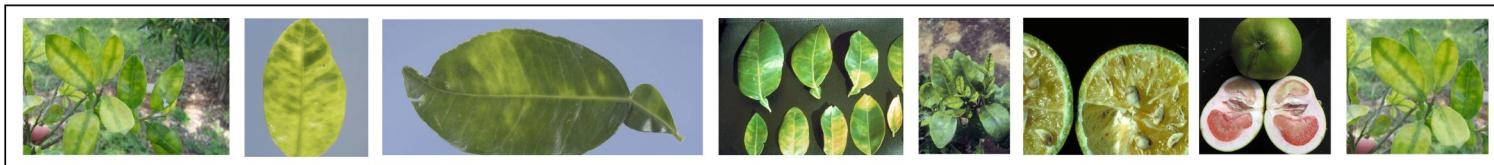
**Figura 5.** Radares de severidad de HLB en transectos de tres sitios de muestreo (Cancún, San Ángel y El Cuyo) de tres fechas (abril y agosto 2010 y enero 2011) de la Península de Yucatán. (GIIC-CP. J. Flores, 2011)



Ficha Técnica *Huanglongbing*



**Figura 6.** Gráficos de severidad de HLB en transectos de 6 especies de cítricos de la Península de Yucatán. (GIIC-CP. J. Flores, 2011)



## Histológicos

Esquivel-Chavéz *et al.*, (2010) menciona que los síntomas a nivel histológico que se han detectado y observado en especies de cítricos de la región del pacífico: Nayarit y Colima (limón mexicano y persa) y de la Península de Yucatán (naranja dulce) han sido principalmente, mayores concentraciones de almidón en el mesófilo de limón mexicano en comparación a limón persa, mientras que en naranja dulce el almidón se concentra con mayor

cantidad en el parénquima de empalizada (Anexo 3). Por otro lado, el colapso del floema es mayor en cítricos agrios (Fig. 7). En las tres especies evaluadas hubo un incremento significativo en el número de los estratos celulares que componen el floema de la nervadura central de hojas sintomáticas en relación con las asintomáticas. En las tres especies evaluadas hubo un incremento (hiperplasia) significativo en el número de los estratos celulares que componen el floema de la nervadura central de hojas sintomáticas en relación con las asintomáticas (Anexo 4).

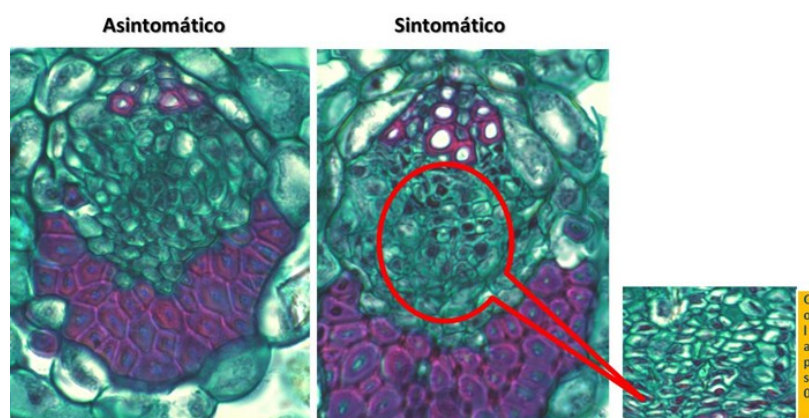


Figura 7. Colapso del floema en limón persa y lima mexicana. (Foto: GIIC-CP. F. Esquivel,

## Agente Causal

'*Candidatus Liberibacter*' es la bacteria causante del Huanglongbing de los cítricos, es una bacteria Gram-negativa restringida a los tubos cribosos del floema por los cuales se desplaza a través de sus poros. El género *Candidatus* pertenece a la  $\alpha$  subdivisión de la clase *Proteobacteria* (Jagoueix *et al.*, 1994; Teixeira *et al.*, 2005b). El nombre de "*Candidatus Liberibacter*" se deriva del término "*Candidatus*" que se utiliza para asignar a los organismos que no pueden ser cultivados y por lo tanto no pueden ser

clasificados y caracterizados con las técnicas tradicionales (Murray and Schleifer, 1994; Murray and Stackebrandt, 1995) y por el nombre trivial de "*Liberibacter*" del latín *Liber* (corteza) y *bacter* (bacteria), (Jagoueix *et al.*, 1994). Sin embargo, esta nomenclatura cambiará con los reportes del aislamiento y cultivo de las bacterias asociadas al huanglongbing (Sechler *et al.*, 2009). Pero como mencionan los autores, será necesaria la reproducibilidad y comprobación de dichos resultados en otros laboratorios y en especial en condiciones de campo.

## Métodos de muestreo

### Muestreo regional con criterio de foco simple

En el estudio de análisis estructural de focos y gradientes de dispersión del HLB en la Península de Yucatán, se establecieron cuatro transectos (Fig. 8), dos transectos en Yucatán (YUC1 y YUC2), Norte-Sur y Este-Oeste; y dos en Q. Roo (QROO3 y QROO4), Norte-Sur y Oeste-Este. Se consideró como foco inicial el primer reporte de HLB del Cuyo en Tizimín (SENASICA 2009 y 2010) y como factor de dispersión las corrientes de vientos en la

Existe reportes en Brasil (Bové *et al.*, 2008) y China (Chen *et al.*, 2009) de infecciones mixtas de *Ca. Liberibacter* y *Ca. Phytoplasma arabis* en cítricos con síntomas de HLB, pero al realizar transmisiones por injerto ocurre desarrollo virescencia y folidia. En México no existen reportes de dicha asocia-

Península de Yucatán e intervención del hombre, con puntos de muestreo a distancias variables determinadas por disponibilidad de hospedante y detecciones de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal (CESV) (Fig. 9). Los resultados indican la existencia de gradientes de dispersión a magnitudes variables. Para el transecto YUC1 el gradiente se direcciona en 26 Km de distancia del foco, en YUC2 hasta 83 km, en QROO3 24 km y QROO4 30 km (Fig. 10) (Flores-





Figura 8. Transectos para el muestreo regional del HLB en la Península de Yucatán. (GIIC-CP. J. Flores, 2011).

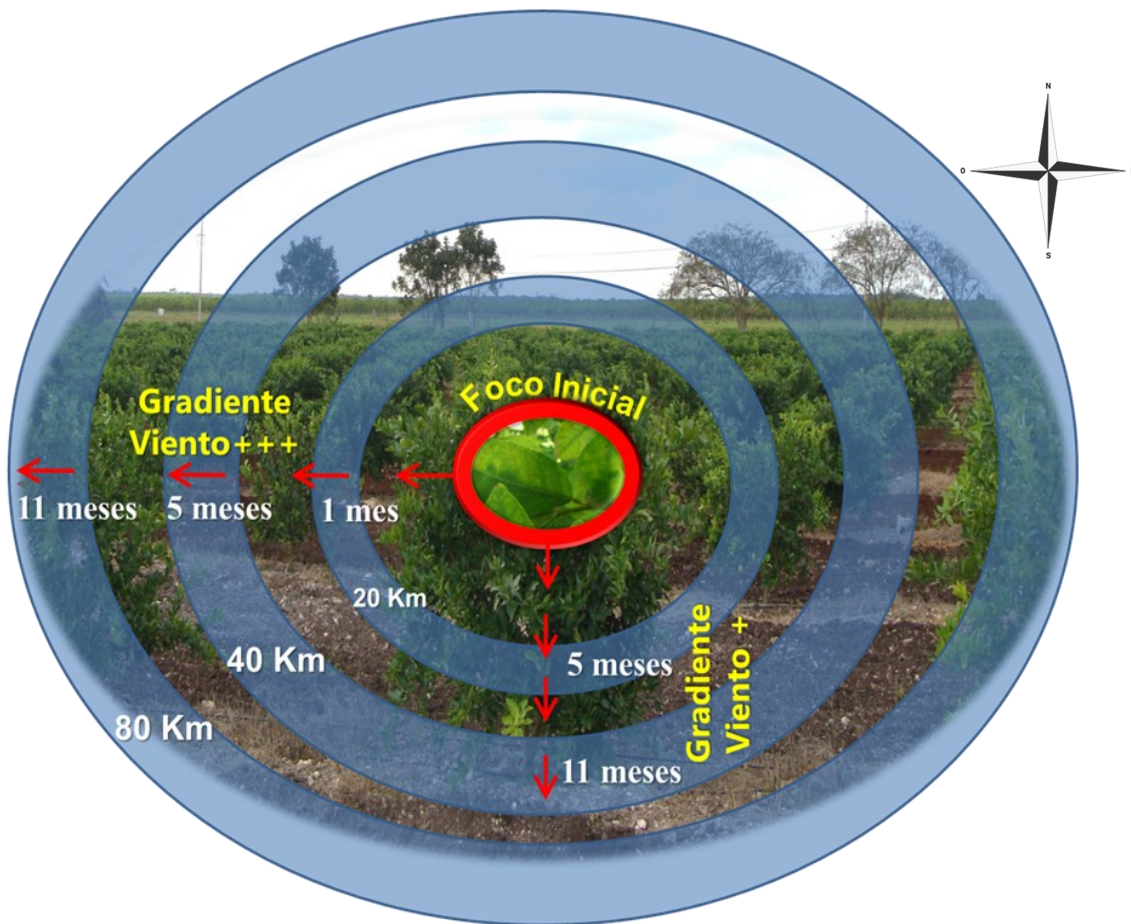
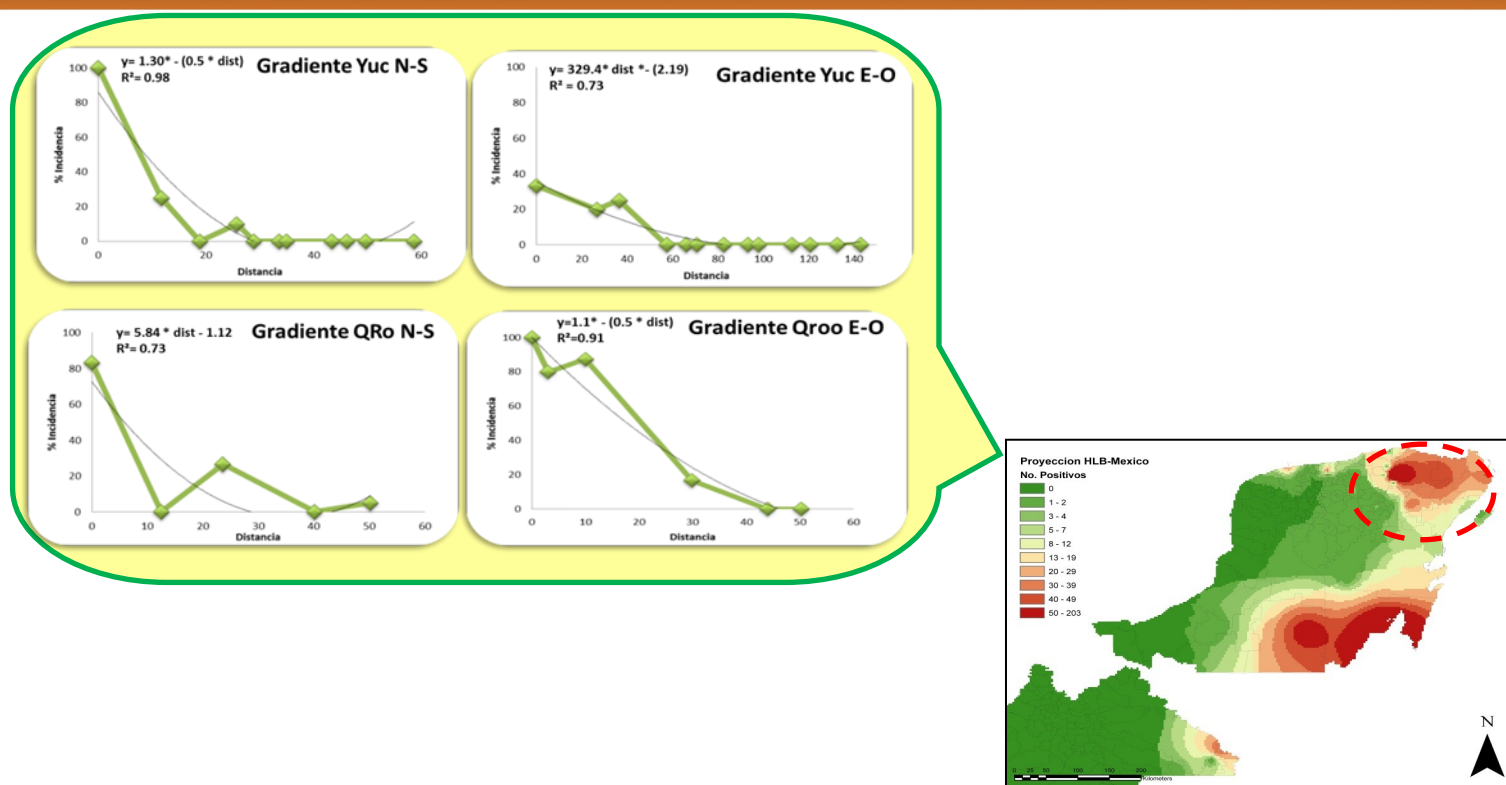
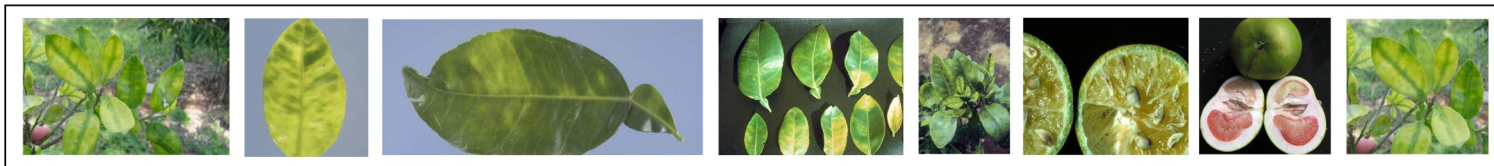


Figura 9. Transectos de evaluación Norte-Sur, Este-Oeste, con puntos de muestreos a distancias variables, determinadas por disponibilidad de hospedante y detecciones de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal (CESV). (GIIC-CP. J. Flores, 2011)



**Figura 10.** Gráficas de gradientes de dispersión, ajustados a un modelo de regresión de segundo orden, en transectos evaluados en la Península de Yucatán. (GIIC-CP. J. Flores, 2011)

### Muestreo parcelario

Los estudios de muestreo a nivel parcela fueron planeados entre el Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) y Colegio de Postgraduados (COLPOS) en el 2009. Para este fin se seleccionaron huertos citrícolas en Veracruz, Puebla y Morelos con el propósito de explorar condiciones ambientales distintas y condiciones variables del vector para considerarlos en los atributos espaciales implícitos tanto en tamaño de muestra como el esquema de muestreo. Se analizaron diferentes métodos de muestreo como: en bandas (a lo largo de los surcos seleccionando árboles a intervalos de 3), en cinco de oro compuesto (se consideran las cuatro esquinas y un punto central del lote, cada punto compuesto de cinco árboles (muestra simple de 25 árboles por huerto), en cruz (con el mismo principio de muestreo de esquinas y el centro, pero este implica mayor tiempo, esfuerzo y número de muestras) y al azar (selección aleatoria de árboles a muestrear en el huerto) (CNRF y COLPOS. 2009. Anexo 3). Para determinar el mejor método de muestreo, se utilizó el programa MuestraN Ver 1.0 MS Excel, así como Surfer Ver. 1.0 y el cálculo del índice de Morisita e índice de Lloyd (MorLloyd Ver 1.0 MS Excel).

Estos últimos se emplearon para determinar la intensidad de agregación del vector y determinar con ese criterio la selección de método de estimación del tamaño de muestra (Ruiz *et al.*, 2005).

Como resultado se encontró que el mejor método de muestreo interparcelario es el cinco de oros compuesto con cinco árboles por punto, dando una muestra simple de 25 árboles por huerto (Fig. 11). El rango de exactitud y precisión estuvo entre 90-98% y 3%, respectivamente.

Dicho método de muestreo, se realizó en huertas sin presencia de la enfermedad en México para detectar de forma oportuna la presencia del patógeno. Este supuesto se basa en que vectores provenientes de fuentes de inóculo externas podrían exhibir una condición virulífera y por tanto serían los responsables de la introducción y dispersión del agente causal. El muestreo del vector promete anticipar el proceso de patogénesis, por lo que el muestreo exclusivamente en planta no garantizaría la detección oportuna del patógeno. Sin embargo, los resultados obtenidos por Meyer *et al.*, 2007, parecen contraponerse a este planteamiento al encontrar una baja proporción de psíidos infectivos en Florida, un año después de la detección oficial de HLB.



Aún con este antecedente, en México las detecciones de 'Ca. Liberibacter asiaticus' al menos en Michoacán, Veracruz y Morelos se han realizado en el vector *D. citri* anticipándose a la ocurrencia en planta (Datos oficiales CNRF-DGSV, 2010).

Por otro lado, se ha encontrado que en trabajos conducidos actualmente en Yucatán, psíidos adultos colectados en cítricos sintomáticos a HLB y con presencia de 'C. Liberibacter asiaticus' en muestreos previos, resultan negativos a la presencia de esta bacteria (Inoue *et al.*, 2009).

Esto podría explicarse por la proporción de ninfas alimentadas en tejido vegetal infectado, en apariencia una condicionante para ser virulíferos (Inoue *et al.*, 2009). Sin embargo, en las condiciones de la Península de Yucatán, fue complicado encontrar individuos de *D. citri* alimentándose de plantas sintomáticas al ser sujetas a erradicación y aplicación de control químico como lo dispone el Acuerdo emitido por la SAGARPA contra el HLB (SAGARPA, 2010).

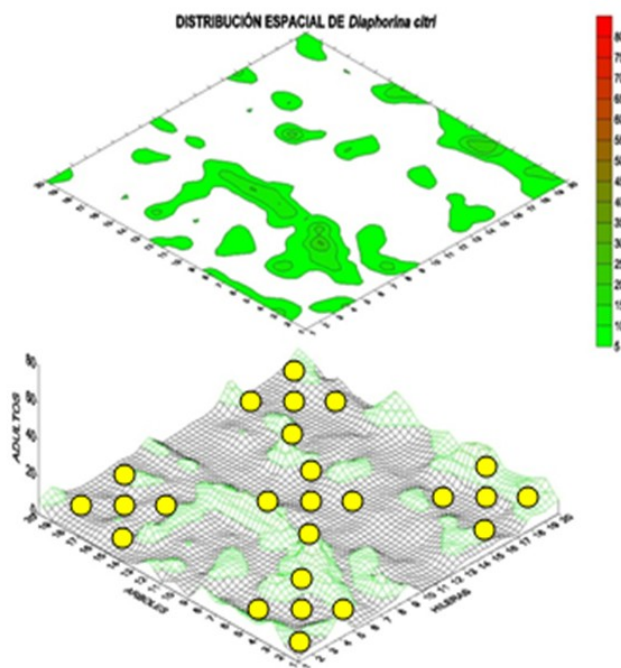


Figura 11. Método de muestreo interparcelario cinco de oro compuesto, aplicable en lotes cítricos. (GIIC, 2009)

### Colecta de material vegetal para detección en laboratorio

Una vez seleccionados los árboles asintomáticos o bien con síntomas similares a los ocasionados por HLB para realizar la colecta vegetal se cortan dos hojas de apariencia madura por punto cardinal del dosel del árbol (Fig. 12), en presencia de síntomas coleccionar las hojas más representativas, presuponiendo que existe una mayor concentración bacteriana. Durante el proceso de muestreo en planta es posible coleccionar *D. citri* ( $\geq 0$  ejemplares por árbol) para detección en laboratorio. En un trabajo realizado en Yucatán en plantas, la detección en laboratorio no se anticipó a la aparición de síntomas en campo (Loeza-Kuk, 2011, datos no publicados).

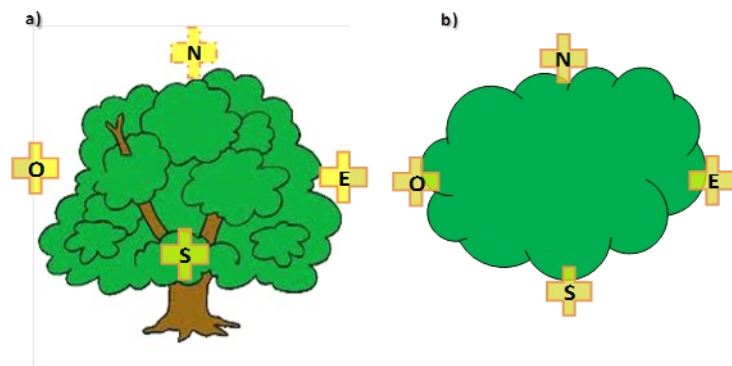
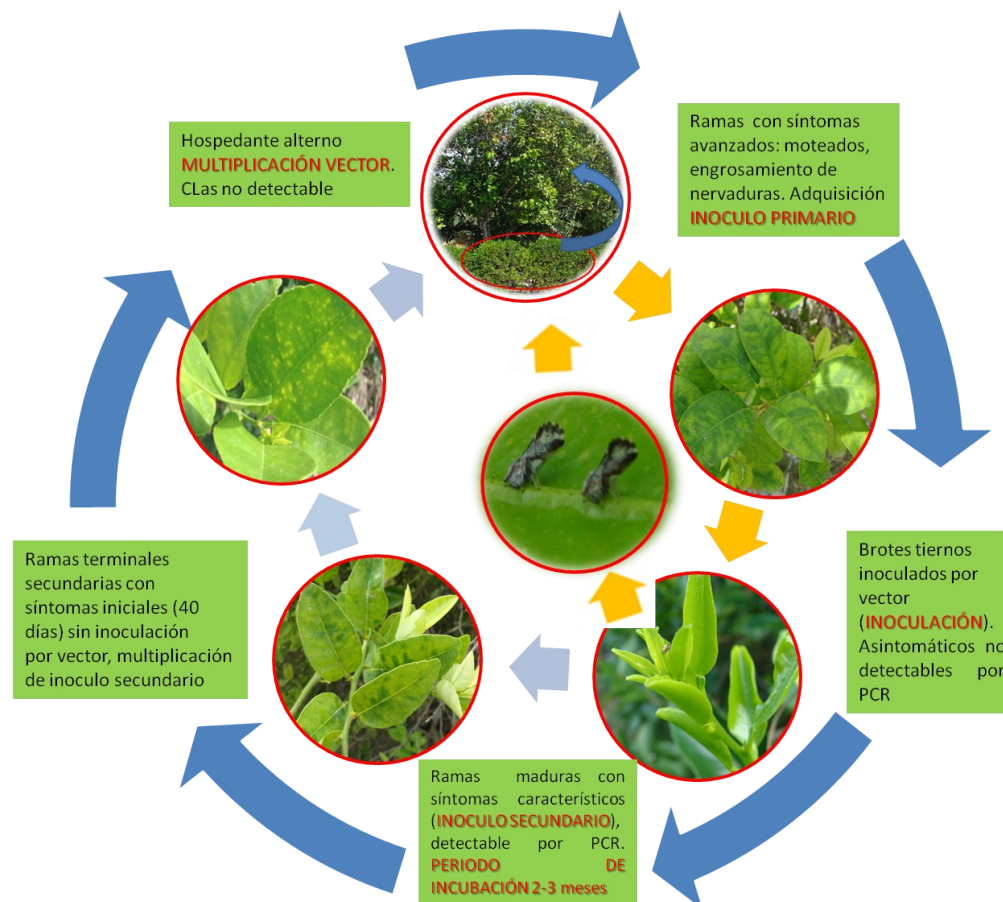


Figura 12. Zonas de muestreo por punto cardinal en el dosel del árbol. Vista lateral de sitios de muestreo (a) y vista superior (b) (GIIC, 2010)



## Ficha Técnica Huanglongbing

### BIOLOGÍA



### Epidemiología de las especies causantes del Huanglongbing

Se conocen tres especies, 'Ca. L. asiaticus', 'Ca. L. africanus' y 'Ca. L. americanus'. La primera es un problema

países de Asia, África, en la península Arábiga, Brasil y EUA (Brlansky, 2007) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Características de las especies de 'Candidatus Liberibacter'

Especies	Vector	Distribución Mundial	Temperaturas óptimas	Severidad	Cita
<i>Ca. L. asiaticus</i>	<i>Diaphorina citri</i>	Asia, Florida, Lousiana, Belice, Cuba, R. Dominicana y México	30-35 °C	Muy severa, muerte del árbol	Da Graca, 2008; Lopes <i>et al.</i> , 2009
<i>Ca. L. africanus</i>	<i>Trioza erytreae</i>	Este, Centro y Sur de África	20-25 °C	Menos severa, no causa la muerte del árbol	Garnier <i>et al.</i> , 2000; Teixeira <i>et al.</i> , 2005a; Phahladira, 2008
<i>Ca. L. americanus</i>	<i>Diaphorina citri</i>	Brasil	24-30°C	Muy severa, muerte del árbol	Teixeira <i>et al.</i> , 2005; Lopes <i>et al.</i> , 2009



## Ficha Técnica Huanglongbing

'*Ca. L. asiaticus*' es la especie menos sensible al calor, ya que puede infectar a temperaturas que superan los 30 °C (32 a 35 °C) por periodos prolongados, pero no a los 38 °C (Lopes *et al.*, 2009).

La especie africana '*Ca. L. africanus*', se encuentra distribuida en el Este, Centro y Sur de África. Su capacidad infectiva es restringida por temperatura y humedad relativa alta, por esta razón, la enfermedad es más severa en áreas frescas (20 a 25 °C), en altitudes de 600 m donde la humedad relativa generalmente no rebasa 25%. A menor altitud la enfermedad es menos severa, y prácticamente no se presenta en alturas por debajo de los 200 m (Garnier *et al.*, 2000; Texeira *et al.*, 2005a; Phahladira, 2008).

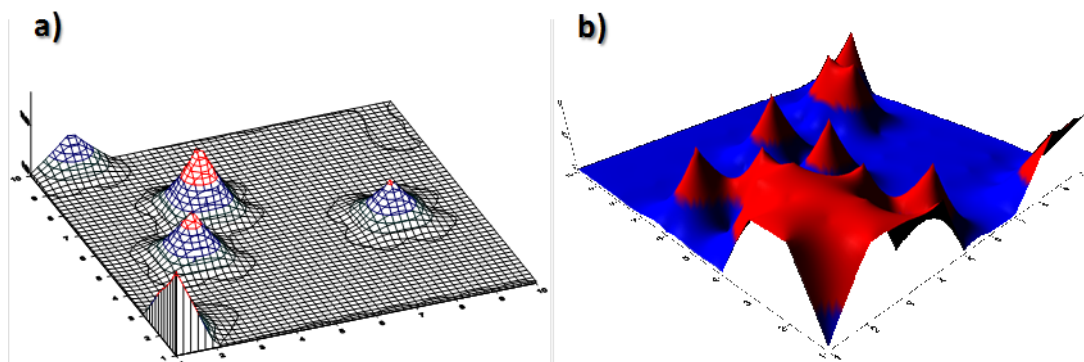
'*Ca. L. americanus*'. Esta especie solo se encuentra en Brasil, inicialmente se pensó que se trataba de '*Ca. L. asiaticus*', sin embargo, se demostró que se trataba de una nueva variante más virulenta que la asiática, una nueva especie, la especie americana. El vector también es *Diaphorina citri* (Texeira *et al.*, 2005a). Esta especie comparada con '*Ca. L. asiaticus*' es menos tolerante al calor al ser capaz de infectar a los cítricos en un rango de 24 a 30 °C, pero no a temperaturas superiores (Lopes *et al.*, 2009). La detección de la nueva especie origina preguntas como: ¿Es una especie originaria del Sur de América o fue introducida junto con la especie asiática?. El incremento de la incidencia de la especie asiática sugiere que el medio ambiente es más adecuado para su desarrollo y que la especie americana no es un buen competidor y puede existir en otros lugares con incidencias muy bajas. Aunque la especie asiática fue probablemente introducida de Asia, no se sabe aún dónde se originó la especie americana (Da Graca, 2008).

Las infecciones de '*Ca. L. asiaticus*' y '*Ca. L. americanus*' son mas severas que la infección de *C. L. africanus* ya que

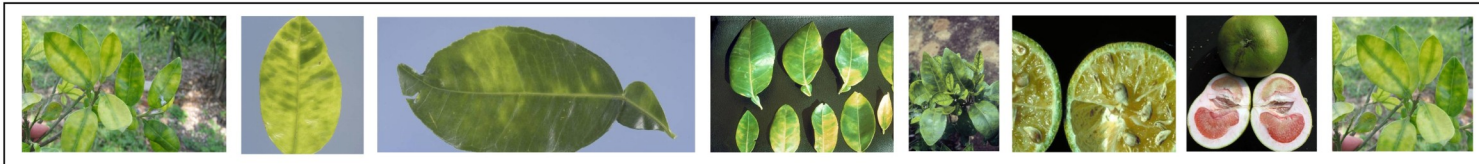
Aunque Lopes *et al.* (2009) mencionan que para diferenciar fácilmente en campo estas especies de *Candidatus*, basta con conocer las temperaturas del lugar de observación, ya que la especie asiática es más tolerante que la africana al calor.

La variante americana, se asemeja a la variante asiática en la expresión y severidad de los síntomas; sin embargo, estudios realizados en Brasil indican que la variante americana pudiera ser intolerante al calor como la variante africana, que bajo condiciones cálidas no causa síntomas o las plantas se mantienen negativas. Hoy en día la situación se ha invertido en Brasil ya que la incidencia de '*Ca. Liberibacter asiaticus*' en árboles enfermos es mayor (Lopes *et al.*, 2009).

En México, las características de la dispersión de la enfermedad varían dentro las regiones en las que se encuentra presente. En la región del pacífico, en el Estado de Nayarit las diferencias en el manejo agronómico, definen los niveles de incidencia y severidad de la dispersión dentro de las parcelas. En una huerta de limón persa de baja tecnología, evaluada mensualmente durante el 2010 y principios de 2011, el porcentaje de severidad en un periodo de 5 meses incrementó de 14% en agosto a 52% en enero de 2011 con distribución agregada (Fig. 13b) a partir de los focos iniciales (Fig. 13a) (Esquivel-Chávez *et al.*, 2010). En una evaluación realizada en abril de 2010 en Jalisco, la incidencia de la enfermedad presentó un efecto de orilla marcado como se reporta en la literatura, mientras que la severidad alcanzó niveles mayores de 75% (Fig. 14). La severidad se evaluó dividiendo el 100% dosel en cuatro secciones (norte, sur, este y oeste) y se utilizó una escala diagramática con ocho clases (Anexo 5); la severidad total por árbol (Sevt) se registró como la suma del porcentaje de cada sección (s).  $Sevt = \sum(Sevs)$ . Donde  $s = 1-4$ .



**Figura 13.** Mapas geoestadísticos interpolativos de severidad del HLB en un huerto de baja tecnología en Ahuacatlán, Nayarit durante agosto del 2010 (a) y enero 2011 (b). Datos GIIIC, 2010-2011.



Ficha Técnica Huanglongbing

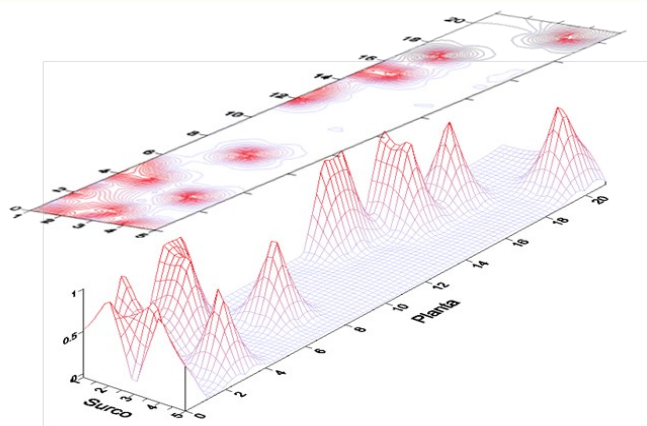


Figura 14. Mapas geostatísticos interpolativos de incidencia del HLB en abril de 2010 en un huerto de limón persa en Bahía de Banderas, Nayarit. Datos GIIC y CESA-VENAY, 2010.

## MECANISMOS DE MOVIMIENTO O DISPERSIÓN Vector

La principal forma de dispersión de la bacteria causante del HLB es a través de dos vectores: *Diaphorina citri* (Kuwayama) para las especies asiática y americana, y *Trioza erytreae* (Del Guercio) para la especie africana (Garnier *et al.*, 2000; Meyer *et al.*, 2007; Hall, 2008) (Cuadro 4).

Sin embargo, esta “especificidad” parece ligada a la separación espacial-geográfica entre vectores y patógenos y no a restricción en la capacidad de transmisión por parte de los insectos como se ha evidenciado en experimentos en condiciones controladas.

Psílido	Longevidad adulto	No. de Instares	Tamaño Adulto	Tamaño Ninfas	No. De Huevos	Ciclo de Vida	Temp. de Desarrollo
<i>D. citri</i>	40 días.	5 instares ninfales.	3-4 mm.	1.5-1.7 mm.	8 x día, 800 en toda la vida.	15-47 días.	25-28 °C.
<i>T. erytreae</i>	30 días.	5 instares ninfales.	4 mm.	1.3-1.5 mm	2000 en toda su vida.	17-43 días	20-24 °C.

*T. erytreae* es muy sensible al calor y al clima seco. Lo favorecen las condiciones templadas (20-24 °C) y altitudes superiores a los 500-600 msnm. Los huevos son depositados en la epidermis de las hojas, donde existan las condiciones de humedad necesarias. Las hembras permanecen fértiles de 11 a 16 días en ausencia de machos adultos y su máxima producción de huevos (2,000 por hembra) la alcanza entre los 17 a 50 días (Garnier *et al.*, 2000). A la fecha, este insecto se reporta como ausente en México (Ab1), pero se corre el riesgo de ingreso al existir indicios de su presencia en Centroamérica en la planta *Casimiroa edulis*

*D. citri* (Fig. 15b) es más tolerante al calor y al clima seco, se desarrolla a temperaturas de 25-28 °C. Tiene un periodo de vida corto y una fecundidad alta. Las hembras tienen un periodo de oviposición de 12 días y son capaces de depositar hasta 800 huevos en el transcurso de su vida. Los huevos eclosionan a los tres días en verano y hasta los 23 días en invierno. El ciclo completo es de 15 a 47 días, y puede presentar hasta 10 generaciones por año (Fung and Chen, 2006).



## Ficha Técnica Huanglongbing



**Figura 15.** a) Adulto, b) Ninfas de *Diaphorina citri*. Foto: S. Patiño, R. Lomelí y E. Rodríguez.

Un comportamiento típico del insecto adulto es saltar y realizar vuelo de tres a cinco metros cuando las hojas son movidas, están sobrepobladas o cuando poseen pocas condiciones para su desarrollo, de esta forma diseminan al patógeno dentro de la plantación. En algunas ocasiones, estos vuelos alcanzan una altura de 5 a 7 metros del suelo, de donde los insectos son arrastrados por las corrientes del aire y trasladados a distancias de 0.5 a 4 km o aún mayores (Fung and Chen, 2006; Hall, 2008).

Estos psílicos cuando se alimentan de los brotes tiernos, extraen gran cantidad de savia y provocan el desarrollo de

obstaculiza la función fotosintética (González *et al.*, 2007).

En teoría, ambos psílicos son capaces de adquirir el patógeno después de alimentarse por 15 a 30 minutos (100% de seguridad en tiempos  $\geq$  una hora) y permanecer infectivos durante toda su vida (3 a 4 meses); la transmisión transovárica se ha reportado sólo en *T. erytrae* (Manjunath *et al.*, 2008) (Cuadro 5). Aunque el comportamiento en la transmisión en condiciones naturales parece contradecir estos datos.

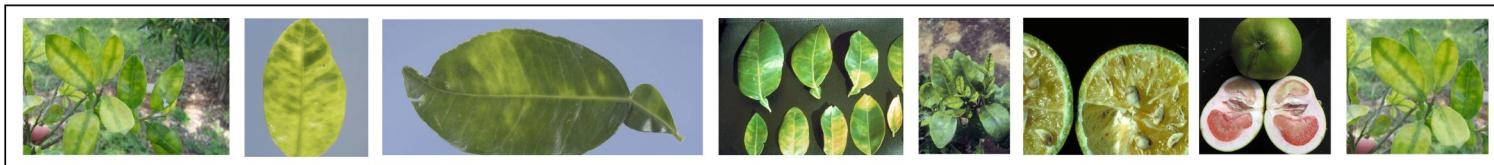
**Cuadro 5.** Proceso de transmisión de 'Candidatus Liberibacter spp'. en psílicos

Psílicos	Eficiencia de Transmisión	Adquisición	Tipo de Transmisión	Multiplicación en Vector	Transmisión Transovárica
<i>D. citri</i>	Alta (toda la vida).	15-30 min.	Persistente	+	-
<i>T. erytrae</i>	Alta (toda la vida).	15-30 min.	Persistente	+	+

## Enfermedad

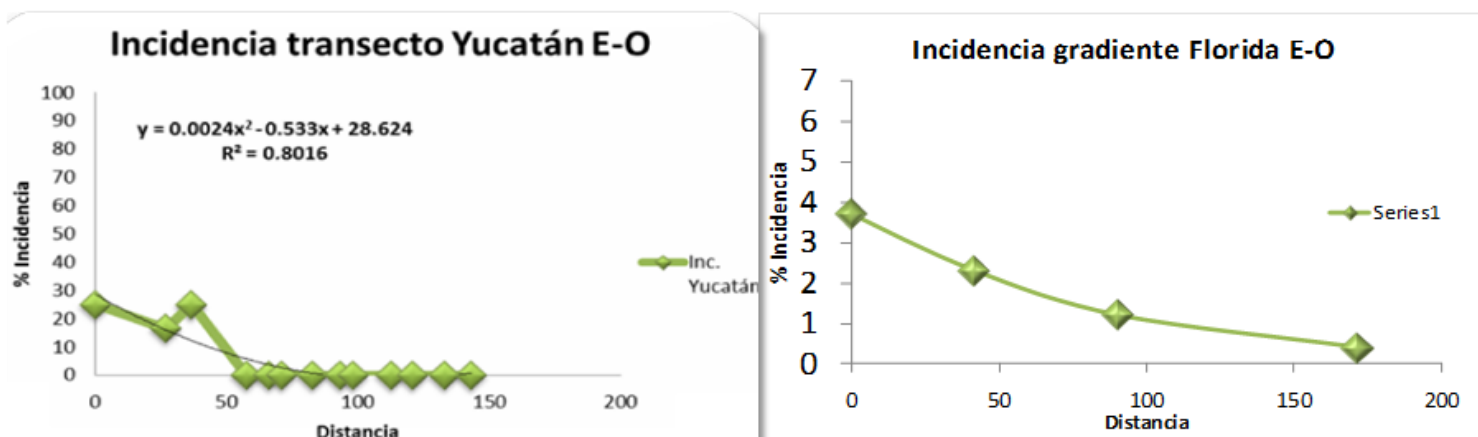
Las enfermedades siguen cierto patrón de dispersión cuando se reporta su presencia en alguna región o país. Estudios espacio-temporales del HLB en Brasil y Estados Unidos comparado con México, muestran un gradiente de dispersión semejante (Cuadro 6). Las características de dispersión de la enfermedad que presentó Brasil bajo sus condiciones agroclimáticas, fue muy explosiva en el primer año, moviéndose de 2004 (primera detección) a 2005 en un radio de dispersión de 100 kilómetros (Fig. 17).

En México, estudios transectuales realizados por el GIIC (Sección. Métodos de muestreo regional con foco simple) mostraron un gradiente de dispersión similar al encontrado en Florida (Fig. 16). El gradiente de México tuvo una distancia de 100 km (en 1.5 años) mientras que el de Florida 170 km (en 3 años). La direccionalidad del gradiente en ambos casos fue Este-Oeste coincidiendo con la dirección de los vientos dominantes.



**Cuadro 6.** Velocidad de dispersión de HLB estimada México y Florida.

País/Estado	Primero	Último	Distancia del gradiente (km)	Vel. Dispersión (km/año)
USA-Florida	Oct-2005	Ago-2008	170	57
México-P. Yucatán	Ago-2009	Ene-2011	100	67
Brasil-Sao Paulo	Mar-2004	Ene-2010	317	53

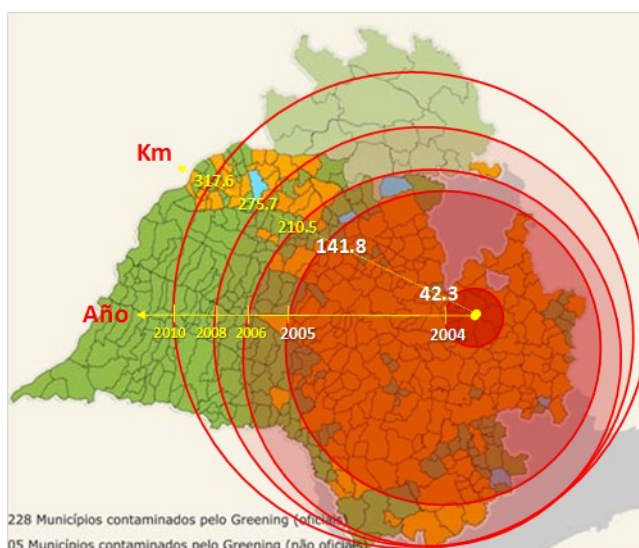


**Figura 16.** Gradientes de dispersión Este-Oeste en México (a) y Florida (b).

### Material propagativo

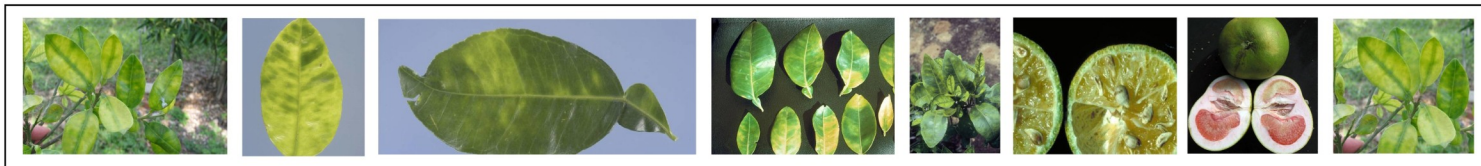
Otra forma importante de diseminar el patógeno a grandes distancias es mediante el traslado de material propagativo contaminado, por esta razón, algunos de los países afectados, como México (NOM-079-FITO-2002), han implementa-

de certificación mediante los cuales garantizan que las plantas llevadas a campo están libres de éste y otros patógenos (Bove, 2006). El HLB fue primeramente transmitido experimentalmente mediante injerto (Chen, 1943).



**Figura 17.** Característica de dispersión en Sao Paulo, Brasil.





## Ficha Técnica Huanglongbing

### Importancia de la plaga

La tres especies de '*Candidatus Liberibacter*' (asiaticus, africanus y americanus) son importantes por ser razas patogénicas, así como provocar la muerte de los árboles en un lapso de 1-2 años (Zhao, 1981). Esta bacteria cuando se establece, puede infectar a todas las especies de cítricos, causando grandes pérdidas al acortar el periodo de vida de los árboles afectados (Chen *et al.*, 2009). Reportes en otros países, establecen que los daños del huanglongbing son más severos en naranja dulce y mandarina debido a la defoliación de los árboles, amarillamiento y reducción de los frutos, siendo los daños más evidentes la presencia de una o más ramillas terminales del árbol con apariencia clorótica, lo que gradualmente causa la muerte del árbol (Fundecitrus, 2009). Sin embargo, en México los daños más severos los ha inducido en plantaciones de limón mexicano y persa (SENASICA, 2011).

### Impacto económico mundial

La citricultura es para muchos países una actividad agrícola altamente rentable. De acuerdo con la FAOSTAT (2010), más de 107 millones de toneladas se producen al año, entre los países productores se encuentra Brasil, EUA, China, México y España, los cuales conforman una superficie citrícola de más de 3.5 millones de hectáreas. Las principales especies cultivadas son naranjo dulce, limón mexicano, mandarina y pomelo (Ramirez, *et al.*, 2000). Debido a la falta de métodos eficientes de manejo, la severidad sobre la producción y a la rapidez con la que se dispersa el agente causal, se estima que ha destruido globalmente más de 60 millones de árboles (Das *et al.*, 2007). Aleman *et al.*, 2007 reporta que en Sudáfrica los daños alcanzan hasta el 100% de pérdidas de la cosecha. En Brasil y EU son los países donde esta enfermedad ha causado las pérdidas más grandes, se han eliminado más de 5 millones de árboles con síntomas de la enfermedad, además los costos para controlar el vector superan los 279 dólares/ha (Ayres y Yamamoto, 2007; Brlansky, 2009).

### Impacto potencial nacional

México ocupa el cuarto lugar en producción mundial de cítricos con alrededor de 539,957 hectareas y una producción de 7'394,917 toneladas, con un valor estimado de 8,050 millones de pesos (Trujillo *et al.*, 2008; FAO, 2010; SIAP, 2010). Los principales estados productores son Veracruz, San Luis Potosí, Tamaulipas, Nuevo León y Colima, siendo los tres primeros quienes poseen más del 90% de la superficie citrícola del país (SIAP, 2010).

Bassanezi y colaboradores (2009), estimaron pérdidas en peso, diámetro y grados brix atribuibles al HLB para las condiciones y variedades de naranja cultivadas en Brasil de hasta 42% (naranja valencia) de peso.

Estudios en México durante el 2010 (IICA, 2010) estimaron las pérdidas potenciales en la cadena productiva citrícola, tomando como criterio los antecedentes de estimación de pérdidas en fruto a causa de HLB en diferentes especies de cítricos reportados por Bassanezi (2009).

Debido a la amplia distribución de naranja Valencia en México y que no había reportes de la enfermedad se empleó esta referencia para los cálculos respectivos. Se realizaron análisis estadísticos (PROC FACTOR, PROC CLUSTER y PRINCOMP) de variable de producción primaria (IICA, 2010). El porcentaje total de pérdidas estimado fue superior para el grupo de mayor impacto y consecuentemente menor para el de bajo impacto. Se definieron 3 niveles de impacto: alto, mediano y bajo. En el caso de la naranja, 22 entidades de un total de 27 se agruparon en la categoría de bajo impacto por lo que el total de producción contribuyó a superar las pérdidas del grupo moderado (Cuadro 7).

Las estimaciones de pérdida potencial a causa del HLB en los diferentes niveles de impacto fue de 41.1%, en el impacto alto. En el mismo nivel de riesgo las pérdidas en naranja y toronja se proyectaron hasta un 52.7% (Veracruz). En términos socioeconómicos, las pérdidas económicas por el establecimiento del patógeno alcanzaron 42% en naranja y 33% en limón mexicano. En empleos generados por la actividad citrícola se estima la disminución de 6 a 9 empleados por tonelada de producción, según la especie.



**Cuadro 7.** Resumen de pérdidas potenciales de producción por especie cítrica categorizadas en impacto bajo, moderado y alto considerando un escenario de ingreso y establecimiento de *C. Liberibacter* en el territorio mexicano.

ESPECIE	IMPACTO BAJO			IMPACTO MODERADO		IMPACTO ALTO		PRODUCCIÓN		
	PROD. AC. (TON)	PÉRDIDA POTENCIAL POR HLB (TON)	PÉRDIDA POTENCIAL AL HLB (%)	PÉRDIDA POTENCIAL POR HLB (TON)	PÉRDIDA POTENCIAL AL HLB (%)	PÉRDIDA POTENCIAL POR HLB (TON)	PÉRDIDA POTENCIAL AL HLB (%)	VALOR DE LA PRODUCCIÓN (MILES)	% VALOR DE LA PRODUCCIÓN	JORNALES/TON PROD.
Limón Mexicano	1308354.0	130835.4	10.0%	183168.0	14.0%	230270.3	17.6%	3385739.0	33.18	8
Limón Persa	834966.0	83496.6	10.0%	116685.0	14.0%	146954.0	17.6%	1609204.0	15.77	9
Limón Italiano	87132.0	8713.2	10.0%	12198.0	14.0%	15335.2	17.6%	136304.0	1.34	7
Naranja	4390326.0	1448807.6	33.0%	1824065.0	42.0%	2313701.8	52.7%	4340534.0	42.53	7
Mandarina	200891.0	33147.0	16.5%	39790.0	21.0%	53035.2	26.4%	204325.0	2.00	9
Toronja	425255.0	140334.2	33.0%	178208.0	42.0%	224109.4	52.7%	529514.0	5.19	6
<b>Total cítricos</b>	<b>7246925.0</b>	<b>1845333.9</b>	<b>24.5%</b>	<b>2354114.0</b>	<b>32.0%</b>	<b>2983406.0</b>	<b>41.1%</b>	<b>10205620.0</b>	<b>100.0</b>	<b>8</b>

\*Tomado de IICA, 2010.

## Estrategias de control

A nivel mundial, la estrategia contra esta enfermedad y su vector, contempla la implementación de una serie de actividades fitosanitarias (Aubert *et al.*, 1996; Da Graca & Kortsen, 2004). En México, se involucran a todos los eslabones de la cadena cítrica, principalmente los productores y viveristas. Así también, los organismos auxiliares de sanidad vegetal (OASV) y las instituciones de investigación y enseñanza del país (Senasica, 2010). Dichas estrategias están enfocadas en las tres acciones fundamentales dentro del contexto de vigilancia epidemiológica:

## Exclusión

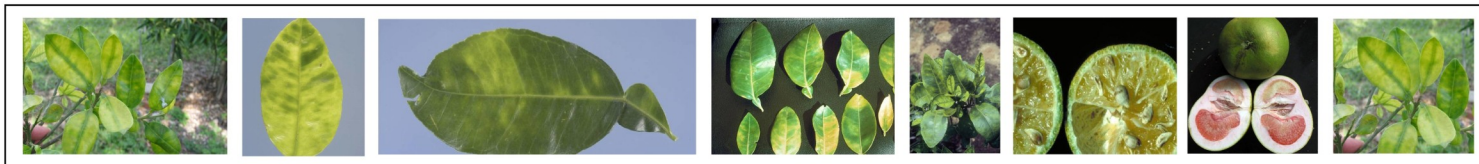
A partir de la aparición del HLB en México (Julio, 2009), se han desarrollado normas oficiales y lineamientos para prevenir la diseminación de la enfermedad hacia las principales zonas cítricas del país como: Veracruz, Tamaulipas, Sonora, Michoacán, San Luis Potosí, Nuevo León y Baja California, tal es el caso de la Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-047-FITO-2009, la cual establece las acciones fitosanitarias para mitigar el riesgo de introducción y dispersión del Huanglongbing (HLB) de los cítricos ('*Candidatus Liberibacter spp.*') en el territorio nacional (Senasica, 2010), así como el acuerdo por el que se dan a conocer las medidas fitosanitarias que deberán aplicarse para el control del Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter spp.*) y su vector (SAGARPA, 2010).

## Eradicación

Las acciones están enfocadas para controlar la enfermedad y al psílido virulífero. Dentro de ellas, destacan la eliminación de plantas con síntomas de HLB (Fig. 18), en huertos comerciales, viveros y traspatios. Así también, la aspersión de insecticidas para controlar el psílido vector (*D. citri*) en focos de infección (Robles, 2010)



**Figura 18.** Aplicación de producto químico (a) y erradicación del árbol positivo a HLB (b). Foto: G. Mora.



## Ficha Técnica Huanglongbing

### Protección

#### Control químico

El manejo del HLB está enfocado prácticamente en el control de su vector. Estudios realizados en México, muestran que los insecticidas abamectina e imidacloprid aplicados al follaje reducen significativamente la población de ninfas en el cultivo hasta los veinte días posteriores a la aplicación, proporcionando niveles de control por encima del 90% de eficacia biológica. El spiromesifen también puede ser un producto recomendado para el control de ninfas de *D. citri*, ya que a los 7 y 14 días de haberlo aplicado muestran un 83 % y 88% de eficacia, respectivamente (Sánchez-Borja, 2010).

#### Control biológico

En México, se han identificado 17 géneros y 15 especies de coccinélidos asociados a *Diaphorina citri* (Lomelí-Flores *et al.*, 2010). En el valle de Apatzingán, los depredadores más abundantes son diferentes especies de arañas, *Chrysoperla rufilabris*, *Zelus renardii* (Miranda-salcedo y López-Arrollo, 2010). Por otro lado, en el municipio de Cuitlahuac, Veracruz en huertas de limón persa, los enemigos naturales están presentes durante todo el año del cultivo, no ejerciendo una regulación clave de las poblaciones de psílidos, pero sí realizando un ensamble ecológico. Sin embargo, se demostró que *Tamarixia sp.* (Fig. 19c) redujo el número de ninfas del psílido (Sanchez-Borja, 2010). Así también, se han encontrado depredadores y hongos entomopatógenos asociados a *D. citri* (Fig. 19a y 19b)(Ortega-Arenas *et al.*, 2010).



**Figura 19.** Epizotias: Aspecto del desarrollo micelial avanzado (a) e Infección reciente del hongo *Hirsutella sp.* sobre adulto de *D. citri* (b) en cítricos de Yucatán y adulto de *Tamarixia radiata* parasitoide de *Diaphorina citri* (c). Fotos: GIIIC-IPN, H. Cortez (a y b) y GIIIC-CP, R. Lomelí y E. Rodríguez.

#### Riesgo fitosanitario

El HLB es considerado como la enfermedad más destructiva para los cítricos en el mundo, debido a la severidad de los efectos sobre la productividad, la rapidez con la que se dispersa y porque afecta a todas las especies de cítricos (Chen *et al.*, 2009). Su riesgo es mayor debido a que en el año 2002 se detectó al vector del HLB, el psílido asiático de los cítricos, el cual esta ampliamente distribuido en México, con niveles poblacionales altos y varias generaciones a lo largo del año, y en el 2009 la presencia de 'Candidatus Liberibacter asiaticus' en la Península de Yucatán, lo que representa un grave riesgo para la sustentabilidad de la citricultura mexicana. Por otro lado, la diversidad de ambientes agroecológicos, culturales y económicos en la República dificulta la estandarización de una medida de control. No se ha cubierto el sistema epidemiológico descartando hospederos y hospedantes naturales tanto de *Diaphorina citri* como de la bacteria respectivamente.

#### Reporte epidemiológico

##### Regionalización del HLB

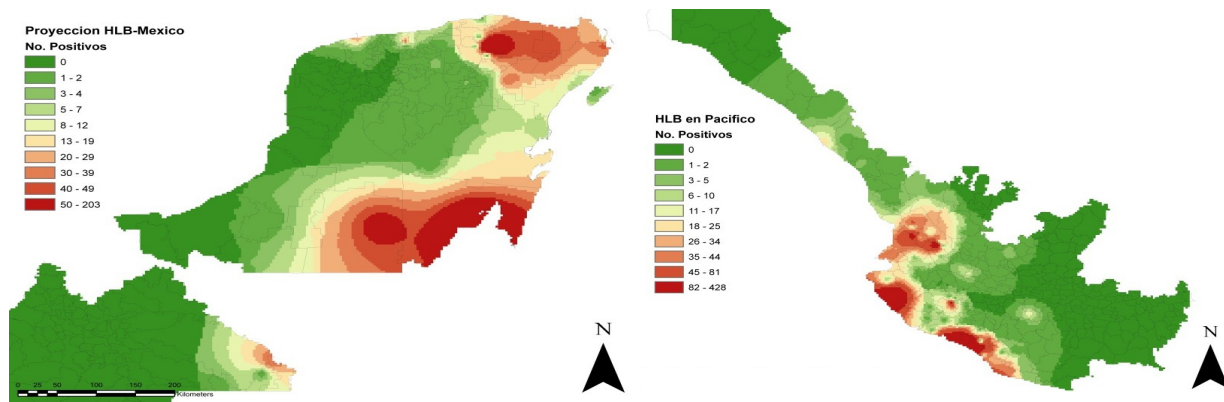
La llegada del HLB a la Península de Yucatán en 2009 probablemente se debió al desplazamiento de insectos vectores procedentes de países con presencia de la bacteria (Belice, Cuba, República Dominicana) y posiblemente esa situación fue favorecida por los vientos predominantes en la zona. Sin embargo, en la zona del Pacífico (Jalisco y Nayarit) probablemente se debió al desplazamiento de material vegetal infectado (yemas vegetativas, varetas, ornamentales, etc.) o insectos vectores portadores de la bacteria hospedados en algún material vegetal. *D. citri* fue detectado en México en 2002 y con la llegada del HLB a la Península de Yucatán y vertiente del Pacífico la enfermedad se distribuyó rápidamente, de tal forma, que en menos de un año se dispersó a 7 entidades federativas en México (Trujillo, 2010).

La epidemia de HLB en la región de la Península de Yucatán y la zona del Pacífico, tomando como referencia la primera detección de 'Ca. Liberibacter', en ambas regiones, hacia el municipio más lejano reportado muestra una dispersión discontinua.



La epidemia en la Península de Yucatán sugiere dos procesos espacio-temporales independientes (Fig. 20a), Tizimín (Julio, 2009) y Othon P. Blanco (Diciembre, 2009), entre los cuales existe una distancia de 500 km aproximadamente. En la vertiente del Pacífico también se perciben dos frentes principales de la enfermedad, el foco inicial detectado en Bahía de Banderas y San Blas Nayarit (Noviembre, 2009) y un segundo frente hacia Colima (Abril, 2010) (Fig. 20b). Las condiciones de continuidad de hospedante y manejo agronómico son heterogéneas entre las dos regiones. En la Península la mayor densidad de hospedante se encuentra en la zona centro-sur del estado a 350 km de la primera detección, mientras que en el resto la distribución es heterogénea.

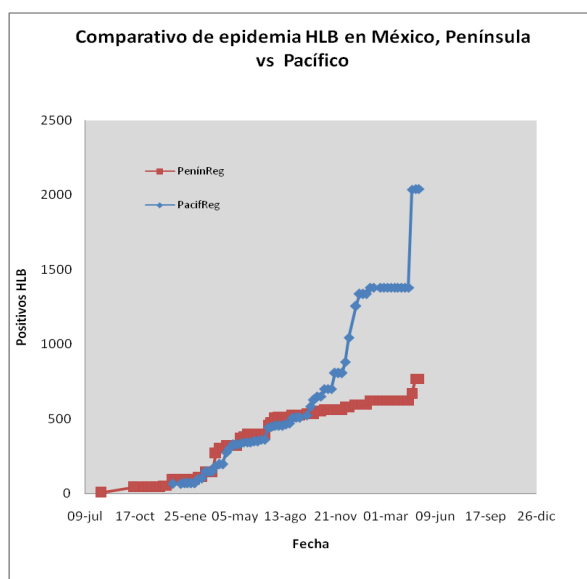
En el Pacífico la mayor densidad de hospedante (huertos comerciales) se encuentra dentro del foco inicial, en el municipio de Ahuacatlán, Nayarit y en Tecomán, Colima con una distancia aproximada entre sí de 300 km. A nivel temporal, las epidemias se comportan de manera distinta, la dispersión de la enfermedad en la Península sugiere un proceso más lento aún a pesar de tener el primer reporte histórico, lo cual indicaría que el proceso sería más rápido. Sin embargo, la enfermedad en la región del pacífico en tan solo cuatro meses alcanzó los mismos niveles de incidencia a nivel municipio que la península, mostrando así mayor rapidez de dispersión (Fig. 21).



**Fig. 20.** Mapas interpolados de incidencia de HLB a nivel municipio en la Península de Yucatán y vertiente del Pacífico, del 1 de Diciembre de 2009 al 31 de octubre de 2010. (GIIC datos de SENASICA).

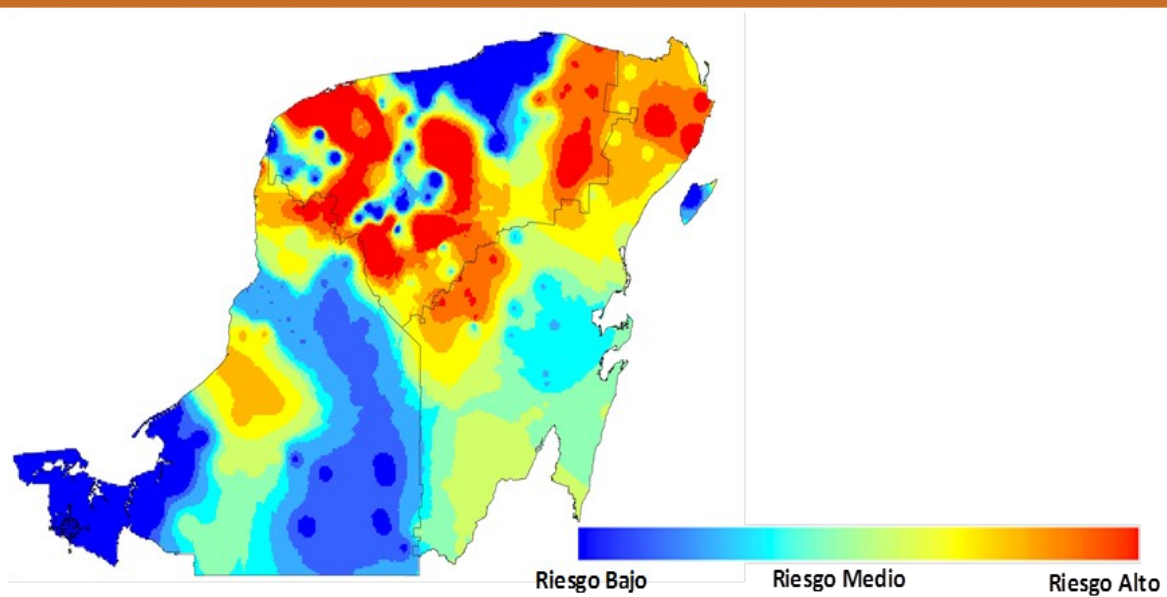
Los factores del sistema epidemiológico como manejo, hospedante y clima tienen un papel muy importante en el proceso de adaptación y transmisión de la enfermedad. Por un lado, la región con producción comercial es representada por la zona del pacífico, mientras que la Península es generalmente traspasado. Lo cual indica que la continuidad de hospedero (Pacífico) sugiere mayor posibilidad de éxito en el proceso de dispersión. Caso contrario es la península que debido a su discontinuidad de hospedante el proceso de dispersión es menos exitoso y de mayor lentitud. (Fig. 21).

Otra característica importante dentro del sistema epidemiológico es la susceptibilidad de la especie. En la región de la península la mayor superficie corresponde a naranja dulce, mientras que en la región del Pacífico lo representan las especies agrias (limón persa y mexicano). Estudios espaciales y temporales en las dos regiones productoras de cítricos muestran una mayor susceptibilidad del limón al HLB (Senasica, 2010). La densidad de hospedante y la susceptibilidad de la especie hacen de la región del Pacífico aparentemente la zona de mayor riesgo.



**Fig. 21.** Gráfico de incidencia de HLB a nivel municipio en la Península de Yucatán y vertiente del Pacífico, del 1 de Diciembre de 2009 al 31 octubre de 2010. (GIIC datos de SENASICA)





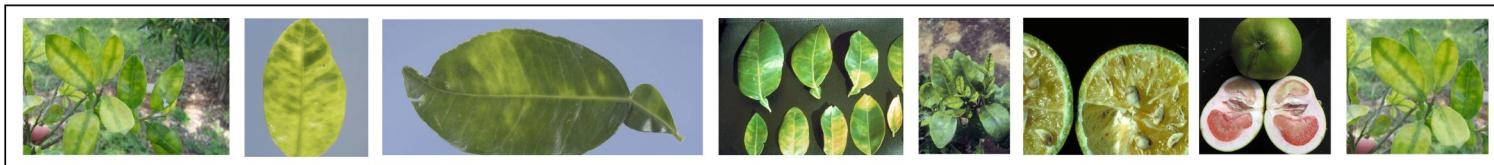
**Figura 23.** Mapa interpolativo de índice de traspatio en la Península de Yucatán. Datos GIIC, 2010.



## Ficha Técnica Huanglongbing

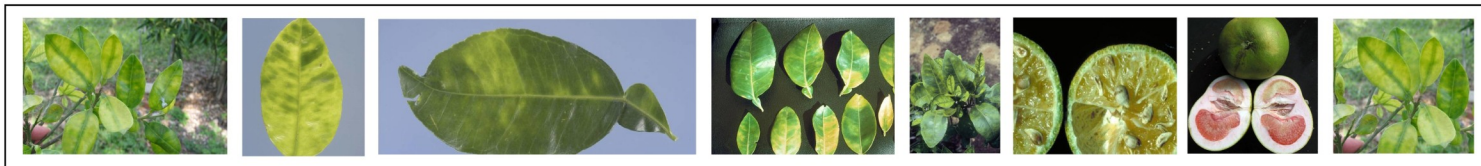
### Literatura citada

- Alemán, J., H. Baños, y J. Ravelo. 2007. *Diaphorina citri* y la enfermedad huanglongbing: una combinación destructiva para la producción cítrica. *Protección vegetal* 22: 154-165.
- Aubert, B., Grisoni, M., Villemin, M. and Rossolin, G. 1996. A case study of huanglongbing (greening) in Reunion. 276-278 pp. *In: Proceedings of the 13<sup>th</sup> Conference of International Organization of Citrus Virologist IOCV, Riverside.*
- Ayres, J. A. y Yamamoto, P. T. 2007. Survey of HLB (Greening) and control strategies in Brazil. FUNDECITRUS. Citrus Expo 2007-Florida.
- Bassanezi, R. B., Busato, L. A., Filho, A. B., Amorim, L. and Gottwald, T. R. 2005. Preliminary Spatial Pattern Analysis of Huanglongbing in Sao Paulo, Brazil. 341-355 pp. *In: 16 Conf. IOCV. Riverside, California.*
- Bassanezi, R. B., Montesino, L. H. and Stuchi, E. S. 2009. Effects on Huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*. 125:565-572.
- Bové, M. J., 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88: 7-37.
- Bové, J. M., Teixeira D. C., Wulff, N. A., Eveillard, S., Sillard, C., Bassanezi, R. B., Lopes, S. A., Yamamoto, P. T., Ayres, A. J. 2008. Several *Liberibacter* and *Phytoplasma* species are individually associated with HLB. *Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando*. P. 152-155
- Brlansky, R. H., Chung, K.R. and Rogers, M.E. 2007. Florida Citrus Pest Management Guide: Huanglongbing (Citrus Greening). University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/CG086>.
- Brlansky, H. R., Dewdney, M. M., Rogers E.M. and Chung R. K. 2009. Florida Citrus Pest Management Guide: Huanglongbing (Citrus Greening). Plant Pathology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. USA. SP-43. PP-225.
- Chen, Q. 1943. A report of a study on yellow shoot of citrus in Chaoshan. *Quarterly Bulletin of New Agriculture* 3: 142-175.
- Chen, J., Pu, X., Deng, X., Liu, S., Li, H., and Civerolo, E. 2009. A *Phytoplasma* Related to "*Candidatus Phytoplasma asteri*" Detected in Citrus Showing Huanglongbing (Yellow Shoot Disease) Symptoms in Guangdong, P. R. China. *Phytopathology* 99: 236-242.
- Coletta-Filho, H. D., Targon, M. L. P. N., Takita, M. A., De Negri, J. D., Pompeu, J., Jr, Machado, M. A., Amaral, A. M. & Muller, G. W. (2004). First report of the causal agent of huanglongbing ('*Candidatus Liberibacter asiaticus*') in Brazil. *Plant Dis* 88, 1382.
- Da Graca, J. V. and Korsten, L. 2004. Citrus Huanglongbing: Review, Present status and Future Strategies. *Diseases of fruit and Vegetables* 1: 229-245.
- Da Graca, J. V. 2008. Biology, History and World Status of Huanglongbing. 7 pp. *In: memorias del I Taller Internacional sobre Huanglongbing de los Cítricos Candidatus Liberibacter spp) y el psílido asiático de los cítricos (Diaphorina citri)*. 7-9 de Mayo, 2008. Hermosillo, Sonora, México
- Das, A. K., Rao, C. N. and Singh, S. 2007. Presence of citrus greening (Huanglongbing) disease and its psyllid vector in the North-Eastern region of India confirmed by PCR technique. *Current Science* 92: 1759-1763.
- DGSV. Dirección General de Sanidad Vegetal, 2007. Presencia del huanglongbing en Florida, EE.UU. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Circular No. 15220, septiembre 2005.
- Esquivel-Chávez, F., Valdovinos-Ponce, G., Mora-Aguilera, G., Gómez-Jaimes, R., Velázquez-Monreal, J. J. y López-Arrollo, J. I. 2010. Análisis histológico y epidemiológico del limón mexicano y limón persa asociados a síntomas del hlb (huanglongbing). En memoria del 1er. Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 99-103 p.
- Flores-Sánchez, J. L., Mora-Aguilera, G., Loeza-Kuk, E., Acevedo-Sánchez, G., Díaz-Padilla, G., Ruiz-García, N., López-Arrollo, J. I., Rivas-Valencia, P., Novelo-Cocón, A., López-Sánchez, P. y Sánchez-Rebolledo, F. 2010. Análisis Estructural de Focos y Gradientes de Dispersión del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en la Península de Yucatán. En memoria del 1er. Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 104-118 pp.
- Flores-Sánchez, J. L. 2011. Análisis estructural de focos y gradientes de dispersión del Huanglongbing de los cítricos (HLB) en la Península de Yucatán. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 75 p.
- Fung, Y. C. and Chen, N. C. 2006. Effects of temperature and host plant on population parameters of the citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama). *Formosan Entomol* 26: 109-123.
- Fundecitrus. 2009. Manual técnico de Greening. Folleto técnico. Brasil. 12 pp.
- Garnier, M., S. Jagoueix, E., Cronje, R. P., Le Roux, F. G. and Bové, J. 2000. Genomic characterization of a *Liberibacter* present in an ornamental rutaceous tree, *Calodendrum capense*, in the Western Cape Province of South Africa. Proposal of '*Candidatus Liberibacter africanus* subsp. *capensis*.' *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 2119-2125.



- Gomez, H. D. 2008. Experiences on HLB (Huanglongbing) symptoms Detection in Florida. 7 pp. *In: memorias del I Taller Internacional sobre Huanglongbing de los Cítricos Candidatus Liberibacter spp) y el psílido asiático de los cítricos (Diaphorina citri)*. 7-9 de Mayo, 2008. Hermosillo, Sonora, México.
- González, C., Gómez, M., Fernández, M., D. Hernández, Tapia, J.L., Batista, L. 2007. *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae), behaviour and natural enemies in Cuban citriculture. Program and Abstracts of the XVII IOCV, Adana, Turkey: 180.
- FAO. 2010. Consultado el 10 de Marzo. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- Halbert, S.E. and Manjunath K. L. 2004. Asian Citrus Psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and Greening Disease of Citrus: A literature review and assessment of risk of Florida. *Florida Entomologist* 87(3) 330-353.
- Hall, D. G. 2008. Biology, History and World Status of *Diaphorina citri*. 11 pp. *In: memorias del I Taller Internacional sobre Huanglongbing de los Cítricos Candidatus Liberibacter spp) y el psílido asiático de los cítricos (Diaphorina citri)*. 7-9 de Mayo, 2008. Hermosillo, Sonora, México.
- Inoue, H., Ohnishi, J. Ito, T., Tomimura, K., Miyata, S., Iwamani, T., Ashibara, W., 2009. Enhanced proliferation and efficient transmission of *Candidatus Liberibacter asiaticus* by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. *Annals of Applied Biology*. 155: 29-36.
- INISAV. 1999. La enfermedad del enverdecimiento de los cítricos y su vector (*Diaphorina citri* Kuwayana). *Boletín Técnico*. La Habana, Cuba. 5 (1).
- Jagoueix, S., Bove, J.M. And Garnier, M. 1994. The Phloem-Limited Bacterium of Greening Disease of Citrus Is a Member of the  $\alpha$  Subdivision of the *Proteobacteria*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 44: 379-386.
- Jepson, S. B. 2008. Citrus Greening Disease (Huanglongbing). OSU Plant Clinic, Oregon State University, Corvallis OR. USA. 97: 331-2903.
- Lomelí-Flores, J. R., Rodríguez-Leyva, E., Valdez, J. y Ortega-Arenas, L. D. 2010. Géneros de Coccinelidae Asociados a *Diaphorina citri* (HEMIPTERA:PSYLLIDAE) en México. En memoria del 1er. Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 64-77 pp.
- Lopes, S. A., Frare, G. F., Yamamoto, P. T., Ayres, A. J. and Barbosa, J. C. 2007. Ineffectiveness of pruning to control citrus Huanglongbing caused by *Candidatus Liberibacter americanus*. *European Journal of Plant Pathology* 119: 463-468.
- Lopes, A. S., Frare, F. G., Bertolini E., Cambra, M., Fernandes, G. N., Ayres, J. A., Marin, R. D. and Bové, M. J. 2009. Liberibacters associated with citrus Huanglongbing in Brazil: *Candidatus Liberibacter asiaticus* is heat tolerant, *Ca. L. americanus* is heat sensitive. *Plant Disease* 93: 257-267.
- Manjunath, K.L., S.L. Halbert, C. Ramadugo, S. Webb and R.F. Lee. 2008. Detection of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" in *Diaphorina citri* and its importance in the management of citrus Huanglongbing in Florida. *Phytopathology* 98:387-396.
- Manicom, B. Q. and Van Vauuren, S. P. 1990. Symptoms of greening disease with special emphasis on African greening. 127-131 pp. *In: proceedings of the 4<sup>th</sup> International Asia-Pacific Conference on Citrus Rehabilitation*. FAO-UNDP, Chiang-Mai, Thailand.
- Meyer, M. J., Hoy, M. A. and Singh, R. 2007. Low incidence of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) populations between nov 2005 and jan 2006: relevance to management of citrus greening disease in Florida. *Florida Entomologist* 90: 394-397.
- Miranda-Salcedo, M. A. y López-Arrollo, J. I. 2010. Fluctuación Poblacional del Psílido Asiático de los Cítricos *Diaphorina citri* KUWAYANA (HEMIPTERA:PSYLLIDAE) y sus enemigos naturales. En memoria del 1er. Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 13-18 pp.
- Murray R. G. E., Schleifer K. H. 1994. Taxonomic notes: a proposal for recording the properties of putative taxa of prokaryotes. *International Journal of Systemic Bacteriology* 44: 174-176.
- Murray, R. G. E. & Stackebrandt, E. 1995. Taxonomic note: implementation of the provisional status *Candidatus* for incompletely described prokaryotes. *International Journal System Bacteriology* 45:186-187.
- Ortega-Arenas, L. D., Villegas-Monter, A., Orduño-Cruz, N., Vega-Chávez, J., Lomelí-Flores, J. R. y Rodríguez-Leyva, E. 2010. Fluctuación Poblacional de *Diaphorina citri* y Enemigos Naturales Asociados a Especies de Cítricos en Cazonas, Veracruz, México. En memoria del 1er. Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 56-63 pp.
- Otake, A. 1990. Bibliography of citrus greening disease and its vectors attached with indices, and a critical review on the ecology of the vectors and their control. *Japanese International Cooperation Agency* 16 p.
- Phahladira, M. N. B., 2008. Identification of alternative hosts to citrus of "*Candidatus Liberibacter africanus*" amongst indigenous Rutaceae of South Africa. MSc. study in progress., University of Pretoria, Pretoria, South Africa





## Ficha Técnica Huanglongbing

- Ramírez, D. A. M., Robles, G. P. L. y Reyes, G. B. (eds.) 2000. Memorias de la segunda reunión nacional de la campaña contra el virus de la tristeza de los cítricos. 12 y 13 de Octubre, Veracruz, México. 134 pp.
- Robles-González, M. M., Velázquez-Monreal, J. J., Manzanilla-Ramírez, M. A., Orozco-Santos, M., Flores-Virgen, R. y Medina-Urrutia, V. M. 20110. Síntomas del Huanglongbing en Limón Mexicano. Primeras observaciones. En memoria del 1er. Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 141- 149 p.
- Robles, G. P. 2008. Manual técnico para la detección y manejo del huanglongbing de los cítricos. Dirección General de Sanidad Vegetal. Senasica SAGARPA. 39 p.
- Ruiz-García, N., G. Mora-Aguilera, P. Rivas-Valencia. D. Ochoa-Martínez, C. Góngora-Canul, E. Loeza-Kuk, A. Gutiérrez-Espinosa, G. Ramírez-Valverde, and R. Álvarez-Ramos. 2005. Probability model of CTV detection on the tree canopy and confiability and efficiency of direct immunoprinting-ELISA. *In: Proc. 16<sup>th</sup> Conf. Int. Org. Citrus Virol. Hilf, M. E., N. Duran-Vila and M. A. Rocha-Peña.* pp.193-203.
- Salcedo-Baca, D., Hinojosa, R., Mora-Aguilera, G., Covarrubias-Gutiérrez, I., DePaolis, F., Cíntora-González, C. y Mora-Flores, Saturdino. 2010. Evaluación del Impacto Económico de Huanglongbing (HLB) en la Cadena Citrícola Mexicana. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). México. 141 p.
- SAGARPA, 2010. Acuerdo por el que se dan a conocer las medidas fitosanitarias que deberán aplicarse para el control del Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter spp.*) y su vector. Diario Oficial de la Federación, 16 de Agosto de 2010.
- Sánchez-Borja, M., Baustista-Martínez, N., Bravo-Mojica, H., Romero-Nápoles, J., Ramírez-Alarcón, S. y López-Martínez, V. 2010. Biología, Ecología y Control de *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA PSYLLIDAE). En memoria del 1er. Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 30-31 pp.
- Sechler, A., Schuenzel, E. L., Cooke, P., Donnua, S., Thaveechai, N., Postnikova, E., Stone, A. L., Schneider, W. L., Damsteegt, V. D., and Schaad, N. W. 2009. Cultivation of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', '*Ca. L. africanus*', and '*Ca. L. americanus*' associated with huanglongbing. *Phytopathology* 99:480-486.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Documento interno. Departamento de Estadística. 2010. <http://www.siap.com.mx>
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2009 y 2010. <http://www.senasica.gob.mx>
- Teixeira, D. C., Ayres, A. J., Kitajima, E. W., Tanaka, F. A. O., Danet, J. L. Jagoueix, E. S., Saillard, C. and Bové, J. M. 2005. First report of huanglongbing-like disease of citrus in Sao Paulo State, Brazil and association of a new liberibacter species, '*Candidatus Liberibacter americanus*', with the disease. *Plant Disease* 89: 107.
- Teixeira, D. C., Danet, J. L., Eveillard, S., Martins, E. C., Jesus, W. C., Jr., Yamamoto, P. T., Lopes, S. A., Basanezi, E. B., Ayres, A. J., Saillard, C., and Bové, J. M. 2005a. Citrus huanglongbing in São Paulo, Brazil: PCR detection of the *Candidatus Liberibacter* species associated with the disease. *Mol. Cell. Probes* 19:173-179.
- Teixeira, C. D., Saillard C., Eveillard S., Danet, L. J., da Costa, P., Ayres, J.A. and Bové, J. 2005b. *Candidatus Liberibacter americanus*, associated with citrus huanglongbing (greening disease) in Saõ Paulo State, Brazil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 1857–1862.
- Trujillo, A. J., Sánchez, A. M. y Robles G. P. 2008. Situación actual y perspectivas del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos en México. 3 pp. *In: memorias del I Taller Internacional sobre Hunaglongbing de los Cítricos (Candidatus Liberibacter spp) y el psílido asiático de los cítricos (Diaphorina citri).* 7-9 de Mayo, 2008. Hermosillo, Sonora, México.
- Trujillo-Arriaga, J. 2010. Situación actual, regulación y manejo del HLB en México. 2° Taller internacional sobre el Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos. Merida, Yucatán. México.
- Van der Merwe, A. J. and Andersen, F. G. 1937. Chromium and manganese toxicity. Is it important in Transvaal citrus greening? *Farming in South Africa.* 12:439-440.
- Zhao, X. Y. 1981. Citrus yellow shoot disease (Huanglongbing) - a review. *Proceedings of the International Society of Citriculture.* 1:466-469.



## ANEXOS

### Anexo 1. Distribución mundial de 'Ca. L. asiaticus', 'Ca. L. africanus' y 'Ca. L. americanus'.

Lugar	Especie detectada	Fecha de detección	Literatura Citada
<b>China</b>	Ca. L. asiaticus	Finales del siglo XIX.	Zhao, 1981.
<b>Taiwan</b>	Ca. L. asiaticus	1920	Otake, 1990.
<b>Filipinas</b>	Ca. L. asiaticus	1920	Lee, 1921.
<b>Sudafrica</b>	Ca. L. africanus	Finales de 1920	Van der Merwe and Andersen, 1937.
<b>Indonesia</b>	Ca. L. asiaticus	1940	Aubert <i>et al.</i> , 1985.
<b>India</b>	Ca. L. asiaticus	1974	Raychaudhuri <i>et al.</i> , 1974.
<b>Brazil</b>	Ca. L. americanus	2004	Colleta-Filho <i>et al.</i> , 2004; Teixeira <i>et al.</i> , 2005.
<b>Florida, USA</b>	Ca. L. asiaticus	2005	Cheng y Brilansky, 2005.
<b>Cuba</b>	Ca. L. asiaticus	2007	Martínez <i>et al.</i> , 2009 y Da Graca, 2008.
<b>Lousiana, USA</b>	Ca. L. asiaticus	2008	Jepson, 2008.
<b>Belize</b>	Ca. L. asiaticus	2008	SENASICA, 2009
<b>R. Dominicana</b>	Ca. L. asiaticus	2008	SENASICA, 2009
<b>México</b>	Ca. L. asiaticus	2009	SENASICA, 2009
<b>Texas, USA</b>	Ca. L. asiaticus	2012	APHIS, 2012



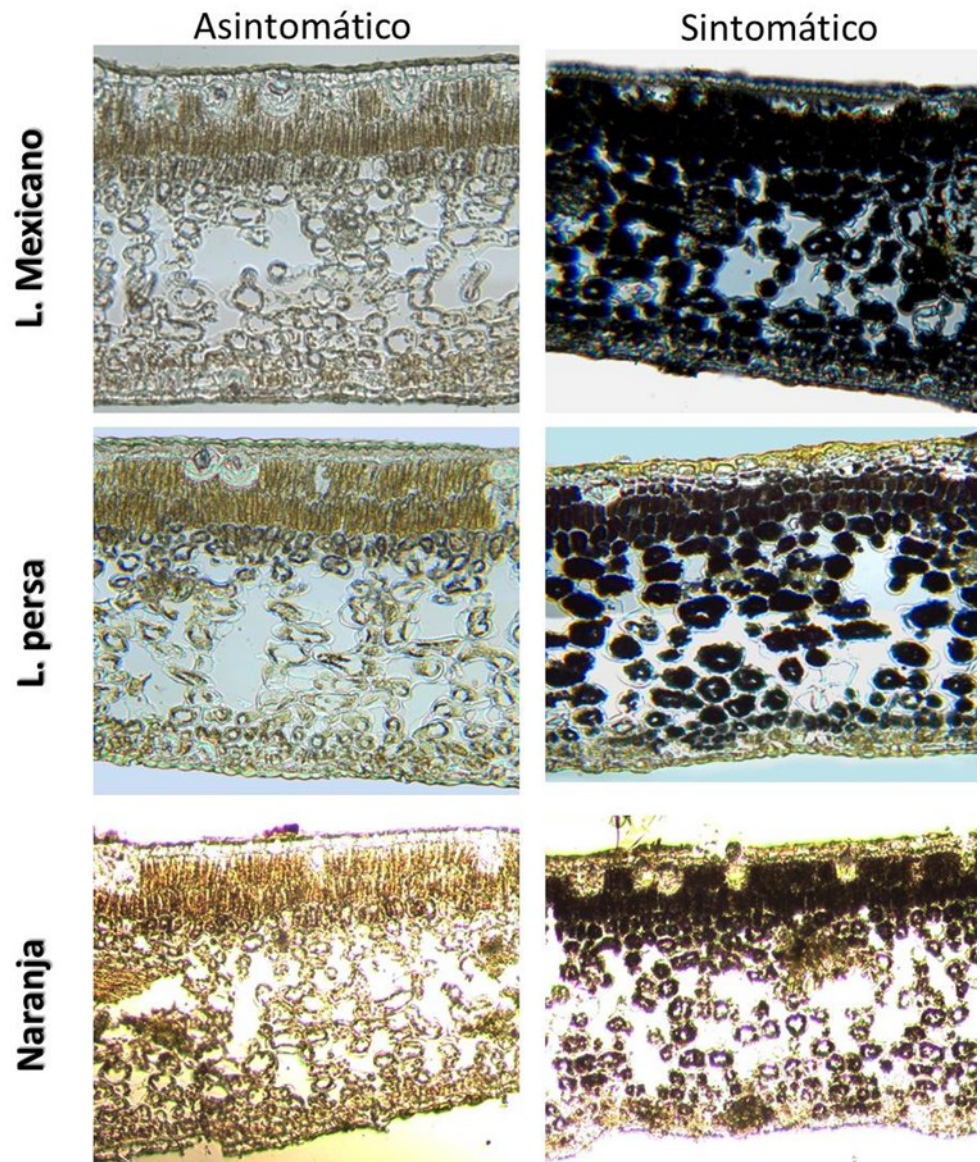
**Anexo 2.** Distribución de *Ca. L. asiaticus* en México.

Estado	Municipios	Fecha de detección	Especie detectada	Cita
<b>Baja California Sur</b>	Los Cabos, La Paz	Agosto, 2011	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2011
<b>Campeche</b>	Calakmul	Marzo, 2010	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2010
<b>Chiapas</b>	Benemérito de las Américas, Marqués de Comillas	Marzo, 2011	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2011
<b>Colima</b>	Armería, Colima, Coquimatlán, Comala, Ixtlahuacán, Manzanillo, Minatitlán, Tecomán, Villa Álvarez, Cuauhtémoc.	Abril 2010	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2010
<b>Hidalgo</b>	Atlapexco, Jaltocán, Huejutla de Reyes, San Felipe Orizatlan, Huautla, Yahualica.	Agosto, 2011	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2011
<b>Jalisco</b>	Acatlán de Juárez, Amatitlán, Autlán de Navarro, Ayotlán, Ahualulco de Mercado, Ameca, Amacueca, El Arenal, Cabo Corriente, Casimiro Castillo, Chiquilistlán, Cihuatlán, Cocula, Etzatlán, El Grullo, Hostotipaquillo, Jocotepec, Ixtlahuacán del Río, La Huerta, Magdalena, Mascota, Puerto Vallarta, San Juanito de Escobedo, San Martín Hidalgo, San Sebastián del Oeste, Tala, Talpa de Allende, Tecolotlán, Tequila, Teuchitlán, Tomatlán, Tonalá, Tlajomulco de Zúñiga, Tlaquepaque, Villa Corona, Villa Purificación, Zapopan, Unión Tula, San Marcos, Cuquio, El Limón, Cuautitlán de García Barragán, Mixtlán, Atenguillo, Sayula, Atotonilco el Alto, Guadalajara, Mexicacán, Techalutla de Montenegro, Tepatlán de Morelos, Ixtlahuacán de los Membrillos, Zapotlanejo.	Diciembre 2009	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2009
<b>Michoacán</b>	Aguililla, Apatzingán, Aquila, Coahuayana de Hidalgo, Múgica, Tepalcatepec.	Diciembre 2010	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2010
<b>Nayarit</b>	Ahuacatlán, Amatlán de Cañas, Bahía de Banderas, Compostela, Ixtlán del Río, Jala, Ruiz, San Pedro Lagunillas, San Blas, Santa María del Oro, Santiago Ixcuintla, Tepic, Tecuala, Xalisco, Tuxpan.	Diciembre, 2009	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2009
<b>Quintana Roo</b>	Benito Juárez, Felipe Carrillo Puerto, Lázaro Cárdenas, Othón P. Blanco, Solidaridad.	Agosto, 2009	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2009
<b>San Luis Potosí</b>	Tanquián	Octubre, 2011	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2011
<b>Sinaloa</b>	Angostura, Concordia, Escuinapa, Mazatlán, Rosario	Junio, 2010	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2010
<b>Yucatán</b>	Buctutz, Cantamayec, Cacalchén, Chankom, Chacsinkín, Chemax, Chikindzonot, Chixculub Pueblo, Dzilam de Bravo, Dzilam González, Espita, Zamal, Kantunil, Kaua, Mani, Mayapán, Mérida, Mococho, Panabá, Peto, Progreso, Río Lagartos, Temax, Telchac Pueblo, Telchac Puerto, Tekax, Temozón, Tizimín, Tixkokob, Tunkás, Valladolid, Yaxcaba, Yobaim, Sudzal, Dzidzantún, Sinanché, Sotutá, Motúl, Dzemul, Ixil, Tepakán	Julio, 2009	<i>Ca. L. asiaticus</i>	SENASICA, 2009



**Anexo 3.** Resultados obtenidos sobre el tamaño de muestra y esquema de muestreo realizado a adultos y ninfas de *D. citri* en huertas de citricos en Veracruz, Puebla y Morelos

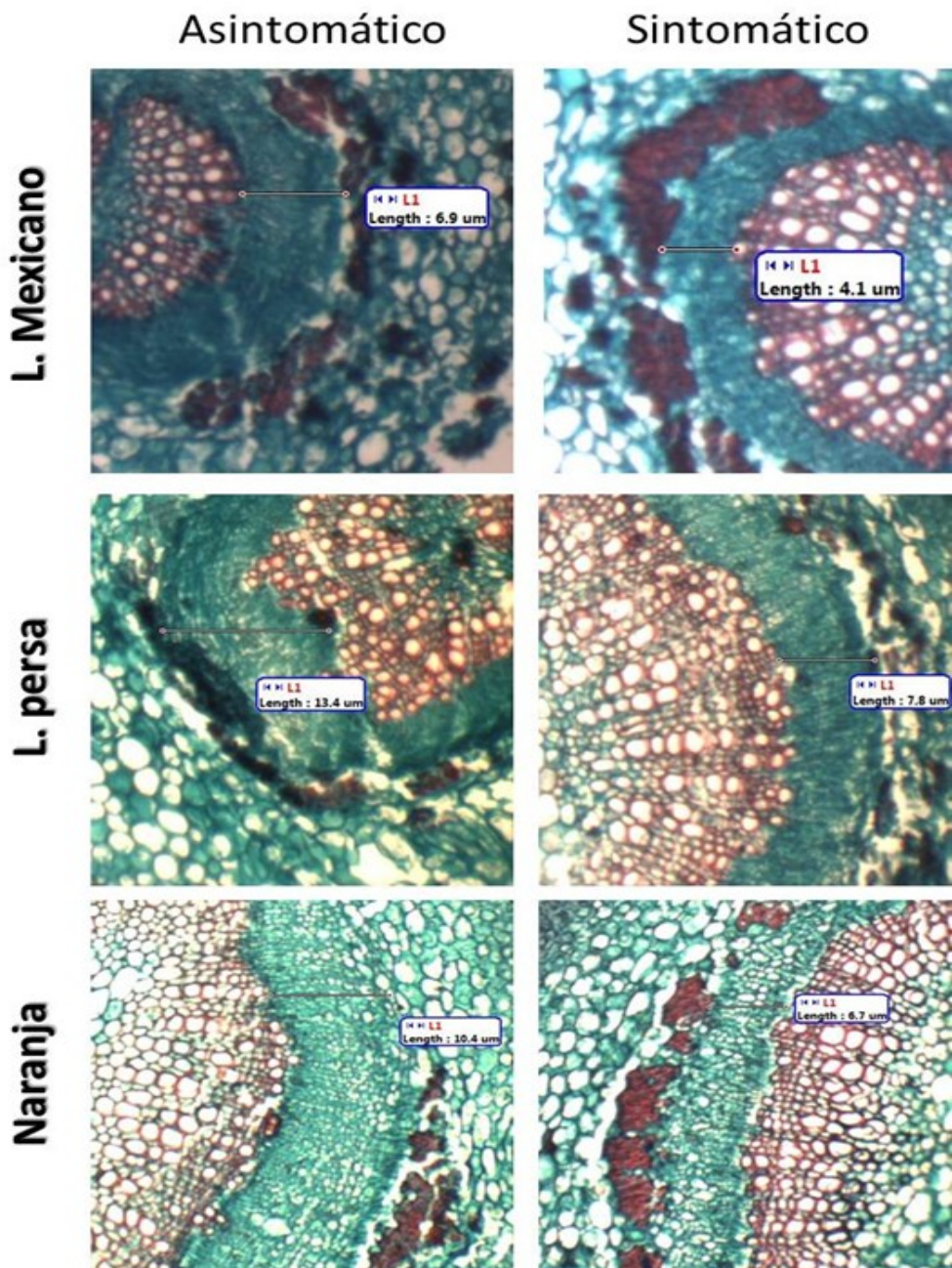
Esquema de Muestreo	K Intervalo de selección	n	$\mu$ población	$\bar{x}$	Índice de agregación Morisita	Índice de agregación Lloyd	Interpolación Geoestadística Volumen Área positiva Relación A/V	Exactitud	Cvm Error	%N	
<b>ADULTOS</b>											
a		5	40	4.47	4.25	1.96	1.95	1636.46 2207.79 1.35	95.08	3.00	10.0
a		5	25	4.47	4.52	1.96	1.95	1636.46 2207.79 1.35	98.88	3.00	6.3
a		6	30	4.47	4.73	1.96	1.95	1636.46 2207.79 1.35	94.18	3.00	7.5
		5	40	3.91	3.63	1.54	1.53	1385.48 1516.58 1.09	92.84	2.00	10.0
		3	19	3.91	3.75	1.54	1.53	1385.48 1516.58 1.09	95.91	3.00	4.8
		5	25	3.91	3.52	1.54	1.53	1385.48 1516.58 1.09	90.03	3.0	6.3
		4	20	0.40	0.40	5.50	5.50	147.60 391.93 2.66	100.0	10.00	5.0
		6	30	0.40	0.37	5.50	5.50	147.60 391.93 2.66	92.5	6.00	7.5
		5	25	0.70	0.44	6.51	6.50	247.47 614.80 2.48	94.29	17.00	6.3
		5	25	0.70	0.44	6.51	6.50	247.47 614.80 2.48	94.29	17.00	6.3
		5	25	0.70	0.44	6.51	6.50	247.47 614.80 2.48	94.29	17.00	6.3
		5	25	0.70	0.44	6.51	6.50	247.47 614.80 2.48	94.29	17.00	6.3
<b>NINFAS</b>											
a		5	25	46.96	36.08	1.53	1.53	16416.2 17490.1 1.06	76.83	3.00	6.3
		5	25	4.4	2.16	4.90	4.88	150.441 363.295 2.34	49.09	7.00	6.3
		5	25	0.40	0.40	12.17	12.17	1599.85 3467.1 2.16	100.00	17.00	6.3



**Anexo 3.** Concentración de almidón en especies de cítricos positivos a HLB. (Foto: F. Esquivel. GIIC-CP, 2010)



Ficha Técnica *Huanglongbing*



Anexo 4. Hiperplasia en estratos celulares que componen el floema. (Foto: F. Esquivel. GIIIC-CP, 2010)



Ficha Técnica *Huanglongbing*



Sano 0%



5%



10 al 15%



20 al 25%



30 al 35%



40 al 45%



50 al 55%



60% o mas

**Anexo 5.** Escala diagramática de síntomas de HLB dividida en ocho clases de sano= 0% a +60% del dosel del árbol con síntomas visuales. Síntomas en limón persa. Ahuacatlán, Nayarit. (Foto: F. Esquivel. GIIC-CP, 2010)