

CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM: UN NUEVO FITOPATOGENO EN EL CULTIVO DE CHILE EN EL NORTE CENTRO DE MÉXICO

LUIS ROBERTO REVELES-TORRES, RODOLFO VELÁSQUEZ-VALLE,
JAIME MENA-COVARRUBIAS, SILVIA SALAS-MUÑOZ, JORGE ARMANDO
MAURICIO-CASTILLO



SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN

M.A. JOSÉ EDUARDO CALZADA ROVIROSA
Secretario

LIC. JORGE ARMANDO NARVÁEZ NARVÁEZ
Subsecretario de Agricultura

M.C. MELY ROMERO CELIS
Subsecretario de Desarrollo Rural

M.C. RICARDO AGUILAR CASTILLO
Subsecretario de Alimentación y Competitividad

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

DR. LUIS FERNANDO FLORES LUI
Director General

DR. RAÚL G. OBANDO RODRÍGUEZ
Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación

M. C. JORGE FAJARDO GUEL
Coordinador de Planeación y Desarrollo

MTRO. EDUARDO FRANCISCO BERTERAME BARQUÍN
Coordinador de Administración y Sistemas

CENTRO DE INVESTIGACIÓN REGIONAL NORTE CENTRO

DR. HOMERO SALINAS GONZÁLEZ
Director Regional

DR. FRANCISCO JAVIER PASTOR LÓPEZ
Director de Investigación

ING. RICARDO CARRILLO MONSIVÁIS
Director de Administración

DR. FRANCISCO GPE. ECHAVARRÍA CHÁIREZ
Director de Coordinación y Vinculación en Zacatecas

CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM: UN NUEVO FITOPATOGENO EN EL CULTIVO DE CHILE EN EL NORTE CENTRO DE MÉXICO

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina
Delegación Coyoacán
México, D.F.
C.P. 04010 México, D.F.
Teléfono (55) 3871-8700

ISBN: 978-607-37-0684-1

Primera Edición: Diciembre 2016

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia o por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito a la institución.

Cita correcta:

Reveles-Torres L.R., Velásquez-Valle, R., Mena-Covarrubias, J., Salas-Muñoz S. y Mauricio-Castillo J.A. 2016. *Candidatus Liberibacter solanacearum*: Un nuevo fitopatógeno en el cultivo de chile en el norte centro de México. Folleto Técnico Núm 75. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 34 páginas.

CONTENIDO

Introducción.....	1
Historia del género <i>Liberibacter</i>	3
Distribución de <i>Candidatus</i> <i>Liberibacter</i>	8
Rango de hospederos	11
Taxonomía y morfología de <i>Ca. Liberibacter</i>	11
Caracterización bioquímica de <i>Ca. Liberibacter</i>	12
Vectores de <i>Candidatus</i> <i>Liberibacter</i>	14
El vector de <i>CaLso</i>	16
Distribución espacial de <i>CaLso</i> dentro de sus hospederos.....	18
Sintomatología causada por <i>Ca. Liberibacter asiaticus</i> .	19
Sintomatología causada por <i>CaLso</i>	20
Sintomatología provocada por <i>CaLso</i> en plantas de chile.....	21
Diagnóstico	24
Resultados preliminares del diagnostico	27
Literatura citada	29

CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM: UN NUEVO FITOPATOGENO EN EL CULTIVO DE CHILE EN EL NORTE CENTRO DE MÉXICO

Luis Roberto Reveles-Torres¹

Rodolfo Velásquez-Valle ¹

Jaime Mena-Covarrubias ¹

Silvia Salas-Muñoz¹

Jorge Armando Mauricio-Castillo²

INTRODUCCIÓN

Los agentes que causan enfermedades en las plantas se caracterizan por ser infecciosos (bióticos o vivos) y no infecciosos (abióticos o no vivos). Los agentes infecciosos incluyen las bacterias, hongos, fitoplasmas, nematodos y virus. Los no infecciosos consideran a los desbalances nutricionales, estrés ambiental y toxicidad química (causada por agroquímicos y contaminantes del aire).

Los patógenos más comunes en las plantas son los hongos, aunque las bacterias y los nematodos también son importantes. Las enfermedades causadas por fitoplasmas y virus no se registran frecuentemente ya que su detección y diagnóstico es complicado. Sin embargo, en los últimos años ha sido recurrente la aparición en los estados de Durango y Zacatecas de una sintomatología atribuida a una bacteria, la cual ha ido incrementando de forma importante en diversos cultivos, entre

¹ Investigadores de los programas de Sanidad Forestal y Vegetal y Biotecnología del Campo Experimental Zacatecas.

² Investigador de la Unidad Académica de Agronomía de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

ellos los de la familia Solanaceae (chile, jitomate y papa) destacan por la severidad de los daños causados.

Esta bacteria es conocida como **Candidatus Liberibacter solanacearum**, que provoca una serie de síntomas como cambios de color en el follaje, especialmente de verde a varios tonos de amarillo, deformación de hojas y frutos, sustitución de órganos o en casos severos, pérdida de estructuras reproductivas (botones, flores y frutos). Las variantes de esta bacteria son transmitidas por diferentes insectos vectores, principalmente los psílidos *Diaphorina citri* Kuwayama, *Trioza erythrae* (Del Guccio), *Bactericera cockerelli* Sulc. y *Trioza apicalis* (Först.).

Durante los ciclos de cultivo primavera-verano de 2014 a 2016 se han venido registrando en las parcelas comerciales del área productora de chile para secado del estado de Durango la aparición de un grupo de síntomas característicos producidos por este fitopatógeno (enanismo, mosaicos, deformación foliar y de frutos, entre otros). En algunas parcelas la incidencia (número de plantas con síntomas) y la severidad (el grado de daño en cada planta) de la enfermedad fueron tan elevadas que los productores decidieron destruir mecánicamente sus cultivos. En Zacatecas se han observado los mismos síntomas con

mayor intensidad en la zona de Los Cañones y en forma aislada en el altiplano.

El Campo Experimental Zacatecas del INIFAP realizó en estos años muestreos de plantas enfermas, principalmente en los municipios de Poanas y Villa Unión en Durango y Villa de Cos y Jalpa en Zacatecas determinando la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* como uno de los agentes asociados con los síntomas observados.

En el presente folleto se da a conocer la información acerca de este patógeno, desde sus orígenes como género bacteriano, de sus posibles vectores y la sintomatología observada en el cultivo de chile a nivel regional y en otros cultivos de importancia económica como papa y jitomate en un contexto internacional; adicionalmente se proporciona información sobre el principal método de diagnóstico del patógeno y los avances en la identificación.

HISTORIA DEL GÉNERO LIBERIBACTER

La sintomatología causada por este agente era conocida desde el siglo XIX por citricultores de China donde se le denominaba enfermedad de los brotes amarillos que provocaba la muerte de cítricos en corto tiempo (Zhao, 1981); después fue bautizada como “Huanglongbing” que significa dragón amarillo;

posteriormente se reportó en el continente africano a finales de 1920 (Van der Merwe y Andersen, 1937), aun sin reconocer la identidad del patógeno.

Fue en 1994 cuando Jagoueix y colaboradores trabajando con extractos del floema de plantas de cítricos infectadas provenientes de Asia y África identificaron organismos parecidos a bacterias (BLO), que no pudieron cultivar *In Vitro*. Por medio de la técnica PCR (reacción en cadena de la polimerasa) amplificaron el gen 16S ribosomal de esos organismos para poder comparar sus secuencias y determinaron que estos BLOs formaban dos cepas bien diferenciadas aunque ambas pertenecían a una subdivisión de la clase Proteobacteria. Con esta información se sugirió el nombre “Liberibacter” (del latín *Liber* = corteza y *bacter* = bacteria) para este nuevo grupo de bacterias. Dado a que pertenecían a organismos no cultivables artificialmente, propusieron el término de “*Candidatus*” conformando así en ese momento dos especies:

“*Candidatus Liberibacter asiaticus*” (CaLas)

“*Candidatus Liberibacter africanus*” (CaLaf)

Posteriormente, en 2004 se le detectó por primera vez en el continente Americano, específicamente en Brasil, (da Graça

y Korsten, 2004); en el 2005 Teixeira y colaboradores determinaron que se trataba de otra especie diferente a las ya reportadas por lo que la propusieron como:

“Candidatus Liberibacter americanus” (CaLam)

En el mismo 2005 se reportó su presencia en el sur del estado norteamericano de Florida, en la región de Homestead (Brlansky *et al.*, 2007), en 2006 en Cuba (da Graça, 2008; Martínez *et al.*, 2009), en 2008 en Lousiana, EUA (Jepson, 2008), en 2008 en Belice y República Dominicana y por último en México en el 2009 (SENASICA, 2009).

Como era natural, el “huanglongbin” recibió amplia atención a nivel mundial: en informes técnicos de fitopatología es conocida como HLB, un acrónimo para el nombre asiático de la enfermedad, y se ha detectado principalmente en plantas de la familia Rutaceae, siendo un patógeno de la mayor relevancia para la mayoría de los cítricos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Especies de cítricos (familia Rutaceae) afectados por HLB a nivel mundial (modificado de Halbert y Manjunath, 2004).

Nombre Científico	Nombre Común
<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.)	Lima
<i>Citrus aurantium</i> L.	Naranja agria
<i>Citrus grandis</i> (L.) Osbeck	Pomelo
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm	Limón
<i>Citrus paradisi</i> Macf.	Toronja
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Naranja dulce
<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack.	Limonaria

Sin embargo, esta bacteria no ha infectado solamente plantas de cítricos. En enero de 2008 se observó una enfermedad en el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en cultivos de invernadero en Auckland, Nueva Zelanda. Los síntomas incluían, el crecimiento clorótico de punta apical, moteado general de las hojas, engrosamiento de venas, retraso en el crecimiento general de las plantas, y en algunos cultivares deformación del fruto. En abril del mismo año síntomas similares aparecieron en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de invernadero, (Liefting *et al.*, 2008; Liefting, 2009).

En mayo de 2008 se reportó una sintomatología en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) cosechados en Auckland, Nueva Zelanda (Liefting, 2009), que coincidía con lo reportado por Muyaneza (2007). Los tubérculos presentaban un moteado necrótico y rayas que se marcaban cuando las papas se freían, por lo que la enfermedad recibió el nombre de "zebra chip".

Anteriormente los síntomas de esta enfermedad eran atribuidos a otros patógenos, como hongos, bacterias cultivables, virus y fitoplasmas; no obstante los análisis para detectar éstos organismos fueron negativos (Fletcher y Wayadande, 2009).

Trabajos realizados con microscopia electrónica de transmisión empleando muestras de tomate y chile (Liefting, 2009), detectaron la presencia de organismos similares a bacterias restringidos al floema de plantas sintomáticas. La estrategia utilizada para identificar el tipo de bacteria implicó el uso de cebadores específicos para PCR en combinación con cebadores universales para 16S rRNA. El análisis reveló que las bacterias compartían alta identidad con especies '*Candidatus Liberibacter*'. El análisis filogenético posterior demostró que la bacteria es distinta de las tres especies de *Liberibacter* que se habían descrito anteriormente infectando cítricos. De ésta manera se determinó una nueva especie de *Liberibacter*:

“*Candidatus Liberibacter solanacearum*” (CaLso)

En Texas y California, EUA se encontró otra especie de esta bacteria en poblaciones del psílido *B. cockerelli*, colectados por Hansen *et al.* (2008) la cual fue denominada:

Candidatus Liberibacter psyllauros (CaLps)

Estos psílicos fueron colectados en cultivos de papa y jitomate con síntomas de amarillamiento y confirmaron que *B. cockerelli* es el vector de CaLps. Algunos autores mencionan que CaLps está muy relacionada con CaLso y que probablemente se trata de la misma especie (Munyaneza *et al.*, 2010; OEPP/EPPO, 2013).

Distribución de *Candidatus Liberibacter*

La especie CaLas es un grave problema en cítricos en países como China, Filipinas (Lee, 1921), India (Raychaudhuri *et al.*, 1974), Taiwán (Zhao, 1982), Indonesia (Aubert *et al.*, 1996) y Brasil (Teixeira *et al.*, 2005). El HLB se reportó por primera vez en México en Tizimin, Yucatán (Robles *et al.*, 2009). Actualmente se encuentra distribuida en los estados productores de cítricos

como, Campeche, Colima, Nayarit, Jalisco, Sinaloa, Quintana Roo y Yucatán (SENASICA, 2010).

Por otro lado, CaLaf se encuentra distribuida en la mayor parte de África incluyendo Burundi, Camerún, Etiopía, Isla Mauricio, Kenya, Madagascar, Malawi, Nigeria, República Centroafricana, Isla Reunión, Ruanda, Somalia, Sudáfrica, Suazilandia, Tanzania y Zimbaue (Le Roux *et al.*, 2006).

CaLam, por su parte, sólo se ha encontrado en Brasil en la región de Araraquara, São Paulo, donde se detectó en el 2004. Inicialmente se consideró que se trataba de la especie CaLas, pero dada la severidad de los síntomas observados en árboles de cítricos y los resultados de los análisis moleculares, se determinó que se trataba de una nueva especie clasificada como CaLam y que resultó ser más agresiva que la especie asiática (Teixeira *et al.*, 2005).

De acuerdo con algunos reportes, CaLam pudiera estar presente en pequeñas áreas productoras de cítricos (limón persa, limón real, mandarina y naranja) en el sureste de Zacatecas (Ing. Arturo García, Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Zacatecas, comunicación personal).

Para el altiplano del Centro Norte de México, donde no es usual la plantación de cítricos con importancia económica; es de interés únicamente la especie “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” (CaLso), por su incidencia en cultivos hortícolas.

En México estaba reportada la presencia de la enfermedad conocida como punta morada de la papa (PMP) desde 1948; posteriormente fueron consignadas las enfermedades Zebra chip (Munyanza *et al.*, 2007) y permanente del tomate (Munyanza *et al.*, 2009) las cuales hasta en años recientes se asociaron con CaLso. Lo anterior sugiere que la enfermedad se encontraba originalmente en papa y posteriormente con ayuda del psílido *B. cockerelli* se transmitió a jitomate, chile y otras solanáceas silvestres. Aunque en un principio estas enfermedades se atribuyeron a fitoplasmas o virus, actualmente se ha logrado establecer que tales síntomas se asocian con CaLso. Muy probablemente la bacteria ha estado presente desde hace tiempo en los cultivos antes mencionados, pero no existían los métodos adecuados para su detección (Hernández-Deheza, 2013).

Esta especie se encuentra distribuida en Canadá (Alberta, British Columbia, Ontario, Quebec, Saskatchewan), México (Sinaloa, Michoacán, Estado de México, Guanajuato, Nuevo León, San

Luis Potosí, Durango y Zacatecas), Estados Unidos (Arizona, California, Colorado, Idaho, Kansas, Minnesota, Montana, Nebraska, Nevada, Nuevo México, Dakota del Norte, Oklahoma, Dakota del Sur, Texas, Utah, Oregon, Washington y Wyoming), Guatemala, Honduras, Finlandia, España y Nueva Zelanda (Camacho-Tapia *et al.*, 2011; Crosslin *et al.*, 2013; Liefting *et al.*, 2009b; Munyaneza *et al.*, 2007a; Munyaneza *et al.*, 2010; Munyaneza *et al.*, 2012; OEPP/EPPO, 2013; Ontiveros-Guerra, 2012; Teresani *et al.*, 2014; Velásquez-Valle *et al.*, 2015).

Rango de hospederos

CaLso infecta cultivos económicamente relevantes a nivel mundial como papa jitomate y chile pero también ha sido reportada en zanahoria (*Daucus carota* L.) y apio (*Apium graveolens* L.) así como en malas hierbas como el trompillo (*Solanum elaeagnifolium* Cav.), considerado como un reservorio putativo de CaLso en el cultivo de papa (Thinakaran *et al.*, 2015).

Taxonomía y morfología de *Candidatus Liberibacter*

Candidatus Liberibacter es una bacteria filamentosa, Gram negativa, que se desarrolla en el floema de las plantas hospederas y en el sistema digestivo del insecto vector. Taxonómicamente pertenece al grupo α de la subdivisión Proteobacteria. Al cotejar la secuencia de sus nucleótidos con

otras bacterias registradas en el GenBank, se planteó como miembro de las *Eubacteria*. Por otro lado, el análisis filogenético del gen 16S rRNA ha indicado que estas bacterias pertenecen al grupo de las *Alphaproteobacterias* donde se encuentran otros miembros como *Agrobacterium*, *Bartonella* y *Bradyrhizobium*, por citar algunos (Jagoueix *et al.*, 1994).

Morfológicamente CaLso puede ser redonda con un diámetro promedio entre 0.2 – 0.3 μm , sin sobrepasar los 0.5 μm . Esta bacteria carece de una membrana externa pero posee una pared de peptidoglicanos apenas visible, sin evidencias de flagelos o pilis. Posee tres capas de células sobre la pared de la membrana exterior y en la membrana citoplasmática interna. Su citoplasma es menos denso con respecto a otras bacterias fitopatógenas y con frecuencia muestran plasmólisis (Garnier *et al.*, 1984; Garnier *et al.*, 2000; Jagoueix *et al.*, 1994).

Caracterización bioquímica de *Candidatus Liberibacter*

A la fecha, la caracterización bioquímica de *Candidatus Liberibacter* es casi nula, dada la dificultad para aislarla en medio de cultivo, y de allí que está ubicada dentro de los organismos *Candidatus*. Sin embargo, Wulff *et al.*, (2014) han reportado por un lado que CaLam y CaLso parecen tener mayor capacidad metabólica para algunos aminoácidos y vitaminas, y

por el otro que CaLso es capaz de producir arginina, glutamina y ornitina.

Respuesta bioquímica a la infección por *Candidatus Liberibacter*

En el floema de las plantas infectadas por CaLso entre la tercera y la quinta semana después de la infección, aparecen agregaciones de componentes fenólicos, peroxidasas, oxidasas, polifenoles, quitinasas, aminoácidos y azúcares libres (sacarosa, glucosa y fructuosa) (Rashed *et al.*, 2013). En el caso de la sintomatología de ZC, el aumento del tono café al freír las papas puede deberse al incremento de la actividad reductiva de azúcares y aminoácidos, porque la formación de acrilamida ocurre con el empleo de esos componentes como sustratos a temperatura de freído, mediante la reacción de Maillard (Wallis *et al.*, 2014). Navarre *et al.* (2009) realizaron análisis de tubérculos de papa y mostraron que los extractos metabólicos de las plantas sintomáticas infectadas con C a L s o , tuvieron una alteración importante en los aminoácidos aromáticos y compuestos fenólicos, además, las concentraciones de tirosina se incrementaron hasta ocho veces, en algunos tubérculos sintomáticos. Se ha

determinado que ZC es una enfermedad que afecta la composición mineral del tubérculo, lo que ocasiona a nivel bioquímico la producción de manchas necróticas internas en el mismo, tanto en la pulpa como en la cutícula, por los altos niveles de P, K y Ca en el tejido del floema; mientras que en otros tubérculos infectados, se han expresado niveles mayores de los minerales Mg, Cu, Zn y B (Miles *et al.*, 2009).

Los síntomas de amarillamiento y debilitamiento, que frecuentemente se confunden con deficiencias nutrimentales, se deben a la acumulación de almidón, que indica una alteración del transporte en el floema (Nelson *et al.*, 2013).

Se ha demostrado que durante la infección por CaLso las células presentan una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, lo que ocasiona un estrés oxidativo y daño fisiológico. Las plantas aprovechan éstas moléculas reactivas para desarrollar estrategias que conducen a la autoprotección contra el patógeno atacante (Sánchez-Rojo *et al.*, 2011).

Vectores de *Candidatus Liberibacter*

Ca. *Liberibacter* es una bacteria persistente que se transmite a través de insectos, reproduciéndose dentro de estos y es capaz de transferirse de generación en generación de forma

transovárica (Pelz-Stelinski *et al.*, 2010). Como se mencionó previamente, la transmisión de la bacteria se lleva a cabo por los insectos psílidos *D. citri*, *T. erytrae*, *B. cockerelli* y *T. apicalis*, por el fenómeno de adquisición e inoculación por alimentación (Garnier *et al.*, 2000; Hansen *et al.*, 2008; Liefting *et al.*, 2008; Liefting *et al.*, 2009a).

La dispersión de las bacterias causantes del HLB tienen lugar principalmente a través de dos vectores: *D. citri* para las especies asiática y americana (CaLas y CaLam) y *T. erytrae* para la especie africana (CaLaf) (Garnier *et al.*, 2000; Meyer *et al.*, 2007; Hall, 2008) y puede ser adquirida en periodos de alimentación de 30 minutos; presenta un período de latencia de 7-10 días (da Graça, 2008), lo que sugiere que el patógeno se multiplica dentro del vector.

Sin embargo, otros investigadores reportan que el tiempo mínimo de alimentación es de 5-7 horas para adquirir y transmitir el patógeno (Xu *et al.*, 1988), pero no se conoce si los dos psílidos pueden ser infectados simultáneamente con las especies CaLas y CaLaf (Garnier *et al.*, 2000). También se conoce que tanto los adultos, como el cuarto y quinto instar ninfal son capaces de transmitir al patógeno en la secreción salival después de un periodo de latencia que varía desde 1 a 25 días,

y que las ninfas del primer al tercer instar no transmiten el patógeno.

El vector de CaLso

Las especies CaLsy y CaLso son transmitidas por el psílido *B. cockerelli*, (Figura 1) insecto polígrafo que se alimenta del floema de una amplia variedad de plantas, entre las que se encuentran principalmente el tomate, la papa y el chile (Hansen *et al.*, 2008). Cuando el insecto se alimenta de las plantas infectadas, adquiere a la bacteria que pasa a través de la barrera intestinal, se multiplica dentro del individuo y una vez que llega a las glándulas salivales es transmitida a otra planta durante la alimentación (Liefert *et al.*, 2009).



Figura 1. *B. cockerelli* vector de *Ca. L. syllaurus* (CaLsy) y *Ca. L. solanacearum* (CaLso).

Una característica común de los vectores de *Candidatus Liberibacter* es que se alimentan de dietas que contienen un exceso de una sola clase de compuestos (carbohidratos) y una deficiencia en nutrientes esenciales, por lo que requieren la presencia de simbiontes intracelulares procarióticos (endosimbiontes) que ayudan a proporcionar los nutrientes esenciales que faltan en la dieta del vector (Moran y Telang, 1998). Varios estudios reportan que *B. cockerelli*, contiene tres de estos simbiontes procarióticos; uno de estos es *Carsonella ruddii*, un simbionte obligado es requerido para la sobrevivencia del vector (Thao *et al.*, 2000). Los otros dos, son simbiontes facultativos de dos cepas diferentes de *Wolbachia* spp., los cuales participan en la manipulación de la aptitud del insecto, proveyendo a estos de una ventaja reproductiva principalmente en las hembras que los portan (Nachappa *et al.*, 2011). Esto incrementa la dispersión de *Wolbachia* aumentando el número de vectores infectivos y por ende, la transmisión de CaLso. Sin embargo, existen evidencias que la presencia de CaLso en el interior del insecto, reduce significativamente los días de fecundación de la hembra y el porcentaje de supervivencia de las ninfas; hechos que afectan negativamente tanto la tasa de crecimiento de la población como la aptitud del vector (Nachappa *et al.*, 2012).

En 1947 se documentó la presencia de *B. cockerelli* en México afectando solanáceas en los estados de Durango, Guanajuato, México, Michoacán y Tamaulipas (Plesch, 1947); a partir de 1970 se le consideró como una plaga primaria en los cultivos de chile, jitomate y papa, la cual persiste actualmente (Garzón, 2002). Este insecto tiene un amplio número de plantas hospederas, entre las que se encuentran; la hierba mora (*Solanum nigrum* L.), toloache (*Datura stramonium* L.), jara o jarilla (*Senecio salignus* DC), mala mujer o duraznillo (*Solanum rostratum* Dunal), hojásén (*Flourensia cernua* DC), correhuela (*Convolvulos arvensis* L.) y cilindrillo (*Lycium berlandieri* Dunal), entre otras (Galaviz *et al.*, 2010; Goolsby *et al.*, 2008).

Distribución espacial de CaLso dentro de sus hospederos

Referente a los patrones de desplazamiento de CaLso a través del floema de plantas de tomate y papa, Levy *et al.* (2011) encontraron que la frecuencia y/o dirección de desplazamiento varían entre los dos hospederos y entre variedades de papa. En ambas especies hospedantes se detectó a CaLso en las hojas del nivel superior y medio, tres semanas después de la infestación con el vector; las tasas de movimiento fueron similares entre las variedades de papa y los síntomas fueron más severos en las variedades susceptibles. Los patrones de traslado, la dirección de desplazamiento y la velocidad de

movilidad de la bacteria en tomate y papa, fueron parecidos a los patrones de movimiento de virus ya que estos pueden pasar del sitio de infección al tallo principal en tan solo siete días. Por otro lado la dirección de translocación del patógeno fue similar en tomate y entre las diferentes variedades de papa, la bacteria parece seguir el movimiento de los carbohidratos hacia las hojas jóvenes. La manifestación de síntomas siguió el mismo patrón que el movimiento del patógeno y éste se pudo detectar en el mismo tejido por varias semanas. La velocidad de desarrollo de síntomas fue diferente en tomate, papa y entre las variedades de papas susceptibles y potencialmente tolerantes; en tomate los síntomas fueron menos severos y el desarrollo de los mismos fue más lento (Levy *et al.*, 2011).

Sintomatología causada por *Candidatus Liberibacter asiaticus*

El HLB causa defoliación de los árboles, amarillamiento, reducción del tamaño de los frutos, moteado del follaje y amarillamiento de las venas (Ahmad *et al.*, 2008). Otro síntoma característico de la enfermedad es la presencia de ramas terminales del árbol con apariencia clorótica, que contrasta con el color verde de las hojas de las ramas no afectadas, además las plantas enfermas presentan caída prematura, asimetría y reducción del número de frutos (Bové, 2006; Brlansky *et al.*, 2012).

Sintomatología causada por CaLso

En tomate (*S. lycopersicum*) los síntomas de la infección por CaLso incluyen enrollamiento y amarillamiento de las hojas, achaparramiento de la planta y deformación del fruto en algunas variedades (Liefting *et al.*, 2008; Liefting *et al.*, 2009a; Liefting *et al.*, 2009b), sintomatología denominada por Munyaneza (2009) como permanente del tomate. En México se han observado plantas de tomate que muestran un grupo de síntomas como clorosis de brotes apicales, hojas compuestas lanceoladas con epinastia y márgenes con coloración púrpura, necrosis y aborto de flores, hojas maduras frágiles y enrolladas hacia arriba, entrenudos cortos y desarrollo reducido que han sido asociados a la infección por CaLso (Rojas-Martínez *et al.*, 2016).

En zanahoria los síntomas consisten en amarillamiento, clorosis y deformación de hojas, reducción de tamaño de la planta y proliferación de raíces secundarias (Munyaneza *et al.*, 2010).

En papa la enfermedad se manifiesta por clorosis en hojas, deformación de tallos o desarrollo en zigzag, desarrollo de tubérculos aéreos, oscurecimiento del sistema vascular y hojas dobladas o marchitas. Sin embargo, sólo la presencia de rayas necróticas en la médula del tubérculo se considera como síntoma

típico para la diagnosis de la enfermedad ZC o “rayado del tubérculo” (Munyanza *et al.*, 2007b).

Otros síntomas como el de brotes finos han sido asociados con la enfermedad; estudios realizados por Rubio *et al.*, (2012) en el cultivo de papa en Mecatepec, Estado de México, revelaron que el 36% de los tubérculos con brotes finos presentaron un color pardo interno y el 58% de los tubérculos sin brotes presentaron el mismo síntoma. El 54% de los tubérculos con brotación anormal fue positivo a ‘*Ca. L. psyllaurus*’, estando asociado esto también, con síntomas de la “punta morada” de la papa en la región de Toluca, Estado de México. Otros daños colaterales de la enfermedad en el cultivo de la papa es que esta bacteria afecta también la germinación y la morfología del tubérculo (Henne *et al.*, 2010).

Sintomatología provocada por CaLso en plantas de chile

En plantas de diferentes cultivares de chile (*C. annuum* L.) los síntomas se manifiestan como hojas deformes de color verde pálido o amarillo, con tallos acortados, caída de flores y muerte repentina de diferentes partes de la planta. (Liefing *et al.*, 2009b). En materiales de chile tipo serrano los síntomas inducidos por la bacteria son: venas cloróticas, deformación de la lámina foliar y fruto, albinismo y variegado (Camacho-Tapia *et al.*, 2011).

En los ciclos de cultivo primavera verano 2014 y 2016 las parcelas de chile para secado en el estado de Durango fueron severamente afectadas por una sintomatología que expresó un rango de variación muy amplio; en la aparente fase inicial de la enfermedad, las plantas afectadas mostraban una marcada coloración amarilla que frecuentemente afectaba más del 50% de la lámina foliar; la parte más joven de esas plantas expresaba clorosis y un moderado enrollamiento hacia arriba de sus hojas así como la formación de ampollas en el haz de las hojas. En una fase moderada de la enfermedad las plantas presentaban síntomas en toda la planta; enanismo incipiente, clorosis intervenal y deformación de hojas y frutos. En la tercera etapa de la enfermedad las plantas mostraban un enanismo marcado con hojas pequeñas, cloróticas y severamente deformes aunque algunas de las hojas más viejas podían no mostrar síntomas. Los frutos situados debajo del presumible punto de infección no mostraban síntomas de la enfermedad y la mayoría poseía calidad comercial; por el contrario, los frutos por encima de éste punto de infección inicial eran pequeños y deformes sin valor comercial (Figuras 2, 3 y 4). Una sintomatología similar ha sido observada en el sureste de Zacatecas afectando líneas de los principales tipos de chile para secado (Mirasol, Ancho y Pasilla).



Figura 2. Planta de chile mostrando síntomas iniciales de infección por CaLso como amarillamiento basal, deformación y ampollamiento foliar.



Figura 3. Planta de chile con síntomas moderados de infección por CaLso como clorosis intervenal generalizada.



Figura 4. Planta de chile mostrando síntomas severos de infección por CaLso como achaparramiento, clorosis generalizada y deformación foliar severa en la parte más joven.

DIAGNÓSTICO

Detección por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

La detección fiable de la bacteria requiere de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Karunasagar *et al.*, 2004), en conjunto con clonación y secuenciación (Hansen *et al.*, 2008). La PCR es la más usada para la detección de esta bacteria, por ser una técnica muy sensible y rápida. Para realizarla es necesario contar, para cada una de las especies descritas de *Candidatus Liberibacter* con oligonucleótidos específicos (Cuadro 2), cuyo diseño se basa en la secuencia de nucleótidos de la región 16S rDNA de su genoma (Teixeira *et al.*, 2005).

Cuadro 2. Iniciadores específicos para *Candidatus Liberibacter*

Especie	Oligonucleótido	Frag (pb)	Fuente
CaLasiaticus	OI1 5'-GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA-3'	1,160	(Jagoueix <i>et al.</i> , 1994)
	OI2c 5'-GCCTCGCGACTTCGCAACCAT-3'		
CaLafricanus	OA1 5'-GCGCGTATTTTATACGAGCGGCA-3'	1,160	(Teixeira <i>et al.</i> , 2005)
	OI2c 5'-GCCTCGCGACTTCGCAACCAT-3'		
CaLamericanus	GB1 5'-AAGTCGAGCGAGTACGCAAGTACT-3'	1,027	(Teixeira <i>et al.</i> , 2005)
	GB3 5'-CTATATTTGCCATCATTAAAGTTGG-3'		
	OA2 5'-GCGCTATTTTTAATAGGAGCGGCA-3'	1,060	(Liefing <i>et al.</i> , 2009a)
	GB3 5'-CTATATTTGCCATCATTAAAGTTGG-3'		
CaLsolanacearum	Cli.po.F 5'-TACGCCCTGAGAAGGGGAAAGATT-3'	1,070	(Secor <i>et al.</i> , 2009)
	OI2C 5'-GCCTCGCGACTTCGCAACCAT-3'		
	LsoF 5'-GTGCGAGCGCTTATTTTTAATAGGA-3'	1,073	(Li <i>et al.</i> , 2009)
	OI2C 5'-GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT-3'		
	OA2 5'-GCGCTATTTTTAATAGGAGCGGCA-3'	1,168	(Munyaneza <i>et al.</i> , 2015)
	OI2C 5'-GCCTCGCGACTTCGCAACCAT-3'		
	CL514F 5'-CTCTAAGATTTCCGGTTGGTT-3'	668	(Munyaneza <i>et al.</i> , 2015)
	CL514R 5'-TATATCTATCGTTGCACCAG-3'		

Jagoueix et al. (1994) diseñaron el oligonucleótido universal:

OI2c (5' - GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT-3)

que se usa en combinación con el resto de los oligos para la detección de las diferentes especies de *Ca. Liberibacter*.

Para el análisis de detección de CaLso en plantas de Chile para secado, se lleva a cabo el aislamiento del ADN total mediante el protocolo CTAB 3%, y se prosigue a realizar la técnica de PCR con los oligonucleótidos OA2 y OI2c, con la finalidad de amplificar el fragmento de 1,168 aproximadamente, que corresponde a la región del gen 16S rDNA. Las condiciones empleadas para la PCR son las siguientes: desnaturalización a 95°C por 5 minutos, para los 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 minutos, alineamiento de oligonucleótidos a 60°C por 1 minuto y de extensión a 72°C por 2 minutos, y de extensión final a 72°C por 5 minutos. En la figura X, se observa muestras positivas para CaLso en Chile para secado.

RESULTADOS PRELIMINARES DEL DIAGNOSTICO

Muestreos realizados en las áreas productoras de Chile para secado en los estados de Durango y Zacatecas desde el 2014 a la fecha, han mostrado incidencia de plantas enfermas con la sintomatología típica de infección por CaLso.

De un total de 70 muestras de Chile para secado con sintomatología típica de CaLSo recolectadas en los municipios de Puanas, Villa Unión y Vicente Guerrero del estado de Durango, 52 fueron positivas.

De la misma manera en el estado de Zacatecas, fueron muestreados los municipios de Enrique Estrada y Villa de Cos, encontrando 8 positivas de 30 muestras.

En la figura 5, se pueden observar un gel de electroforesis donde se aprecia los resultados positivos de muestras tanto de Durango como de Zacatecas.

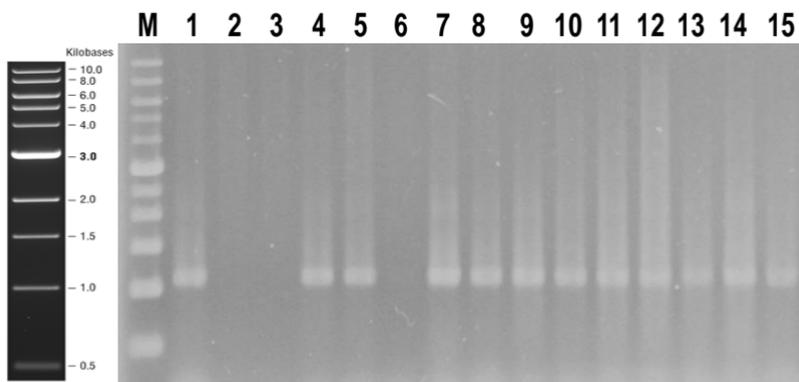


Figura 5. PCR de *Candidatus Liberibacter* en plantas de Chile con oligonucleótidos específicos OA2y OI2c. MPM (Carril M), Control positivo (Carril 1), Control negativo (Carril 2) y Muestras de Chile (muestras de Zacatecas carriles 3-7, muestras de Durango carriles 8-15).

LITERATURA CITADA

- Ahmad, K., Sijam, K., Habibuddin, H., Kadir, J., Rastan, S.O.S., 2008. Occurrence and spread of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the causal agent of Huanglongbing disease of citrus in Malaysia. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 4, 103-111.
- Aubert, B., Grisoni, M., Villemin, M., Rossolin, G., 1996. A case study of huanglongbing (greening) control in Reunion, Proc. 13th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV). University of California, Riverside, pp. 276-278.
- Bertolini, E., Teresani, G., Loiseau, M., Tanaka, F., Barbé, S., Martínez, C., Gentit, P., López, M., Cambra, M., 2015. Transmission of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in carrot seeds. *Plant Pathology*. 64(2), 276-285
- Bové, J.M., 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, 88, 7-37.
- Brlansky, R., Chung, K., Rogers, M., 2007. Florida Citrus Pest Management Guide: Huanglongbing (Citrus Greening). University of Florida.
- Brlansky, R., Dewdney, M., Rogers, M., Chung, K., 2012. 2006 Florida citrus pest management guide: Huanglongbing (citrus greening). UF/IFAS Extension.
- Camacho-Tapia, M., Rojas-Martínez, R., Zavaleta-Mejía, E., Hernández-Deheza, M., Carrillo-Salazar, J., Rebollar-Alviter, A., Ochoa-Martínez, D., 2011. Aetiology of Chili pepper variegation from yurécuaro, México. *Journal of Plant Pathology*, 93, 331-335.
- Crosslin, J., Hamm, P., Eggers, J., Rondon, S., Sengoda, V., Munyaneza, J., 2013. First report of zebra chip disease and "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" on potatoes in Oregon and Washington State. *Development* 65, 102.
- da Graça, J., Korsten, L., 2004. Citrus huanglongbing: Review, present status and future strategies, *Diseases of fruits and vegetables* volume I. Springer, pp. 229-245.
- da Graça, J.V., 2008. Biology, history and world status of huanglongbing. *Memorias del Taller Internacional sobre el*

- Huanglongbing y el Psílido asiático de los cítricos. Hermosillo, Son.
- Fletcher, J., Wayadande, A., 2009. Bacterias fastidiosas colonizadoras vasculares. Trans. José Carlos Ureta R.
- Galaviz, R., Hernandez, V., Barrera, M., Sanchez, A., Frías, G., Durazo, F., 2010. Highlights on zc mexican experiences. PepsiCo Americas Foods & Narro University, 16.
- Garnier, M., Danel, N., Bové, J., 1984. The greening organism is a gram negative bacterium, Proc. 9th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. University of California, Riverside, CA, pp. 115-124.
- Garnier, M., Jagoueix-Eveillard, S., Cronje, P.R., Le Roux, H.F., Bove, J.M., 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*'. Int J Syst Evol Microbiol 50 Pt 6, 2119-2125.
- Garzón, T., 2002. El pulgón saltador o la Paratrioza, una amenaza para la horticultura de Sinaloa. Memoria del primer taller sobre Paratrioza *cockerelli* Sulc., Culiacán, Sinaloa 25, 9-12.
- Goolsby, A., Anciso, J., Troxclair, N., Schuster, G., 2008. Potato psyllid monitoring and evaluation of IPM program to minimize zebra chip in potatoes. USDA-ARS, Texas Agrilife Extension. 29p.
- Gutiérrez-Ibáñez, A.T., Sánchez-Pale, J.R., Laguna-Cerda, A., Ramírez-Dávila, J.F., Balbuena-Melgarejo, A., Alvarado-Gómez, O.G., 2013. Detección de *Ca Liberibacter solanacearum* y fitoplasmas en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L) en el Valle de Toluca. Rev. Colomb. Biotecnol 15, 145-149.
- Halbert, S.E., Manjunath, K.L., 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist 87, 330-353.
- Hansen, A.K., Trumble, J.T., Stouthamer, R., Paine, T.D., 2008. A new Huanglongbing Species, "Candidatus *Liberibacter psyllaerous*," found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Appl Environ Microbiol 74, 5862-5865.
- Henne, D., Workneh, F., Wen, A., Price, J., Pasche, J., Gudmestad, N., Rush, C., 2010. Characterization and epidemiological significance

- of potato plants grown from seed tubers affected by zebra chip disease. *Plant Disease* 94, 659-665.
- Hernández-Deheza, M.G., 2013. Etiología del variegado del chile (*Capsicum annuum* L.) en Yurécuaro, Michoacán, Postgrado de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco. Edo. de México, p. 51.
- Hernández, D., 2009. Asociación de "Candidatus *Liberibacter solanacearum*" con el variegado del chile (*Capsicum annuum* L.) en Yurécuaro, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Parasitología Agrícola. Chapingo, Mexico. 62p.
- Jagoueix, S., Bove, J.-m., Garnier, M., 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the α 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.
- Karunasagar, D., Krishna, M.B., Mohan, P.M., Arunachalam, J., 2004. Rapid detection of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the bacterium associated with citrus Huanglongbing (Greening) disease using PCR. *Current Science* 87, 1183.
- Le Roux, H., Van Vuuren, S., Pretorius, M., Buitendag, C., 2006. Management of huanglongbing in South Africa, Proc Huanglongbing-Greening Intl Workshop 2006. Ribeirão, pp. 43-47.
- Lee, H.A., 1921. The relation of stocks to mottled leaf of citrus trees. *Philippine Jour. Sci* 18, 85-95.
- Li, W., Abad, J.A., French-Monar, R.D., Rascoe, J., Wen, A., Gudmestad, N.C., Secor, G.A., Lee, M., Duan, Y., Levy, L., 2009. Multiplex real-time PCR for detection, identification and quantification of 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*' in potato plants with zebra chip. *J Microbiol Methods* 78, 59-65.
- Liefting, L.W., Perez-Egusquiza, Z.C., Clover, G.R.G., Anderson, J.A.D., 2008. A new 'Candidatus *Liberibacter*' species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease* 92, 1474-1474.
- Liefting, L.W., Sutherland, P.W., Ward, L.I., Paice, K.L., Weir, B.S., Clover, G.R., 2009a. A new 'Candidatus *Liberibacter*' species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93, 208-214.

- Liefting, L.W., Weir, B.S., Pennycook, S.R., Clover, G.R., 2009b. 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*', associated with plants in the family Solanaceae. *Int J Syst Evol Microbiol* 59, 2274-2276.
- Ling, K.-S., Lin, H., Lewis Ivey, M., Zhang, W., Miller, S., 2011. First Report of 'Candidatus *Liberibacter Solanacearum*' Naturally Infecting Tomatoes in the State of Mexico, Mexico. *Plant Disease* 95, 1026-1026.
- Martínez, Y., Llauger, R., Batista, L., Luis, M., Iglesia, A., Collazo, C., Peña, I., Casín, J., Cueto, J., Tablada, L., 2009. First report of 'Candidatus *Liberibacter asiaticus*' associated with Huanglongbing in Cuba. *Plant Pathology* 58, 389-389.
- Miles, G.P., Buchman, J.L., Munyaneza, J.E., 2009. Impact of zebra chip disease on the mineral content of potato tubers. *American Journal of Potato Research* 86, 481-489.
- Moran, N.A., Telang, A., 1998. Bacteriocyte-associated symbionts of insects. *Bioscience* 48, 295-304.
- Munyaneza, J., Crosslin, J., Upton, J., 2007a. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip," a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of economic entomology* 100, 656-663.
- Munyaneza, J., Sengoda, V., Crosslin, J., Garzón-Tiznado, J., Cardenas-Valenzuela, O., 2009. First report of "Candidatus *Liberibacter solanacearum*" in tomato plants in Mexico. *Plant Disease* 93, 1076-1076.
- Munyaneza, J., Sengoda, V., Stegmark, R., Arvidsson, A., Anderbrant, O., Yuvaraj, J.K., Rämert, B., Nissinen, A., 2015. First report of "Candidatus *Liberibacter solanacearum*" associated with psyllid-affected carrots in Sweden. *American Journal of Potato Research* 92, 230-235.
- Munyaneza, J.E., Crosslin, J.M., Upton, J.E., 2007b. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip," a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of economic entomology* 100, 656-663.
- Munyaneza, J.E., Fisher, T.W., Sengoda, V.G., Garczynski, S.F., Nissinen, A., Lemmetty, A., 2010. First report of "Candidatus *Liberibacter solanacearum*" associated with psyllid-affected carrots in Europe. *Plant Disease* 94, 639-639.
- Munyaneza, J.E., Sengoda, V.G., Buchman, J.L., Fisher, T.W., 2012. Effects of temperature on 'Candidatus *Liberibacter*

- solanacearum'and zebra chip potato disease symptom development. *Plant Disease* 96, 18-23.
- Nachappa, P., Levy, J., Pierson, E., Tamborindeguy, C., 2011. Diversity of endosymbionts in the potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae), vector of zebra chip disease of potato. *Curr Microbiol* 62, 1510-1520.
- Nachappa, P., Shapiro, A.A., Tamborindeguy, C., 2012. Effect of 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*' on fitness of its insect vector, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae), on tomato. *Phytopathology* 102, 41-46.
- Navarre, D.A., Shakya, R., Holden, J., Crosslin, J.M., 2009. LC-MS analysis of phenolic compounds in tubers showing zebra chip symptoms. *American Journal of Potato Research* 86, 88-95.
- Nelson, W., Munyaneza, J., McCue, K., Bové, J., 2013. The Pangaeian origin of "Candidatus *Liberibacter*" species. *Journal of Plant Pathology*, 455-461.
- OEPP/EPPO, 2013. *Candidatus Liberibacter solanacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43, 197-201.
- Ontiveros-Guerra, G., 2012. Detección de 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*' en papa y tomate en los Estados de Nuevo León y San Luis Potosí, Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Nuevo León, Escobedo, Nuevo Leon.
- Pelz-Stelinski, K., Brlansky, R., Ebert, T., Rogers, M., 2010. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology* 103, 1531-1541.
- Rashed, A., Wallis, C.M., Paetzold, L., Workneh, F., Rush, C.M., 2013. Zebra chip disease and potato biochemistry: tuber physiological changes in response to 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*' infection over time. *Phytopathology* 103, 419-426.
- Rashed, A., Workneh, F., Paetzold, L., Rush, C.M., 2015. Emergence of 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*'-Infected seed potato in relation to the time of infection. *Plant Disease* 99, 274-280.
- Raychaudhuri, S., Nariani, T., Ghosh, S., Viswanath, S., Kumar, D., 1974. Recent studies on citrus greening in India, *Proc. of the 6th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* LG Weathers and M. Cohen, eds. Univ. California, Div. Agric. Sci, pp. 53-57.
- Robles, G., Sánchez, A., Delgadillo, V., 2009. Programa Nacional Para la Detección del Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter* spp.) En

- México. Dirección General de Sanidad Vegetal. SENASICA-SAGARPA.
- Rojas-Martínez, R.I., Zavaleta-Mejía, E., Ochoa-Martínez, D.L., Alanis-Martínez, I., and García-Tapia, F. 2016. Association of *Candidatus Liberibacter solanacearum* with the decline of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Plant Pathology* 98:3-8.
- Rubio-Covarrubias, O.Á., Almeyda-León, I.H., Cadena-Hinojosa, M.A., Lobato-Sánchez, R., 2012. Relación entre *Bactericera cockerelli* y presencia de *Candidatus Liberibacter psyllauros* en lotes comerciales de papa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2, 17-28.
- Sánchez-Rojo, S., López-Delgado, H.A., Mora-Herrera, M.E., Almeyda-León, H.I., Zavaleta-Mancera, H.A., Espinosa-Victoria, D., 2011. Salicylic acid protects potato plants from phytoplasma-associated stress and improves tuber photosynthate assimilation. *American Journal of Potato Research* 88, 175-183.
- Secor, G., Rivera, V., Abad, J., Lee, I.-M., Clover, G., Liefing, L., Li, X., De Boer, S., 2009. Association of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' with zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR. *Plant Disease* 93, 574-583.
- Teixeira, D.C., Saillard, C., Eveillard, S., Danet, J.L., da Costa, P.I., Ayres, A.J., Bove, J., 2005. '*Candidatus Liberibacter americanus*', associated with citrus huanglongbing (greening disease) in Sao Paulo State, Brazil. *Int J Syst Evol Microbiol* 55, 1857-1862.
- Teresani, G.R., Bertolini, E., Alfaro-Fernandez, A., Martinez, C., Tanaka, F.A., Kitajima, E.W., Rosello, M., Sanjuan, S., Ferrandiz, J.C., Lopez, M.M., Cambra, M., Font, M.I., 2014. Association of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' with a Vegetative Disorder of Celery in Spain and Development of a Real-Time PCR Method for Its Detection. *Phytopathology* 104, 804-811.
- Teulon, D., Workman, P., Thomas, K., Nielsen, M., 2009. *Bactericera cockerelli*: incursion, dispersal and current distribution on vegetable crops in New Zealand. *New Zealand Plant Protection* 62, 136-144.
- Thao, M.L., Moran, N.A., Abbot, P., Brennan, E.B., Burckhardt, D.H., Baumann, P., 2000. Cospeciation of psyllids and their primary prokaryotic endosymbionts. *Appl Environ Microbiol* 66, 2898-2905.

- Thinakaran, J., Pierson, E., Kunta, M., Munyaneza, J.E., Rush, C.M., Henne, D.C., 2015. Silverleaf nightshade (*Solanum elaeagnifolium*), a reservoir host for 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*', the putative causal agent of zebra chip disease of potato. *Plant Disease* 99, 910-915.
- Van der Merwe, A., Andersen, F., 1937. Chromium and manganese toxicity. Is it important in Transvaal citrus greening. *Farming in South Africa* 12, 439-440.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Mena-Covarrubias, J., 2015. Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en Chile para secado en Durango, México, in: INIFAP (Ed.), *Campo Experimental Zacatecas*. CIRNOC-INIFAP, Calera de V.R., Zacatecas, México, p. 32.
- Wallis, C.M., Rashed, A., Wallingford, A.K., Paetzold, L., Workneh, F., Rush, C.M., 2014. Similarities and differences in physiological responses to 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*' infection among different potato cultivars. *Phytopathology* 104, 126-133.
- Wulff, N.A., Zhang, S., Setubal, J.C., Almeida, N.F., Martins, E.C., Harakava, R., Kumar, D., Rangel, L.T., Foissac, X., Bove, J.M., Gabriel, D.W., 2014. The complete genome sequence of 'Candidatus *Liberibacter americanus*', associated with Citrus Huanglongbing. *Mol Plant Microbe Interact* 27, 163-176.
- Xu, C., Xia, Y., Li, K., Ke, C., 1988. Further study of the transmission of citrus Huanglongbing by a psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, Proc. 10th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Riverside, CA, pp. 243-248.
- Zhao, X.-Y., 1982. Citrus yellow shoot disease (Huanglongbing) in China—a review, Proceedings of the international society of citriculture, November 9-12, 1981, Tokyo, Japan. Vol. 1. International Society of Citriculture, pp. 466-469.

REVISIÓN TÉCNICA Y EDICIÓN

Dra. Yasmin Ileana Chew Madinaveitia
INIFAP Coahuila

M.C. Candelario Serrano Gómez
INIFAP Aguascalientes

DISEÑO DE PORTADA

Luis Roberto Reveles Torres

Código INIFAP

MX-0-241709-52-02-11-09-75

Grupo Colegiado del CEZAC

Presidente: Dr. Jaime Mena Covarrubias

Secretario: Dr. Francisco G. Echavarría Cháirez

Comisión Editorial y Vocal: Dr. Manuel de Jesús Flores Nájera

Vocal: Dr. Luis Roberto Reveles Torres

Vocal: Dr. Guillermo Medina García

Vocal: Ing. Manuel Reveles Hernández

Vocal: MC. Mayra Denise Herrera

La presente publicación se terminó de imprimir en el mes de
Diciembre de 2016 en "Paus" Impresiones, Calle Real del Calvario
#125, Col. Real de Calera. C. P. 98500, Calera de V. R.,

Zacatecas, México.

Tel. (478) 98 5 22 13

Su tiraje constó de 500 ejemplares

CAMPO EXPERIMENTAL ZACATECAS

DIRECTORIO

Dr. Francisco Gpe. Echavarría Cháirez
Director de Coordinación y Vinculación

Dr.	Guillermo Medina García	Agrometeorología y Modelaje
MC.	Nadiezhdha Y. Ramírez Cabral*	Agrometeorología y Modelaje
Dr.	Manuel de Jesús Flores Nájera	Carne de Rumiantes
Dr.	Alfonso Serna Pérez	Fertilidad de suelos y nutrición vegetal
Ing.	José Ángel Cid Ríos*	Frijol y Garbanzo
MC.	Juan José Figueroa González	Frijol y Garbanzo
MC.	Mayra Denise Herrera	Frijol y Garbanzo
Dr.	Jorge A. Zegbe Domínguez	Frutales
MC	Valentín Melero Meraz	Frutales
Ing.	Manuel Reveles Hernández	Hortalizas
MC.	Miguel Servin Palestina	Ingeniería de Riego
Dra.	Raquel Cruz Bravo	Inocuidad de Alimentos
MC	Enrique Medina Martínez	Maíz
MC.	Francisco A. Rubio Aguirre	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Ramón Gutiérrez Luna	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Ing.	Ricardo A. Sánchez Gutiérrez	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Luis Roberto Reveles Torres	Recursos Genéticos: Forestales, Agrícolas, Pecuarios y Microbianos
Dr.	Jaime Mena Covarrubias	Sanidad Forestal y Agrícola
Dr.	Rodolfo Velásquez Valle	Sanidad Forestal y Agrícola
MC.	Blanca I. Sánchez Toledano *	Socioeconomía

* Becarios

WWW.INIFAP.GOB.MX

SAGARPA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PESCA Y ALIMENTACIÓN



inifap

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias