

PROGRAMAS DE CERTIFICACIÓN PARA CÍTRICOS

Richard Lee
USDA ARS
Riverside, CA , EE UU.
Richard.Lee@ars.usda.gov

RESUMEN

Los programas de certificación de cítricos, diseñados para garantizar que se lleven al campo plantas sanas de alto potencial genético, son el pilar fundamental de un programa de manejo integrado de plagas. Estos programas se iniciaron con el descubrimiento de que las enfermedades eran transmisibles por injerto y han evolucionado hasta llegar a controlar tales enfermedades, como la tristeza y la clorosis variegada que poseen vectores como medios de diseminación además de ser transmisibles por injerto. La presencia de CVC y HLB con sus insectos vectores ha desafiado a las industrias cítricas a desarrollar estrategias para mantener la producción a pesar de la presencia de estas enfermedades. El componente clave para mantener la producción comienza con la siembra de plantas sanas; esto solo es posible con un programa de certificación funcional. En esta conferencia se discute sobre los componentes fundamentales de un programa de certificación de cítricos (programa de cuarentena, programa de saneamiento y programa de certificación) así como los desafíos presentados por enfermedades transmitidas por insectos vectores y que amenazan la productividad de los cítricos en la cuenca del Caribe, específicamente HLB, CVC y leprosis.

El descubrimiento de Fawcett (1938) de que la psorosis podía ser transmitida por injerto a las posturas y de que estas plantas inoculadas producían síntomas distintos, fue el comienzo de los actuales programas de certificación de cítricos. Al utilizar plantas indicadoras, Fawcett se percató de que las yemas provenientes de clones libres del agente causal de la psorosis producían descendencias también libres de la enfermedad. La aplicación de termoterapia podía eliminar al agente causal de la psorosis (Calavan *et al*, 1972) y se establecieron clones libres de psorosis que se utilizaron para la propagación en viveros; fue así que evolucionó el concepto de programa de certificación. En Florida, el programa de certificación comenzó en los 1950s y consideraba ilegal propagar árboles a partir de fuentes infectadas con psorosis, y se requería realizar pruebas biológicas con limero mexicano para verificar la presencia del *virus de la tristeza de los cítricos* (CTV), después del descubrimiento de esta como planta indicadora de CTV (Rucks 1994).

La evolución de los programas de certificación en cítricos se vio acelerada por el desarrollo de la técnica de microinjerto de ápices caulinares *in vitro* (Navarro *et al*, 1975). En esta técnica, se injerta un fragmento muy pequeño del ápice caulinar (~0.1 mm) en un patrón sano; la planta resultante no muestra características juveniles y a menudo está libre de patógenos que por lo general son difíciles o imposibles de eliminar con la aplicación de termoterapia. La metodología del microinjerto de ápices caulinares *in vitro* se aplicó rápidamente al germoplasma presente en los programas de certificación y se ha convertido en el método más valioso para liberar a selecciones clonales de patógenos transmisibles por injerto.

En la medida que los programas de certificación de cítricos han evolucionado, se han desarrollado protocolos para producir árboles élite de alta calidad genética y libres de patógenos, para mantener esta calidad; así como garantizar que las propagaciones resultantes se encuentren libres de patógenos, de manera que las plantas jóvenes llevadas al campo finalmente sean igualmente de alta calidad genética.

El uso de los términos “programa de certificación de cítricos” y “programa de saneamiento” se utilizan a veces indistintamente, lo cual es incorrecto. Un programa de saneamiento se refiere a la colección de plantas que se han evaluado para detectar la presencia de un patógeno y el resultado final indica que están libres de estos al igual que el material de propagación que de ellas se obtenga. El material sano es uno de los componentes de un programa de certificación, pero semejante programa es mucho más integral y se diseña para que garantice la naturaleza de libre de patógenos, así como la más alta calidad genética de todas las plantas propagadas.

Los componentes esenciales de un programa de certificación se resumen más adelante (**programa de cuarentena** para brindar la introducción segura de germoplasma hortícola de áreas exóticas; **programa de saneamiento** para la prueba y tratamientos terapéuticos conducentes a la producción de germoplasma libre de patógenos para su uso comercial a partir de fuentes nacionales; y **programa de certificación** para garantizar que las fuentes de germoplasma están libres de patógenos y distribuirlos a viveristas y productores para el beneficio de la industria). Las plantas evaluadas en los programas de cuarentena y en los programas de saneamiento brindan el material necesario para el programa de certificación.

Programa de cuarentena

El programa de cuarentena funciona bajo la autoridad del Ministerio de la Agricultura, en el caso de los gobiernos de estados; y bajo el Departamento de Agricultura del estado. El propósito del programa de cuarentena es excluir patógenos exóticos. Los productores y los que cultivan cítricos a manera de pasatiempo, siempre están en busca de germoplasma nuevo con características únicas, como un mejor desarrollo del color, más tempranos o más tardíos, desprovistos de semillas, etc., (Roistacher 1993). Los programas de mejoramiento genético necesitan cultivares y variedades exóticas para lograr esas características deseables. En cada país existe una demanda constante de germoplasma exótico. La importación no controlada de ese germoplasma puede traducirse en la importación también de nuevas plagas y patógenos, algunos de los cuales pudieran causar grandes pérdidas económicas a toda la industria. Estos riesgos pueden minimizarse controlando cuidadosamente la introducción a través de estaciones de cuarentena que garanticen la importación exitosa de germoplasma foráneo sin la introducción de nuevas plagas y enfermedades.

En este programa, el germoplasma importado se coloca en cuarentena en un lugar aislado del área citrícola, con barreras físicas sólidas o con el empleo de métodos *in vitro* utilizando tubos de ensayo (Navarro 1993). Al germoplasma importado se le realizan pruebas biológicas para determinar la presencia de patógenos transmisibles por injerto, se somete a terapia por medio del microinjerto de ápices caulinares y/o termoterapia para liberarlo de patógenos ya identificados; después se vuelve a analizar mediante pruebas biológicas, para garantizar la ausencia de patógenos transmisibles por injerto (Roistacher 1991). La importación de germoplasma de cítricos de áreas con altos riesgos de enfermedades debe hacerse con extremo cuidado.

Mientras que en el pasado, las semillas de cítricos se importaban sin preocupación de introducir patógenos transmisibles por injerto, ahora se considera un riesgo importante. Existen informes de la transmisión por semillas de CVC (Hartung paper), de las escobas de bruja de la lima causada por un fitoplasma (El-Kharbotly *et al.* 2003; Khan *et al.* 2002), de la psorosis y patógenos afines en *P. trifoliata* y en híbridos que tienen al *P. trifoliata* como uno de los progenitores (Roistacher 1991), también el virus del moteado de la hoja de los cítricos (Guerra *et al.*, 2004). Los programas de certificación permiten la propagación y certificación de fuentes de semillas legítimas para patrones, las que se han evaluado para garantizar la ausencia de patógenos transmisibles por injerto conocidos.

Programa de saneamiento

En áreas cítricas con un largo historial de producción, a menudo se seleccionan variedades locales con buen comportamiento en condiciones climáticas locales. Existe la necesidad de obtener plantas sanas a partir de estas variedades y cultivares cultivados localmente. El programa de saneamiento brinda el mecanismo para identificar el buen comportamiento de los árboles deseados a partir de fuentes locales, independientemente de su estado sanitario, la terapia resultante y el diagnóstico del germoplasma para garantizar que esté libre de patógenos. Deben establecerse normas cuantitativas (medibles), no subjetivas, para la selección de fuentes locales, someterlas a terapia e incluirlas en el programa de saneamiento ya que ello resulta caro en términos de tiempo y recursos. Si estas fuentes seleccionadas localmente están libres de patógenos transmisibles por injerto, pueden ser productivas y útiles.

Los programas de saneamiento pueden mantenerse por el Ministerio de la Agricultura o por el Departamento de Agricultura del estado, en muchos casos por universidades e incluso compañías privadas con la debida autoridad delegada por el gobierno. Para el establecimiento de un programa de saneamiento deben seguirse varios pasos: 1) selección de los árboles madres a partir de cultivares locales, 2) pruebas biológicas de los árboles madres seleccionados, 3) obtención de plantas libres de patógenos por el método de microinjerto de ápices caulinares *in vitro* y/o termoterapia, 4) pruebas biológicas de plantas obtenidas, 5) evaluación hortícola de plantas sanas, y 6) mantenimiento de plantas sanas bajo condiciones protegidas.

Como las infecciones causadas por patógenos transmisibles por injerto suelen ser latentes, hay que realizar pruebas de diagnóstico a los árboles madre para conocer qué patógeno(s) han de eliminarse. La mayoría de estas pruebas de diagnóstico se hacen con plantas indicadoras en condiciones controladas, ver resumen de plantas indicadoras y condiciones de cultivo en Roistacher (1991). Este diagnóstico biológico debe suplementarse con procedimientos de laboratorio utilizando serología, PCR y métodos de microscopía (Roistacher 1991). Los patógenos transmisibles por injerto encontrados en árboles locales deben retenerse como colección de virus ya que son controles positivos útiles para futuros diagnósticos de laboratorio.

Los árboles madres seleccionados se someten a métodos de saneamiento, de los cuales el más común es el microinjerto de ápices caulinares, pero también se utiliza la termoterapia y los métodos de embrionía nucelar *in vivo* o *in vitro*. Los métodos de microinjerto de ápices caulinares y la termoterapia producen plantas sin caracteres juveniles. La embrionía nucelar es eficaz para eliminar patógenos transmisibles por injerto no transmisibles por semilla. Sin embargo, las plantas de origen nucelar presentan

caracteres juveniles como la espinosidad, producción tardía, crecimiento erecto y vigor excesivo. Además, no todas las plantas son idénticas a la planta madre.

La evaluación hortícola de las plantas obtenidas es absolutamente indispensable. Aunque nunca ha habido informes de plantas microinjertadas con expresión de características anormales, siempre existe la posibilidad de que ocurra una mutación espontánea o que por error humano se ponga una etiqueta equivocada. Además, si la evaluación hortícola se realiza de forma tal que se incluyan los registros o historiales de campo, esta información permite a los productores seleccionar los clones más productivos en un período de tiempo. Los clones que se propagan en la actualidad en Florida son aproximadamente 20-25% más productivos que los clones propagados hace 30 años, por lo que la disponibilidad de esta información permite a los productores seleccionar aquellas líneas que desean plantar.

Es importante el mantenimiento del germoplasma obtenido, evaluado para la detección de patógenos, para evitar su reinfección por patógenos transmisibles por injerto. La presencia de patógenos transmisibles por injerto, que tienen como vectores insectos o ácaros, exige que las plantas saneadas se mantengan aisladas en un aislador y/o invernadero. Las plantas comprendidas en un programa de saneamiento necesitan de pruebas biológicas recurrentes para determinar si en el país están presentes patógenos transmisibles por injerto.

Programas de certificación

Los programas de certificación garantizan el estatus sanitario y genético del material que se va a propagar durante el proceso de propagación comercial a través de los viveros. Los programas de cuarentena y de saneamiento brindan la fuente del material libre de patógenos y su distribución corre a cargo del programa de certificación, el cual generalmente exige de otra evaluación para verificar la ausencia de patógenos transmisibles por injerto en el área, no de patógenos exóticos. Mientras que en muchas áreas existen programas de saneamiento, pocas cuentan con programas de certificación. Los programas de California, Florida, Sudáfrica, Taiwan y Australia son los más antiguos. En la pasada década, países como Belice, Jamaica, Brasil (estado de Sao Paulo), Uruguay, Argentina y Omán adoptaron programas de certificación.

Estos programas brindan la plataforma para un manejo integrado de plagas en cítricos (Navarro 1986; Lee y Rocha-Peña 1992). El punto de partida para una citricultura exitosa radica en plantar árboles sanos, especialmente en áreas donde hay insectos vectores de patógenos. El programa de certificación puede servir de punto focal para la liberación de nuevas variedades y cultivares, para acopiar información hortícola y sobre rendimientos y para distribuir información de extensión. El mantenimiento de registros es una parte importante del programa ya que permite la trazabilidad de problemas que puedan aparecer posteriormente respecto a la fuente del material o de un vivero específico. El programa funciona bajo la autoridad del Ministerio de la Agricultura o del departamento de agricultura del estado, pero en muchas áreas esa autoridad se delega en una organización orientada a productos básicos u otro tipo de organismo.

Los componentes de la propagación en los programas de certificación son similares, independientemente del país. El esquema de certificación se estructura de manera que las pruebas biológicas y las evaluaciones hortícolas, que suelen consumir mucho tiempo y son costosas, se limiten a proteger los árboles primarios de los bloques de fundación. De

esta forma todas las plantas propagadas se benefician de la alta calidad hortícola y la ausencia de patógenos transmisibles por injerto, partiendo de los protocolos diseñados para asegurar la integridad del germoplasma.

Existen, por lo general, cuatro bloques de árboles en un programa de certificación: 1) **bloques primarios de fundación protegidos**, 2) **bloques de fundación**, que puede estar ubicado en el campo y/o bajo condiciones protegidas en dependencia de la situación local respecto a los patógenos que presentan vectores, 3) **bloques de multiplicación**, y 4) **bloques de plantas de vivero certificadas** que se distribuirán y plantarán.

Bloques primarios de fundación protegidos: están compuestos por plantas libres de patógenos obtenidas a través de los programas de saneamiento y de cuarentena. Se verifican de manera que posean la más alta calidad hortícola y se someten a pruebas biológicas recurrentes para verificar su condición de libres de patógenos en el tiempo. Estas plantas se cultivan en condiciones protegidas. Los árboles presentes en este bloque son la fuente primaria de yemas para el establecimiento de los bloques de fundación. A los árboles en este bloque debe permitírsele la producción de frutos regularmente de modo que si ocurrieran brotes aberrantes puedan detectarse.

Bloques de fundación: pueden establecerse en el campo, pero si están presentes los patógenos con insectos vectores, han de mantenerse en condiciones protegidas. Mantener bloques de fundación en el campo puede poner en peligro su uso como fuentes de yemas, si apareciera una nueva enfermedad como HLB y CVC. Los árboles en un bloque de fundación deben propagarse a partir de material procedente del bloque primario de fundación, someterse a ensayos biológicos regularmente y dejarse fructificar para evaluar su legitimidad hortícola.

Bloques de multiplicación: brindan un aumento catalítico del material, ya sea del bloque de fundación o del bloque primario de fundación protegido. Se utilizan para suministrar la mayoría del material vegetal utilizado en la propagación de viveros certificados, cuyas plantas se llevarán a campo posteriormente. Se establece un límite de tiempo para coleccionar yemas de los bloques de fundación, con el fin de evitar la posible propagación de mutaciones no detectadas. Si los bloques de multiplicación se mantienen en el campo, el período de tiempo puede ser tan corto como 18 meses con pruebas biológicas para tristeza, si tales bloques se mantienen protegidos pueden utilizarse durante tres años. No se permite que los árboles fructifiquen y se les monitorea para detectar la presencia de insectos vectores de patógenos como CTV.

Plantas de vivero certificadas: suelen propagarse utilizando material de los bloques de multiplicación, pero también pueden propagarse utilizando yemas de los árboles del bloque de fundación. Por lo general se cultivan en condiciones regulares de campo si están en un área donde no esté presente HLB o cultivadas en condiciones protegidas (aisladores/invernaderos) si HLB, CVC y CTV están presentes. Los árboles pueden inspeccionarse para asegurar que cumplen con la calidad hortícola requerida según las regulaciones de certificación. Los viveros también han de mantener registros que demuestren el cumplimiento de tales regulaciones.

Árboles fuentes de semillas: deben incluirse en el programa de certificación. Para la mayoría de los patrones se dispone de material de propagación a partir de programas de saneamiento reconocidos internacionalmente. Este material se ha evaluado para garantizar que los árboles madres que suministran las yemas son legítimos. Además, los

árboles se han evaluado para garantizar la ausencia de patógenos transmisibles por semillas. Los árboles utilizados como fuente de semillas deben inspeccionarse anualmente para comprobar que están libres de anomalías y enfermedades al igual que con otros árboles de fundación, que se evalúan recurrentemente para determinar la presencia de psorosis y enfermedades afines, CLB, y otros patógenos transmisibles por las semillas y que puedan estar presentes en la región.

Enfermedades emergentes que amenazan los cítricos en la cuenca del Caribe

Existen muchas enfermedades que pueden limitar la productividad de una plantación de cítricos. La mayoría de ellas son causadas por hongos y bacterias que pueden controlarse con aplicaciones de productos químicos y atenciones culturales; no pasan de una generación de árboles a otra por la multiplicación del material vegetal. Sin embargo, el manejo eficaz de estas enfermedades en el vivero hace que su manejo en el campo resulte más fácil al evitarse su diseminación.

No obstante, es probable que los patógenos transmisibles por injerto estén presentes en todas las propagaciones si estuvieran presentes en la fuente de propagación. Estos patógenos transmisibles por injerto comprenden virus, viroides, procarióticos sistémicos como la *Xylella fastidiosa* y la bacteria sistémica que causa el Huanglongbing (exgreening de los cítricos), fitoplasmas y espiroplasmas. La infección de los árboles madre con estos patógenos puede ser asintomática, si los árboles son propagados sobre patrones tolerantes o establecidos con variedades tolerantes, pero estos patógenos transmisibles por injerto pueden tornarse destructivos si se propaga sobre patrones susceptibles, o si se planta en un clima que favorezca el desarrollo de los síntomas.

Un ejemplo de la naturaleza latente de muchos patógenos transmisibles por injerto ocurrió después de la introducción del *Toxoptera citricida*, vector eficiente del *virus de la tristeza*, en la cuenca del Caribe durante los años 90. Antes de esta fecha, el patrón agrio era el predominante en la región, representaba casi el 90% de la población total de árboles (Lee *et al.* 1994). La plaga exótica *T. citricida*, se reportó en Venezuela a finales de los años 70 (Ochoa Corona *et al.* 1994) y continuó su distribución geográfica hacia el norte por todo el Caribe comenzando en los 90 (Rocha-Peña *et al.* 1995). Tras el establecimiento del *T. citricida* en nuevas áreas, aparecieron nuevas variantes severas de CTV en un período de 2 a 5 años.

El primer signo de la presencia de nuevas variantes severas de la tristeza suele ser un brote de declinamiento de los árboles sobre agrio, el cual se disemina en el área plantada (Rocha-Peña *et al.* 1998). Como el declinamiento del patrón naranjo agrio en cuanto a la tristeza, puede controlarse utilizando patrones tolerantes, los productores caribeños comienzan a propagar sobre patrones tolerantes a la tristeza. Cuando tales árboles propagados sobre patrones tolerantes no crecían ni producían bien, los campesinos se percataron que el agrio utilizado anteriormente era tolerante en cuanto a patógenos transmisibles por injerto lo cuales podían estar en las fuentes de propagación utilizadas: los patrones de mandarinos son muy susceptibles a la cachexia, los de limonero y sus similares son muy susceptibles a las agallas en el leño y al blight, *Poncirus trifoliata* y sus híbridos de citrange y/o citrumelo son susceptibles al virus de la hoja rasgada, a la exocortis y otros viroides, así como al blight (Rocha-Peña *et al.* 1998).

La necesidad de contar con fuentes de propagación evaluadas para detectar la presencia de patógenos se hace necesaria en todos los países de la cuenca del Caribe, ya que los

productores utilizan sus propias fuentes de yemas para hacer propagar sobre patrones tolerantes a la tristeza y a las enfermedades causadas por los virus latentes antes descritos.

Hay algunos patógenos transmisibles por injerto que han surgido recientemente y que representan una amenaza a la sostenibilidad de los cítricos en las Américas, HLB, CVC y leprosis. La presencia de cualquiera de estas enfermedades requiere que todas las operaciones en el vivero se hagan en un ambiente protegido para no estar expuestos a los vectores.

Debe prestarse atención a no transportar vectores involuntariamente hacia el vivero, lo que suele exigir el cambio de ropa antes de entrar a la instalación. Todos los equipos que participen en las labores internas han de desinfectarse. La entrada debe ser limitada, usualmente solo una. Si la enfermedad y los vectores están presentes en un área, cualquier planta expuesta a estos vectores considerarse infectada de forma latente y destruirse.

Huanglongbing (HLB): enfermedad asociada con una bacteria fastidiosa restringida al xilema, *Candidatus Liberobacter* (Bove 2006; Bove 1995; Bove y Garnier, 1984). Hay tres especies causantes de HLB, la especie asiática, *Candidatus L. asiaticus*, que provoca los síntomas más severos en condiciones de calor; la especie africana *Candidatus L. africanus*, que causa los síntomas más severos en condiciones más frescas y la nueva especie encontrada en Brasil en el 2004, *Candidatus L. americanus*, que parece ser similar al *Ca L. asiaticus* en cuanto a expresión de síntomas, pero tal vez no tan tolerante a condiciones de calor (Teixeira *et al*, 2005). Los psílidos que se alimentan del floema son vectores de HLB. *Diaphorina citri*, el psílido asiático de los cítricos ha estado presente en Brasil durante al menos 60 años y en Florida desde 1998, ha estado asociado con la aparición de HLB en Brasil en el 2004 (Teixeira *et al*, 2005) y en Florida en el 2005 (Halbert 2005). *Trioza erytreae*, el psílido africano de los cítricos, es el vector común de las especies africanas causantes de HLB. Sin embargo, cualquiera de estos vectores puede transmitir las especies causantes de HLB. *D. citri* se ha distribuido ampliamente por la cuenca del Caribe, por lo que si el patógeno es introducido, ya el vector está presente. Ver Figura 2 sobre síntomas de HLB.

El HLB es el factor limitante de la producción de cítricos en 29 países de Asia y África debido a las grandes pérdidas de producción, vigor del árbol y necesidad de inspecciones para identificar y eliminar los árboles infectados y controlar las poblaciones de psílidos (Bove 2006; Roistacher 1996). El diagnóstico de la enfermedad suele hacerse por PCR a partir de tejidos sintomáticos, estas pruebas incluyen PCR en tiempo real actualmente (Bove 2006). Sin embargo, la confirmación de la presencia de HLB asociado con la bacteria no es muy sensible en árboles asintomáticos. Las pruebas biológicas son inadecuadas para confirmar la presencia de HLB en nuevas áreas geográficas, debido al tiempo necesario para el desarrollo de los síntomas, la necesidad de evaluar bajo condiciones de frío y calor para poder detectar las especies africanas, asiáticas y americanas. Los síntomas en plantas indicadoras pudieran enmascarse por la presencia de patógenos transmisibles por injerto como las razas severas del *virus de la tristeza*.

En países donde HLB y sus vectores son endémicos, la obtención de retornos económicos depende de plantar inicialmente árboles libres de la enfermedad, monitorear la presencia de los vectores, hacer controles químicos cuando éstos lleguen al umbral y

eliminar los árboles infectados en el campo sistemáticamente (Roistacher 1997; Buitendag y von Broembsen 1993).

El mejor control de HLB es la exclusión, por ello el componente cuarentena en un programa de certificación es tan importante. Existen enfermedades crónicas de declinamiento presentes en la mayoría de los países de la cuenca del Caribe como blight, tristeza, CVC y psorosis, por lo que los productores se han acostumbrado a ver los árboles con este declinamiento crónico. Además, la mayoría de estos países cultivan cítricos en áreas con una alta pluviometría y las enfermedades foliares como la mancha grasienta se hacen omnipresentes, lo cual enmascara los síntomas foliares asociados con HLB. De no descubrirse a tiempo esta enfermedad, no existe virtualmente esperanza de poder erradicarla. Los caros procedimientos de manejo para minimizar su impacto la convierten en la amenaza más grave de los cítricos en las Américas.

Clorosis Variegada de los Cítricos (CVC): causada por una bacteria fastidiosa restringida al xilema, *Xylella fastidiosa*, tiene como vectores muchos saltahojas que se alimentan del xilema (Lee *et al.*, 1991). La bacteria que causa CVC persiste en los vectores saltahojas y se pierde cuando el insecto efectúa la muda; sin embargo, si el saltahoja adquiere la bacteria después del último instar, retiene la capacidad de transmitirla por el resto de su vida. CVC está presente en Costa Rica donde la bacteria también provoca el declinamiento de aguacateros, guayabos, macadamia y muchos otros cultivos (Moreira *et al.*, 2002). El diagnóstico de campo de CVC es difícil, los síntomas se parecen a los de otras enfermedades crónicas de los cítricos como blight, HLB y declinamiento producido por CTV. Además, la omnipresente mancha grasienta en toda la cuenca del Caribe, enmascara los síntomas foliares de la enfermedad. La PCR puede utilizarse para la detección específica de una cepa de CVC, otros métodos de diagnóstico como el cultivo, la microscopía y la detección serológica no diferencian bien las cepas de *X. fastidiosa*. El manejo de CVC en Brasil se realiza plantando árboles sanos, haciendo aplicaciones de insecticidas contra los saltahojas vectores y podando las ramas sintomáticas del árbol a intervalos regulares (Rosetti 2000). Mientras CVC en Brasil fue más severa al norte de San Pablo, ahora está presente en toda el área citrícola y también afecta a los árboles más viejos, mientras que las primeras observaciones indicaban que los árboles mayores de siete años eran menos afectados. Ver Figura 3 sobre síntomas de CVC.

Leprosis de los cítricos: es una enfermedad que causa el anillado de brotes y ramas en los árboles infectados, lo que trae consigo la muerte regresiva de la copa y eventualmente la muerte del árbol afectado. Este virus no se mueve sistémicamente como la mayoría, suele diseminarse en anillos concéntricos a partir del punto de infección. En hojas sintomáticas se forman manchas o lesiones pálidas y cloróticas. Los brotes y ramas se anillan cuando el anillo se encuentra en su parte posterior. Las lesiones en la fruta provocan la caída prematura e invalidan al fruto para el mercado en fresco. Ver Figura 4.

La leprosis de los cítricos se reportó originalmente en Florida a inicios del 1900, y ya en los años 20 había ocasionado considerables pérdidas. Sin embargo, por razones inexplicables, su incidencia disminuyó y el último caso reportado en Florida fue en 1967. Muestreos realizados en los últimos 25 años no han encontrado leprosis. No obstante, las especies de ácaros *Brevipalpus*, vectores de la leprosis, están presentes en áreas citrícolas de las Américas y se tienen noticias de la enfermedad en países de América Central excepto en Belice (Saavedra de Domínguez *et al.*, 2001; Palmieri *et al.*, 2003).

Se pensó que la leprosis era causada por un virus similar a los rhabdovirus, pero investigaciones recientes han demostrado que hay dos virus asociados a ella, uno es un virus ARN de sentido positivo bipartito presente en el citoplasma del tejido infectado; y el otro es un virus presente en el núcleo, probablemente similar a los rhabdovirus y que no se ha caracterizado molecularmente (Guerra-Moreno *et al.*, 2005). La confirmación del virus de la leprosis citoplásmico puede hacerse por RT-PCR o por análisis serológicos. Se conoce del empleo de especies de *Gomphrena* y *Chenopodium* como hospedantes del virus que manifiestan lesiones locales, pero las inoculaciones a partir de lesiones de estos hospedantes no han demostrado causar la leprosis en cítricos (Lovisoló *et al.*, 2000). La presencia de otros patógenos en cítricos colectados en condiciones de campo también puede llevar a resultados confusos en los hospederos que producen lesiones locales.

Existen muchas otras enfermedades que amenazan los cítricos en la cuenca del Caribe (Tabla 1). El impacto de estas enfermedades en esta zona es difícil de calcular y tal vez sea peor que lo anticipado inicialmente. Por ejemplo, se ha reportado que CVC está presente en las semillas del naranjo dulce, (Li *et al.*, 2003) y también se ha informado la presencia en las semillas de la enfermedad escoba de bruja de la lima en Omán, causada por un fitoplasma (Khan *et al.* 2002). Algunas enfermedades fungosas o micóticas presentan esporas que son transportadas por el viento, como la mancha negra, que puede trasladarse a largas distancias debido a tormentas tropicales. En otros casos, el patógeno puede tener un amplio rango de hospederos, pero las infecciones son latentes y no se observa daño aparente, por ejemplo, la *X. fastidiosa* que causa CVC.

Los programas de certificación eficaces, funcionales y obligatorios son la primera línea de defensa contra la introducción de estos patógenos exóticos. De no existir medios legales para introducir germoplasma exótico de cítricos, será introducido por vías ilegales y por tanto, serán mayores las oportunidades de introducir patógenos junto con el germoplasma exótico.

BIBLIOGRAFÍA

- Bove, J. M. 1995. *Virus and virus-like diseases of citrus in the Near East region*. FAO, Rome. 517 pp.
- Bove, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J Plant Path* 88: 7-37.
- Bove, J. M. and Garnier, M. 1984. Citrus greening and psylla vectors of the disease in the Arabian peninsula, *In: Proc. 9th Conf. IOCV*. IOCV, Riverside. pp. 109-114
- Buitendag, C. H., von Broembsen, L. A. 1993. Living with citrus greening in South Africa. *Citrus Journal* 3: (1) 29-32.
- Calavan, E. C., Roistacher, C. N. and Nauer, E. M. 1972. Thermotherapy of citrus for inactivation of certain viruses. *Plant Disease Reporter* 56: 976-980.
- Guerra-Moreno, A.S., Manjunath, K. L., Brlansky, R. H. and Lee, R. F. 2005. Citrus leprosis symptoms can be associated with the presence of two different viruses: cytoplasmic and nuclear, the former having a multipartite RNA genome. *In: Proc. 16th Conf. IOCV*. IOCV, Riverside. pp 230-239
- Guerri, J., Pina, J. A., Vives, M. C., Navarro, L. and Moreno, P. 2004. Seed transmission of Citrus leaf blotch virus: Implications in quarantine and certification programs. *Plant Disease* 88, 906 pp.

- Halbert, S. E. 2005. The discovery of huanglongbing in Florida. Pages H-3 in: Proc. of 2nd International Citrus Canker and Huanglongbing Research Workshop. Florida Citrus Mutual. Orlando, FL
- El-Kharbotly, A., Al-Shanfari, A., and Al-Subhi, A. 2000. Molecular evidence for the presence of the *Phytoplasma aurantifolia* in lime seeds and transmission to seedlings. p. 97-98. In: Proc. Intl. Soc. Citriculture. Orlando, Florida.
- Fawcett, H.S. 1938. Transmission of psorosis of citrus. *Phytopathology*, 28, 669 pp.
- Khan, I.A., Lee, R.F., and Hartung, J. 2002. Confirming seed transmission of witches broom disease of lime In: Proc. International Plant Protection Congress, Christchurch, New Zealand. 281 pp.
- Lee, R. F., Derrick, K.S., Beretta, M.J.G., Chagas, C.M. and Rosetti, V. 1991. Citrus variegated chlorosis: a new destructive disease of citrus in Brazil. *Citrus Industry* 72: 12-13, 15.
- Lee, R.F. and Rocha-Pena, M.A. 1992. Citrus tristeza virus. *In*: Plant Diseases of International Importance. (Eds. A.N. Mukhopadhyay, H.S. Chaube, J. Kumar and U.S. Singh) Prentice Hall, New Jersey, Vol. III : 226-249.
- Lee, R.F., Baker, P.S. and Rocha-Pena, M.A. 1994. Citrus tristeza virus (CTV): an introduction to current priorities, with special reference to the worsening situation in Central America and the Caribbean. International Institute of Biological Control, Centre for Agriculture and BioSciences (CAB) International, and Food and Agriculture Organization (FAO), United Kingdom. 197 pp.
- Lee, R. F., Lehman, P. S., and Navarro, L. (1999). Nursery practices and certification programs for budwood and rootstocks. In: L.W. Timmer and L.W. Duncan (Eds.), *Citrus Health Management*, APS Press, St. Paul, MN. pp. 35-46.
- Li, W. -B., Pria Jr., W. D., Lacava, P. M., Qin, X. and Hartung, J. S. 2003. Presence of *Xylella fastidiosa* in sweet orange fruit and seeds and its transmission to seedlings, *Phytopathology* 93: 953-958.
- Lovisolo, O., Colariccio, A., and Masenga, V. 2000. New experimental hosts and further information on *citrus leprosis virus*. *In*: Proc. 15th Conf. IOCV. IOCV, Riverside, pp. 164-173.
- Moreira, L., Villalobos, W., Rodriguez, C.M. and Rivera, C. 2002. Presence of *Xylella fastidiosa* in several species in Costa Rica. p. 75 *In*: Proc. 42nd Conf. Caribbean Division American Phytopathological Society, Guatemala, 17-19 June 2002.
- Navarro, L. 1986. Citrus certification in Mediterranean countries. *EPPO Bulletin* 16: 227-238.
- Navarro, L. 1993. Citrus sanitation, quarantine and certification programs. *In*: Proc. 12th Conf. IOCV. IOCV, Riverside. pp. 383-391
- Navarro, L., Roistacher, C. N. and Murashige, T. 1975. Improvement of shoot tip grafting in vitro for virus-free citrus. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 100: 471-479.
- Ochoa Corona, F.M., Rocha Pena, M.A. and Lee, R.F. 1994. Impact of citrus tristeza closterovirus on Venezuelan citriculture: chronology of events. *Revista Mexicana de Fitopatologia* 12: 97-105.
- Palmieri, M., Blanco, S., Cruz, N., López, L., Howd, D., Brlansky, R. H., Lee, R. 2003. Situation of Leprosis in Guatemala. Proc. Pan American Disease Conference, April 2003, South Padre Island, TX.
- Rocha-Pena, M.A., Lee, R.F., Lastra, R., Niblett, C.L., Ochoa-Corona, F.M., Garnsey, S.M. and Yokomi, R. K. 1995. Citrus tristeza virus and its aphid vector *Toxoptera citricida*: threats to citrus production in the Caribbean and Central and North America. *Plant Disease* 79: 437-445.

- Rocha-Pena, M.A., Ochoa-Corona, F.M., Martinez-Soriano, J.P., Roistacher, C.N. and Lee, R.F. 1998. Citrus tristeza virus: events that occur before, during and after the disease epidemics. *Subtropical Plant Science* 50: 26-36.
- Rodríguez, J. C. V., Kitajima, E. W., Childers, C. C. and Chagas, C. M. (2003). Citrus leprosis virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on citrus in Brazil, *Exp. Appl. Acarology*, 30: 161-179.
- Roistacher, C.N. 1991. Graft-transmissible Diseases of Citrus. Handbook for detection and diagnosis. IOCV, Riverside and FAO, Rome. 286 pp.
- Roistacher, C.N. 1993. Arguments for establishing a mandatory certification program for citrus. *Citrus Industry* 74 (10): 8.
- Roistacher, C.N. 1996. The economics of living with citrus diseases: huanglongbing (greening) in Thailand, p. 279-285. *In: Proc. 13th Conf. IOCV. IOCV, Riverside.*
- Rucks, P. 1994. Quality tree program for Florida citrus. Proceedings of the Florida State Horticultural Society. 107: 4-8.
- Saavedra de Dominguez, F., Bernal, A., Childers, C. 2001. First report of citrus leprosis virus in Panama. *Plant Dis.* 85: 228.
- Rosetti, V. 2000. Citrus variegated chlorosis (CVC) in Brazil—an overview. *In: Proc. 14th Conf. IOCV. IOCV, Riverside.* pp. 213-215.
- Teixeira, D. D. C., Danet, J. L., Eveillard, S., Martins, E. C., De Jesus Jr. W. C., Yamamoto, P. T., Lopes, S. A., Bassanezi, R. B., Ayres, A. J., Saillard, C. and Bove, J. M. 2005. Citrus huanglongbing in Sao Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus' Liberibacter species associated with the disease. *Molecular and Cellular Probes* 19: 173.

Tabla 1. Patógenos emergentes transmisibles por injerto en cítricos con vectores u otros medios de propagación natural.

Enfermedad transmisible por injerto	Agente causal	Vector o medio de diseminación
Blight	Desconocido	Desconocido
Enanismo clorótico de los cítricos	Agente similar a los virus, desconocido	Mosca blanca <i>Parabemisia myricae</i> Kuwana,
Clorosis variegada de los cítricos	Raza de <i>Xylella fastidiosa</i> Wells	Numerosas especies de saltahojas (Hemiptera: Cicadellidae)
Huanglongbing (citrus greening)	<i>Candidatus Liberobacter asiaticum</i> & <i>L. africanum</i> (Greening asiático & africano, respectivamente)	<i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, <i>Trioza erytreae</i> Del Guercio
Mosaico indio de los cítricos	Indian citrus mosaic badnavirus	Chinche melosa <i>Planococcus citri</i> Risso,
Leprosis	Citrus leprosis rhabdovirus	Acaros <i>Brevipalpus</i> spp. (Acari : Tenuipalpidae)
Psorosis de transmisión natural	Virus de la psorosis de los cítricos	Desconocido
Enanismo de la Satsuma	Nepovirus del enanizamiento de la Satsuma	Agente inherente al suelo no identificado
Stubborn	<i>Spiroplasma citri</i> Saglio	Saltahojas: <i>Scaphytopius nitrides</i> Baker, <i>Neoliturus tenellus</i> Gillette y Baker, <i>N. haemocephus</i> Muls. & Reyl.
Tristeza	Closterovirus de la tristeza	Numerosas especies de áfidos, <i>Toxoptera citricida</i> Kirkaldy, <i>Aphis gossypii</i> Glover, y <i>Aphis citricola</i> van der Goot son los más comunes
Escobas de bruja	<i>Candidatus Phytoplasma aurantifolia</i>	<i>Hishimonus phycitis</i> Sospechoso distante, no confirmado
Agallas del leño	Virus de las protuberancias navales (similar a un Luteovirus)	Aphids, <i>T. citricida</i> y <i>A. gossypii</i>

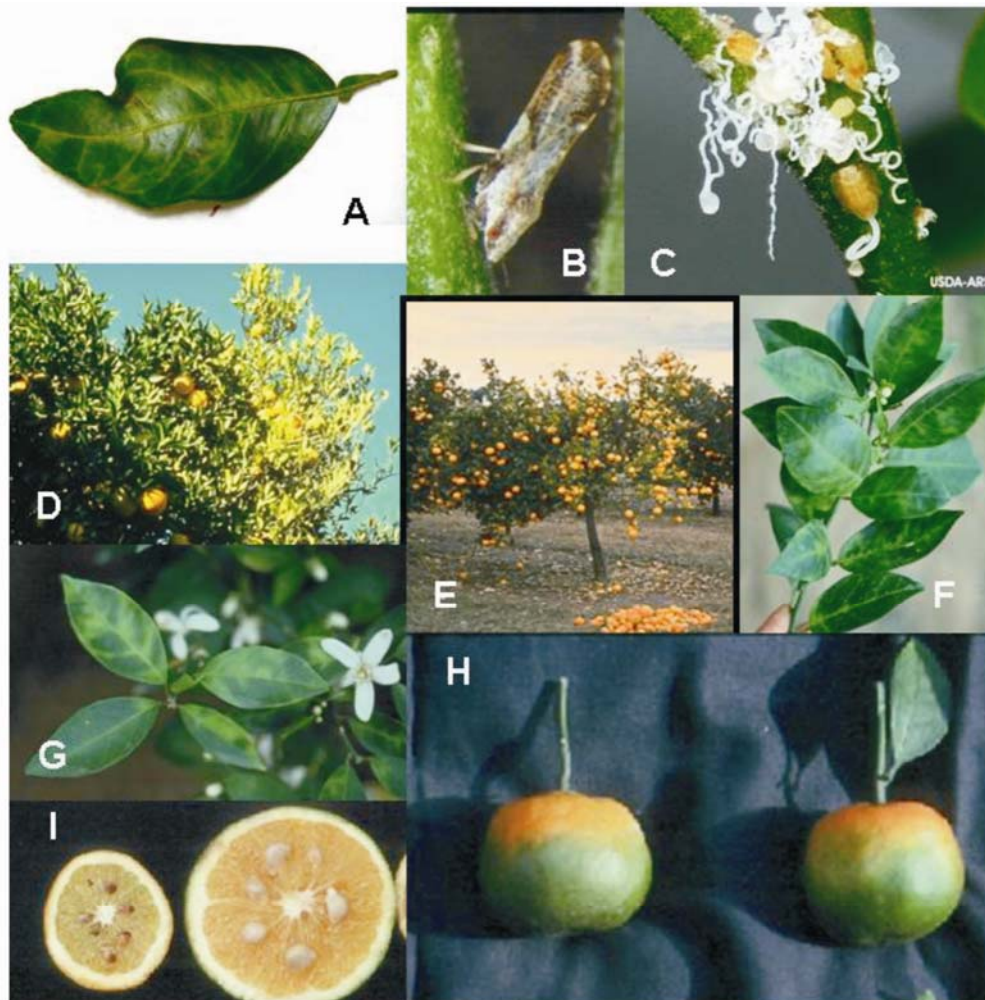


Figura 1. Huanglongbing (HLB) y su vector, *Diaphorina citri*, psílido asiático de los cítricos.

- A)** Arrugamiento típico foliar causado por el psílido asiático de los cítricos al alimentarse de una hoja joven. Obsérvese los síntomas de moteado asimétrico en la hoja, típicos de HLB.
- B)** Psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Foto de Susan Halbert).
- C)** Secreciones cerosas de ninfas del psílido asiático de los cítricos al alimentarse de un brote joven (Foto del USDA ARS).
- D)** El síntoma de brote amarillo de HLB en un árbol de 10 años de edad.
- E)** Síntomas del HLB que suelen comenzar por un sector del árbol, como se muestra aquí, después se diseminan por el resto de éste. Obsérvese los frutos caídos.
- F y G)** Brote que muestra síntoma de moteado asimétrico típico en las hojas.
- H)** Mandarinas con síntomas de HLB en el extremo basal del fruto.
- I)** Frutas afectadas por HLB (a la izquierda) con semillas abortadas y de tamaño pequeño en comparación con los de un árbol sano (a la derecha). Las frutas afectadas por HLB son deformes y suelen tener un sabor único a “medicina”.

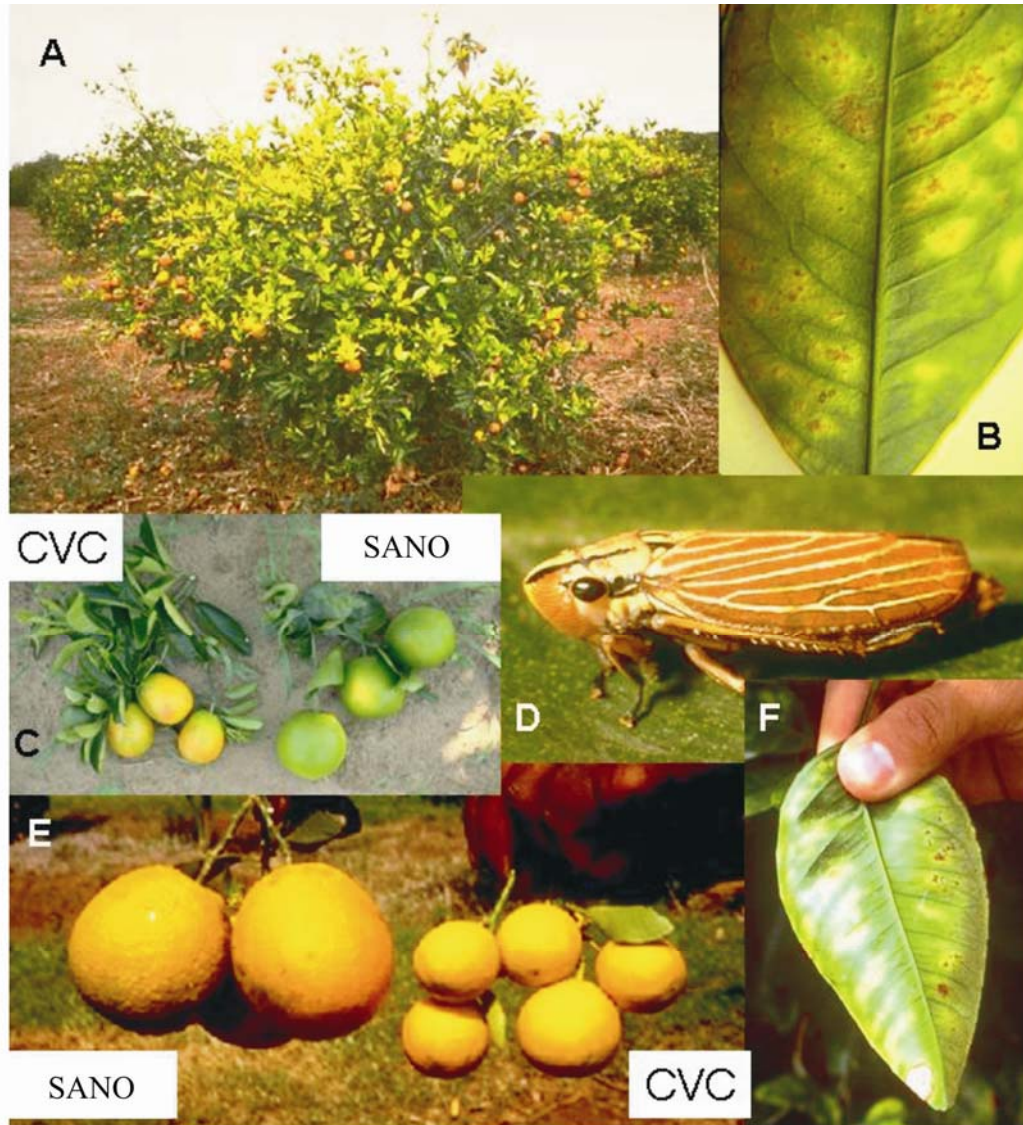


Figura 2. Clorosis variegada de los cítricos (CVC) causada por *Xylella fastidiosa*.

A) Árbol de 5 años de edad de la variedad Hamlin, de Brasil, infectado cuando joven por CVC. Obsérvese la apariencia clorótica general del follaje. El árbol no produjo frutas.

B y F) Síntomas foliares de CVC con clorosis internerval similar a la deficiencia de zinc, lesiones necróticas que se forman en áreas cloróticas y lesiones gomosas en el envés de la hoja debajo de las áreas necróticas de ésta.

C y E) Fruta afectada por CVC de tamaño pequeño, que maduran más temprano que la fruta de un árbol sano, y con un contenido de azúcares más alto. No presenta semillas abortadas. La corteza de la fruta es típicamente dura.

D) Saltahojas que se alimentan del xilema, vectores de CVC. Se han reportado numerosas especies que transmiten la enfermedad.

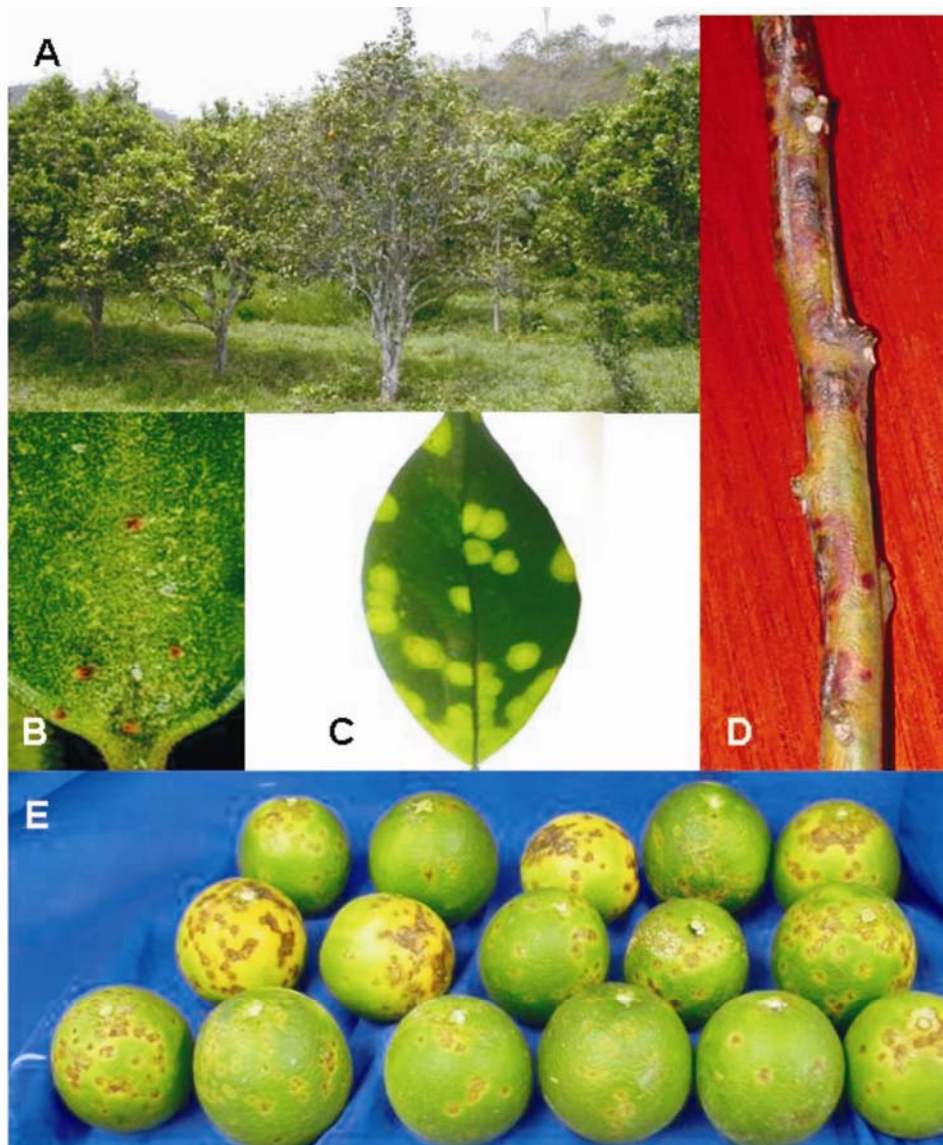


Figura 3. Leprosis de los cítricos, transmitida por especies del ácaro vector *Brevipalpus*.

A) Naranja dulce en etapas avanzadas de la enfermedad en Venezuela. Sin aplicaciones de acaricidas para controlar los ácaros vectores y poda de ramas sintomáticas para reducir el inóculo, en un término de tres años, la leprosis provoca la muerte del árbol.

B) Hoja cubierta con *Brevipalpus* en Venezuela.

C) Síntomas foliares de leprosis en un naranja dulce de Venezuela. En las hojas sintomáticas aparecen lesiones cloróticas translúcidas.

D) Lesiones de leprosis en una rama de dos años de edad en Brasil. Las lesiones se tornan necróticas en su centro y gradualmente se extienden hacia los bordes, se encuentran en el lado opuesto de la rama y el terminal de la misma muere.

E) Fruta con síntomas de leprosis en Brasil. Las lesiones en la fruta pueden ser pardas o parda rojizas y sólo ocurren en la corteza, no suelen llegar a las vesículas de jugo. Los frutos sintomáticos caen prematuramente.