

Capítulo XII

Principales enfermedades en el cultivo de lima ácida Tahití

Nubia Murcia Riaño, Mónica Betancourt Vásquez, Lumey Pérez Artilles,
Diana Milena Rodríguez Mora, Liliana Ríos-Rojas,
Yeiny Carolina Pisco Ortiz y Mauricio Fernando Martínez

El cultivo comercial de lima ácida Tahití (*Citrus × latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez) se ve afectado por numerosas enfermedades bióticas de origen fungoso, bacteriano, viral y viroidal, así como por enfermedades abióticas, causadas por desórdenes fisiológicos.

Las principales enfermedades fungosas que se presentan en esta especie en diferentes regiones de Colombia son: antracnosis (*Colletotrichum* spp.), gomosis (*Phytophthora* spp.) y fumagina (*Capnodium* spp.). La antracnosis tiene una amplia distribución nacional y afecta las flores y los frutos, provocando pérdidas considerables en la productividad y la rentabilidad.

En el caso de la gomosis, su efecto principal es la disminución de los sitios productivos dentro del huerto y la reducción de su vida útil. Por su parte, la fumagina impide que la planta realice de manera adecuada el proceso de fotosíntesis, lo que finalmente retrasa el crecimiento de los árboles y provoca la caída prematura de hojas y frutos (Timmer, Mondal, Peres, & Bhatia, 2004).

Dentro de las enfermedades ocasionadas por bacterias está el *huanglongbing* (HLB), causado por *Candidatus Liberibacter asiaticus*, que ha sido reportada recientemente en cinco departamentos de Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2018), en lima ácida Tahití y limón Pajarito, y por la cual se declaró al país en estado de emergencia fitosanitaria. Es considerada una de las enfermedades más devastadoras para los cultivos de cítricos a nivel mundial (Halbert & Manjunath, 2004).

Las enfermedades sistémicas más limitantes en lima ácida Tahití son el virus de la tristeza de los cítricos (CTV) y el viroide de la exocortis de los cítricos (CEVd). Estas afecciones han adquirido una gran importancia, debido a su método eficiente de transmisión, mediante injertos y material vegetal de propagación contaminados. Por tal razón, ameritan especial atención, para implementar medidas de manejo eficaces.

Por lo general, un huerto de lima ácida Tahití puede ser afectado por una o más de estas enfermedades, dependiendo de la región donde se produzca comercialmente. También puede presentar la muerte de árboles en huertos a partir del cuarto año de su establecimiento en campo, debido a un desorden fisiológico, mientras que en otras regiones productoras la vida útil de un cultivo comercial puede alcanzar hasta 18 años.

En términos generales, estas enfermedades provocan pérdidas significativas en la producción, reducen las áreas de siembra y afectan la calidad de la fruta para los mercados de exportación, lo que afecta la rentabilidad y pone en riesgo la citricultura nacional.

En este capítulo se presentan las enfermedades más frecuentes en el cultivo de lima ácida Tahití en las condiciones de Colombia, agrupadas según sus agentes causales: hongos y bacterias; enfermedades sistémicas por virus y viroides, y aquellas ocasionadas por desórdenes fisiológicos.

A continuación, se hace una descripción general de cada enfermedad; los síntomas, los ciclos y la caracterización del patógeno; los métodos de evaluación y diagnóstico; los factores que predisponen a la enfermedad; las variedades de cítricos susceptibles, y las prácticas de manejo, entre las que se incluyen métodos de control preventivo, cultural, químico y biológico.

Enfermedades fungosas

Antracnosis

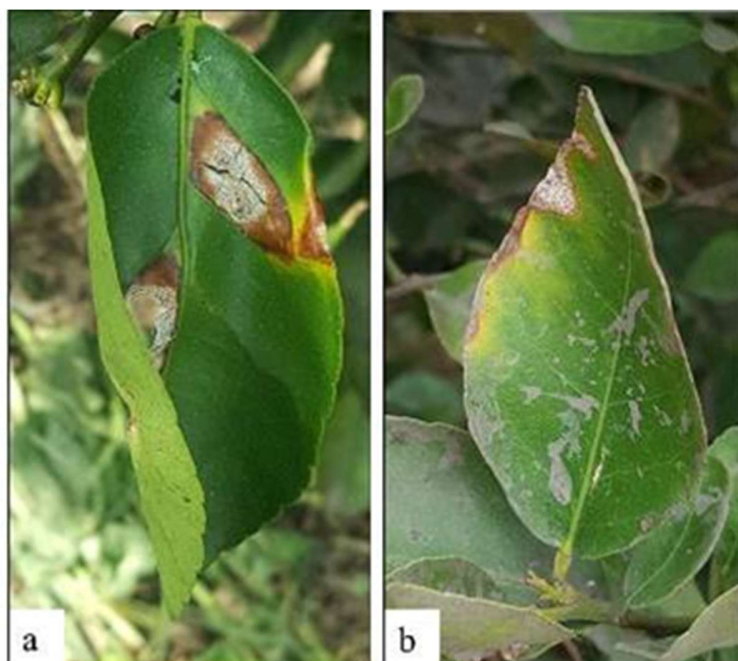
En cultivos de cítricos, se han identificado tres tipos de antracnosis, ocasionadas por especies del género *Colletotrichum* y la familia Glomerellaceae: a) la antracnosis del fruto, causada por *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., 1884; b) la antracnosis de la lima mexicana o limón Pajarito, y c) la caída prematura de los frutos.

Estas dos últimas son provocadas por *C. acutatum* J. H. Simmonds, 1968 (Peres, MacKenzie, Peever, & Timmer, 2008; Peres, Timmer, Adaskaveg, & Correll, 2005; Timmer, Brown, & Zitko, 1998). Estas enfermedades se manifiestan sobre todo en los frutos y botones florales, pero eventualmente se pueden presentar en las hojas y en plantas en vivero.

Tipo de daño

Los síntomas de antracnosis en las hojas se caracterizan por lesiones redondeadas con bordes definidos café oscuros, sobre las cuales, en fases avanzadas de la infección, se presentan los cuerpos fructíferos típicos del hongo, como pequeños puntos negros prominentes. En algunos casos, la lesión puede causar pérdida de tejido o perdigones (figura 84a).

En ocasiones, también se pueden observar lesiones oscuras en los bordes de las hojas, acompañadas del desarrollo de puntos negros, típicos de las estructuras reproductivas del hongo (figura 84b). En general, los tejidos foliares afectados por plagas o por deficiencias nutricionales son más susceptibles a la colonización del hongo, que en este caso actúa como saprofito.



Fotos: Mónica Betancourt-Vásquez

Figura 84. Síntomas de antracnosis en hojas de lima ácida Tahití. a. Lesiones con bordes definidos y formación de perdigones; b. Estructuras reproductivas del hongo y lesiones en los bordes de las hojas.

Los brotes jóvenes suelen ser más susceptibles al ataque del patógeno, y cuando son colonizados por el hongo se tornan pardos y colapsan. En las hojas expandidas aparecen manchas en los bordes y a lo largo del eje central. En caso de infección severa, las plantas pueden sufrir defoliación.

En general, los síntomas en las hojas son frecuentes en los diferentes materiales de cítricos, incluyendo la lima ácida Tahití. Sin embargo, los niveles de severidad son muy bajos, inferiores al 1 % y, por tanto, no se considera un problema limitante.

Por el contrario, los síntomas en las flores y los frutos en desarrollo, que provocan la caída prematura de frutos, son muy frecuentes, con entre un 20 % y un 40 % de incidencia, y pueden llegar a ocasionar niveles de severidad superiores al 15 % en época lluviosa, lo que causa pérdidas importantes en el cultivo.

El primer síntoma en las flores se caracteriza por manchas necróticas en los pétalos, con una distribución desuniforme (figura 85a), que se extiende a todos los pétalos, los cuales toman una apariencia dura y seca, café rojiza (figura 85b) (Aguilera, 2016; Timmer, 2000; Timmer et al., 2004). En ataques severos, se ven afectados los racimos florales completos (figura 85c).

Después del ataque, los pétalos se secan y se quedan pegados a la inflorescencia. Los frutos se caen, y el pedúnculo y el cáliz quedan adheridos al tallo. Comúnmente, esas estructuras se denominan botones o estrellas (figura 85d). La antracnosis es la única enfermedad que produce estos botones y, por lo tanto, son muy útiles para diagnosticar el problema.

En ocasiones, algunos frutos logran iniciar su llenado, pero se infectan rápidamente y se necrosan, quedando adheridos a los botones florales (figura 84d). Cuando hay un ataque severo de la enfermedad, las hojas que se encuentran alrededor de la inflorescencia se deforman, se tuercen y sus nervaduras se agrandan (Aguilera, 2016; Castro, Timmer, Leguizamón, Müller, & Corrales, 2000; Orozco-Santos, 2006; Timmer et al., 2004).



Fotos: Mónica Betancourt-Vásquez; Yeinny Carolina Pisco-Ortiz

Figura 85. Síntomas de antracnosis en lima ácida Tahití. a. Lesión en pétalos; b. Secamiento de pétalos; c. Racimo completo afectado; d. Caída prematura y necrosis de frutos.

Durante la poscosecha también se pueden presentar síntomas de antracnosis en los frutos maduros, los cuales por lo general están asociados con daños mecánicos, como golpes de sol, heridas durante la manipulación en la precosecha y la poscosecha, ataques de plagas o periodos prolongados de almacenamiento. Las lesiones son manchas de color marrón a negro, de entre 1,0 y 1,5 mm de diámetro, que pueden avanzar hasta causar la descomposición de los frutos.

El daño en los frutos suele ser firme y seco, pero si llega a ser lo suficientemente profundo puede causar la pudrición de la fruta. En condiciones húmedas, se puede producir una fuerte esporulación de color rosado a salmón, típico de las especies de *Colletotrichum*. Si se mantienen condiciones secas, las esporas van de marrón a negro, con puntos oscuros muy definidos.

Ciclo y caracterización del patógeno

El inóculo inicial se origina a partir de infecciones latentes o quiescentes del hongo sobre la superficie de las hojas. Cuando la humedad es elevada, se desarrollan pústulas oscuras, que son los cuerpos fructíferos del hongo, denominados acérvulos, que cuando maduran exudan una sustancia mucilaginosa, que contiene millones de esporas. Las esporas se dispersan a los tejidos de la planta por salpicaduras de agua lluvia, riego, rocío, insectos, viento u herramientas de trabajo (figura 86).



Foto: Yeimmy Carolina Pisco-Ortiz

Figura 86. Conidias de *Colletotrichum* spp. al microscopio.

El periodo de incubación del hongo oscila entre 12 y 72 horas aproximadamente, dependiendo del tipo de tejido afectado, y los síntomas se pueden presentar entre 5 y 6 días después. Durante el proceso de infección, una vez que el apesorio del hongo se adhiere al tejido foliar, se genera una infección quiescente, estado en el que puede permanecer durante largos periodos (Agostini & Timmer, 1992; Zulfiqar, Brlansky, & Timmer, 1996).

Cuando se inicia el proceso de floración, se estimula la germinación del apresorio, que comienza a producir hifas primarias (Timmer & Brown, 2000). De esta forma, los conidios inician nuevamente su ciclo de dispersión por salpicadura a nuevas flores.

A diferencia de otras especies de *Colletotrichum* o *C. acutatum* en otros hospederos, en la lima el patógeno no coloniza los tejidos vegetativos con facilidad, y parece reducirse únicamente a los tejidos de pétalos (Peres et al., 2005; Peres et al., 2008; Timmer et al., 2004).

En Colombia, *C. acutatum* ha sido reportado como el causante de antracnosis en lima ácida Tahití en numerosas ocasiones (Afanador-Kafuri, Minz, Maymon, & Freeman, 2003; Ospina & Osorio, 2005). En otras especies de cítricos, se ha registrado que *C. gloeosporioides* puede ser aislado de tejidos senescentes (Ospina & Osorio, 2005; Peres et al., 2005; Reyes, Osorio, Martínez, & Hío, 2007), pero su papel en el desarrollo de antracnosis no ha sido demostrado.

Martínez, Hío, Osorio y Torres (2009) y Sanabria et al. (2010) analizaron la diversidad genética de *Colletotrichum* sp., a partir de 84 aislamientos provenientes de lima ácida Tahití de diferentes regiones de Colombia. Se registraron 76 aislados de *C. acutatum*, provenientes de Armenia (7), Pereira (9), Caicedonia (11), Manizales (3), Pompeya (4), Villavicencio (8), Cumaral (10), Restrepo (2), Lebrija (14), Girón (7) y Rionegro (1), y 8 correspondientes a *C. gloeosporioides*, de los municipios de Villavicencio (4), Armenia (1), Caicedonia (2) y Manizales (1).

Los resultados de esta investigación mostraron que el principal patógeno relacionado con la antracnosis de flores de lima ácida Tahití fue *C. acutatum*. En este mismo trabajo también se compararon las poblaciones de esta especie en tomate de árbol tipo tamarillo y lima ácida Tahití, y se encontró que el 78 % de las diferencias podían ser atribuidas al hospedante y el 22 % a diferencias entre los aislados, lo cual sugiere que *C. acutatum* se especializa por tipo de hospedante. Además, en las poblaciones del patógeno procedentes de lima, se observó una mayor heterogeneidad y diversidad.

Métodos de evaluación

La caída prematura de flores y frutos son síntomas relativamente fáciles de reconocer y, por lo tanto, constituyen una clave para el diagnóstico (Timmer, 2000). El síntoma típico corresponde al pedúnculo y el cáliz totalmente adheridos al tallo, que se denominan botones o estrellas, los cuales pueden utilizarse para identificar niveles de incidencia de la enfermedad.

Para evaluar esta incidencia, se recomienda muestrear al menos 10 árboles por hectárea, considerando las diferencias en el tipo de cultivo, es decir, si hay diversos tipos de suelo, materiales de siembra o microclimas dentro del lote que se va a analizar; por consiguiente, cada lote debe examinarse independientemente. Se recomienda dividir el árbol en cuatro cuadrantes y por altura del follaje —baja, media y alta—, e inspeccionar al menos cinco botones florales por cuadrante en la zona alta del árbol (figura 87).

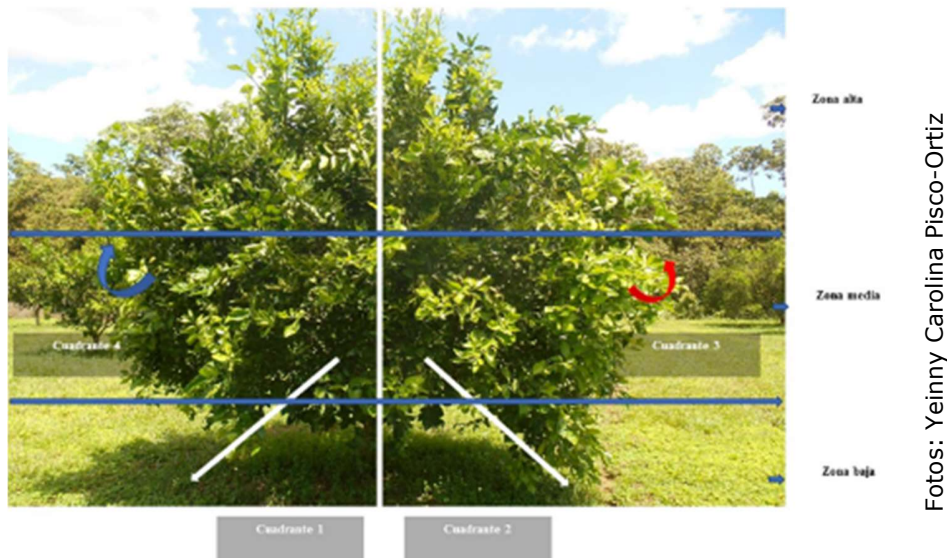


Figura 87. Esquema de evaluación de enfermedades en cítricos.

En cada botón floral se debe determinar la presencia o ausencia de los síntomas de la enfermedad, y la incidencia se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia de antracnosis} = \frac{\text{N.º de botones enfermos} \times 100}{\text{N.º de botones evaluados}}$$

En Colombia no existen estudios que determinen umbrales de acción o de daño económico de la antracnosis en cítricos. Sin embargo, dado que el rendimiento depende del porcentaje de los frutos cuajados, y que se ha reportado un cuajado de entre el 1% y el 3% para cítricos, las pérdidas en rendimiento por antracnosis pueden no ser tan graves, teniendo en cuenta los altos niveles de floración reportados para especies cítricas (Timmer & Zitko, 1992, 1995).

En términos generales, se acepta que hasta el 20% de las flores se infecte, sin que esto represente una pérdida significativa de rendimiento (Timmer & Zitko, 1992). Para las condiciones específicas de Colombia, Castro et al. (2000) recomiendan hacer un manejo y aplicaciones de fungicidas, si hay una incidencia superior al 5% de botones florales afectados.

Factores predisponentes

En el cultivo, el patógeno se puede dispersar por salpicadura desde las flores, dentro o entre árboles cercanos (Agostini, Gottwald, & Timmer, 1993). Para infectarse, es necesario que las flores permanezcan de 8 a 10 horas con suficiente humedad (Timmer & Zitko, 1993). Por lo tanto, un rocío prolongado es una excelente condición para favorecer el desarrollo del patógeno.

La germinación del patógeno y el desarrollo de la enfermedad están relacionados directamente con el contenido de humedad durante el periodo de floración. Además, la alternancia de temperaturas bajas y altas favorece la germinación y desarrollo de *Colletotrichum* sp. Otro factor clave en la epidemiología de la enfermedad es la disponibilidad del inóculo, de tal forma que floraciones múltiples en un solo año aumentan la probabilidad de la presencia de altas poblaciones de *C. acutatum* en hojas y flores.

Se calcula que es posible que en un pétalo se produzcan hasta 10 millones de esporas, lo cual puede propiciar rápidamente estados epidémicos dentro de un cultivo. Algunos registros indican que los polinizadores (abejas) y otros insectos tienen la capacidad de dispersar la enfermedad en distancias cortas (Gasparoto et al., 2017).

En general, los factores que favorecen la severidad de la enfermedad son: lluvia durante la floración, permanencia de una humedad superior al 80 %, altas densidades de siembra, mala disposición de las ramas y temperaturas alrededor de los 22 °C (Peres et al., 2005; Timmer et al., 2004).

En condiciones de los Llanos Orientales, se reportó una mayor presencia de infecciones quiescentes en la parte superior del follaje de los árboles de lima ácida Tahití, y se observó una colonización de la superficie de las hojas de entre el 40 % y el 50 % con acérvulos de *C. acutatum*, ubicados principalmente en la zona cercana a la nervadura central de la hoja (Osorio, 2008).

Susceptibilidad de materiales

La antracnosis puede afectar a todas las variedades de cítricos. Por lo general, es más severa en aquellas que tienen floración abundante o que florecen frecuentemente fuera de época. Es común que el limón y la lima sean muy afectados y, dentro de los naranjos, la naranja ombligona y la Valencia son las más susceptibles (Castro et al., 2000). Debido a la importante relación entre la presencia del patógeno y las condiciones ambientales, el efecto del patrón no es determinante en la incidencia de la enfermedad.

Prácticas de manejo

El manejo de la antracnosis requiere prácticas preventivas y de control, como las siguientes:

1. Disminuir la humedad relativa dentro del cultivo, con prácticas culturales como las podas de formación y un adecuado manejo de arvenses.
2. En caso de usar riego, se debe evitar la aspersion, porque genera condiciones de rocío y alta humedad en las hojas, que pueden aumentar las infecciones quiescentes del patógeno.
3. Disminuir el inóculo mediante podas sanitarias, y eliminar frutos enfermos y residuos de podas.
4. Realizar un registro de las floraciones, así como un monitoreo continuo de los síntomas de la enfermedad.
5. Hacer aplicaciones preventivas de fungicidas protectores antes de la floración, en zonas con registro de alta incidencia de la enfermedad, y dirigidas hacia la parte superior y media del follaje.
6. Cuando se registren incidencias de botones estrellados superiores al 20 %, se recomienda realizar aplicaciones de fungicidas.

Gomosis o podredumbre del tallo

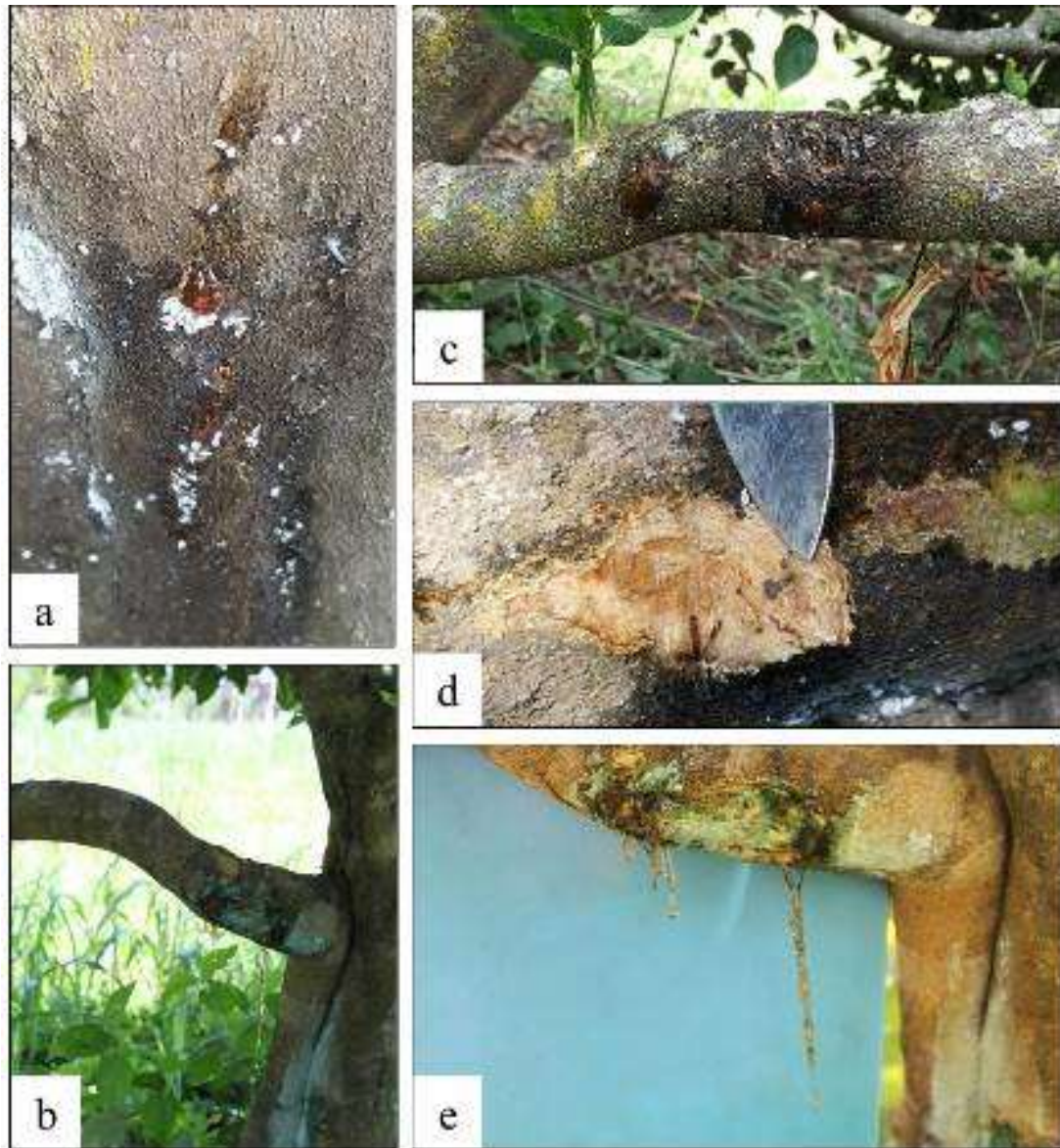
En los cultivos de cítricos se han identificado tres síntomas típicos de infecciones causadas por *Phytophthora* spp., en función de la zona del árbol afectada: gomosis del tronco y las ramas, podredumbre del cuello y las raíces, y aguado de los frutos (Vicent et al., 2012). Los dos primeros son muy destructivos, porque en estados avanzados causan la muerte de la planta. El tercero está asociado a problemas de poscosecha y no es muy común.

Phytophthora spp. puede infectar en cualquier fase del desarrollo del cultivo, incluso en vivero, y puede afectar tanto al portainjerto como a las copas o variedad injertada en cualquier edad. Además, es común que aparezca en la zona de unión del portainjerto y el injerto, por la susceptibilidad natural de esa zona, así como en la presencia de heridas que favorecen su desarrollo.

Tipo de daño

El síntoma de la gomosis consiste en la producción de exudados de goma resinosa sobre los tallos o ramas principales del árbol. Este síntoma es típico en plantas leñosas cuando se presentan daños mecánicos o estrés hídrico.

Sin embargo, si está asociado a la enfermedad, se caracteriza por estar acompañado de una necrosis que causa agrietamiento de los tallos, abundante exudado ámbar o café oscuro, y formación de canchales. En árboles de cítricos, este síntoma suele presentarse en el tallo principal, a unos 40 o 50 cm de su base, aunque también puede aparecer en ramas secundarias (Savita & Avinash, 2012) (figura 88).



Fotos: Mónica Betancourt-Vásquez

Figura 88. Síntomas de gomosis en lima ácida Tahití. a. Gomosis incipiente e inicio de cancro alrededor de la lesión en el tallo principal; b. Gomosis en rama secundaria, recurrente incluso después de la aplicación de fungicida; c. Gomosis en ramas; d. Síntoma interno; e. Acercamiento de los síntomas.

Los canchros tienen una forma irregular y pueden profundizarse hasta los haces vasculares y el cilindro central. Cuando el daño en los haces vasculares alcanza más del 50% del diámetro del árbol, se produce el daño denominado anillamiento, que se refiere a que la lesión afecta completamente los vasos conductores.

Por consiguiente, la planta no puede tomar agua ni nutrientes del suelo, y se empiezan a presentar amarillamiento, defoliación, secamiento o necrosis de ramas y, al final, la muerte del árbol. Dependiendo del porcentaje y la zona del anillamiento, se puede observar el secamiento de zonas específicas en las ramas del árbol (figura 89).



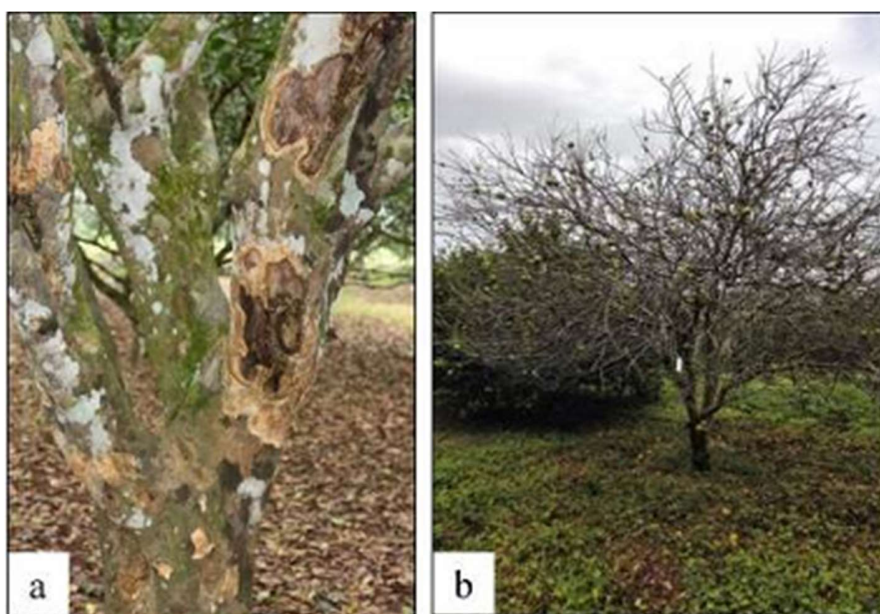
Foto: Yeinny Carolina Pisco-Ortiz

Figura 89. Cancro externo provocado por *Phytophthora* sp.: oscurecimiento de corteza, exudaciones de goma, pudrición interna en el tronco y en la inserción patrón-copa.

Por lo general, los árboles afectados desarrollan amarillamiento de las hojas, pérdida de vigor, y finalmente mueren. Si el portainjerto utilizado es resistente al hongo, la expansión de la lesión se detiene en la unión, pero, si es susceptible, los mismos síntomas se pueden observar debajo de la unión y en las raíces principales (Savita & Avinash, 2012).

La gomosis de los cítricos desaparece después de fuertes lluvias o un tiempo húmedo, pero en condiciones secas persiste en el tronco. Si el hongo detiene su crecimiento o muere, el área afectada es rodeada por un tejido calloso que protege el tronco. Si la lesión no ha avanzado hasta los tejidos conductores, pueden hacerse tratamientos localizados para eliminar el tejido afectado, y el árbol puede continuar su crecimiento (Castro et al., 2000) (figura 90a).

Por lo general, el síntoma de podredumbre del tallo se presenta en su base y, usualmente, está asociado a daños mecánicos en la corteza del árbol y cerca del suelo. La infección avanza de manera progresiva desde la base hacia arriba, causando necrosis de los tejidos y anillamiento del árbol (figura 90b).



Fotos: Mónica Betancourt-Vásquez;
Yeiny Carolina Pisco-Ortiz

Figura 90. Síntomas avanzados de gomosis en lima ácida Tahití. a. Cancro y necrosis interna en el tallo principal y las ramas secundarias; b. Muerte del árbol.

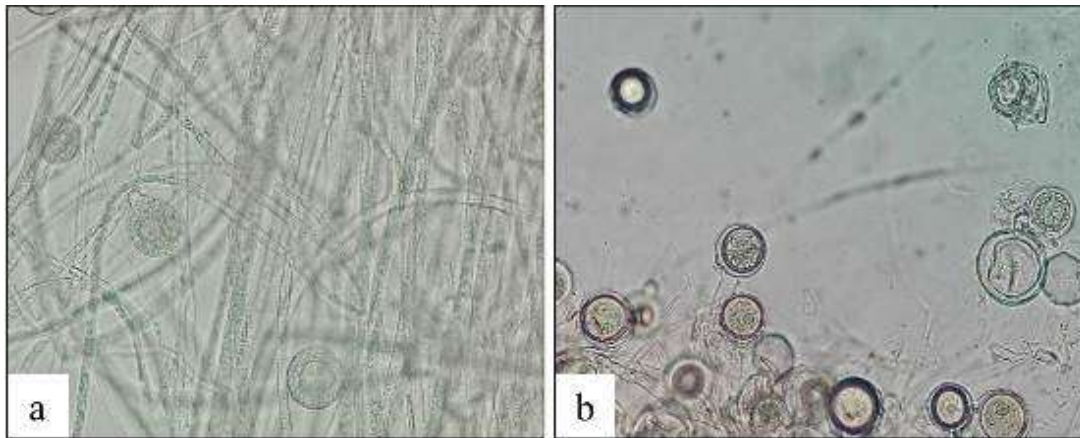
Ciclo y caracterización del patógeno

Phytophthora pertenece a la familia Peronosporaceae y es un oomiceto cosmopolita que se adapta bien a condiciones subtropicales y tropicales. Tiene un amplio rango de hospederos, que incluyen plantas herbáceas (tabaco, tomate, clavel) y especies maderables (cítricos, eucaliptos, aguacates).

Las especies más importantes del patógeno relacionadas con síntomas de la enfermedad en cítricos son: *P. parasitica* Dastur, 1913; *P. nicotianae* Breda de Haan, 1896, *P. citrophthora* (R. E. Sm. & E. H. Sm.) Leonian (1925) y *P. palmivora* (E. J. Butler), 1919. En general, *P. nicotianae* se ha identificado en regiones tropicales, mientras que *P. citrophthora* se encuentra en zonas con clima mediterráneo.

Otras especies de *Phytophthora* spp. han sido reportadas como causantes de la enfermedad en diferentes áreas de cítricos alrededor del mundo, como *P. boehmeriae* Sawada, 1927; *P. cactorum* (Lebert & Cohn); *P. cinnamoni*; *P. citricola* Sawada, 1927; *P. dreschleri*; *P. hibernalis* Carne, 1925, *P. megasperma* Drechsler (1931) y *P. syngiae* (Acosta-Pérez et al., 2012; Ahmed et al., 2012; Phung, Pongnak, Soyong, & Poaim, 2015; Savita & Avinash, 2012; Timmer & Menge, 2000; Yassen, Schena, Nigro, & Ippolito, 2010).

El ciclo de la enfermedad causada por *P. nicotianae* comienza con la producción de esporangios, que liberan grandes cantidades de zoosporas, clamidosporas y oosporas. Con el tiempo y las condiciones apropiadas, las zoosporas germinan para formar micelio. La temperatura óptima para el crecimiento micelial es de 27 a 32 °C (Savita & Avinash, 2012) (figuras 91a y 91b).



Fotos: Yeinny Carolina Pisico-Ortiz

Figura 91. Observación al microscopio de *Phytophthora nicotianae*. a. Micelio y esporangios típicos; b. Clamidosporas.

Las clamidosporas y oosporas de las especies de *Phytophthora* que afectan las plantas de cítricos en el vivero son capaces de sobrevivir en el suelo por largos periodos. La alta humedad favorece que estas estructuras germinen formando micelio, a partir del cual, si hay agua lluvia, rocío o riego, germinan los esporangios. Cuando estas estructuras maduran, se liberan las zoosporas que, en presencia de agua, se mueven con ayuda de sus flagelos (Savita & Avinash, 2012; Timmer & Menge, 2000; Yassen et al., 2010).

La migración de las zoosporas a los sitios de infección está relacionada directamente con la presencia de los exudados radicales durante el proceso de elongación y crecimiento de las raíces. Después del periodo móvil, las esporas se enquistan en la superficie del hospedero y luego germinan.

Más adelante, el tubo germinativo crece y penetra en las raíces de la planta, y las hifas colonizan las células epidérmicas en un lapso de 4 a 6 horas. En materiales susceptibles, la penetración del micelio en los tejidos corticales continúa cuando las condiciones son favorables, después de un periodo de incubación de tres a cinco días (Timmer & Menge, 2000).

En trabajos desarrollados por AGROSAVIA en 2017 en lima ácida Tahití, en cinco localidades ubicadas en los departamentos del Valle del Cauca (CI Palmira), Magdalena (CI Caribia), Santander (Lebrija) Tolima (CI Nataima), y la región del piedemonte llanero (CI La Libertad), se registró la presencia de *P. nicotianae* y *P. parasitica* en los portainjertos Carrizo, Cleopatra, Citrumelo, Kryder y Volkameriana.

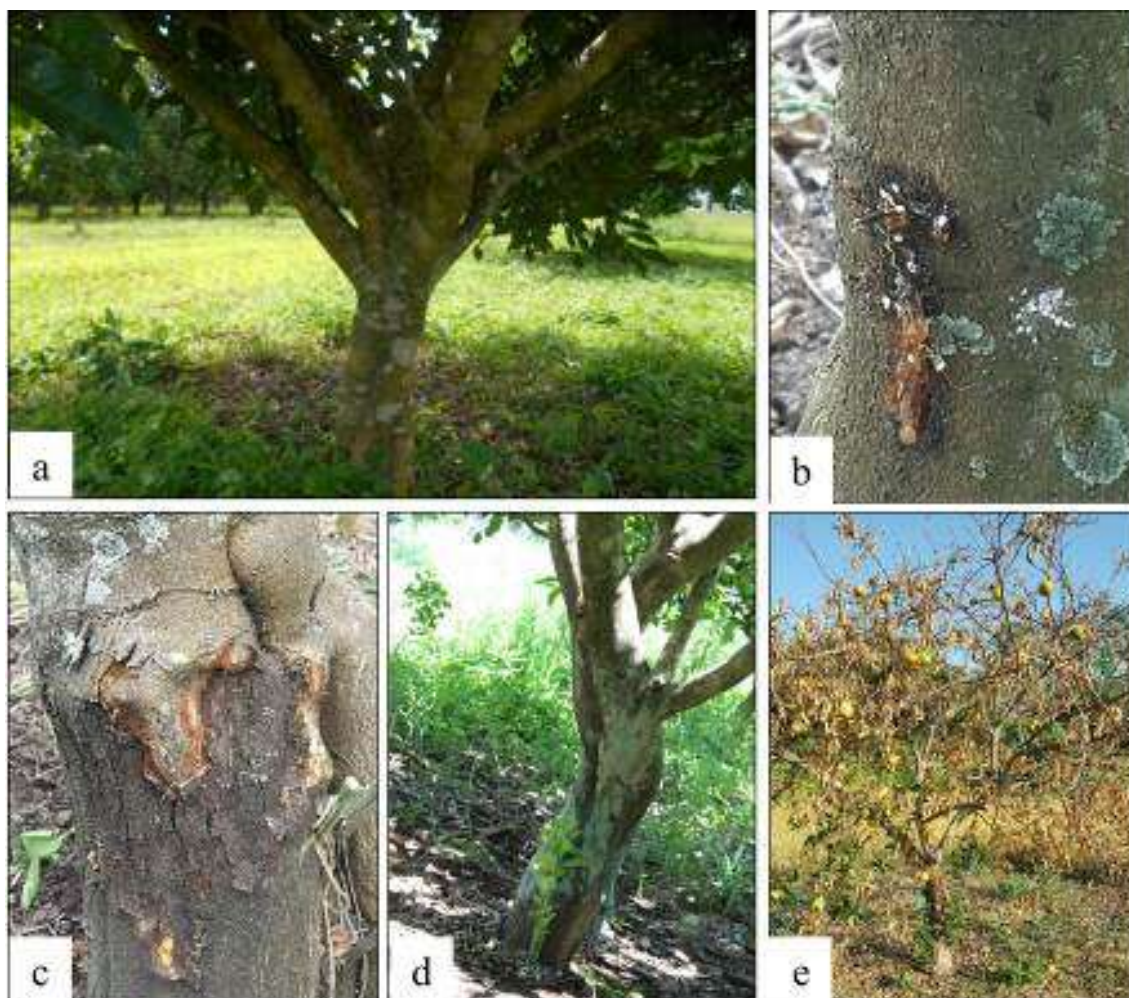
Métodos de evaluación

Para evaluar la incidencia de gomosis, se utilizan escalas que permiten relacionar la incidencia (número de plantas afectadas) y la severidad de la enfermedad, siendo la podredumbre del tallo y la gomosis los síntomas más fáciles de detectar. Se recomienda utilizar la escala visual descrita por Orozco-Santos (1995) ajustada, que presenta cuatro niveles de daño (tabla 15, figura 92).

Tabla 15. Escala visual de daño de *Phytophthora* spp.

Nivel	Descripción
0	Árbol sano
1	Lesiones activas: abultamientos de corteza y formación de goma
2	Agrietamiento visible, con exposición de leña y pudrición de corteza
3	Presencia de canchales bien definidos y destrucción del leño
4	Árbol muerto

Fuente: Basada en Orozco-Santos (1995)



Fotos: Mónica Betancourt-Vásquez; Yeinny Carolina Pisco-Ortiz

Figura 92. Escala visual de daño de *Phytophthora* spp. a. Grado 0; b. Grado 1; c. Grado 2; d. Grado 3; e. Grado 4.

Factores predisponentes

Phytophthora spp. es un habitante natural del suelo, que sobrevive por sus estructuras denominadas clamidosporas, o estructuras de resistencia del hongo, y de las oosporas, las cuales pueden tolerar condiciones extremas de sequía (Graham, Dewdney, & Johnson, 2009).

P. parasitica puede sobrevivir a condiciones desfavorables en los desechos de las raíces afectadas, pues la corteza en descomposición facilita la producción de clamidosporas, que le permiten persistir por largos periodos. Cuando las condiciones vuelven a ser propicias, las clamidosporas germinan, y producen esporangios y zoosporas.

La pudrición del pie o la gomosis del tronco ocurren cuando las zoosporas u otros propágulos salpican en el tronco por encima de la unión del portainjerto, y su entrada se ve favorecida por heridas o daños mecánicos (Graham et al., 2009; Naqvi, 2003; Timmer & Menge, 2000).

El portainjerto puede ser susceptible a la infección cuando se presentan heridas por podas o deschuponado; por lo tanto, los cuidados en las prácticas culturales son fundamentales para evitar la diseminación del patógeno (Graham et al., 2009; Graham & Menge, 2000).

Sobre las lesiones de la podredumbre del tallo pueden encontrarse varias especies de *Phytophthora* spp., que pueden ser fuente de inóculo y causar estados epidémicos en condiciones de alta precipitación o exceso de humedad. Cuando las condiciones son favorables, se pueden presentar infecciones secundarias por salpicaduras de la lluvia o por el viento.

Esto rara vez ocurre con *P. parasitica*, que no produce esporangios aéreos, pero es más común en *P. citrophthora* y otras especies que producen una cantidad abundante de esporangios en la superficie de los frutos y las hojas (Graham et al., 2009; Savita & Avinash, 2012).

En Colombia, el síntoma más frecuente es la gomosis del tronco y las ramas, causada por *P. nicotianae*. En campo, este síntoma se observa cuando la infección ha ocurrido meses atrás, y se manifiesta por el oscurecimiento externo de la corteza, acompañado de exudaciones de goma en el tronco, las ramas principales y la inserción del portainjerto en la copa. Internamente, los tejidos se pudren hasta formar canchales, que pueden causar la pérdida de ramas y la muerte del árbol.

Entre las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad se encuentran el encharcamiento del suelo por lluvias, riegos excesivos, pH ácido, daños mecánicos, ataques de comején y hormigas, injertos por debajo de 30 cm, siembras profundas, uso de portainjertos susceptibles, y excesos de fertilización nitrogenada (Álvarez, 2008; Luis, Peña, Collazo, Ramos, & Llauger, 2010).

La incidencia y severidad de la enfermedad varían de acuerdo con el portainjerto, las condiciones agroecológicas y las prácticas agronómicas del cultivo. La respuesta de la lima ácida Tahití a infecciones de *Phytophthora* spp. en relación con el patrón empleado depende de las condiciones climáticas, las cuales determinan la agresividad del patógeno (Drenth & Guest, 2004; Savita & Avinash, 2012).

Susceptibilidad de materiales

En relación con la tolerancia y resistencia de portainjertos a la gomosis, reportes del Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas de la Universidad de Florida (IFAS) (Roose, 2014) describen que C35, Swingle, Sour Orange, Macrophylla y los trifoliados son tolerantes, Carrizo y Troyer presentan tolerancia intermedia, mientras Cleopatra, Rough Lemon y Volkameriana son susceptibles. Sin embargo, en condiciones tropicales los grados de resistencia pueden ser completamente diferentes, por la interacción entre el genotipo y el ambiente.

En investigaciones desarrolladas por AGROSAVIA durante los años 2016 y 2017, se evaluó la presencia de gomosis en los portainjertos Carrizo, Citrumelo CPB 4475, Sunki × English, Kryder y Volkameriana, injertados con lima ácida Tahití en cuatro localidades del país: Palmira, Nataima, Lebrija y La Libertad.

La incidencia de gomosis osciló entre el 0 % y el 100 %, en los portainjertos Sunki × English en Palmira, y Carrizo en la localidad de Nataima, respectivamente. Los huertos menos afectados fueron Palmira (0 %-10,5 % de incidencia) y Lebrija (12,5 %-29,1 %), y los más afectados La Libertad (9,0 %-47,8 %) y Nataima (81,2 %-100 %) (figura 93).

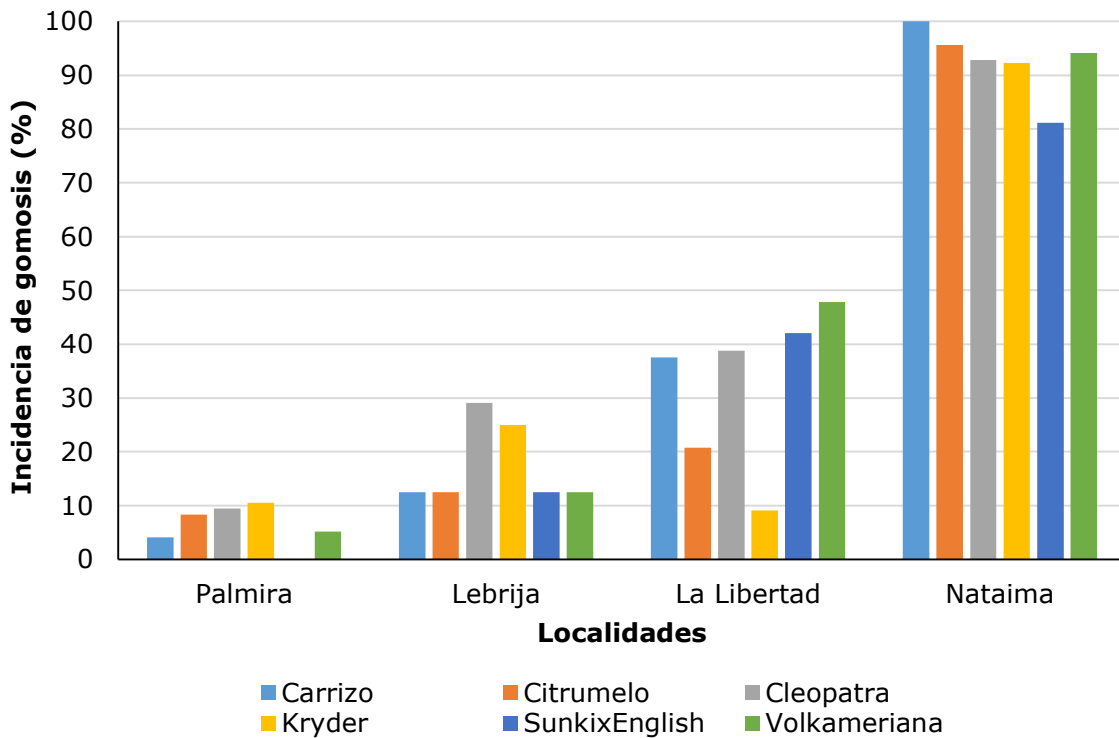


Figura 93. Porcentaje de incidencia de gomosis en lima ácida Tahití, con distintos patrones en diferentes localidades de Colombia.

En este trabajo no se encontraron diferencias significativas en los niveles de incidencia de gomosis en los distintos portainjertos evaluados ($F(5,503) = 2,66$, $P = 0,75$), pero sí las hubo entre localidades ($F(5,593) = 220,97$, $P = 0,000$). Por lo tanto, la respuesta del portainjerto a *Phytophthora* spp. está relacionada directamente con las condiciones ambientales, y en ningún caso la relación entre portainjerto y copa presentó una respuesta diferencial o algún grado de tolerancia a la enfermedad.

Prácticas preventivas y de manejo

Para el manejo de la gomosis son necesarias prácticas preventivas, las cuales deben incluir las siguientes acciones:

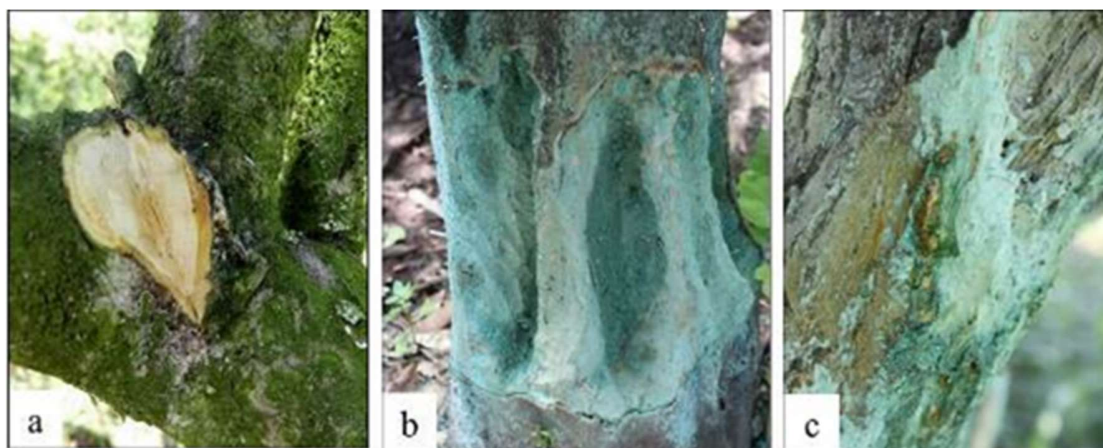
- Seleccionar lotes de cultivo sin historia o registro de la enfermedad, y usar materiales de siembra de alta calidad.
- Hacer una preparación del sitio de siembra con microorganismos antagónicos como *Trichoderma* (Hypocreaceae): *T. viridae*, *T. harzianum* Rifai (1969), *T. lignorum* (Tode) Harz (1871) y *T. koningiopsis* Samuels, C. Suárez & H. C. Evans 2006, que son reportados como antagónicos de *Phytophthora* spp., de tal forma que previenen el desarrollo del patógeno. Además, las diferentes especies de *Trichoderma* se conocen como activadoras del crecimiento e inductoras de resistencia, que favorecen el establecimiento de las plántulas en campo.
- Aplicar micorrizas en el momento de la siembra, que contribuyen al desarrollo radicular y, por lo tanto, disminuyen el riesgo de infección de *Phytophthora* spp.
- Encalar el suelo y fertilizar de acuerdo con el análisis de suelos es fundamental para garantizar el adecuado desarrollo de las plántulas, reduciendo el periodo de susceptibilidad del momento del trasplante en campo.
- Verificar en el momento de la siembra que las raíces del material no tengan síntomas de daños o pudriciones.
- Evitar el uso de portainjertos altamente susceptibles, como Cleopatra, limón rugoso y Volkameriana.
- Evitar sembrar en suelos pesados y con niveles freáticos altos, que fomentan la diseminación y el desarrollo del patógeno.
- En caso de sembrar en zonas con posibles inundaciones, utilizar camellones que permitan que la unión del injerto quede a una altura superior a 40 cm del suelo.
- Diseñar un buen drenaje en el cultivo, para evitar excesos de humedad en el suelo.
- Usar el riego de manera adecuada, evitando salpicaduras de suelo por el agua. Preferiblemente, utilizar riego por goteo.
- Evitar daños mecánicos en el tronco durante el desarrollo de labores de manejo agronómico.
- Mantener el balance nutricional del cultivo. Las deficiencias de fósforo y potasio pueden aumentar la incidencia de la enfermedad, y las excesivas fertilizaciones nitrogenadas incrementan la vulnerabilidad de la planta.

- Desinfectar las herramientas durante las labores de poda, con productos a base de hipoclorito de sodio al 1 %. Así mismo, aplicar pasta cicatrizante (sulfato de cobre + cal + agua) después de cada poda.
- Eliminar las plantas afectadas.
- Evitar el establecimiento de plagas como termitas o comején en el pie del árbol.
- Mantener el árbol con un plateo adecuado y, preferiblemente, pintar la base del tallo con una mezcla de cal y fungicidas (1 kg de sulfato de cobre + 3 kg de cal viva + ½ kg de sal en 10 L de agua), para protegerlo del ataque de plagas y la entrada de enfermedades.

En condiciones de alta presión de inóculo, es decir, una incidencia de gomosis del tallo superior al 10 % y condiciones climáticas favorables, como humedad relativa superior al 80 % y precipitación abundante, se puede recomendar la aplicación de fungicidas protectantes y sistémicos, acompañada de la práctica conocida como cirugía del tallo.

La cirugía consiste en eliminar el tejido afectado, mediante un raspado severo y profundo, desde la corteza del árbol hasta los tejidos parenquimatosos. Los cortes deben ejecutarse en forma radial, desde el sitio de infección o síntoma principal hasta 3 o 5 cm después de eliminar el tejido afectado.

Una vez que se retira todo el tejido dañado, se recomienda pintar el árbol con una mezcla de cal y fungicidas de tipo sistémico, específicos para peronosporales u oomicetos, como las fenilamidas y los etilfosfonatos (figuras 94a y 94b). En ocasiones, es posible que la cirugía no resulte efectiva y se continúe presentando exudación por la presencia de la enfermedad (figura 94c). En ese caso, se deben aplicar fungicidas en *drench* en las heridas y la base del tallo.



Fotos: Mónica Betancourt-Vásquez y Yeimmy Carolina Pisco-Ortiz

Figura 94. Cirugía de tallos para el control químico de gomosis. a. Eliminación de tejido enfermo y preparación del tronco; b. Estado final de la cirugía, y aplicación de cal y fungicida como cicatrizantes; c. Exudados del patógeno, incluso después de la cirugía.

Trabajos desarrollados en el CI La Libertad en lima ácida Tahití mostraron que tratamientos basados en cirugía y posteriores aplicaciones en rotación de metalaxil y fosetil de aluminio, en la base del tallo y las ramas bajas de los árboles, resultaban adecuados para detener el avance de la enfermedad y evitar el desarrollo de los síntomas de canchales y exudación de goma en la base de los tallos. Sin embargo, cuando la necrosis en la base del tallo cubría un porcentaje superior al 20 % del diámetro del árbol, el tratamiento resultaba ineficiente, y el árbol terminaba anillándose y muriendo.

El tratamiento con fungicidas debe hacerse tanto en la zona afectada y curada como en la base del tallo y el suelo, en *drench*. Cuando los niveles de incidencia en el cultivo continúan aumentando, se recomienda la aplicación de fungicidas en aspersión, hasta empapar la base del tallo de las plantas ubicadas en los focos de la infección, haciendo una rotación entre fenilamidas y etilfosfonatos (Graham et al., 2009; Savita & Avinash, 2012).

Las fenilamidas actúan contra los oomicetos y son altamente específicas, lo cual hace que no tengan efecto sobre otra clase de patógenos (Brent & Hollomon, 1995). Dentro de este grupo de fungicidas, la sustancia más estudiada es la

acilalanina, ingrediente activo principal del metalaxil, que actúa interfiriendo la ARN polimerasa de los hongos e inhibiendo la síntesis de ARN ribosómico, exclusivamente del grupo de los peronosporales. Ejerce una acción preventiva y curativa (Griffith, Davis, & Grant, 1992).

Debido a su modo de acción específico en una sola molécula, este fungicida puede ocasionar resistencia en el patógeno con relativa facilidad. El riesgo suele ser muy alto, en especial en las especies de *Phytophthora*, por el rápido crecimiento del patógeno en el suelo y la diferenciación sexual, y por el hecho de que su genoma permite la acumulación de mutaciones.

Una simple mutación o alteración en la ARN polimerasa evita que el metalaxil se una, lo que genera resistencia, porque la síntesis de ADN ribosómico se detiene. Por lo tanto, el manejo de las fenilamidas debe ser muy riguroso en la rotación de moléculas, en el uso de dosis adecuadas y en evitar las aplicaciones seriadas dentro de los cultivos (Graham et al., 2009; Griffith et al., 1992).

Por otro lado, los etilfosfonatos son sales o ésteres del ácido fosfónico, entre los que se encuentran compuestos como fosetil aluminio, ácido fosforoso, fosfonato de sodio y fosfonato de potasio. El fosetil aluminio es un fungicida sistémico, que se mueve dentro de la planta por el floema y el xilema, y puede penetrar por el sistema radicular y por el área foliar. Este tipo de movimiento le permite alcanzar cualquier órgano de la planta (Soler, Robles, & Gómez-Arnau, 1997).

Además del efecto directo en el patógeno, el fosetil aluminio tiene uno indirecto en la planta, porque induce y estimula la producción de sustancias denominadas *elicitors*, que evitan el desarrollo del patógeno (Guest, 1984). Su efecto como fungicida consiste en alteraciones del sistema de transporte, la penetración de la pared celular, y la disminución de la respiración y de la producción de trifosfato de adenosina (ATP).

En conjunto, estos mecanismos afectan la producción de esporas, el crecimiento hifal y la penetración en el hospedero, para el caso de tratamientos preventivos. Como fungicida curativo, restringe el desarrollo del micelio y la esporulación, e inhibe la formación de esporangios, oosporas o clamidosporas (Guest, 1986).

Fumagina

La fumagina la produce el hongo *Capnodium* sp. (Capnodiaceae) y puede afectar hojas, ramas y frutos. Este hongo causa un ennegrecimiento superficial de los tejidos, producto de los exudados que excretan insectos chupadores al alimentarse, como áfidos, cochinillas y moscas blancas (Arias, 2012; León & Kondo, 2017) (figura 95).

El hongo no es parásito de los cítricos, sin embargo, cubre la superficie de la hoja con el micelio, y ocasiona daños indirectos porque impide la captación de luz solar, reduciendo significativamente la fotosíntesis de la planta, lo que al final conduce a el crecimiento de los árboles y provoca la caída prematura de hojas y frutos (Timmer et al., 2004; Timmer, Garnsey, & Graham, 2000).

Entre los insectos plaga implicados en la secreción de los azúcares que contribuyen a la manifestación de síntomas de la enfermedad están *Diaphorina citri*, *Chrysomphalus aonidum*, *Coccus hesperidum*, *Planococcus citri*, *Toxoptera citricida* y *Praelongorthezia* sp. (Timmer et al., 2000).



Fotos: Mónica Betancourt-Vásquez

Figura 95. Síntomas de fumagina en plantas de lima ácida Tahití. a. Detalle de la película formada por el hongo en las hojas, que afecta la fotosíntesis; b. Estado general de ramas afectadas; c. Fruto afectado.

Factores predisponentes

El desarrollo de la enfermedad se ve favorecido por altas poblaciones de insectos, humedad relativa elevada y escasa ventilación en el cultivo.

Prácticas de manejo

La principal estrategia de manejo para esta enfermedad es el control de las poblaciones de insectos chupadores. También se deben realizar podas, orientadas a la eliminación del tejido afectado y a favorecer el ingreso de luminosidad, tanto en la copa del árbol como en la zona bajera de las ramas. En

caso de que se presenten daños severos por este hongo, es necesario hacer aspersiones de fungicidas a base de cobre.

De igual forma, se recomienda el uso de distancias adecuadas en el cultivo, y arreglos que permitan una buena ventilación dentro del mismo, además del plateo de las plantaciones y el manejo de arvenses nobles en las calles, con el fin de disminuir la alta incidencia de insectos en el huerto de cítricos.

Enfermedades bacterianas

El huanglongbing (HLB)

El *huanglongbing* (HLB) de los cítricos es considerado una de las enfermedades más devastadoras de estos cultivos. Ha causado pérdidas significativas en la producción y ha reducido en cifras considerables el área sembrada de cítricos a nivel mundial (Halbert & Manjunath, 2004).

Como agentes causales de la enfermedad, se han asociado tres proteobacterias fastidiosas Gram negativas: *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas), *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus* (Bové, 2006; Teixeira et al., 2008). El HLB se disemina principalmente por la utilización de yemas procedentes de plantas enfermas durante la multiplicación del material vegetal, y por el insecto vector *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Liviidae).

En Colombia, *D. citri* está asociado con la transmisión de la bacteria *Ca. Liberibacter asiaticus* (CLas). Los adultos y las ninfas pueden adquirir la bacteria al alimentarse en plantas enfermas, de acuerdo con Mann, Tiwari, Smoot, Rouseff y Stelinski (2012). *D. citri* prefiere alimentarse en plantas infectadas, ya que liberan compuestos volátiles, como el salicilato de metilo y el D-limoneno, que las hacen más atractivas para el insecto vector.

Las ninfas pueden adquirir la bacteria a partir del tercer instar (figura 96). El tipo de transmisión es persistente, circulativo y propagativo, es decir que *D. citri*

adquiere la bacteria cuando se alimenta de una planta enferma, y se mantiene infectivo durante toda su vida (Pelz-Stelinski, Brlansky, Ebert, & Rogers, 2010).



Fotos: Lumey Pérez-Artiles

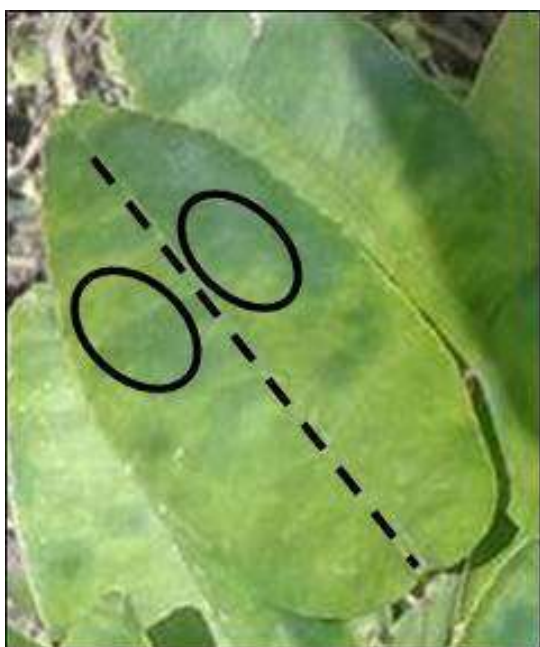
Figura 96. *Diaphorina citri* alimentándose de brotes jóvenes de lima ácida Tahití. a. Estados inmaduros; b. Adulto.

El HLB es originario de Asia, donde está presente hace más de un siglo. Según la Organización Norteamericana de Protección a las Plantas (NAPPO), la enfermedad se ha distribuido en poco tiempo en todos los países citrícolas del continente americano: Brasil (2004), Cuba (2006), Estados Unidos (2005) y México (2009) (North American Plant Protection Organization [NAPPO], 2012).

En 2015 se declaró a Colombia en estado de emergencia fitosanitaria, ya que se determinó la presencia de la bacteria *Ca. L. asiaticus* en adultos de *D. citri* colectados en los municipios de Distracción y Fonseca, en La Guajira (ICA, 2015). En 2016 se detectó la enfermedad en muestras de tejido vegetal de limón Pajarito en los departamentos de Atlántico, Bolívar, Cesar, La Guajira y Magdalena (ICA, 2017), y en 2018 en Santander (ICA, 2018).

Tipo de daño

Cuando la infección inicia, los síntomas del HLB se presentan en una o pocas ramas sectorizadas en la planta. En las hojas se puede observar un síntoma denominado *moteado asimétrico*, que es el más característico de la enfermedad (Bové, 2006) y se caracteriza por áreas verdes y amarillas en la hoja, que muestran una asimetría cuando se comparan los lados opuestos del limbo foliar, delimitados por la nervadura central (figura 97).



Fotos: Lumey Pérez-Artiles

Figura 97. Moteado asimétrico en hoja de lima ácida Tahití.

Los frutos de ramas con síntomas pueden resultar de tamaño reducido, asimétricos, incompletamente maduros y con la región estilar verde, a diferencia de aquellos de las ramas sanas. Cuando se les realiza un corte perpendicular, se observa la desviación del eje y, en algunos casos, la parte blanca de la cáscara (albedo) tiene un espesor mayor de lo normal (Bové, 2006).

Además, hay asimetría en el fruto, semillas abortadas y vasos amarillos o anaranjados (Belasque-Junior et al., 2009). Los síntomas asociados al HLB varían entre genotipos: en las especies con frutos grandes, como el pomelo, se observa una mayor deformación de la fruta y, cuando se le hace un corte transversal, las nervaduras muestran una coloración rojiza.

En ramas con síntomas, las hojas también pueden aparecer curvadas, de tamaño reducido, y con nervaduras más gruesas y oscurecidas (Bové, 2006) (figura 98). En estados más avanzados de la enfermedad, puede ocurrir una muerte regresiva de las ramas y defoliación, que llega a causar la muerte de la planta (Parra, Lopes, Torres, Nava, & Paiva, 2010). En la naranja, la clorosis puede avanzar por los bordes hacia el ápice de la hoja.

En limón Eureka, los síntomas no son muy definidos, ya que el contraste de color en las hojas es muy leve. En el caso de los portainjertos trifoliados, el moteado asimétrico no se presenta habitualmente, y el síntoma más común consiste en nervios engrosados y corchosos, además de sistemas que se asemejan a deficiencias nutricionales (Bové, 2006).



Foto: Lumey Pérez-Artiles

Figura 98. Nervaduras engrosadas con aspecto corchoso, síntoma asociado al hlb, en hojas de lima ácida Tahití.

El daño fisiológico que se observa en la planta es producto de la obstrucción del floema por acumulación de calosa y almidón, lo que limita el transporte de azúcares al sistema radicular, por falta de translocación de fotosintatos, lo que genera clorosis y una disminución en el rendimiento.

En Colombia, hasta el momento, la enfermedad solo ha sido detectada en lima ácida Tahití y lima mexicana (*Citrus aurantifolia* Swing.). Los síntomas en estos hospederos son más acentuados: en las hojas, el moteado es muy definido y bastante asimétrico (figuras 99 y 100), se observa una coloración amarilla pálida con áreas irregulares (asimétricas) verdes (moteado), así como el engrosamiento o aclaramiento de las nervaduras, que, al cabo de un tiempo, adquieren un aspecto corchoso. En estas especies cítricas es raro encontrar frutos deformados.



Foto: Lumey Pérez-Artiles

Figura 99. Moteado asimétrico en hojas, síntoma asociado con el HLB.



Fotos: Lumey Pérez-Artiles

Figura 100. Síntomas del HLB en hojas de lima ácida Tahití. a. Moteado asimétrico; b. Contraste de áreas verdes y amarillas, sin un patrón definido.

La enfermedad del hlb afecta la vida útil de las plantas de cítricos, tanto jóvenes como adultas, y puede ocasionar la muerte fisiológica en el transcurso de pocos años. A medida que avanza, se puede observar una defoliación intensa en las ramas (figura 101).



Fotos: Lumey Pérez-Artiles

Figura 101. Defoliación en ramas de lima ácida Tahití, síntoma característico del avance del HLB.

El reconocimiento en campo de los síntomas del HLB es difícil, porque entre las variedades se presentan diferentes patrones de clorosis, y pueden ser confundidos con otros síntomas, como desórdenes nutricionales, o afecciones como la podredumbre de la raíz (gomosis), el virus de la tristeza de los cítricos (CTV), *wood pocket* o la clorosis variegada de los cítricos (CVC), en países donde se reporta la enfermedad (Alanís-Martínez, Cora-Valencia, Robles-García, Silva-Rojas, & López-Buenfil, 2016).

El síntoma de moteado asimétrico asociado al HLB puede confundirse con el moteado en hojas, ocasionado por *wood pocket*. Sin embargo, los síntomas diferenciales de estas enfermedades están más relacionados con aquellos de los frutos: en *wood pocket* se presenta un variegado clorótico, generalmente con rayas cafés, en contraste con las zonas verdes en la cáscara. En el caso del HLB, se observan frutos deformados, con semillas abortadas y la columela desviada.

Métodos de detección

Para detectar el HLB se utilizan varios métodos, entre los que se incluyen el diagnóstico visual de los síntomas, el uso de técnicas moleculares, la tinción con

yodo, la detección a través del insecto vector, el indexaje biológico, el análisis de imágenes y reconocimiento de patrones por computador, y la espectroscopia de imágenes fluorescentes.

Diagnóstico visual

El diagnóstico del HLB mediante inspección visual puede presentar un gran margen de error, debido a que la expresión de los síntomas tarda alrededor de ocho meses, y en algunos casos se pueden confundir con deficiencias nutricionales. La eficiencia del diagnóstico por inspectores profesionales ha mostrado una exactitud de entre el 47 % y el 61 % en la identificación de un árbol infectado con HLB (Futch, Weingarten, & Irely, 2009).

Técnicas moleculares

Dentro de las técnicas moleculares se utilizan la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional y la PCR en tiempo real (qPCR) o PCR cuantitativa. En la PCR convencional se emplean cebadores específicos, que amplifican las secuencias de los genes 16s rDNA; y cebadores basados en genes proteínicos (operón B), OI1/OI2c (Jagoueix, Bové, & Garnier, 1996) y A2/J5 (Hocquellet, Toorawa, Bové, & Garnier, 1999) para las razas asiática y africana, y los cebadores GB1-GB3 (Teixeira et al., 2005) para la americana.

La PCR es mucho más sensible y robusta que la PCR convencional, y ha sido validada en extractos de ADN de diferentes especies de cítricos y de distintos tejidos, procedentes de diversas regiones geográficas. Sin embargo, ambos métodos son costosos, por la cantidad de recursos que emplean.

La detección de *Candidatus Liberibacter* spp. en psílicos es una herramienta que se emplea para detectar el HLB de manera temprana en nuevas áreas invadidas por el insecto vector. Keremane et al. (2015) reportaron el desarrollo de un kit de detección molecular de campo, para diagnosticar psílicos con la bacteria, utilizando tecnología de amplificación cíclica (LAMP, por las siglas en inglés de Loop Mediated Amplification Technology). El método de detección de LAMP es aproximadamente 100 veces más sensible que el de qPCR, por lo que puede ser útil en áreas donde la epidemia se encuentra en las etapas iniciales.

Tinción con yodo

Se trata de un método indirecto de detección del HLB, que consiste en hacer un corte semifino en una hoja de cítricos que presente el síntoma de moteado asimétrico, y realizar una tinción con yodo al 2%, para observarlo al microscopio. Cuando la planta es positiva para *Candidatus L.*, el corte se colorea de azul, debido a la acumulación de almidón en el parénquima. En hojas provenientes de plantas con HLB esa acumulación puede ser hasta 20 veces mayor que en hojas de plantas sanas (Takushi et al., 2007).

Indexaje biológico

Este método tiene una tasa de éxito variable, debido a que la tasa de transmisión por injerto es baja. La planta indicadora idónea para la raza asiática es la mandarina Ponkan, que debe mantenerse en un rango de temperatura entre 25 y 32 °C para que se produzca la expresión de los síntomas causados por este patógeno. Estos se presentan entre 8 y 12 semanas después de la inoculación (Roistacher, 1998).

Análisis de imágenes y reconocimiento de patrones por computador

Dentro de los métodos que utilizan imágenes de cámaras digitales y espectroscópicas se encuentran los siguientes:

- Fotografía aérea: es capaz de detectar áreas infectadas, abarcando grandes superficies de cultivo. En algunos casos se utilizan imágenes de cámaras multiespectrales o hiperespectrales (Amro, Mateos, Vega, Molina, & Katsaggelos, 2011).
- Fotografía satelital: permite el análisis de imágenes satelitales multiespectrales con una resolución de 2 m (Li et al., 2015).
- Espectroscopia de imágenes fluorescentes: este método se lleva a cabo con una cámara monocromática que tiene un 95 % de confiabilidad, y que permite clasificar hojas sanas y con HLB, incluso en etapas tempranas de la enfermedad (primeros meses), antes de la aparición de los síntomas visuales.

Factores predisponentes

Los factores que predisponen a una planta a la infección con HLB están vinculados directamente con los relacionados con la diseminación de la enfermedad, entre

ellos los que favorecen el establecimiento y reproducción del insecto vector, y la dispersión mediante material de siembra no certificado.

Tanto la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., como el vector *D. citri* pueden sobrevivir a temperaturas extremas. Los niveles poblacionales del psílido se relacionan positivamente con la disponibilidad de brotes u hojas nuevas, los cuales a su vez se asocian con la temperatura y los bajos niveles de lluvia semanal (Tsai, Wang, & Liu, 2002). *D. citri* tiene un alto potencial reproductivo (Tsai & Liu, 2000) y el rango óptimo de temperatura para su desarrollo está entre 25 y 28 °C.

La presencia de hospederos secundarios, tanto del patógeno como del insecto vector, puede contribuir a la enfermedad. La diseminación espacial del HLB está relacionada con dos procesos, que ocurren de manera simultánea: la diseminación primaria al azar, resultante de psíidos infectivos que emigran periódicamente de fuentes de inóculo externas hacia el cultivo, y la diseminación secundaria, que se da a cortas distancias dentro del mismo huerto (Bassanezi et al., 2010).

El clima cálido subhúmedo o tropical con lluvias en verano es el que tiene una mayor relación con el HLB, ya que *D. citri* es más frecuente en zonas cálidas costeras. Además, las condiciones de sequía prolongada propician el desarrollo de la bacteria *Ca. L. asiaticus* (Galindo, Contreras, González, Mata, & Olvera, 2009).

El HLB ha sido identificado en cinco departamentos del Caribe colombiano, pues sus condiciones climáticas predominantes favorecen la reproducción de *D. citri* y acortan la duración de su ciclo de vida, que tiene un rango óptimo de desarrollo en temperaturas entre 25 y 30 °C. Estos aspectos influyen de manera positiva en la diseminación de la enfermedad.

Susceptibilidad de materiales

Todas las especies, cultivares e híbridos cítricos, así como los géneros relacionados son susceptibles al HLB. Los naranjos dulces, mandarinos y tangelos lo son en gran medida, mientras que limoneros, toronjos, naranjos agrios, kumquats y pomelos son clasificados como susceptibles, pues, si bien tienen

síntomas menos severos, la enfermedad los hace improductivos. Las limas, los naranjos trifoliados y algunos de sus híbridos han mostrado tolerancia a la bacteria, aunque presentan síntomas foliares.

Prácticas de manejo

El patosistema del HLB es difícil de manejar, debido al largo periodo de incubación de la enfermedad, la presencia de plantas asintomáticas en campo, la alta capacidad reproductiva del insecto vector, la existencia de plantas hospederas del vector y del patógeno, y la dificultad de ejecución de la estrategia de manejo recomendada, causada fundamentalmente por la resistencia de los citricultores a eliminar las plantas enfermas.

Hasta el momento no se ha determinado una estrategia de manejo que pueda llevar a la erradicación de la enfermedad una vez que se ha establecido en un país. Para el manejo se recomienda un conjunto de prácticas, que tienen como objetivo principal disminuir la incidencia de la afección en una región o país.

Estas prácticas se basan principalmente en tres aspectos claves, que consisten en el establecimiento del cultivo con plantas sanas y certificadas, una condición esencial para no diseminar el HLB entre las regiones, el control del insecto vector, y la erradicación de plantas enfermas (Yamamoto, Alves, & Beloti, 2015). Esta última estrategia ha mostrado eficiencia en las regiones en las que los productores la realizan de forma rigurosa, constante e integrada, principalmente en Brasil y México.

Para poder llevar a cabo el programa de manejo, es fundamental que el productor pueda reconocer los síntomas de la enfermedad e identificar el insecto vector. Después de la siembra, se deben hacer inspecciones periódicas y eliminar las plantas con síntomas. Si en una sola inspección se encuentra más del 28 % de plantas sintomáticas, todo el terreno debe ser erradicado, pues prácticamente el 100 % de las plantas ya estarían infectadas (Bassanezi, Belasque, & Montesino, 2013).

Para lograr un control significativo del HLB, es necesario realizar un manejo regional, incluyendo la eliminación de fuentes externas de inóculo y el control

del insecto vector en estas fuentes. La diseminación primaria de la enfermedad es difícil de evitar, por lo que debe hacerse un control regional del insecto vector, para que la epidemia no se vuelva incontrolable.

Aunque se sigan las recomendaciones de manejo del HLB en una propiedad pequeña, el movimiento constante del psílido entre parcelas vecinas puede llevar a una reinfestación constante y rápida, situación que impide la efectividad del tratamiento (Bassanezi et al., 2010).

En áreas donde el patógeno no está presente o hay una baja incidencia de la enfermedad, se sugiere el control biológico del insecto vector. *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam & Agarwal) y *Tamarixia radiata* (Waterston) son parasitoides primarios de *D. citri*. En condiciones favorables, la tasa de parasitismo de *T. radiata* puede exceder el 90 % (Fauvergue & Quilici, 1991).

El uso de depredadores generalistas, sobre todo coccinélidos, se recomienda principalmente para huevos y ninfas del primer y segundo instar de desarrollo. La efectividad en el control biológico aumenta si se combinan ambos enemigos naturales (Chien, Chiu, & Ku, 1989). Los hongos entomopatógenos también desempeñan un papel fundamental en la reducción de las poblaciones de *D. citri* (figura 102), en especial durante los periodos de alta humedad relativa.



Foto: Lumey Pérez-Artiles

Figura 102. Parasitismo de adultos de *Diaphorina citri* por hongos entomopatógenos en campo.

El control químico se indica para áreas con alta incidencia de la enfermedad. En Colombia, los productos químicos que tienen registro para uso contra *D. citri* son sulfoxaflor 240 g/l e imidacloprid + lambdacialotrina. Se recomienda un monitoreo constante del lote y solo aplicar en presencia del insecto vector.

El control del insecto vector se debe realizar también en otros hospederos, específicamente el mirto (*Murraya paniculata* [L.] Jack) y *Swinglea glutinosa* Merr. En cercas vivas de *S. glutinosa* y áreas urbanas, se aconseja ante todo el control biológico, mediante el uso de hongos entomopatógenos y liberaciones de otros controladores biológicos. Se recomienda no establecer nuevas siembras a una distancia menor de 5 km de plantaciones con presencia de la enfermedad.

Enfermedades sistémicas

Tristeza de los cítricos

La tristeza de los cítricos es considerada una de las enfermedades de mayor importancia económica, con una amplia distribución mundial (Cambra & Moreno, 2000), que afecta a todos los cultivares, principalmente naranjas, toronjas y limas ácidas (Naranjo, 1997b). Es ocasionada por el virus de la tristeza de los cítricos (CTV) (Closteroviridae: *Closterovirus*).

El virus no se transmite por semilla sexual (Roistacher, 1991), pero puede ser diseminado a corta distancia por áfidos o pulgones, sobre todo *Toxoptera citricida* Stuetzel, 1994 (Hemiptera: Aphididae), el más eficiente en la transmisión (Rocha-Peña et al., 1995), y *Aphis gossypii* (Glover), 1877 (Hemiptera: Aphididae) (Cambra et al., 2000) y, a larga distancia, por el movimiento de material vegetal infectado, a través de la multiplicación de plantas por injerto utilizando yemas contaminadas (Lee & Bar-Joseph, 2000). En Colombia, este virus tiene carácter endémico (Chaparro-Zambrano, Velásquez, & Orduz-Rodríguez, 2013; Murcia et al., 2005), y está presente en casi todas las regiones cítricas del país, con incidencias que varían entre el 80 % y el 100 % (Murcia, Osorio, Caicedo, Morales, & Calvert, 2002; Rodríguez, Romero, & Guzmán, 2009).

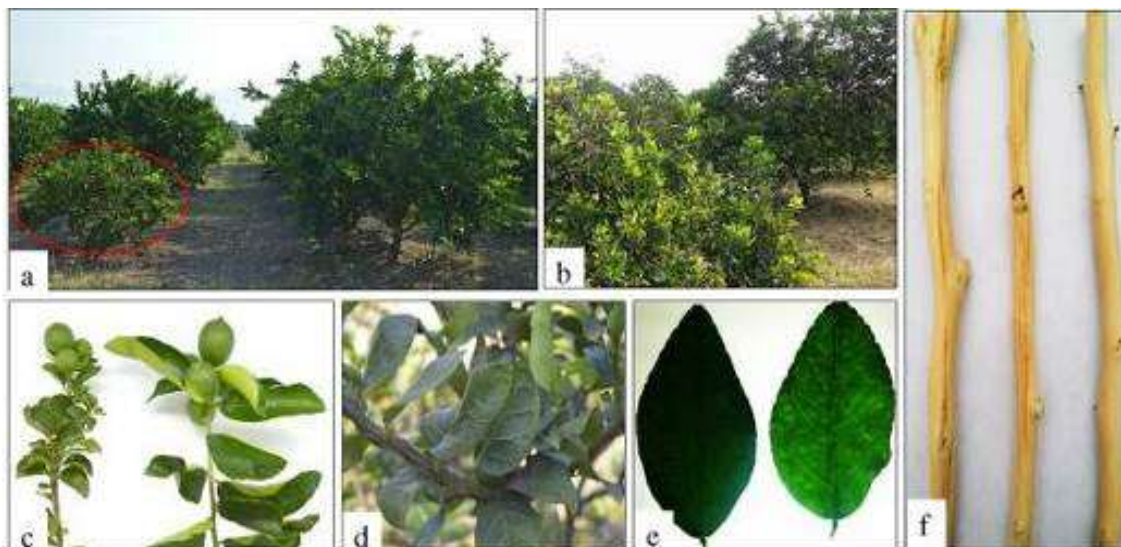
Tipo de daño

La expresión de los síntomas del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) es variable, y se puede manifestar ante ciertos factores, como la influencia del medioambiente, y la cepa del virus (suave o severa) y de la especie hospedera (Bar-Joseph, Marcus, & Lee, 1989). Las temperaturas inferiores a 24 °C son óptimas para una rápida expresión de los síntomas (Naranjo, 1997a).

En campo, se pueden encontrar plantas asintomáticas, pero la mayoría presentan uno o más síntomas (Cambra & Moreno, 2000), dependiendo del cultivar. Las limas ácidas son las especies que mejor expresan los síntomas de cepas suaves y severas de CTV.

En lima ácida Tahití, las cepas del CTV pueden ocasionar síntomas como aclaramiento de nervaduras, clorosis o deformación de hojas, suberización de venas y epinastia en brotes jóvenes. También se observan entrenudos cortos y una disminución en el tamaño de la planta, conocida como *stunting*; en el tallo y en ramas secundarias se presentan acanaladuras o picado del tallo, denominado *stem pitting*.

En casos severos, hay reducción en el tamaño del fruto, clorosis generalizada del árbol, las hojas se secan y se desprenden o, algunas veces, se quedan adheridas al árbol, lo que causa un decaimiento de este último y, posteriormente, la muerte (Orduz-Rodríguez & Mateus, 2012; Quiroga-Cardona, Hernández-Parrado, Silva-Herrera, & Orduz-Rodríguez, 2010) (figura 103).



Fotos: Hoover Beltrán y Yeison David López-Galé

Figura 103. Síntomas de CTV en plantas de lima ácida Tahití. a. Enanismo (*stunting*) (izquierda), planta sana (derecha); b. Clorosis en hojas; c. Entrenudos cortos y crecimiento reducido de frutos (izquierda), frutos normales (derecha); d. Deformación de hojas y suberización de venas; e. Aclaramiento de nervaduras (derecha), hoja sana (izquierda); f. Acanaladuras en el tallo (*stem pitting*) (izquierda), tallo sano (derecha).

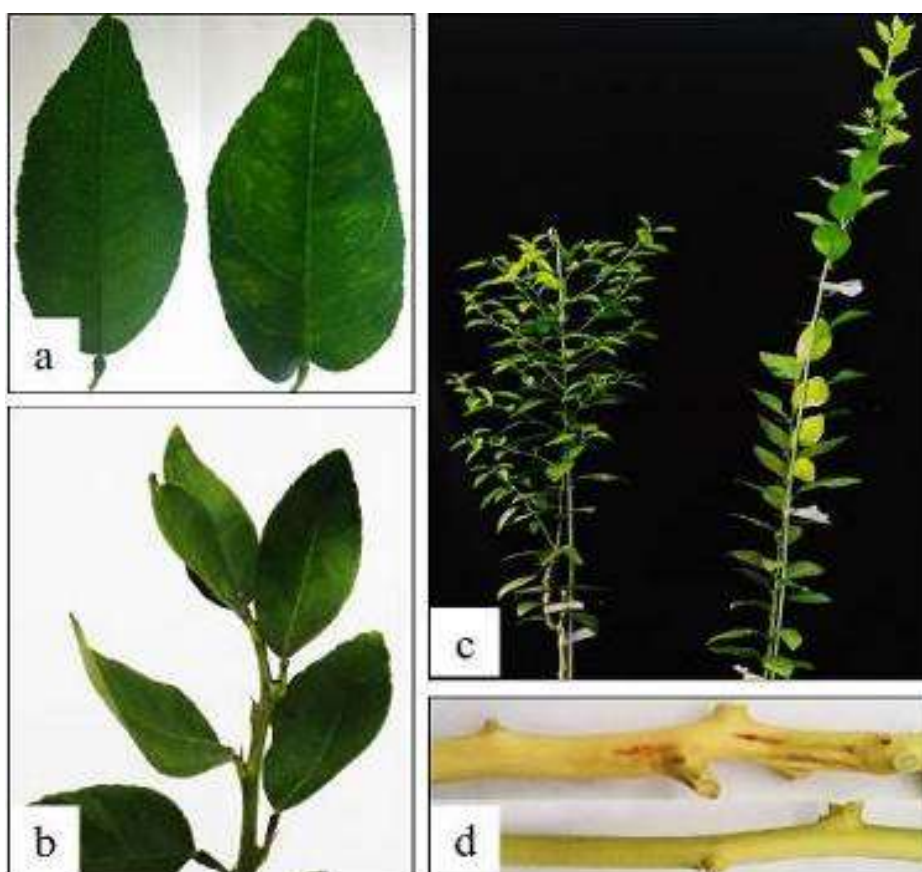
Métodos de detección

La detección del CTV se realiza con métodos biológicos, serológicos y moleculares. El diagnóstico biológico es útil para detectar su presencia en lotes o en plantas seleccionadas, y determinar la agresividad de la cepa del virus. El método se basa en la utilización de plantas indicadoras de especies de cítricos libres del patógeno, las cuales reaccionan ante la infección del virus, expresando síntomas diferenciales según el patógeno y la cepa.

Para este diagnóstico se usa como planta indicadora la lima mexicana (*Citrus aurantifolia* [Christm.] Swingle [Rutaceae]), conocida localmente como limón Pajarito o limón criollo. La inoculación se hace mediante injerto, con corteza de la planta que se va a analizar. Se requiere un control negativo (planta sana) y uno positivo (planta inoculada con CTV) para hacer la comparación de los síntomas y asegurar la fiabilidad del diagnóstico.

Las plantas se deben ubicar en un invernadero por un periodo de cuatro a seis meses, bajo condiciones controladas de temperatura, que debe estar entre 24 y 28 °C durante el día y entre 17 y 21 °C durante la noche, para garantizar la expresión de los síntomas (Roistacher, 1991).

Los síntomas pueden ser uno o varios, dependiendo de la cepa del virus, y van desde aclaramiento de nervaduras, en sus estados iniciales, acucharamiento de hojas en los avanzados, hasta acanaladuras en el tallo y enanismo (Figuroa, Foguet, Figuroa-Castellanos, & Stein, 2009; Murcia et al., 2002) (figura 104).



Fotos: Yeison David López-Galé; Diana Milena Rodríguez-Mora

Figura 104. Síntomas de CTV en planta de lima mexicana. a. Hoja sana (izquierda), aclaramiento de nervaduras (derecha); b. Acucharamiento de hojas; c. Enanismo (izquierda), planta sana (derecha); d. Acanaladuras en el tallo (arriba), tallo sano (abajo).

El diagnóstico serológico del CTV se realiza con el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA), con anticuerpos policlonales y monoclonales (Moreno, Ambrós, Albiach-Martí, Guerri, & Peña, 2008), que se caracteriza por su alto nivel de confianza y rapidez para la detección del virus a gran escala (Cambra, 1983; Cambra et al., 2002).

Se han desarrollado algunas variantes, pero hasta el momento el método más utilizado para la detección del CTV es la inmunoabsorción enzimática en fase doble de anticuerpos (DAS-ELISA) (Cambra et al., 2002; Rodríguez et al., 2009), recomendado por la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) (2016) para hacer la indexación de materiales.

Los diagnósticos biológico y serológico pueden ser complementados con métodos moleculares, utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y la qPCR, empleando cebadores específicos para el virus. Estas técnicas permiten la detección e identificación de cepas de CTV suaves y severas, por medio de secuenciación.

Factores predisponentes

Los factores que determinan la dispersión del CTV en campo están relacionados con la densidad de población de insectos vectores y las condiciones ambientales que influyen en la dinámica de sus poblaciones, las especies de cítricos cultivadas, la agresividad de la cepa del virus, la densidad de partículas virales en la planta, la edad del cultivo, las combinaciones sensibles de variedad y portainjerto (Cambra & Moreno, 2000; Naranjo, 1997b), la sanidad del material vegetal usado para la multiplicación de plantas, y algunas prácticas culturales del manejo del cultivo, como el uso de herramientas de poda contaminadas con el virus.

Susceptibilidad de materiales

La lima ácida Tahití es altamente susceptible al CTV. En el quinto año de establecimiento en campo presenta una disminución en los rendimientos, a causa de problemas fitosanitarios como este virus (Quiroga-Cardona et al., 2010), y puede sufrir una mayor afección cuando se injerta con el portainjerto de naranjo agrio (*Citrus aurantium* L. [Rutaceae]).

El uso de combinaciones de variedad y portainjerto tolerantes al virus ha sido recomendado como una medida de manejo preventivo de la enfermedad, y al respecto se han desarrollado varios estudios a nivel mundial. El portainjerto Kryder (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf.) ha sido reportado como tolerante a la mayoría de las cepas del CTV (Mestre, Asins, Carbonell & Navarro, 1997). A su vez, después de haberse considerado tolerante (Hutchison, 1974), Citrumelo Swingle (*Citrus paradisi* Macf. × *P. trifoliata* [L.] Raf) mostró susceptibilidad a cepas severas del CTV (Campbell, 1991).

Por otra parte, en Citrange Carrizo (*Citrus sinensis* Osb. × *P. trifoliata* [L.]) también se han encontrado niveles de tolerancia (Garnsey, Barrett, & Hutchison, 1987), así como en mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Horth. Ex Tan.). Sin embargo, el portainjerto Cleopatra no presenta una alta afinidad con lima ácida Tahití, y la duración de la etapa productiva de las plantas se restringe hasta el octavo año (Quiroga-Cardona et al., 2010).

Recientemente, se han realizado investigaciones para analizar el comportamiento de la lima ácida Tahití sobre portainjertos comerciales en condiciones de suelos ácidos del piedemonte llanero. Los portainjertos Carrizo, Sunky × English, Sunky × Jacobson, Pomeroy, Rubidoux, Kryder 15-3 y Cleopatra fueron evaluados en lo que se refiere a su eficiencia productiva, y a su tolerancia y sobrevivencia al CTV.

El estudio indicó una incidencia de la enfermedad del 100 %, con diferentes niveles de severidad. Los portainjertos Pomeroy, Kryder, Carrizo, Sunki × Jacobson y Rubidoux presentaron grados de severidad superiores al 50 %, mientras que Sunki × English registró el 43 %, así como los mejores valores de variables vegetativas y productivas (Chaparro-Zambrano et al., 2013). El portainjerto Cleopatra mostró un nivel de severidad del CTV del 84 % y un mal comportamiento con lima ácida Tahití, por lo cual no es recomendado para este cultivar en esa región del país (Quiroga-Cardona et al., 2010).

Es importante tener en cuenta que la expresión de síntomas del CTV se ve afectada o favorecida por las condiciones ambientales; por eso es probable que los portainjertos que son considerados tolerantes en un ambiente no lo sean en otro (Mendt et al., 1988); de ahí la importancia de evaluarlos en diferentes zonas agroecológicas.

Prácticas de manejo

Las estrategias de manejo del CTV dependen de las condiciones específicas de cada región citrícola. Dentro de las medidas generales de manejo se encuentran:

1. Programas de certificación de yemas libres de virus, y cuarentena, para evitar la dispersión del virus.
2. Erradicación de árboles infectados con cepas severas.
3. Esquemas de protección cruzada, en los que se inocula una planta con una cepa suave, que evita la aparición de síntomas del ctv cuando es atacada por una cepa severa.
4. Uso de portainjertos tolerantes o medianamente tolerantes al ctv (Moreno & Ambrós, 2011; Moreno et al., 2008).
5. Obtención de plantas transgénicas (Fagoaga et al., 2006).

Sin embargo, la incidencia del CTV en Colombia es muy alta, y se encuentra ampliamente distribuida en el país, por lo cual la erradicación de plantas enfermas es poco viable. El método de protección cruzada ha sido exitoso en algunos países, pero en otros lugares ha proporcionado una protección temporal o, en su defecto, ha fracasado. En el país aún no se ha realizado ninguna investigación sobre este tipo de control.

Las estrategias para el manejo del CTV son preventivas, y están orientadas a evitar la propagación de plantas infectadas a nuevas plantaciones o áreas libres del virus. En el CI Palmira de AGROSAVIA se tiene una colección de plantas de cítricos, que incluye los clones de lima ácida Tahití, conservadas en casas de malla antiáfidos y libres de CTV (Escobar, Murcia, & Martínez, 2013; Murcia, Ríos, Caicedo, Martínez, & Corrales, 2012).

Además, están libres de otras enfermedades, como la exocortis y el HLB (Rodríguez-Mora, Palacios, Martínez, & Murcia, 2017), y constituyen una fuente de yemas para la multiplicación en los viveros de cítricos.

Como métodos complementarios para el manejo del CTV, se recomienda el control del insecto vector, y la desinfección de equipos y herramientas durante las labores culturales del cultivo, con hipoclorito al 1 %.

Exocortis

La exocortis está presente en casi todas las regiones cítricas del mundo, y puede afectar a la mayoría de las especies de cítricos (Durán-Vila, 1989). Esta afección es producida por el viroide de la exocortis de los cítricos (CEVd) (Pospiviroidae: *Pospiviroid*), no se le conocen vectores, y se transmite principalmente por contacto con tejidos infectados y por transmisión mecánica cuando se utilizan herramientas de corte.

Esta enfermedad afecta la productividad de los cítricos cuando las copas de los cultivares se encuentran sobre portainjertos susceptibles, y disminuye el crecimiento, aunque no causa la muerte de los árboles. Las pérdidas económicas pueden alcanzar hasta un 60 %, por las bajas producciones de árboles con copas reducidas a causa del escaso desarrollo (enanismo).

El efecto es mayor en árboles que se han infectado desde la etapa de vivero o en propagaciones causadas por el agricultor al utilizar yemas infectadas, frente a aquellos que se infectan durante las prácticas culturales (Durán-Vila, 2004).

Tipo de daño

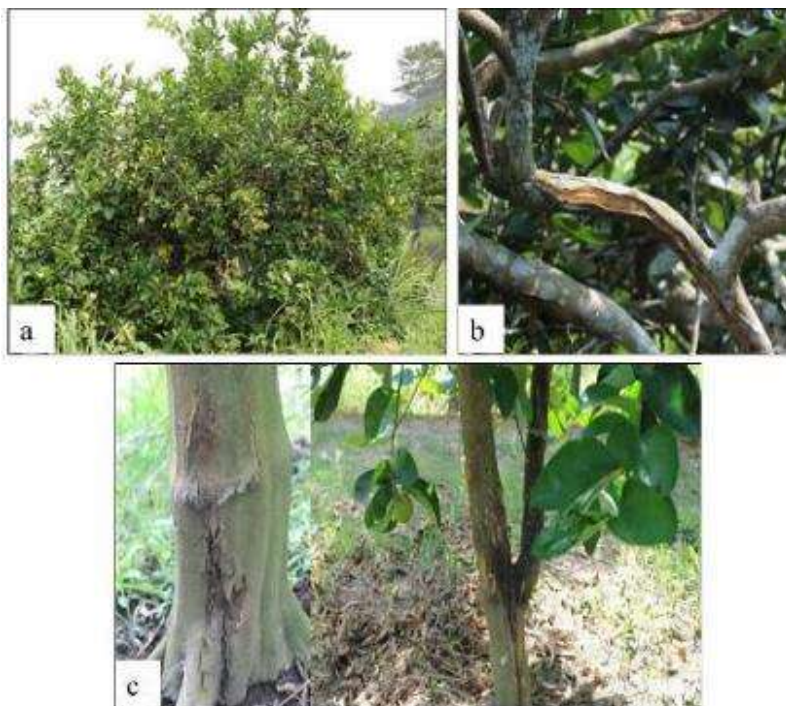
La exocortis de los cítricos se caracteriza principalmente por la aparición de descamaciones en la corteza del portainjerto, así como por grietas verticales y enanismo (Bernad, Durán-Vila, & Elena, 2009; Durán-Vila, 2004). Además, los árboles afectados suelen presentar escaso follaje, poco vigor y baja producción.

Los árboles de cítricos producidos a partir de yemas infectadas pueden permanecer sin síntomas de exocortis durante mucho tiempo, pero estos suelen aparecer a partir del cuarto o quinto año de su establecimiento en campo (Durán-Vila, 2004), característica que hace difícil su diagnóstico.

En Colombia, en lima ácida Tahití, se han encontrado infecciones simples o múltiples de CEVd con el viroide del enanismo de los cítricos (CDVd), y variantes no patogénicas del viroide del enanismo del lúpulo (HSVd), con síntomas de agrietamiento de corteza (Murcia, Bernad, Caicedo, & Durán-Vila, 2010).

El viroide CEVd, causante de la exocortis de los cítricos, también se ha identificado usando métodos biológicos y moleculares, en tejidos provenientes de viveros y huertos comerciales de lima ácida Tahití de Santander, con una incidencia del 44,8 %, Tolima (35 %), Cundinamarca (75 %), eje cafetero (Caldas, Quindío y Risaralda) (45,8 %) y Valle del Cauca (36,6 %).

En lima ácida Tahití no se observó el síntoma característico de descamaciones del portainjerto, pero los árboles presentaron amarillamiento sectorizado, y agrietamiento en la corteza del portainjerto y en las ramas. Estos síntomas no se pueden atribuir solo a la presencia del viroide, y es posible que las descamaciones en la corteza del portainjerto no hayan sido evidentes por el uso de los portainjertos Volkameriana, Citrumelo CPB 4475 y Citrumelo Swingle (figura 105) (Martínez, Gómez, Ramos, Ortiz, & Murcia, 2015), que han sido reportados como tolerantes a la exocortis (Villalba, 2001).



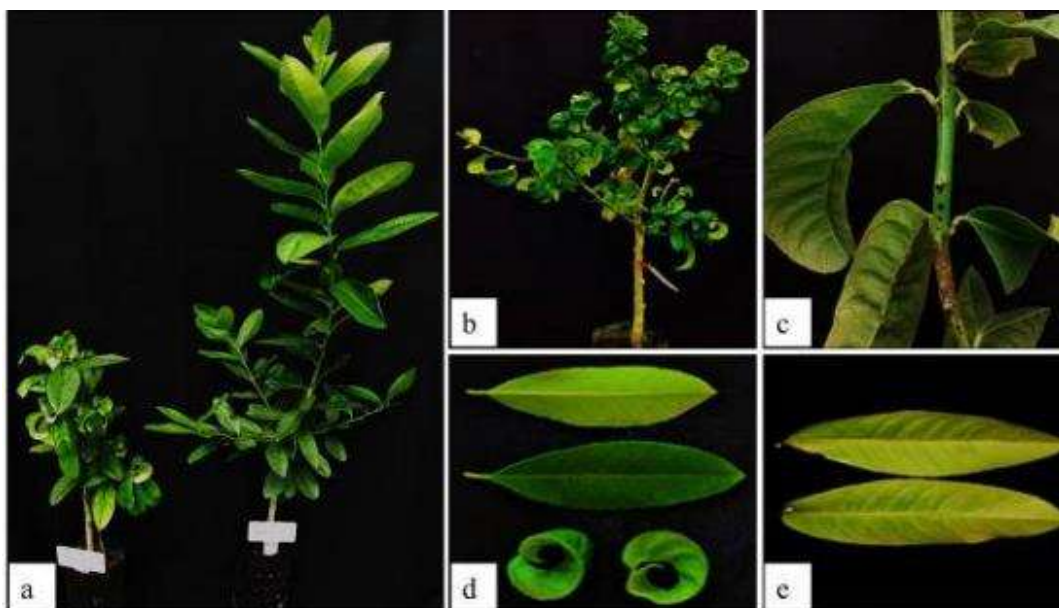
Fotos: Nubia Murcia-Riaño

Figura 105. Aspecto de los árboles de lima ácida Tahití afectados por exocortis en campo. a. Árbol con amarillamiento sectorizado; b. Agrietamiento de ramas; c. Agrietamiento en la copa y en el portainjerto.

Métodos de detección

El viroide CEVd se puede detectar por medio de pruebas biológicas y moleculares. Para el diagnóstico biológico, el clon Arizona 861-S1 del cidro Etrog (*C. medica* L.) se usa como planta indicadora (Roistacher, Calavan, Blue, Navarro, & Gonzales, 1977). La inoculación se hace mediante injerto, con corteza de la planta que se va a analizar. Deben incluirse un control negativo (planta sana) y uno positivo (planta inoculada con CEVd), para garantizar la fiabilidad del diagnóstico.

Para asegurar la expresión de los síntomas, se requiere que las plantas estén en condiciones de temperatura controlada, de 28 a 32 °C, por un periodo de 9 a 18 meses (Durán-Vila, 1989). Los síntomas característicos que se observan en el cidro Etrog son epinastia y enanismo acusados, así como necrosis de peciolo y de nervadura central (Durán-Vila et al., 1988) (figura 106).



Fotos: Diana Milena Rodríguez-Mora;
David Velásquez-Ortiz; Nubia Murcia-Riaño

Figura 106. Síntomas de la infección con el viroide CEVd en plantas del clon Arizona 861-S1 del cidro Etrog. a. Planta infectada (izquierda), planta sana (derecha); b. Rugosidad de las hojas; c. Necrosis del tallo y del peciolo; d. Hojas sanas (arriba), epinastia acusada (abajo); e. Necrosis de nervadura.

El cidro Etrog es el huésped experimental utilizado para el diagnóstico de los viroides, y cada uno de ellos induce síntomas específicos en esta planta indicadora. Los métodos biológicos tienen limitaciones, relacionadas con un mayor periodo de incubación para la expresión de síntomas, el costo de mantenimiento de los invernaderos con temperaturas altas, y los resultados erráticos, debido a interferencias entre varios viroides que coinfectan una misma planta (Roistacher, 1998; Pina, Durán-Vila, & Navarro, 1991), ya que en muestras de cítricos colectadas en campo se encuentran mezclas o combinaciones de viroides.

Por esta razón, es necesario emplear técnicas moleculares como complemento del diagnóstico biológico, para garantizar una mayor especificidad en el resultado (Durán-Vila, 2000). El diagnóstico molecular del CEVd se realiza mediante la extracción del ácido ribonucleico (ARN), empleando diferentes técnicas: electroforesis secuencial en geles de poliacrilamida (SPAGE), hibridación de ácidos nucleicos (NAH) tipo Dot blot y Northern blot, y por RT-PCR (Murcia, 2009; Murcia, Bani-Hashemian et al., 2010; Murcia, Bernad et al., 2010; Murcia, Serra, Olmos, & Durán-Vila, 2009).

Sin embargo, la RT-PCR es una de las técnicas más usadas para el diagnóstico de viroides en cítricos, porque puede detectar uno o varios de ellos en la misma planta, usando cebadores específicos. Es un método sensible y permite hacer el diagnóstico del CEVd a partir de material vegetal de cítricos obtenido en condiciones de campo (Mühlbach et al., 2003). Además, ha permitido la caracterización y discriminación de variantes suaves y agresivas del CEVd (Bernad & Durán-Vila, 2006).

Factores predisponentes

La dispersión de la exocortis en campo está relacionada principalmente con los siguientes factores determinantes:

1. La propagación de yemas y portainjertos infectados con el viroide.
2. La transmisión mecánica durante las labores de poda y recolección. El viroide es muy estable y se puede transmitir con relativa facilidad mediante navajas, tijeras, sierras y serruchos cuando se hace contacto con el árbol, incluso después de varias semanas (Durán-Vila, 2004).

3. Combinaciones sensibles de variedad y portainjerto.
4. El tipo de aislamiento del viroide.
5. La edad del árbol en el momento en el que se presenta la infección.
6. Las condiciones climáticas en las que se desarrolla el cultivo (Pethybridge, Hay, Barbara, Eastwell, & Willson, 2008). Temperaturas e intensidades lumínicas altas favorecen la expresión de síntomas y la acumulación del viroide en la planta.

Susceptibilidad de materiales

Se conocen varias especies de cítricos sensibles a la exocortis, como *P trifoliata*, los híbridos Citrange Troyer y Citrange Carrizo (*C. sinensis* Osb. × *P. trifoliata* [L.] Raf.), y la lima Rangpur (*Citrus limonia* Obs.).

De igual modo, son sensibles Sunki × Jacobson (S × J), Citrumelo Swingle (*C. paradisi* Macf. × *P. trifoliata* [L.] Raf) y Kryder, que son usados como portainjertos (Orduz-Rodríguez & Mateus, 2012; Sanches-Stuchi, 2007), así como la lima dulce (*C. limettioides* Tanaka), el limonero (*Citrus limon* [L.] Burm. fil.), la pamplemusa (*Citrus grandis* [L.] Osbeck) y la lima ácida Tahití (*C. latifolia* Tanaka), que son utilizados como variedades comerciales.

Por otro lado, el naranjo agrio (*C. aurantium* L.), la mandarina Cleopatra (*C. reshni* Horth. Ex Tan.) y el limón Volkameriana (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq.) han sido reportados como tolerantes a la exocortis (Orduz-Rodríguez & Mateus, 2012; Rico, 1982).

Prácticas de manejo

Debido a que no se ha comprobado que el CEVd se transmita por vectores ni por semilla sexual, el control es únicamente preventivo y consiste en las siguientes medidas:

1. Utilizar plantas sanas, provenientes de material de propagación (variedad y portainjerto) libre del viroide CEVd, y obtenido de programas de saneamiento, a partir de ápices caulinares, por el método de microinjerto.
2. Desinfectar las herramientas de corte durante las actividades de injertación, poda y recolección, mediante inmersión en hipoclorito de sodio al 1 % (Durán-Vila, 2004).

Wood pocket

Se suele denominar fisiopatía a los daños o trastornos en las plantas provocados por agentes de origen abiótico. Se usa la palabra *abiótico* para indicar que el síntoma no es causado por un agente biológico, como un insecto, un ácaro o un patógeno (Kennelly, O'Mara, Rivard, Miller, & Smith, 2012).

Los trastornos abióticos están relacionados con factores causales no vivos, como el clima, los suelos, los productos químicos, las lesiones mecánicas, las prácticas culturales y, en algunos casos, una predisposición genética de la propia planta (Kennelly et al., 2012).

En la actualidad, hay una fisiopatía que está afectando la zona productora de cítricos del Tolima, y que el ICA diagnosticó en 2011 como *wood pocket* (ICA, 2011) (figura 107). Ruehle (1943) describió los síntomas asociados a esta fisiopatía, y fue capaz de reproducirlos por injerto. Entre ellos se destaca la existencia de áreas o bolsas de madera muerta debajo de las grietas o hendiduras de la corteza.

Además, Fawcett y Calavan (1948) identificaron la presencia de un moteado en las hojas, que describieron como "aspecto de un tipo de quimera variegada con amplias bandas de color verde a amarillo y a blanco o una reticulación tipo agujeta envolviendo una parte o toda la hoja". Knorr, Suit y DuCharme (1957) definieron *wood pocket* en Florida como una condición genéticamente inherente a la mayoría de los limones Bearss, Tahití o Persa.

Se trata de un problema grave, que ha sido reconocido en algunas regiones productoras del mundo, como Estados Unidos, México, Belice, Arabia Saudita, el Sultanato de Omán y Egipto (Almeyda-León et al., 2000; Garnier, Zreik, & Bové, 1991; Knorr et al., 1957). En Colombia el ICA también indica que se trata de la fisiopatía denominada *wood pocket* y, por lo tanto, AGROSAVIA se centra en a problemática como una fisiopatía.

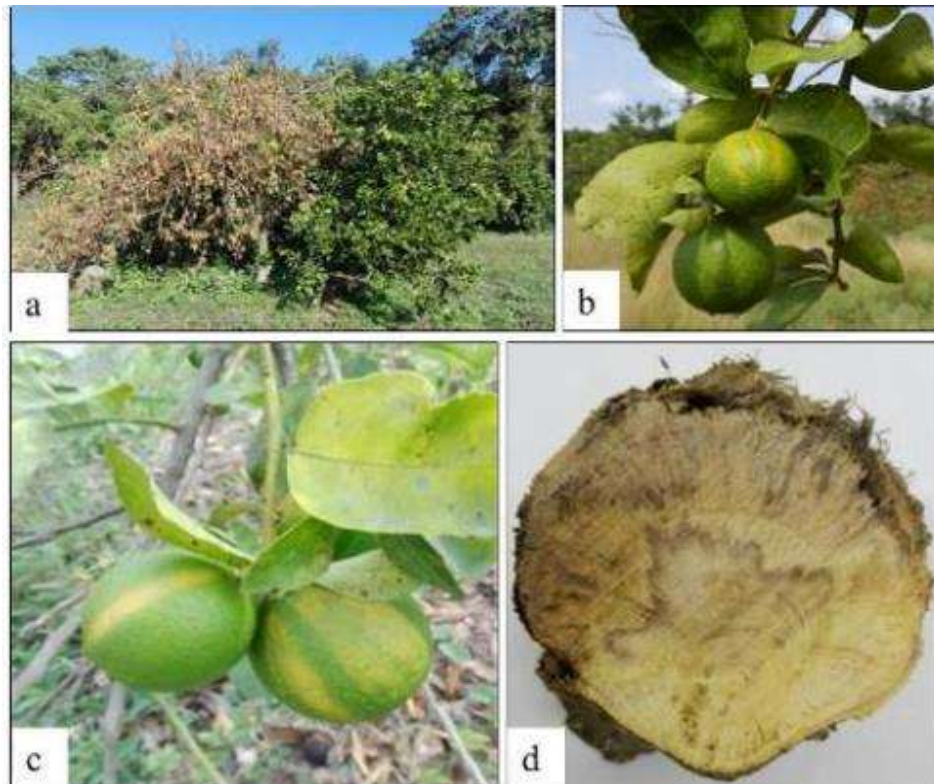


Foto: Lumey Pérez-Artiles

Figura 107. Síntomas semejantes a los relacionados con la fisiopatía wood pocket en lima ácida Tahití, en la región caribe colombiana. a. Árbol con secamiento sectorizado; b. Estado incipiente del variegado clorótico en frutos; c. Estado avanzado del variegado clorótico en frutos; d. Tronco con secamiento sectorizado.

En el departamento del Tolima, la fisiopatía y sus características están demarcadas por el deterioro y la muerte de los árboles de lima ácida Tahití, y son potenciadas por el mal manejo hídrico de los huertos, dadas las condiciones de alta demanda hídrica y baja capacidad de almacenamiento de los suelos.

Esta condición de constante déficit y el crecimiento de los huertos, es decir, el aumento del área foliar, implican el incremento de la demanda hídrica que no logra ser cumplida por la frecuencia de riego y la capacidad de almacenamiento del suelo. Como hipótesis funcional, se plantea que el sistema vascular colapsa a causa de la cavitación que ocasiona la ausencia de agua en el suelo, en horas en que la atmósfera tiene una alta demanda hídrica. En ese contexto, el necrosamiento es provocado por la ruptura de las traqueidas.

Es necesario considerar que los diagnósticos de algunos problemas abióticos requieren un cuidadoso análisis de las condiciones de la planta y del sitio de desarrollo, a través de un proceso de eliminación de factores, para determinar la fuente y el posible manejo del problema.

El seguimiento a la evolución de la fisiopatía en el huerto se hace con una escala cuantitativa detallada por rama (figura 108). Las ramas son categorizadas en el árbol, siendo 1 el tallo principal o tronco del árbol, y en adelante las ramas se numeran del 2 al 5, siendo 5 las ramas donde se desarrollan las flores y los frutos.

El seguimiento se hace cada quince días, cuantificando el número de ramas afectadas por categoría. De esta manera, se identifica el nivel de daño del árbol y, cuando el 75 % de las ramas del orden 3 están afectadas, se toma la decisión de podar. Las ramas de orden 4 y 5 pueden ser podadas sin restricción cuando estén afectadas, ya que los frutos deteriorados no son comercializables, y las ramas se regeneran con la brotación del siguiente ciclo.

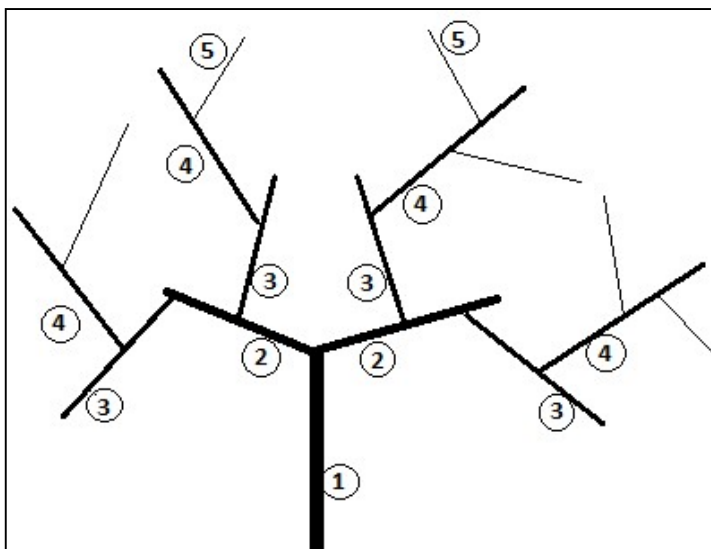


Ilustración: Liliana Ríos-Rojas

Figura 108. Estructura del árbol: orden de revisión de ramas para el análisis de la fisiopatía.

De forma experimental, se identificó que, ante los síntomas de la fisiopatía, la sanidad del cultivo mejora cuando está bien hidratado y nutrido. En los suelos del Tolima, el contenido de agua se debe mantener cercano a la capacidad de campo durante las horas de mayor radiación, para lo cual se deben hacer dos riegos al día: uno en la mañana, antes de la salida del sol, y un segundo riego, 7 horas después. El volumen de agua depende del tipo de suelo. Experimentalmente, se aplicaron 80 L/árbol en cada riego, es decir, 160 L/día/árbol.

En cuanto a la fertilización, depende del tipo de suelo, y es recomendable aplicar el 100 % del requerimiento que indica el balance nutricional entre el análisis del suelo y el correspondiente al tejido foliar. Estos análisis deben realizarse al inicio del ciclo, para proyectar la fórmula de fertilización.

Referencias

- Acosta-Pérez, J., Ortiz-García, C., Zaldívar-Cruz, J., Rodríguez-Cuevas, M., Bautista-Muñoz, C., & Castillo-Aguilar, D. (2012). Identificación del agente causal e importancia de la gomosis en la zona citrícola de Huimanguillo, Tabasco, México. *Universidad y Ciencia, Trópico Húmedo*, 28(3), 245-258.
- Afanador-Kafuri, L., Minz, D., Maymon, M., & Freeman, S. (2003). Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo, passiflora and mango in Colombia and identification of a unique species from genus. *Phytopathology*, 93(5), 579-587.
- Agostini, J., Gottwald, T., & Timmer, L. (1993). Temporal and spatial dynamics of postbloom fruit drop of citrus in Florida. *Phytopathology*, 83(5), 485-490.
- Agostini, J., & Timmer, L. (1992). Selective isolation procedures for differentiation of two strains of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. *Plant Disease*, 76, 1176-1178.
- Aguilera, V. (2016). Enfermedades fúngicas de los cítricos en Panamá. Estudio particular de la mancha grasienta causada por Mycosphaerellaceae (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.

- Ahmed, Y., D'Onghia, A., Ippolito, A., El Shimy, H., Cirvilleri, G., & Yaseen, T. (2012). *Phytophthora nicotianae* is the predominant *Phytophthora* species in citrus nurseries in Egypt. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(3), 519-527.
- Alanís-Martínez, I., Cora-Valencia, E., Robles-García, P., Silva-Rojas, H., & López-Buenfil, A. (2016). *Mancha sectorial* (Wood pocket) y Huanglongbing (HLB), reto para la producción de la lima persa en Morelos. XLIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, Sinaloa, México. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Iobana_Alanis.
- Almeyda-León, I., Iracheta-Cárdenas, M., Jasso-Argumedo, J., Curti-Díaz, S., Ruiz-Beltrán, P., & Rocha-Peña, M. (2000). Reexamination of citrus viroids of Tahiti lime in México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(2), 152-160.
- Álvarez, L. (2008). *Estudios de etiología, epidemiología y control de un nuevo síndrome de lesiones en tronco y ramas principales de cítricos asociado a Phytophthora* (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Amro, I., Mateos, J., Vega, M., Molina, R., & Katsaggelos, A. (2011). A survey of classical methods and new trends in pansharpening of multispectral images. *EURASIP. Journal on Advances in Signal Processing*, 2011(1), 79.
- Arias, E. (2012). *Enfermedades de los principales cultivos de Costa Rica, síntomas, desarrollo y manejo* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- Bar-Joseph, M., Marcus, R., & Lee, R. (1989). The continuous challenge of citrus tristeza virus control. *Annual Review of Phytopathology*, 27(1), 291-316.
- Bassanezi, R., Belasque, J., & Montesino, L. (2013). Frequency of symptomatic trees removal in small citrus blocks on citrus huanglongbing epidemics. *Crop Protection*, 52, 72-77.
- Bassanezi, R., Lopes, S., Belasque, J., Spósito, M., Yamamoto, P., Miranda, M., & Wulff, N. (2010). Epidemiologia do huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. *Citrus Research and Technology*, 31(1), 11-23.
- Belasque-Junior, J., Bergamin-Filho, A., Bassanezi, R., Barbosa, J., Gimenes-Fernandes, N., Yamamoto, P., ... & Massari, C. (2009). Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. *Tropical Plant Pathology*, 34(3), 137-145.

- Bernad, L., & Durán-Vila, N. (2006). A novel RT-PCR approach for detection and characterization of citrus viroids. *Molecular Cell Probes*, 20(2), 105-113.
- Bernad, L., Durán-Vila, N., & Elena, S. F. (2009). Effect of citrus hosts on the generation, maintenance and evolutionary fate of genetic variability of citrus exocortis viroid. *Journal of General Virology*, 90(8), 2040-2049.
- Bové, J. (2006). Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, 88(1), 7-37.
- Brent, K., & Hollomon, D. (1995). *Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?* (FRAC Monograph N.º 1) (2ª ed.). Bruselas, Bélgica: Fungicide Resistance Action Committee (FRAC).
- Cambra, M. (1983). Diagnóstico del virus de la tristeza (CTV) mediante la técnica ELISA: interés y aplicaciones. *Levante Agrícola*, 245, 11-17.
- Cambra, M., Gorris, M., Marroquín, C., Román, M., Olmos, A., Martínez, M., ... & Navarro, L. (2000). Incidence and epidemiology of *Citrus tristeza virus* in the Valencian Community of Spain. *Virus Research*, 71(1-2), 85-95.
- Cambra, M., Gorris, M., Olmos, A., Martínez, M., Román, M., Bertolini, E., ... & Carbonell, E. (2002). European Diagnostic Protocols (DIAGPRO) for *Citrus tristeza virus* in adult trees. En J. da Graça, R. Milne & L. W. Timmer (Eds.). *Proceedings of the 15th Conference of the International Organization of the IOCV* (pp. 69-77). Riverside, EE. UU: IOCV. Recuperado de www.iocv.org/proceedings.html.
- Cambra, M., & Moreno, P. (2000). Tristeza. En P. Moreno & N. Durán-Vila (Eds.). *Enfermedades de los cítricos* (pp. 77-81) (Monografía N.º 2). Madrid, España: Sociedad Española de Fitopatología.
- Campbell, C. (1991). Rootstocks for the "Tahiti" lime. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 104, 28-30.
- Castro, B., Timmer, L., Leguizamón, J., Müller, G., & Corrales, J. (2000). *Enfermedades de los cítricos en Colombia*. Bogotá, Colombia: Fondo Nacional de Fomento Hortifrutícola.
- Chaparro-Zambrano, H., Velásquez, H., & Orduz-Rodríguez, J. (2013). Influencia del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) en el comportamiento de la lima ácida Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre seis patrones en el piedemonte llanero de Colombia (1997-2008). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14(1), 33-38.

- Chien, C., Chiu, S., & Ku, S. (1989). Biological control of *Diaphorina citri* in Taiwan. *Fruits*, 44(7-8), 401-407.
- Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). (2016). *Protocolos de diagnóstico para plagas reglamentadas. PD 15: Virus de la tristeza de los cítricos* (Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias 27. Anexo 15). Roma, Italia: CIPF. Recuperado de https://www.ippc.int/static/media/files/publication/es/2017/02/DP_15_2016_Es_2017-01-31.pdf.
- Durán-Vila, N. (1989). Enfermedades producidas por viroides: la exocortis de los cítricos. *Phytoma*, 7, 19-25.
- Durán-Vila, N. (2000). Enfermedades producidas por viroides y agentes similares. En P. Moreno & N. Durán-Vila (Eds.). *Enfermedades de los cítricos* (pp. 87-92) (Monografía N.º 2). Madrid, España: Sociedad Española de Fitopatología.
- Durán-Vila, N. (2004). Enfermedades de cítricos causadas por viroides: exocortis y caquexia. *Vida rural*, 188, 52-56.
- Durán-Vila, N., Pina, J., Ballester, J., Juárez, J., Roistacher, C., Rivera-Bustamante, R., & Semancik, S. (1988). The citrus exocortis disease: a complex of viroid-RNAs. *Proceedings of the 10th Conference of the IOCV* (pp. 152-164). Riverside, EE. UU: IOCV.
- Drenth, A., & Guest, D. (2004). *Diversity and management of Phytophthora in southeast Asia* (Monograph N.º 114). Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
- Escobar, H., Murcia, N., & Martínez, M. (2013). Estudio del estado sanitario de la colección de trabajo de cítricos obtenidos por microinjerto frente al virus de la tristeza. *Memorias del XXXI Congreso Colombiano de Fitopatología*, 37(1), 70.
- Fagoaga, C., López, C., de Mendoza, A., Moreno, P., Navarro, L., Flores, R., & Peña, L. (2006). Post-transcriptional gene silencing of the p23 silencing suppressor of Citrus tristeza virus confers resistance to the virus in transgenic Mexican lime. *Plant Molecular Biology*, 60(2), 153-165.
- Fauvergue, X., & Quilici, S. (1991). Étude de certains paramètres de la biologie de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), ectoparasitoide primaire de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) vecteur du greening des agrumes. *Fruits*, 46, 179-185.

- Fawcett, H., & Calavan, E. (1948). Wood pocket: may be result of virus or toxin in parent tree in certain strain of Lisbon lemon. *California Agriculture*, 2(9), 12-15.
- Figueroa, J., Foguet, L., Figueroa-Castellanos, A., & Stein, B. (2009). Biological characterization of Citrus tristeza virus strains in lemon in Tucumán, Argentina. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, 86(1), 37-41.
- Futch, S., Weingarten, S., & Irely, M. (2009). Determining HLB infection levels using multiple survey methods in Florida citrus. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 122, 152-157.
- Galindo, M., Contreras, C., González, R., Mata, F., & Olvera, L. (2009). Caracterización ecobiogeográfica del psílido *Diaphorina citri* Kuwayama vector del Huanglongbing que afecta la citricultura mexicana apoyados en SIG y sensores de alta resolución. *Entomología Mexicana*, 8, 625-630.
- Garnier, M., Zreik, L., & Bové, J. (1991). Witches' broom, a lethal mycoplasmal disease of lime trees in the sultanate of Oman and the United Arab Emirates. *Plant Disease*, 75(6), 546-551.
- Garnsey, S., Barrett, H., & Hutchison, D. (1987). Identification of citrus tristeza virus resistance in Citrus relatives and its potential applications. *Phytophylactica*, 19(2), 187-192.
- Gasparoto, M., Lourenço, S., Tanaka, F., Spósito, M., Marchini, L., Silva-Junior, G., & Amorim, L. (2017). Honeybees can spread *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* among citrus plants. *Plant Pathology*, 66(5), 777-782.
- Graham, J., Dewdney, M., & Johnson, E. (2009). *Florida Citrus Production Guide: Phytophthora Foot Rot and Root Rot*. Vero Beach, EE. UU.: Universidad de Florida.
- Graham, J., & Menge, J. (2000). *Phytophthora*-induced diseases. En L. Timmer, S. Garnsey & J. Graham (Eds.). *Compendium of citrus diseases* (2.ª ed., pp. 12-15). St. Paul, EE. UU.: American Phytopathological Society (APS).
- Griffith, J., Davis, A., & Grant, B. (1992). Target sites of fungicides to control oomycetes. En W. Köller (Ed.). *Target sites of fungicide action* (pp. 69-100). Boca Ratón, EE. UU.: CRC Press.
- Guest, D. (1984). The influence of cultural factors on the direct anti-fungal activities of fosetyl-Al, propamocarb, metalaxyl, SN 75196 and Dowco 444. *Journal of Phytopathology*, 111(2), 155-164.

- Guest, D. (1986). Evidence from light microscopy of living tissues that fosetyl-Al modifies the defence response in tobacco seedlings following inoculation by *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 29(2), 251-261.
- Halbert, S., & Manjunath, K. (2004). Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist*, 87(3), 330-353.
- Hocquellet, A., Toorawa, P., Bové, J., & Garnier, M. (1999). Detection and identification of the two *Candidatus Liberobacter* species associated with citrus huanglongbing by PCR amplification of ribosomal protein genes of the β operon. *Molecular and Cellular Probes*, 13(5), 373-379.
- Hutchison, D. (1974). Swingle citrumelo: a promising rootstock hybrid. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 87, 89-91.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2011). *Muestreo fitosanitario de los cítricos en el Tolima* (Informe de actividades. Semestre B de 2011). Ibagué, Colombia: ICA.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2015). *Resolución 2390 de 2015, por medio de la cual se declara el estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de adultos de Diaphorina citri infectados con la bacteria de la enfermedad del HLB de los cítricos*. Bogotá, Colombia: autor. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/Normatividad/Normas-Ica/Resoluciones-Oficinas-Nacionales/RESOLUCIONES-DEROGADAS/Res-2390-de-2015.aspx>.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2017). *Resolución 7109 de 2017, por medio de la cual se declara el estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de la enfermedad conocida como Huanglongbing (HLB) de los cítricos*. Bogotá, Colombia: autor. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/getattachment/13aec80-7a8a-4e9f-b209-4b11d0fccc1b/2017R7109.aspx>.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2018). Resolución 19680 de 2018, por medio de la cual se declara en cuarentena fitosanitaria el departamento de Norte de Santander, por la presencia de la plaga denominada Huanglongbing (HLB) de los cítricos. Bogotá, Colombia: autor. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/getattachment/13aec80-7a8a-4e9f-b209-4b11d0fccc1b/2017R7109.aspx>.

- Jagoueix, S., Bové, J., & Garnier, M. (1996). PCR detection of the two *Candidatus Liberobacter* species associated with greening disease of citrus. *Molecular and Cellular Probes*, 10(1), 43-50.
- Kennelly, M., O'Mara, J., Rivard, C., Miller, G., & Smith, D. (2012). Introduction to abiotic disorders in plants. En *The Plant Health Instructor*. St. Paul, EE. UU.: APS. Recuperado de <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/abiotic/intro/Pages/Abiotic.aspx>.
- Keremane, M., Ramadugu, C., Rodriguez, E., Kubota, R., Shibata, S., Hall, D., ... & Lee, R. (2015). A rapid field detection system for citrus huanglongbing associated "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" from the psyllid vector, *Diaphorina citri* Kuwayama and its implications in disease management. *Crop Protection*, 68, 41-48.
- Knorr, L. C., Suit, R. F., & DuCharme, E. P. (1957). *Handbook of citrus diseases in Florida* (Agricultural Experiment Station Bulletin N.º 587). Gainesville, EE. UU.: Universidad de Florida.
- Lee, R., & Bar-Joseph, M. (2000). Tristeza. En L. Timmer, S. Garnsey & J. Graham (Eds.). *Compendium of citrus diseases* (2.ª ed., pp. 61-63). St. Paul, EE. UU.: APS.
- León, M., & Kondo, T. (2017). *Insectos y ácaros de los cítricos: compendio ilustrado de especies dañinas y benéficas, con técnicas para el manejo integrado de plagas*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Li, X., Lee, W., Li, M., Ehsani, R., Mishra, A., Yang, C., & Mangan, R. (2015). Feasibility study on Huanglongbing (citrus greening) detection based on WorldView-2 satellite imagery. *Biosystems Engineering*, 132, 28-38.
- Luis, M., Peña, M., Collazo, C., Ramos, P., & Llauger, R. (2010). *Enfermedades bacterianas y fungosas en viveros de cítricos: características y control*. Taller regional sobre viveros de cítricos, Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical, La Habana, Cuba.
- Mann, R., Tiwari, J., Smoot, L., Rouseff, R., & Stelinski, L. (2012). Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Applied Entomology*, 136(1-2), 87-96.

- Martínez, M., Gómez, P., Ramos, P., Ortiz, V., & Murcia, N. (2015). *Biological detection of the citrus Exocortis viroid (CEVd) at Citrus Nurseries from four regions of Colombia*. XXXII Congreso Colombiano de Fitopatología y I Simposio Internacional de *Fusarium*, Cajicá, Colombia.
- Martínez, E., Hío, J., Osorio, J., & Torres, M. (2009) Identification of *Colletotrichum* species causing anthracnose on Tahiti lime, tree tomato and mango. *Agronomía Colombiana*, 27(2), 211-218.
- Mendt, R., Ochoa, F., Villalba, L., Uhlig, H., Pérez, G., Cedeño, A., & Barreto, T. (1988). Evaluation of citrus tristeza virus tolerant rootstocks grafted with Valencia orange in Venezuela. *Proceedings of the 10th Conference of the IOCV* (pp. 107-112). Riverside, EE. UU.: IOCV.
- Mestre, P., Asins, M., Carbonell, E., & Navarro, L. (1997). New gene(s) involved in the resistance of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. to Citrus Tristeza Virus. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(4), 691-695.
- Moreno, P., & Ambrós, S. (2011). Bases para el control de las enfermedades causadas por el virus de la tristeza de los cítricos. *Vida Rural*, 30-35. Recuperado de http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Vrural%2FVrural_2011_335_30_35.pdf.
- Moreno, P., Ambrós, S., Albiach-Martí, M., Guerri, J., & Peña, L. (2008). Citrus tristeza virus: a pathogen that changed the course of the citrus industry. *Molecular Plant Pathology*, 9(2), 251-268.
- Mühlbach, H., Weber, U., Gómez, G., Pallás, V., Durán-Vila, N., & Hadidi, A. (2003). Molecular hybridization. En A. Hadidi, R. Flores, J. Randles & J. Semancik (Eds.). *Viroids* (pp. 103-114). Canberra, Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO).
- Murcia, N. (2009). Detección y caracterización agronómica de viroides de cítricos. Identificación y caracterización molecular y biológica de variantes del viroide del enanismo de los cítricos CDVd (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Murcia, N., Bani-Hashemian, S., Bederski, K., Wulff, N., Barbosa, C., Bové, J., & Durán-Vila, V. (2010). Viroids in Tahiti lime scions showing bark cracking symptoms. *Proceedings of the 17th Conference of the IOCV* (pp. 167-175). Riverside, EE. UU: IOCV.

- Murcia, N., Bernad, L., Caicedo, A., & Durán-Vila, N. (2010). Citrus Viroids in Colombia. *Proceedings of the 17th Conference of the IOCV* (pp. 158-166). Riverside, EE. UU: IOCV.
- Murcia, N., Caicedo, A., Calvert, L., Sánchez, M., Dávila, G., Domínguez, A., & Martínez, H. (2005). Caracterización de diez aislamientos colombianos del virus de la tristeza de los cítricos. *Fitopatología Colombiana*, 28(1), 31-36.
- Murcia, N., Osorio, J., Caicedo, A., Morales, F., & Calvert, L. (2002). Distribución y caracterización serológica de aislamientos del virus de la tristeza de los cítricos en Colombia. *Fitopatología Colombiana*, 26(1), 21-26.
- Murcia, N., Ríos, D., Caicedo, A., Martínez, M., & Corrales, D. (2012). Importancia del programa de certificación como medida para controlar la calidad sanitaria y varietal de los cítricos en Colombia (Plegable divulgativo). Palmira, Colombia: Corpoica.
- Murcia, N., Serra, P., Olmos, A., & Durán-Vila, N. (2009). A novel hybridization approach for detection of citrus viroids. *Molecular and Cellular Probes*, 23(2), 95-102.
- Naqvi, S. (2003). *Production of Phytophthora-free nursery-stock mandatory to avert decline and death of citrus plants in India*. Souvenir and abstracts of national symposium on plant pathogens diversity in relation to plant health, Hyderabad, India.
- Naranjo, M. (1997a). Reseña bibliográfica sobre la enfermedad tristeza de los cítricos. *Levante Agrícola: Revista Internacional de Cítricos*, 340, 227-240.
- Naranjo, M. (1997b). Reseña bibliográfica sobre la enfermedad tristeza de los cítricos. II. Diversidad de razas de virus, caracterización, formas de transmisión, diagnóstico y estrategias de control. *Levante Agrícola: Revista Internacional de Cítricos*, 341, 355-368.
- North American Plant Protection Organization (NAPPO). (2012). *Protocolos de diagnósticos de la NAPPO: Huanlongbing de los cítricos*. Ottawa, Canadá: NAPPO. Recuperado de https://nappo.org/files/6614/4043/0498/DP_2_HLB_04-10-2012-s.pdf.
- Ordúz-Rodríguez, J., & Mateus, D. (2012). Generalidades de los cítricos y recomendaciones agronómicas para su cultivo en Colombia. En C. P. Pássaro-Carvalho (Ed.). *Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización* (pp. 49-88). Caldas, Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.

- Orozco-Santos, M. (1995). *Enfermedades presentes y potenciales de los cítricos en México*. Chapingo, México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Orozco-Santos, M. (2006). *Patogenicidad, variabilidad morfológica y genética de Colletotrichum acutatum Simmonds de cítricos en México* (Tesis doctoral). Universidad de Colima, Colima, México.
- Osorio, J. (2008). Dinámica de fuentes de inóculo y análisis de la estructura de las poblaciones de los agentes causales de antracnosis en especies de frutales promisorios (Informe final de proyecto de COLCIENCIAS). Bogotá, Colombia: Corpoica.
- Ospina, C., & Osorio, J. (2005). Caracterización de poblaciones del género *Colletotrichum* causante de la antracnosis de los cítricos. *Fitopatología Colombiana*, 29(1), 15-22.
- Parra, J., Lopes, J., Torres, M., Nava, D., & Paiva, P. (2010). Bioecología do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. *Citrus Research & Technology*, 31(1), 37-51.
- 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(5), 1531-1541.
- Peres, N., MacKenzie, S., Peever, T., & Timmer, L. (2008). Postbloom fruit drop of citrus and key lime anthracnose are caused by distinct phylogenetic lineages of *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology*, 98(3), 345-352.
- Peres, N., Timmer, L., Adaskaveg, J., & Correll, J. C. (2005). Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease*, 89(8), 784-796.
- Pethybridge, S., Hay, F., Barbara, D., Eastwell, K., & Willson, C. (2008). Viruses and viroids infecting hop: significance, epidemiology, and management. *Plant Disease*, 92(3), 324-338.
- Phung, M., Pongnak, W., Soyong, K., & Poeaim, S. (2015). Identifications of *Phytophthora* spp. causing citrus root rots in Thailand. *Journal of Agricultural Technology*, 11(8), 1897-1910.
- Pina, J., Durán-Vila, N., & Navarro, L. (1991). Interference of citrus viroids with cachexia symptoms on Parson's special mandarin. En *Proceedings of the 11th Conference of the IOCV* (pp. 206-208). Riverside, EE. UU.: IOCV.

- Quiroga-Cardona, J., Hernández-Parrado, F., Silva-Herrera, M., & Orduz-Rodríguez, J. (2010). Comportamiento de la producción de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka), injertada sobre el patrón de mandarina Cleopatra (*Citrus reticulata* Blanco) y la influencia del virus de la tristeza (CTV) en condiciones del piedemonte del Meta, 1997-2008. *Orinoquia*, 14(1), 1-11.
- Reyes, A., Osorio, J., Martínez, E., & Hío, J. (2007). Estudio de la relación fenológica reproductiva y el comportamiento de las infecciones latentes de *Colletotrichum acutatum* en tomate de árbol. *Fitopatología Colombiana*, 31(2), 37-42.
- Rico, J. (1982). *El "miriñaque" del limonero y los portainjertos*. Madrid, España: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Rocha-Peña, M., Lee, R., Lastra, R., Niblett, C., Ochoa, F., Garnsey, S., & Yokomi, R. (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(5), 437-445.
- Rodríguez-Mora, D., Palacios, L., Martínez, M., & Murcia, N. (2017). *Colección de variedades de cítricos libres de Tristeza, Exocortis y Huanglongbing*. En V Simposio Internacional de Fruticultura Tropical y Subtropical y IX Simposio Internacional de Piña, La Habana, Cuba.
- Rodríguez, P., Romero, G., & Guzmán, M. (2009). Detección del virus de la tristeza de los cítricos por serología, microscopía e hibridación *in situ*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1), 94-106.
- Roistacher, C. (1991). *Graft-transmissible diseases of citrus: handbook for detection and diagnosis*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO). Recuperado de https://ia800205.us.archive.org/11/items/bub_gb_9zY1uFGchAgC/bub_gb_9zY1uFGchAgC.pdf.
- Roistacher, C. (1998). Indexing for viruses in citrus. En A. Hadidi, R. Khetarpal & H. Koganezawa (Eds.). *Plant Virus Disease Control* (pp. 301-319). St. Paul, EE. UU.: APS.
- Roistacher, C., Calavan, E., Blue, R., Navarro, L., & Gonzales, R. (1977). A new more sensitive citron indicator for the detection of mild isolates of citrus exocortis viroid (CEVD). *Plant Disease Reporter*, 61, 135-139.

- Roose, M. L. (2014). Rootstocks. En L. Ferguson & E. Grafton-Cardwell (Eds.). *Citrus Production Manual* (pp. 95-105). Oakland, EE. UU.: Universidad de California.
- Ruehle, G. D. (1943). A new disease of Persian (Tahiti) lime transmitted through budwood. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 56, 126-128.
- Sanabria, A., Mahuku, G., Kelemu, S., Cadavid, M., García, C., Hío, J., ... & Osorio, J. (2010). Identificación y caracterización molecular de *Colletotrichum* sp. aislados de lima Tahití, tomate de árbol y mango. *Agronomía Colombiana*, 28(3), 391-399.
- Sanches-Stuchi, E. (2007). Trifoliata Flying Dragon: um excelente porta-enxerto para limão Tahiti. En *Memória Congresso Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro* (pp. 8-10). Bebedouro, Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).
- Savita, G., & Avinash, N. (2012) Citrus diseases caused by *Phytophthora* species. *GERF Bulletin of Biosciences*, 3(1), 18-27.
- Soler, J., Robles, J., & Gómez-Arnau, J. (1997). Aliette: protección de las enfermedades de los frutos cítricos. *Phytohemeroteca*, 90, 55-58.
- Takushi, T., Toyozato, T., Kawano, S., Taba, S., Taba, K., Ooshiro, A., ... & Tokeshi, M. (2007). Scratch method for simple, rapid diagnosis of citrus huanglongbing using iodine to detect high accumulation of starch in the citrus leaves. *Japanese Journal of Phytopathology*, 73(1), 3-8.
- Teixeira, D., Ayres, J., Kitajima, E., Danet, L., Jagoueix, S., Saillard, C., & Bové, J. (2005). First report of a huanglongbing-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil and association of a new Liberibacter species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. *Plant Disease*, 89(1), 107.
- Teixeira, D., Saillard, C., Couture, C., Martins, E., Wulff, N., Jagoueix, S., ... & Bové, J. (2008). Distribution and quantification of *Candidatus Liberibacter americanus*, agent of huanglongbing disease of citrus in São Paulo state, Brazil, in leaves of an affected sweet orange tree as determined by PCR. *Molecular and Cellular Probes*, 22(3), 139-150.
- Timmer, L. (2000). Lime anthracnose. En L. Timmer, S. Garnsey & J. Graham (Eds.). *Compendium of citrus diseases* (2.ª ed., pp. 22-23). St. Paul, EE. UU.: APS.

- Timmer, L., & Brown, G. (2000). Biology and control of anthracnose diseases of citrus. En D. Prusky, S. Freeman & M. Dickman (Eds.). *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction* (pp. 300-316). St. Paul, EE. UU.: APS.
- Timmer, L., Brown, G., & Zitko, S. (1998). The role of *Colletotrichum* spp. in postharvest anthracnose of citrus and survival of *C. acutatum* on fruit. *Plant Disease*, 82(4), 415-418.
- Timmer, L., Garnsey, S., & Graham, J. (2000). *Compendium of citrus diseases* (2.^a ed.). St. Paul, EE. UU.: APS.
- Timmer, L., & Menge, J. (2000). *Phytophthora* induced diseases. En L. Timmer, S. Garnsey & J. Graham (Eds.). *Compendium of citrus diseases* (2^a ed., pp. 23-24). St. Paul, EE. UU.: APS.
- Timmer, L., Mondal, S., Peres, N., & Bhatia, A. (2004). Fungal diseases of fruit and foliage of citrus trees. En S. Naqvi (Ed.). *Diseases of fruits and vegetables* (Vol. I, pp. 191-227). Dordrecht, Países Bajos: Springer.
- Timmer, L., & Zitko, S. (1992). Timing of fungicide applications for control of postbloom fruit drop citrus in Florida. *Plant Disease*, 76(8), 820-823.
- Timmer, L., & Zitko, S. (1993). Relationships of environmental factors and inoculum levels to the incidence of postbloom fruit drop of citrus. *Plant Disease*, 77(5), 501-504.
- Timmer, L., & Zitko, S. (1995). Evaluation of nutritional products and fungicides for control of citrus greasy spot. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 108, 83-87.
- Tsai, J., & Liu, Y. (2000). Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. *Journal of Economic Entomology*, 93(6), 1721-1725.
- Tsai, J., Wang, J., & Liu, Y. (2002). Seasonal abundance of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. *Florida Entomologist*, 85(3), 446-451.
- Vicent, A., Botella-Rocamora, P., López-Quílez, A., De la Roca, E., Bascón, J., & García-Jiménez, J. (2012). Relationships between agronomic factors and epidemics of *Phytophthora* branch canker of citrus in southwestern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 133(3), 577-584.
- Villalba, D. (2001). *Patrones y variedades de cítricos*. Valencia, España: Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación.

- Yamamoto, P., Alves, G., & Beloti, V. (2015). Manejo e controle do Huanglongbing (HLB) dos cítricos. *Investigación Agraria*, 16(2), 69-82.
- Yasenn, T., Schena, L., Nigro, F., & Ippolito, A. (2010). *Phytophthora citrophthora* is the predominant *Phytophthora* species in Syrian citrus groves. *Phytopathologia Mediterranea*, 49(2), 205-211.
- Zulfiqar, M., Brlansky, R., & Timmer, L. (1996). Infection of flower and vegetative tissues of citrus by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides*. *Mycologia*, 88(1), 121-128.