

ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA

OIRSA

**México, Belice, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica,
República Dominicana y Panamá.**



PLAN REGIONAL DE CONTINGENCIA PARA LA PREVENCIÓN Y CONTENCIÓN DEL HUANGLONGBING O GREENING DE LOS CÍTRICOS EN LOS PAÍSES MIEMBROS DE OIRSA.



Elaborado por la Ing. Gisela Tapia de OIRSA y el fitopatólogo Ing. Eduardo Esquivel Ríos (Consultor).

La primera edición contó con la participación de la Ing. Enelvia Rujano e Ing. Gaspar Reigosa de la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal del MIDA.

Este Plan de Contingencia ha sido consensuado con la Network Regional de Apoyo Fitosanitario de la Cadena de Cítricos y reforzado con la asistencia técnica del USDA/APHIS en Florida, FUNDECITRUS de Brasil, el INRA de Francia y Southern Gardens USSC, EEUU.

CUARTA EDICIÓN.

4 de Julio de 2009.

CONTENIDO

I.	INFORMACIÓN GENERAL.....	6
1.1	Resumen Ejecutivo.....	6
1.2	Objetivos del Plan.....	7
1.3	-Aclaraciones.....	7
1.4	-Contactos Principales.....	7
II.	MEDIDAS DE PREVENCIÓN.....	8
III.	PROCEDIMIENTOS DE IDENTIFICACIÓN.....	8
3.1	- Hallazgo Inicial de un Evento Sospechoso.....	8
3.1.1	- Insectos Vectores.....	9
3.1.1.1	- Detección de Insectos Vectores.....	9
3.1.1.2	- Diagnóstico Preliminar Insectos Vectores.....	9
3.1.1.3	- Confirmación Diagnóstico Insectos Vectores.....	9
3.2.2	- Bacteria asociada el Huanglongbing (HLB).....	10
3.2.2.1	- Detección del HLB.....	10
3.2.2.2	- Diagnóstico Preliminar del HLB.....	11
3.2.2.3	- Confirmación del Diagnóstico de HLB.....	12
IV.	FACTIBILIDAD TÉCNICA Y ECONÓMICA.....	12
4.1	- Factibilidad Técnica y Económica de Erradicación del HLB y su vector.....	13
4.2	- Factibilidad Técnica y Económica de un Programa Alternativo a la Erradicación.....	14
V.	PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS.....	15
5.1	- Marco Legal Sobre Emergencias Fitosanitarias.....	15
5.2	- Acciones a Reglamentar.....	15
5.3	- Evaluación del Cumplimiento.....	16
VI.	ORGANIZACIÓN PARA LA EJECUCIÓN.....	16
6.1	- Activación de la Emergencia.....	17

6.2 - Procedimientos para la Evaluación Preliminar.....	17
Encuesta de Delimitación del HLB.....	17
6.3 - Respuestas Operacionales según Evaluación.....	18
6.4 - Implementación de un Plan de Emergencia.....	18
6.5 - Capacitación.....	19
6.6 - Registros de datos (base de datos) e Informes.....	19
6.7 - Supervisión y Control de Calidad.....	19
6.8 - Decisiones Posteriores a la Emergencia.....	20
6.9 - Simulacro.....	20
VII. COMUNICACIÓN Y DIVULGACIÓN.....	20
7.1 -Normas de la CIPF.....	20
7.2 -Estrategias de Comunicación y Divulgación.....	20
7.3 -Especificación de Contenidos para Notificaciones Públicas.....	21
7.4 -Procedimientos de Notificación a Afectados Individuales.....	21
VIII. RELACIONES DE COOPERACIÓN Y COORDINACIÓN.....	21
Coordinación con otras Instituciones y Organizaciones.....	21
IX. PROCEDIMIENTO DE ENCUESTAS.....	22
9.1 - Tipo de Encuestas.....	22
9.2 -Plan para la Implementación de las Encuestas.....	23
9.3 -Recopilación y Procesamiento información de la Vigilancia.....	23
9.4 -Recomendaciones Generales sobre la Vigilancia.....	23
X. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL.....	24
10.1 - Estrategias y Técnicas de Control.....	24
10.2 -Factibilidad Técnica de las Estrategias de Control.....	25

XI. EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE EMERGENCIA.....	25
XII. FINANCIAMIENTO.....	25
XIII. ANEXOS.	
Anexo 1.	
Modelo de Norma Legal.....	27
Anexo 2.	
Lista de países donde ha sido reportado el Huanglongbing.....	30
Anexo 3.	
Plantas reportadas como Hospedantes del HLB.....	32
Anexo 4.	
Ficha Técnica de la bacteria asociada al Huanglongbing.....	33
Anexo 5.	
Ficha Técnica de los Insectos Vectores del HLB.....	56
Anexo 6.	
Esquema para Determinar la Probabilidad de la Presencia del HLB en base a la Sintomatología.....	72
Anexo 7.	
Prueba preliminar de Campo para Selección de Muestras para Diagnóstico por PCR de Huanglongbing (Prueba Yodo-Almidón).....	73
Anexo 8.	
Procedimiento para la Colecta, Preparación y Envío de las Muestras Vegetales para el Diagnóstico del HLB.....	76
Modelo de Formato para prospección del HLB.....	77
Anexo 9	
Organizaciones con Capacidad de Diagnóstico del HLB y del Vector.....	78
Anexo 10	
Procedimientos para la Prospección del HLB y sus vectores.....	80

Anexo 11

Metodología para la Prospección del HLB.....	86
--	----

Anexo 12

Glosario.....	89
---------------	----

Anexo 13

Literatura Consultada.....	103
----------------------------	-----

PLAN REGIONAL DE CONTINGENCIA PARA LA PREVENCIÓN Y CONTENCIÓN DEL HUANGLONGBING O GREENING DE LOS CÍTRICOS EN LOS PAÍSES MIEMBROS DE OIRSA.

I. INFORMACIÓN GENERAL.

1.1 RESUMEN EJECUTIVO.

El cítrico es un cultivo de importancia en los países miembros de OIRSA, en los que se cultivan cerca de 700,000 mil hectáreas equivalentes aproximadamente a 210 millones de árboles. Una de las enfermedades más devastadoras de los cítricos es el Huanglongbing (HLB), asociada a una bacteria y un insecto vector. En América, esta enfermedad, que es de origen asiático, ya ha sido reportada oficialmente en República Dominicana y en Belize (países miembros de OIRSA), así como, en Florida, Louisiana y Carolina del Sur en EEUU, Cuba y Brasil. A nivel mundial, la enfermedad es de gran impacto económico ya que los tres países que ostentan las mayores producciones mundiales de cítricos (China, Brasil y EEUU) tienen esta enfermedad. En Florida, las pérdidas por HLB en una sola finca (Southern Garden) ha sido de 8 millones de dólares y se calcula en forma general han ascendido a 9.3 billones de dólares.

El principal insecto vector, en esta Región, es el psílido *Diaphorina citri*, el cual se encuentra presente en la Región de OIRSA, así como, en Norte y Sur América. El HLB se transmite también por injerto.

Este documento identifica las acciones que se deben tomar para prevenir la introducción o para el control de esta enfermedad y pretende servir como un valioso y práctico instrumento de guía y consulta para los países miembros de OIRSA. En el Plan de Contingencia, se establecen los parámetros para el control del HLB o sea la metodología básica de lo que se debe hacer para prevenir y/o controlarla. Esta información se incluye de una manera básica y referencial, debido a que las medidas a tomarse en cada país dependerán de los recursos humanos, logísticos y las normas legales nacionales.

El Control del HLB está basado en 4 principios fundamentales: 1) prospección exhaustiva de la bacteria y vector, 2) eliminación del inóculo de infección al remover o cortar a nivel del suelo la planta enferma, 3) control químico del insecto vector y 4) reemplazo de la planta infectada por una planta nueva procedente de viveros certificados y cubiertos con malla antiáfidos. Con esta metodología Brasil ha logrado bajar la incidencia de HLB a 0.5 %.

Este documento contiene las fichas técnicas de la bacteria y del insecto vector. Ambas, actualizando la información científica más reciente recibida en gira a Florida con USDA/APHIS. Reforzado en 2009 con FUNDECITRUS de Brasil e INRA de Francia. Contiene además la lista de países donde se encuentra HLB, lista de plantas hospedantes del HLB y vector, metodologías para identificar la bacteria y el vector, procedimientos para las prospecciones de bacteria y vector, prueba del Yodo-Almidón para el diagnóstico de la bacteria en el campo, cómo coleccionar y enviar muestras al laboratorio, lista de Instituciones/países con capacidad de diagnóstico por PCR (laboratorios de

referencias), modelo de Resuelto ministerial, temas capacitación (Fundecitrus-Brasil e INRA-Francia) y estrategia para el control del HLB. El documento incluye un Anexo de cerca de 200 referencias bibliograficas, que será una referencia útil para consultas mas especificas.

En reunión del Comité Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (CIRSA) llevado a cabo el 21 de mayo de 2009 en República Dominicana, los nueve Ministros de Agricultura de la Región de OIRSA, emitieron la Resolución # 8, declarando al Huanglongbing Emergencia Regional, adoptando este Plan de Contingencia y apoyando la prospección inmediata del HLB, en cada país de la Región de OIRSA.

Contar con un programa nacional de certificación de viveros de cítricos en cada país, evitará enfermedades transmisibles por injerto, como el HLB.

1.2 -Objetivos del Plan.

Disponer de un Plan de Contingencia que contemple las medidas fitosanitarias de prevención (para los países que estén libres del HLB) y la estrategia de control para los países que detecten la enfermedad.

1.3 –Aclaraciones.

Las Metodologías y Procedimientos propuestos en este Plan de Contingencia se describen en términos generales, debido a que el HLB es un patógeno exclusivo de los cítricos y su importancia en cada país va a depender de la importancia de su citricultura, variedades cultivadas, presencia de vectores y clima, entre otros factores socioeconómicos. Adicionalmente, las metodologías y procedimientos están planteados para que puedan ser considerados como una guía o directriz de referencia por cualquiera de los países miembros de OIRSA, los cuales tienen diferentes sistemas administrativos en el sector fitosanitario y normas legales propias.

Este Plan de Contingencia no se ha concebido con el carácter de un procedimiento rígido que no admita modificaciones. El mismo puede ser modificado según las condiciones de cada país y las nuevas investigaciones que surjan con respecto a esta enfermedad, la cual es reciente en América.

1.4 -Contactos Principales.

Para notificación a OIRSA de brotes de HLB:

Dirección Técnica de Sanidad Vegetal

Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA)

Calle Ramón Belloso y Final Pasaje Isolde, Colonia Escalon, San Salvador, El Salvador. Centro América.

Correo Electrónico: dtsv@oirsa.org

Página Web de OIRSA: www.oirsa.org

1.5 PROGRAMA DE SEGURIDAD.

En la fase del Plan de Contingencia en caso de que la bacteria se detecte, el insecto vector debe ser controlado. Este control debe realizarse con insecticidas sistémicos y de contacto, el cual implica aplicaciones de insecticidas de diversas clases.

En estos casos, la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) del país, tomará las medidas de seguridad para la aplicación de insecticidas recomendados, uso correcto de equipos de aplicación y equipos profesionales de seguridad personal, según las normativas establecidas.

En los países libres de HLB y en las áreas libres se recomienda suprimir las poblaciones del vector utilizando control biológico, de manera que estas poblaciones insectiles se encuentren en niveles controlados cuando se detecte el Huanglongbing o Greening de los cítricos.

II. MEDIDAS CUARENTENARIAS DE PREVENCIÓN.

El Plan de Contingencia está basado en los principios de epidemiología básica de prevención, ya sea para evitar la entrada de la plaga al país o para evitar que el árbol enfermo infecte al árbol sano. En el caso del HLB, por tratarse de una enfermedad que se trasmite por medio de insectos vectores, por material vegetativo e injertos, las medidas preventivas están orientadas a impedir la introducción o importación de los materiales vegetativos o plantas que puedan representar riesgo de estar infectadas con la bacteria.

Entre las principales medidas preventivas en el caso del HLB, tenemos:

--No introducir plántones, material vegetativo, semillas de cítricos, procedentes de países con HLB. Ver países con HLB en el **Anexo 2**.

--No introducir plántones, material vegetativo, semillas de cítricos u otras plantas Rutáceas hospedantes de HLB. Ver lista de hospedantes de HLB. **Anexo 3**.

--Colocar en los puertos, aeropuertos y fronteras plantas trampa como *Murraya paniculata* (Mirto o limonaria o jazmín), *Swinglea glutinosa* (limoncillo) y trampas para psílidos (láminas amarillas o verdes con pegamento). Ver fotos de las plantas y trampas en la Ficha técnica del vector. **Anexo 5**.

-- Mantener actualizados a los Inspectores de Cuarentena Agropecuaria, mediante capacitación en servicio, sobre la enfermedad y sus vectores.

III. PROCEDIMIENTOS DE IDENTIFICACIÓN.

3.1- Hallazgo inicial de un evento sospechoso.

3.1.1-Insectos Vectores.

En este caso, el procedimiento es más complejo que tratándose de una simple plaga, ya que se trata de un complejo insecto vector-patógeno, en que el vector puede estar presente en el país aunque el patógeno no lo esté, o en caso extremo que los dos estén presentes. Por esta razón, los procedimientos de identificación del vector, se tratan por separado de los del patógeno.

3.1.1.1 – Detección de Insectos Vectores.

El Plan de Contingencia sugiere que en los países miembros de OIRSA se active la vigilancia general y las encuestas fitosanitarias específicas de detección de los vectores *Diaphorina citri* y *Trioza erytreae* bajo la coordinación de la ONPF. Estos vectores se deben buscar en los tejidos meristemáticos tiernos o retoños de las plantas, en las principales plantaciones de cítricos, así como, en plantas de traspato y plantas hospedantes Rutáceas, con énfasis en *Murraya paniculata* (mirto o limonaria o jazmín) y *Swinglea glutinosa* (limoncillo).

La detección de vectores se puede realizar simultáneamente con la detección de síntomas de la bacteria (HLB). La descripción detallada de vectores y el HLB se puede encontrar en las Fichas Técnicas de la Bacteria y el Vector en los **Anexos 4 y 5, respectivamente**. En caso en que se requiera la identificación de vectores en los laboratorios de la ONPF o se tenga interés de someterlos a la técnica de PCR para conocer si los insectos vectores están infectados con la bacteria, los técnicos deberán tomar muestras de los especímenes y colocarlos en viales con alcohol al 70% y dentro del vial una etiqueta con código escrito con lápiz o tinta a prueba de alcohol que corresponderá a la identificación de la muestra. La muestra debe ir acompañada de la hoja de Encuesta de Detección Fitosanitaria que utiliza rutinariamente la ONPF en su sistema de vigilancia fitosanitaria y que contempla la respectiva georreferenciación de la finca. Las muestras con sus respectivas encuestas serán enviadas a los Laboratorios Fitosanitarios de la ONPF, para su identificación.

Es importante recalcar que todos los datos deben ser registrados en una Base de Datos, que permita analizar la ubicación geográfica de los insectos vectores y su dinámica poblacional, detalles que serán de gran utilidad cuando se requiera el control de dichas poblaciones.

3.1.1.2 -Diagnóstico Preliminar de Insectos vectores.

Es conveniente que para la toma de muestras de los vectores se asigne a personal previamente entrenado o con experiencia en este tipo de actividades, que haya recibido una capacitación previa en el reconocimiento de los insectos vectores y que haya leído la metodología de la toma y procesamiento de muestras. Es importante asegurarse que todas las muestras colectadas para el diagnóstico preliminar se envíen a los laboratorios de la ONPF, siguiendo los procedimientos de envío de muestras antes indicados.

3.1.1.3 - Confirmación de Diagnóstico de Insectos Vectores.

Si la ONPF no posee acceso inmediato a expertos en taxonomía de Psillidae y en especial de los géneros *Diaphorina* y *Trioza*, es apropiado que se confirme la identificación mediante el juicio de expertos reconocidos internacionalmente o en un Laboratorio de Referencia. **Anexo 9.** Hay que tomar en cuenta que la confirmación del diagnóstico es necesaria para respaldar con base científica las medidas fitosanitarias que se promulguen y para conferir seguridad a las notificaciones oficiales sobre el brote de la plaga. La falta de la confirmación del diagnóstico no será obstáculo para que se implementen acciones de emergencia contempladas en este Plan de Contingencia, especialmente aquellas que estén orientadas a la erradicación o contención del brote, si estas acciones se consideran necesarias.

Si los resultados de esta fase de confirmación del diagnóstico son negativos (no se trata de *Diaphorina citri* o *Trioza erytreae*), se detendrá el proceso de alerta y se harán las notificaciones que sean necesarias para comunicar que la amenaza del brote ya no existe o que se trató de una falsa alarma.

3.2.2 Bacteria Asociada al Huanglongbing (HLB).

3.2.2.1 Detección del HLB.

A fin de justificar la necesidad de aplicar medidas fitosanitarias en el territorio nacional a causa del HLB, el país debe realizar encuestas de detección y delimitación de esta bacteria, conforme a los lineamientos de la NIMF No. 8 *Determinación de la situación de una plaga en un área*, apoyándose en los registros elaborados a partir de las encuestas de detección y/o de delimitación (ver los apartados 1.3.2 y 1.3.3 de esta norma).

Por el comportamiento del HLB en Florida, República Dominicana y Belize, se recomienda a los países enfatizar la detección de la enfermedad hacia las costas del Caribe, así como, en los árboles de traspatio y en la lima mexicana (*Citrus aurantifolia*), por ser altamente atractiva al vector.

En la detección del HLB, la presencia del moteado asimétrico y difuso conocido en inglés como “blotchy mottle” es el síntoma más importante en la prospección de la enfermedad y los recursos humanos y económicos deben ser dirigidos principalmente a dicho síntoma. El blotchy mottle o moteado son manchas de formas irregulares, verdes-claras o amarillas mezclado con un verde normal sin una clara división entre sí. Ver fotos en el Anexo 4 de la Ficha Técnica.

El estatus de HLB podrá cambiar dentro de cada país, por ejemplo, cuando se declaren áreas libres de HLB y éstas sean mantenidas. La descripción del estatus de HLB para el país se hará a partir de la síntesis de los registros elaborados. La ONPF del país será la responsable de proporcionar el estatus de HLB así determinado, cuando otro país se lo requiera.

Paralelamente, los técnicos deben hacer una inspección detallada de los cítricos, reportando síntomas sospechosos según el procedimiento establecido

en este documento en la Ficha Técnica en **Anexo 4**, en el Esquema para determinar la probabilidad de la presencia del HLB en base a la sintomatología en el **Anexo 6** y en el uso de la Prueba preliminar de Yodo-Almidón en el **Anexo 7**. Las Normas y procedimientos para la encuesta de detección y del HLB en los cítricos se detallan en el **Anexo 10**.

El procedimiento para la colecta, preparación y envío de muestras vegetales para el diagnóstico del HLB, incluyendo un formato de encuesta, se detalla en el **Anexo 8**. Debido a que los síntomas en las hojas varían en algunos países, aún en las mismas especies de cítricos, por razones principalmente climáticas y/o edad de las plantas, se recomienda que el país mantenga un registro fotográfico con la relación entre los síntomas en las hojas (el moteado asimétrico) con el diagnóstico positivo por PCR de dichas muestras, de manera tal, que se registre dicha relación para futuras búsquedas prácticas de la enfermedad en las hojas de los cítricos, por especies, en cada país.

El Informe de ocurrencia de uno o más brotes sospechosos o confirmados, además de la fotografías de los síntomas, deberá contener la siguiente información básica: nombre común y científico de plaga y/o vector, nombre común y/o científico del hospedante, localización de la detección: país, estado, departamento o provincia, municipio o corregimiento, pueblo, aldea o caserío, ubicación exacta del brote con coordenadas GPS, especie de cítrico u otra Rutacea donde se encontró, variedad, metodología y técnica de muestreo o recolección, fecha de la colecta, código de muestra y responsable del diagnóstico. Independientemente de que los resultados sean positivos o negativos en la detección del HLB, éstos deben ser registrados conforme se especifica en la NIMF No. 6 *Directrices para la vigilancia* y en la NIMF No. 8 *Determinación de la situación de una plaga en un área*; apoyados con la información que sea pertinente y que se especifica en la NIMF No. 27 *Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas* (apartado 2.5). A partir de los diferentes registros que se elaboren, basados en los datos de las encuestas de detección o de delimitación, la ONPF podrá proporcionar el estatus de HLB y de sus vectores en el país (numeral 3.2 de la NIMF No. 8) y declarar con sustentos técnicos las áreas libres de HLB. Esta base de datos y su análisis le permitirá a la ONPF tomar las medidas fitosanitarias precisas según este Plan de Contingencia.

3.2.2.2- Diagnóstico Preliminar del HLB.

Los técnicos realizarán una inspección para detectar síntomas sospechosos, marcarán los árboles con pintura o cintas de colores llamativos y los ubicarán en un croquis de la plantación o finca y la finca o plantación será georreferenciada. Durante esta misma actividad, los técnicos buscarán y registrarán la presencia del insecto vector. Con la información obtenida en esta inspección, el Jefe de Programa de HLB seleccionará los casos sospechosos con más posibilidades de ser HLB y procederá a tomar muestras de hojas con síntomas típicos. Para un diagnóstico preliminar se utilizará la Técnica Yodo-Almidón descrita en el Anexo 7. Los cortes realizados a los tejidos de las hojas, sumergidos en yodo al 2 % y que presenten tejidos necróticos en el corte, serán muestras muy probables de ser positivas en 95 %, pero requerirán

confirmación por PCR. Esta prueba preliminar de diagnóstico se puede hacer en el campo o enviarlas al laboratorio, para realizarse allá, según el procedimiento establecido en el **Anexo 7**.

3.2.2.3- Confirmación del Diagnóstico.

El diagnóstico confirmativo se hará con la técnica de biología molecular de PCR por identificación del ADN de la bacteria en las hojas infectadas por los Laboratorios de la ONPF, o en los Laboratorios de Referencia. El PCR convencional es suficiente para el diagnóstico positivo ó negativo para el HLB, es más económico y requiere menos mantenimiento. El PCR de tiempo real aunque es más sensible, es más caro, requiere más mantenimiento y no es necesario para el diagnóstico rutinario (positivo o negativo). Se recomienda que el laboratorio tenga la capacidad de procesar algo más de 1000 muestras por mes. Un solo equipo de PCR y 3 laboratoristas pueden procesar 500 muestras por mes a 4,000 muestras por mes, dependiendo de la técnica para la extracción del ADN y del sistema o procesamiento de las muestras (procesamiento en serie).

Si en esta fase de confirmación del diagnóstico, los resultados son negativos (no es HLB) se detendrá el proceso de alerta y se harán las notificaciones que sean necesarias para hacer del conocimiento que la amenaza del brote de HLB ya no existe o de que se trató de una falsa alarma.

IV- FACTIBILIDAD TÉCNICA Y ECONÓMICA.

Es importante que sea considerado que en cada país se incluyan los costos de un programa de emergencia, el cual debe incluir en su parte introductoria el impacto económico de esta plaga. La factibilidad técnica y económica es un factor importante en el Plan de Contingencia del HLB y su implementación implicará costos directos e indirectos que pueden ser elevados debido a la superficie de los cultivos de cítricos, diversidad de plantas hospedantes y la capacidad de dispersión de los vectores.

Se debe tener en cuenta que no se recomienda aplicación de insecticidas para controlar el insecto vector, sino se ha detectado HLB, esta medida es de suma importancia porque generalmente el insecto no causa daño económico a la planta. Por otro lado, los vectores tienen alta reproducción, gran cantidad de hospedantes: en plantaciones no comerciales, traspato y áreas silvestres, así como, la existencia de plantas Rutáceas, no cítricas, que también son hospedantes del vector y la bacteria (*Murraya paniculata* y *Swinglea glutinosa*). El otro factor es la rápida dispersión del insecto vector, lo cual la hace una actividad insostenible económicamente, si no existe la bacteria del HLB. Es importante tomar en cuenta que la aplicación de insecticidas requeridos, para el control del vector, tendrían que ser en igual frecuencia como si estuviera presente la bacteria (2 aplicaciones/mes ó 24 aplicaciones/año) situación que acarrearía un costo ambiental por contaminación química y un costo económico sumamente alto.

Los costos directos de la implementación de este Plan estarán constituidos por los costos asociados con la ejecución del programa de emergencia, tales como servicios de diagnóstico, equipo de laboratorio (PCR) y sus accesorios, flete aéreo para envío de muestras sospechosas a laboratorios de referencias, incluyendo maquinaria y vehículos, combustibles y lubricantes, plaguicidas, servicios de transporte, alquileres, capacitación, divulgación, salarios, viáticos (para encuestas, monitoreo y control), mano de obra para labores de control, papelería, costos administrativos y consultorías.

Los beneficios estarían constituidos en los ahorros directos en costos que podrían ocurrir si el programa no se ejecutara, entre estos, la prevención de pérdidas en las cosechas de cítricos y costos por controles adicionales de la plaga por los productores. La precisión de la estimación de los costos-beneficios dependerá de la capacidad de predecir el impacto del HLB si esta entrara al país y no fuera controlada ocasionando la pérdida de la citricultura nacional. Para esto se pueden usar los datos sobre las pérdidas de producción en países donde el HLB se ha introducido (Ficha Técnica del HLB), **Anexo 4**. Un mejor ajuste de la predicción podría conseguirse si se toma en cuenta la importancia de la producción citrícola y las condiciones del cultivo en cada país, condiciones climáticas, especies, variedades y presencia de vectores.

Se recomienda al momento de ejecutar el Plan considerar, la sección 2.3 de la **NIMF 11**, *Análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias, incluido el análisis de riesgos ambientales y organismos vivos modificados*, como referencia para la identificación y clasificación, tanto de los costos como de los beneficios.

4.1 – Factibilidad Técnica y Económica de Erradicación del HLB y su vector.

Generalmente, para el HLB la técnica factible es el control. Introducida la enfermedad es sumamente difícil erradicarla y los esfuerzos van dirigidos a la prevención de que no se infecten los árboles sanos ya que una vez infectados no hay cura. Se localizan los árboles sintomáticos y se extraen o remueven. Esta búsqueda de árboles infectados debe realizarse 4 veces al año debido a los árboles asintomáticos. La erradicación del HLB es muy difícil debido a que su diagnóstico es complejo, costoso y en las etapas iniciales la mayoría de las plantas son asintomáticas por 2 meses o por 2 años. Además, el insecto vector es de rápida diseminación y tiene una diversidad de plantas hospedantes, incluyendo cítricos y ornamentales de la Familia Rutacea, que se ubican fuera de las plantaciones comerciales la mayoría de ellas en lugares de difícil control químico. Por otro lado, tampoco es posible controlar al 100 % los psílidos vectores por lo que la estrategia para ellos también es el control. La experiencia registrada en los países donde el HLB se ha presentado, nos indica que la erradicación práctica de esta enfermedad puede definirse como compleja y que lograr una incidencia de 0.5% es considerado un control muy exitoso (como sucede actualmente en Brasil).

Se recomienda a los países que todos los esfuerzos y recursos humanos y económicos disponibles deben ser dirigidos a la detección oportuna de la bacteria a través de los árboles sintomáticos.

Cuando la bacteria sea detectada en una finca, entonces, es de prioridad inmediata el control del psilido, ya que éste es vector eficiente de la bacteria. El control químico del vector se hará en las fincas donde exista la bacteria.

Debido a que el árbol infectado se constituye en fuente de inóculo de la bacteria, es imprescindible que sea eliminado lo más pronto posible, por parte del productor. Un árbol eliminado de esta manera, no contiene tejido vegetal de utilidad para la bacteria ni para el vector, rompiendo el ciclo biológico entre ambos. Las plantas eliminadas pueden ser reemplazadas de inmediato, siempre y cuando éstas provengan de viveros cubiertos con mallas antiáfidos (viveros certificados). La intensidad de infección en el control del HLB solo se utiliza para estimar el tiempo que tiene la enfermedad en el cultivo, no para decidir las acciones, porque la planta infectada hay que eliminarla sin considerar la intensidad de la infección porque el riesgo del inóculo es alto, aunque la intensidad de infección sea muy baja, en cada árbol.

Es muy importante implementar el programa de certificación de viveros de cítricos en cada país que oferte a la demanda plántones sanos que reemplacen a los árboles infectados, que hay que remover.

Los costos más importantes que se pueden asumir al implementar el presente Plan de Contingencia, lo constituyen las actividades de vigilancia fitosanitaria (encuestas, inspecciones, muestreos, registros), remoción de árboles infectados, insecticidas, equipos de aplicación de insecticidas, equipos de PCR, diagnósticos de laboratorio, establecimiento de viveros cubiertos con mallas antiáfidos, cuarentenas, capacitación y divulgación e implementación de bancos de germoplasmas y la implementación de un programa de certificación de viveros. Los países al momento de implementar el Plan de Contingencia deberán considerar lo establecido en la Sección 2.4 de la NIMF N° 9 *Directrices para los programas de erradicación de plagas*. En Florida, por ejemplo, el costo antes del HLB era de \$ 7.75/acre ahora el costo ha ascendido incluyendo el tratamiento químico del vector a \$110/acre. Por lo tanto, el costo ha sido incrementado más de 10 veces por Huanglongbing.

4.2– Factibilidad Técnica y Económica de un Programa Alternativo a la Erradicación.

En los casos que la erradicación o contención se considere que no es factible, se propone calcular la factibilidad técnica y económica de un programa alternativo, que incluya acciones tales como vigilancia fitosanitaria, diagnóstico, cuarentena, manejo, control de vectores y remoción de árboles enfermos, de tal manera que estas acciones permitan la sostenibilidad de la producción. Si el país detecta el HLB y no cuenta con los recursos necesarios, éstos podrán acceder a fondos de emergencia de OIRSA u otros fondos internacionales.

V - PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS.

5.1 – Marco Legal sobre emergencias fitosanitarias.

Se recomienda que cada país elabore y oficialice una norma legal (Resuelto o Resolución), para la aplicación de las medidas fitosanitarias recomendadas para la prevención, contención, supresión o erradicación del HLB. Ver Ejemplo de Norma Legal (**Anexo 1**). La Norma Legal Nacional que se genere para enfrentar esta enfermedad, debe estar de acuerdo con las normas internacionales, la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) y las normas regionales de la ORPF (Organismo Regional de Protección Fitosanitaria).

5.2 – Acciones a Reglamentar.

Al detectarse el HLB, en un país, la ONPF deberá inmediatamente elaborar una resolución de declaratoria de Emergencia Fitosanitaria en base a la norma legal existente. NIMF 13 sobre *Notificación de una plaga*. Esta declaratoria le facilitará el acceso a fondos de emergencia nacionales o de organismos internacionales, así como, será de utilidad para que otros países tomen las precauciones pertinentes e intensifiquen la búsqueda del HLB en sus propios territorios. Debido a que el HLB ya está en la República Dominicana y Belice se recomienda que todos los países de la Región de OIRSA elaboren un marco legal como el que se presenta en el **Anexo 1**, que contemple las acciones a reglamentar, considerando los siguientes puntos básicos:

Medidas Fitosanitarias específicas, tales como:

- Prohibir la introducción de material vegetativo de cítricos de países infestados con HLB.
- Prohibir la importación de plantas Rutáceas ornamentales hospedantes de HLB y su vector como *Murraya paniculata*, entre otras. Ver anexo 3.
- Exigir que los viveros para la producción de plántones de cítricos estén cubiertos, con mallas antiáfidos (50 mesh).
- Facultar el acceso a propiedades privadas para prospección, inspecciones, evaluación, toma de muestras y control.
- Denunciar con carácter de obligatoriedad la presencia o sospecha de la plaga por parte de productores y público en general.
- Establecer las medidas de emergencias a aplicar en caso de que se detecte un brote de HLB.

5.3 –Evaluación del Cumplimiento de las Acciones Reglamentadas.

Es conveniente que durante el desarrollo del Plan de Contingencia se realicen evaluaciones sobre el cumplimiento de la reglamentación vigente. La evaluación del cumplimiento de las Medidas de contención y manejo estarán coordinadas y supervisadas por la ONPF de cada país. Como resultado de la evaluación podrán sugerirse modificaciones tanto en la reglamentación como en los procedimientos empleados, para la verificación de su cumplimiento.

VI – ORGANIZACIÓN A LA EJECUCIÓN DEL PLAN DE CONTINGENCIA.

Es conveniente que en todos los países miembros de OIRSA existan mecanismos apropiados para afrontar el ingreso de plagas cuarentenarias. Lo recomendable es mantener organizado un equipo multidisciplinario de carácter consultivo y ejecutivo, que funcione como un Comité de Emergencia en Sanidad Vegetal (CESV), a todos los niveles y que se reunirá mediante convocatoria de la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF), cuando se presenten los eventos (brotes con diagnóstico preliminar confiable de HLB). La composición, objetivos, facultades, responsabilidades y formas de operación de dicho Comité, deberán estar especificadas en el decreto u ordenanza de operación de su creación.

La Comisión Nacional de Apoyo Fitosanitario a la Cadena de Cítricos de cada país, tendrá un papel protagónico en la integración de esfuerzos estatales y privados en la prospección y/o control del HLB. La Network Regional de Cítricos de OIRSA, también estará aportando la armonización que es necesaria para el éxito del Plan Regional de Contingencia. Se recomienda que cada país establezca un Sistema Nacional de Emergencia Fitosanitaria (SINEFI) y que cuente con fondos económicos para enfrentar este tipo de eventos de emergencias.

Entre las responsabilidades del CESV deben considerarse:

- a) Evaluar el brote y recomendar las medidas fitosanitaria que deben tomarse.
- b) Elaborar la normativa legal de Emergencia Fitosanitaria.
- c) Designar el GBT (Grupo Básico de Trabajo) y establecer funciones.
- d) Revisar y aprobar el Plan de Emergencia elaborado por el Grupo Básico de Trabajo.
- e) Colaborar con la gestión del financiamiento para la ejecución del Plan de Emergencia.
- f) Convocar a Especialistas en HLB y sus vectores, economía, ambiente para su asistencia y recomendaciones técnicas en el proceso de toma de decisiones.
- g) Evaluar el Plan Operativo de Emergencia en cualquier etapa de ejecución a fin de decidir sobre la continuidad del mismo o cambios de estrategias (de erradicación-contención a medidas alternativas o viceversa, considerando la factibilidad técnica y económica).

- h) Gestionar con APHIS y OIRSA, localmente, el programa de certificación de viveros y el acceso a la donación del germoplasma de alta genética de cítricos procedente de la Universidad de Riverside EEUU.

6.1 – Activación de la Emergencia.

La activación de la emergencia se hace con la detección de un caso sospechoso. Aunque no se desarrolla todo el sistema, la logística para llegar al diagnóstico preliminar debe estar asegurada y preparada la fase de confirmación del diagnóstico y la declaración de la emergencia. Durante el período de espera de la confirmación del diagnóstico, podrían iniciarse acciones preliminares que no tengan implicaciones legales negativas (demandas). Por ejemplo, acciones de control para evitar la dispersión de vectores con la colaboración de interesados y/o afectados y realización de encuestas de delimitación del brote mediante acciones que no necesiten de acciones legales.

La activación de la Emergencia, debe considerar el siguiente procedimiento:

- a. Diagnóstico oficial, confirmado y certificado del HLB de los Laboratorios de Diagnóstico.
- b. Elaboración y Divulgación de la Disposición legal de Emergencia Fitosanitaria (Norma legal).
- c. Activar Plan Operativo de Emergencia para el HLB. Las medidas precautorias de emergencia deben aplicarse con apego a las disposiciones del marco legal vigente en cada país, para evitar que los funcionarios locales incurran en posibles abusos de autoridad o que los propietarios de las fincas infectadas no cooperen con el programa de control de la enfermedad o el vector.

No obstante todo lo anterior, si las normas legales nacionales lo permiten, con solo haberse hecho el diagnóstico preliminar, podrían implementarse, tan rápido como sea posible, las medidas precautorias que se consideren necesarias, por ejemplo: a) Medidas provisionales de cuarentena interna, b) Medidas obligatorias de control del vector, c) Eliminación inmediata de árboles de cítricos infectados, d) Delimitación de zonas provisionales de amortiguamiento ó zonas buffers.

6.2 – Procedimientos para la Evaluación Preliminar.

Encuesta de delimitación del HLB.

Con la confirmación de un brote de HLB en un área determinada, la evaluación preliminar se limita a un monitoreo más detallado del área real afectada. Esto implica un muestreo más minucioso y la toma de un mayor número de muestras para su diagnóstico de laboratorio. Para esto se recomienda efectuar una encuesta de delimitación, cuya metodología general se detalla en el **Anexo 10**.

Este tipo de encuesta se realizará cuando se detecte el HLB en algún área citrícola o traspatio y su objetivo es determinar el área geográfica abarcada por la enfermedad. La metodología de la encuesta de delimitación se detalla en el **Anexo 11**.

6.3 – Respuestas operacionales según evaluación preliminar.

En el caso del HLB, la estrategia epidemiológica es la prevención de que otros árboles se infecten, para ello, la metodología se basa en los principios básicos de control epidemiológico eliminando los árboles infectados y reemplazándolos por plantas certificadas, así como también, el control químico de su vector. En este contexto se buscará encontrar una prevalencia inferior al 1 %, lo cual se considera un control exitoso.

El CESV puede evaluar el brote y recomendar medidas fitosanitarias relacionadas a la erradicación o hacia otra opción.

6.4 – Implementación de un Plan de Emergencia.

Al ser confirmado el o los brotes del HLB en áreas determinadas por el diagnóstico preliminar confiable y oficial, se activará el Plan de Emergencia contra el HLB. El Director de la ONPF y Coordinador del CESV nombrará al Coordinador del Grupo Básico de Trabajo (GBT), quien será el responsable directo del Plan de Emergencia. De igual manera se designará al personal de apoyo del GBT, según las necesidades, quienes dependerán directamente del Jefe de la ONPF.

El Coordinador del GTB deberá preparar un Organigrama de responsabilidades de acuerdo a las exigencias del Plan de Emergencia, apoyándose de los Jefes de Campo, de Laboratorio, de Investigación y el Administrativo/Financiero, quienes a su vez, conformarán los respectivos grupos de trabajo dependiendo de las necesidades.

El Plan Operativo de Emergencia debe considerar:

- Medidas fitosanitarias a través de encuestas de detección, delimitación y verificación.
- Medidas de Cuarentena Interna (aislamiento de áreas donde se reportó el brote y sus alrededores).
- Medidas de control del HLB, mediante la eliminación de los árboles infectados.
- Medidas de control de los vectores, a través de aplicaciones de Insecticidas de contacto y sistémico.
- Sustitución de árboles infectados con HLB con plantones certificados.

- Eliminación de la *Murraya paniculata* y *Swinglea glutinosa* en las áreas donde se haya detectado la bacteria.

6.5 - Capacitación.

La ONPF coordinará las actividades de Capacitación del Personal Técnico a través de Seminarios Nacionales e Internacionales sobre las características del HLB y sus vectores. La ONPF a su vez, deberán ejecutar actividades de entrenamiento y capacitación a nivel técnico y de productores, en cada país.

Los Entrenamientos deben ser impartidos por técnicos capacitados en HLB y deben contemplar los aspectos de las características de la enfermedad y sus vectores a nivel teórico y práctico, contemplando las disposiciones legales de cada país y los recursos para su manejo. Los temas que se recomiendan sean abordados son: Distribución Mundial del HLB, historia, daños, síntomas y transmisión. La bacteria. Cepas asiática, africana y americana. Hospedantes. Epidemiología. Métodos de prospección y procedimiento (estrategia y estadística). Técnica de diagnóstico preliminar de campo del Yodo-Almidón, Diagnóstico por PCR convencional y PCR de tiempo real. Extracción de ADN. Preparación de la muestra y envío al laboratorio. El vector. Reconocimiento. Dinámica Poblacional. Dispersión y Colonización. Trampas y trapeo (momento oportuno). Control del HLB y su vector. Estrategias y productos fitosanitarios. Programa de certificación de viveros. Medidas cuarentenarias para la prevención y cuarentenas internas. *Murraya paniculata* (mirto o jazmín o limonaria) y *Swinglea glutinosa* (Limoncillo) y su impacto en el programa de control. Costo de Monitoreos (inspectores) y Costos de Tratamiento vs Beneficio.

6.6 – Registros e Informes.

El Coordinador del Grupo Básico de Trabajo deberá preparar un registro e informe semanal con los avances del Plan de Emergencia ejecutados según programación, el cual enviará al Director de la ONPF.

Es sumamente importante que registre y mantenga actualizado una base de datos del HLB para sostener futuras decisiones técnicas en base al comportamiento de la enfermedad, así como también, será necesaria para las auditorías técnicas y la declaración de las áreas libres de Huanglongbing. Los síntomas pueden ser encontrados todo el año, pero, hay que analizar cuáles son los meses en que es mejor hacer las inspecciones y cuáles son los meses en que debe ser evitada, debido al aumento de árboles asintomáticos. Esta relación se va a hacer evidente porque aumentan o disminuyen las muestras sospechosas.

6.7 - Supervisión y Control de Calidad.

Los Coordinadores de CESV y GTB de cada país sostendrán reuniones de información y coordinación cada mes, en base a los informes de los GTB locales. La situación del control de calidad del Plan de Contingencia se pondrá al día en estas reuniones. En base al último informe recibido de cada GTB, el

Coordinador CESV, realizará supervisiones periódicas y aleatorias a cada GTB y su equipo.

6.8 - Decisiones posteriores a la emergencia.

El Director de la ONPF y los Coordinadores de CESV y GTB se reunirán para evaluar la eficacia del programa de erradicación y sus vectores, así como determinar la necesidad o no de un Plan Alternativo (Contención o Manejo).

6.9 – Simulacro.

Los Coordinadores de CESV y GTB de cada país, planificarán la ejecución de Simulacros de detección y control de brotes de HLB en determinada región del país, con el fin de probar la capacidad y eficiencia de los recursos humanos, materiales y económicos disponibles en la activación de la emergencia.

El Simulacro puede hacerse como parte de los programas de capacitación de personal técnico.

VII--COMUNICACIÓN Y DIVULGACIÓN.

La comunicación en el Plan de Emergencia debe considerar todos los niveles de interés, incluyendo Ministerios, Industrias, Empresas, Gobiernos Municipales, Productores, Viveristas y Comunidad en general. La implementación de un Plan de Emergencia contra Huanglongbing, debe considerar desde su inicio, una campaña de divulgación y comunicación que alerte a los citricultores y al público en general sobre la detección de la plaga en el área, sobre ciertas acciones oficiales que se podrían implementar para su control con la finalidad de evitar daños económicos y/o ambientales y el control de plantas ornamentales amplificadoras del HLB como el mirto, limonaria o jazmín ó como el limoncillo.

7.1 – Normas de Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF).

En todos los procesos de Notificación o divulgación sobre esta plaga se recomienda el uso de la Norma No. 17 del CIPF sobre Notificación de Plagas.

7.2 – Estrategias de Comunicación y Divulgación.

La ONPF de cada país diseñará una estrategia nacional de manejo de la Información y coordinación con los medios de comunicación sobre la información del brote del HLB y sus vectores. Esta estrategia de divulgación y comunicación debe ser diseñada en un lenguaje sencillo, que logre la aceptación y colaboración de la comunidad hacia el programa y que no cause algún tipo de alarma entre la población en general y en los productores de cítricos en particular.

Toda la información sobre el HLB y su situación local deberá ser facilitada a los medios por la ONPF local para evitar cualquier tipo de información errónea, sensacionalismo o especulación con el tema.

Se sugiere que los comunicados escritos a los medios masivos de divulgación sean elaborados por CTB.

Es importante resaltar el diseño de la comunicación hacia países e Instituciones Internacionales, así como también a los grupos organizados de citricultores de cada país.

7.3– Especificación de Contenidos para Notificaciones Públicas.

Los contenidos de las Notificaciones Públicas (afiches, volantes, desplegados, plastificados y otros) al público en general, deben hacerse en un lenguaje sencillo que describa la enfermedad y sus vectores, el daño que puede causar y las medidas de control a tomarse.

Los comunicados de prensa normalmente son pequeños resúmenes de actividades o datos relevantes para determinado público que conviene este informado.

Las hojas informativas son la forma correcta de informar a grupos selectos, tales como citricultores. En muchos casos, un resumen de actividades y resultados será suficiente, en otros podrá requerirse de más detalles y se asemejará a un artículo de revista.

7.4 – Procedimientos de notificación a afectados individuales.

Los contenidos de las notificaciones a afectados individuales, empresas o grupos, sobre acciones fitosanitarias que se emprenderán, deberán ser aprobados por el Asesor Legal de la ONPF y estar basado en las Normas Legales Vigentes.

VIII--RELACIONES DE COOPERACIÓN Y COORDINACIÓN.

Coordinación con otras Instituciones u Organizaciones.

El Plan de Prevención y Contingencia del HLB en cada país debe contar con la participación y apoyo de la Comisión Nacional de Apoyo Fitosanitario a la Cadena de Cítricos y otras frutas del OIRSA, donde ésta exista y de no existir, se recomienda su conformación con participación estatal y privada lo que ayudará a enfrentar ésta y otras plagas citrícolas.

El Director de la ONPF y los miembros del CESV podrán coordinar acciones a nivel nacional o internacional de acuerdo a las necesidades del Plan de Emergencia, con la finalidad de llevar a cabo las actividades programadas. En el ámbito nacional se debe considerar la cooperación para el Diagnóstico (Laboratorios de Universidades o Instituciones de Investigación), para la Divulgación y Comunicación (Revistas Especializadas, Agencias de Extensión),

para la Coordinación de Actividades (Gremios de Productores Agrícolas, Alcaldías).

En el ámbito Internacional la cooperación a considerarse debe ser la relacionada con la confirmación de los diagnósticos (Laboratorios Especializados de Referencia), capacitación y asistencia técnica, adquisición de materiales y equipo requerido en las labores de diagnóstico, vigilancia y control de la enfermedad y sus vectores.

Es importante recalcar la estrecha relación que debe existir entre la ONPF, el OIRSA y la Oficina local de USDA/APHIS, en cada país. Esta coordinación facilitará contar con el Laboratorio de Referencia para la confirmación del Diagnóstico del HLB por PCR en Florida, California o Maryland, por parte de USDA/APHIS. También, hará más expedito la recepción del material de alta genética de cítricos en donación (yemas) para los países en el marco del programa de Certificación de Cítricos en los invernaderos previamente acondicionados con el apoyo de OIRSA. Actividades que forman parte importante en el control del HLB de los cítricos en cada país y actividad medular en el Apoyo Fitosanitario a la Cadena de Cítricos y otras frutas de OIRSA.

IX – PROCEDIMIENTOS DE LAS ENCUESTAS.

Las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF) No.6 *Directrices para Vigilancia*, establece que las Encuestas específicas son las de detección, delimitación y verificación. Las metodologías de las encuestas de detección, delimitación y verificación del HLB han sido ya establecidas por los países que tienen experiencia con esta enfermedad y son las que se sugieren en este caso.

9.1- Tipo de Encuestas.

Para detectar el HLB se debe hacer un programa de prospección a través de encuestas fitosanitarias de detección y delimitación de todas las áreas citrícolas y de traspaso del país. Las Normas y procedimientos para esta prospección del HLB y sus vectores se detallan en el **Anexo 10**. La Metodología para la prospección de delimitación del HLB se detalla en el **Anexo 11**. El propósito de la **Encuesta de Detección** será determinar en forma fehaciente la presencia o ausencia de HLB en las áreas seleccionadas, incluyendo su distribución en las áreas donde esté presente. El propósito de la **Encuesta de Delimitación** es para establecer los límites hasta donde se encuentra extendido el HLB, después de la detección de un brote o una incursión.

Por razones prácticas, se tomará como área focal del brote. A partir de este lugar y en diferentes direcciones, en forma radial, se realizará un muestreo de la plaga. Este Plan de Contingencia contempla radios de 8 km a partir del brote. Ver Anexos 10 y 11. En encuestas de delimitación, los lugares a muestrear deberán clasificarse en categorías, según el riesgo estimado de estar infestados. Entre los criterios para estimar el riesgo de infestación se encuentran:

- dirección predominante del viento,
- distribución y abundancia de los hospedantes preferidos;
- rutas de movilización de trabajadores, productos básicos y otros artículos que pueden transportar la plaga.
- cítricos con riego o fuentes de agua (mayor brotación).
- cítricos de traspatio como la lima mexicana y que generalmente no utilizan insecticidas.

De ser posible, durante la encuesta, se realizará una investigación sobre los posibles orígenes de la incursión, así como una proyección sobre la dispersión más probable, tomando en consideración las diferentes vías, tanto naturales como artificiales, de la plaga. El origen de la posible fuente de infestación, podrá arrojar información útil para detener nuevas introducciones, calcular la extensión del brote y la proyección de la dispersión, para luego determinar si es necesario extender la encuesta de delimitación más allá del radio de 8 km alrededor del área focal.

9.2—Plan para la Implementación de Encuestas.

La ONPF debe preparar un Plan de Vigilancia Fitosanitaria que incluya la prospección del HLB y sus vectores de acuerdo con los recursos disponibles (NIMF Pub. No.6).

9.3 ---Recopilación y Procesamiento de Información de la Vigilancia.

Según las normas establecidas de Prospección y muestreo, los técnicos deben enviar las muestras preparadas según el procedimiento a los Laboratorios de la ONPF de cada país para su diagnóstico.

9.4– Recomendaciones Generales sobre la Vigilancia.

Cada país debe establecer Programas Nacionales de Vigilancia Fitosanitaria para el HLB, según la capacidad de sus recursos. Es necesario que para garantizar la eficiencia del Plan de Vigilancia Fitosanitaria al detectarse nuevos brotes, se establezca una fase de seguimiento a través de encuestas de delimitación y verificación. Los costos de la Vigilancia Fitosanitaria para el HLB deben ser compartidos con los sectores interesados (productores, procesadores y exportadores). Por medio de los Comités Locales de Vigilancia Fitosanitaria se debe establecer un seguimiento pasivo. Fundamentado en la notificación de sintomatologías sospechosas del HLB encontradas en el campo.

Es posible que la información de una incursión o un brote del HLB o su vector provenga de fuentes no oficiales. Por esta razón, es recomendable que la ONPF recolecte la información proveniente de diversas fuentes y la verifique adecuadamente. Para esto, el personal técnico encargado de la vigilancia, deberá poseer los conocimientos básicos para emprender labores de reconocimiento de la plaga en cualquier momento.

X- PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DEL HLB.

10.1 – Estrategias y Técnicas de control.

Como se ha detallado anteriormente, es muy difícil erradicar y/o controlar eficientemente el HLB si la enfermedad se detecta tardíamente. La incidencia del Huanglongbing en dos países de la Región de OIRSA y la presencia generalizada del vector, justifican la emergencia Regional y la necesidad de la prospección inmediata y para su detección oportuna. La estrategia está basada en la búsqueda inmediata de la bacteria, para prevenir que no se infecten más árboles, ya que una vez infectados éstos no tienen cura. Para ello, se requiere urgentemente detectar todos los árboles sintomáticos para su remoción.

Fortalecer o crear la Comisión Nacional de Apoyo Fitosanitario a la Cadena de Cítricos, integrada interinstitucionalmente con la activa participación del sector privado citrícola en cada país, permitirá la articulación y sinergia que requiere enfrentar la enfermedad más devastadoras de los cítricos en la Región de OIRSA.

Como estrategia básica para el control de HLB, se debe considerar lo siguiente:

- a. Todo recurso técnico, humano y económico debe ser dirigido a detectar todos los árboles sintomáticos con la bacteria mediante los síntomas en hojas y frutos. El síntoma de moteado difuso asimétrico de la hoja (blotchy mottle) es el síntoma más importante en la búsqueda del Huanglongbing. Es más económica y efectiva la prospección inmediata del HLB que el control químico del vector.
- b. La erradicación de árboles infectados debe ser realizarse sacándolo de raíz o cortándolo a nivel del suelo el árbol, aplicando herbicida en el corte para evitar el rebrote.
- c. Aplicar insecticidas para el control del vector, ya que una vez esté presente la bacteria en la plantación, no habrá tolerancia al insecto vector [0 (cero) tolerancia].
- d. La planta removida puede ser reemplazada inmediatamente siempre y cuando ésta provenga de un vivero certificado cubierto con malla que excluya al vector.
- e. “Salvar las yemas”, cubriendo con mallas las plantas madres de forma inmediata en cada país, para excluir al vector es una medida urgente.
- f. Implementar un programa de certificación de viveros de cítricos.
- g. Registrar en base de datos las medidas fitosanitarias realizadas para medir y analizar los resultados del control del HLB.

En el caso de la Contención (cuarentenas internas), se deben tener en cuenta los riesgos de dispersión de la plaga o sus vectores, criterios para el establecimientos de puntos de cuarentena, criterios para el establecimiento y delimitación de áreas sujetas a medidas fitosanitarias, estudios antes y durante el programa que deben realizarse (órigenes, rutas, destinos de artículos regulados infectados; análisis de las vías de dispersión, incumplimiento de la

normativa de emergencia, evaluación de la eficacia de los tratamientos, monitoreo de los efectos ambientales de los tratamientos, evaluación del sitio del brote, mapeo y definición de áreas a tratar); tratamientos a aplicar incluyendo la descripción de los procedimientos de aplicación, productos y dosis a emplear, época y períodos de aplicación, equipo de aplicación recomendado, medidas de seguridad, manejo del material infectado, datos que deben registrarse. Para esto, se recomienda consultar la Sección 3.2, *Directrices para los programas de erradicación de plagas* del NINF Pub. No.9.

El mejoramiento genético orientado hacia la resistencia y la investigación en el campo de compuestos sistémicos que controlen eficientemente el patógeno dentro de la planta debe ser investigado. La endoterapia con algunos bactericidas puede ser ensayada.

La información sobre las estrategias técnicas para el control de la bacteria y el vector se detallan minuciosamente en las Fichas Técnicas correspondientes a los Anexos 4 y 5, repectivamente.

10.2 –Factibilidad Técnica de las Estrategias de Control.

De detectarse a tiempo, la factibilidad técnica está garantizado el control de la bacteria eliminando la planta infectada y el control del vector con insectidas recomendados. El uso de cuarentenas Internas para evitar el traslado de material vegetativo o plántones infectados de un área infectada a un área libre, debe ser garantizado. El control químico del vector y el uso de plántones certificados proveniente de viveros cubiertos, es indispensable.

La factibilidad técnica de estas acciones dependerá de los recursos económicos, materiales y humanos destinados a esta tarea por cada país.

XI –EVALUACIÓN DEL PLAN DE CONTINGENCIA.

Es recomendable que se haga una evaluación periódica del Plan de Contingencia del HLB en cada país, utilizando indicadores cuantificables. Esto permitirá detectar desviaciones facilitando su adecuada corrección. Esta evaluación deberá ser hecha en forma conjunta por el Director de la ONPF y Jefe del GBT local.

XII – FINANCIAMIENTO.

El CESV, la ONPF y otras autoridades oficiales superiores deberán gestionar y asegurar el acceso a fondos disponibles para la ejecución del Plan de Contingencia. Se recomienda mantener una comunicación expedita y una transparencia en los procedimientos de administración y ejecución de los fondos con la finalidad de facilitar el mantenimiento del vínculo con las entidades donantes, con la finalidad de obtener recursos financieros adicionales en caso de ser necesario.

Los costos de los programas de erradicación o control de la plaga se basarán en los procedimientos establecidos en las Fichas Técnicas (Anexos 4 y 5) y dependerán de las posibilidades económicas y técnicas de cada país.

Anexo 1.

MODELO DE NORMA LEGAL PARA HLB DE CÍTRICOS

No._____ de (Fecha).

El Ministro o Secretario de Agricultura
en uso de sus facultades legales y

CONSIDERANDO

Que la plaga Huanglongbing (HLB) o Greening de los cítricos, asociada a la bacteria *Candidatus Liberibacter spp.* Ésta enfermedad está considerada como una de las más destructiva y de mayor importancia cuarentenaria de los cítricos en el mundo, por lo cual representa una seria amenaza para la producción de cítricos en el país.

Que esta plaga es transmitida principalmente por los insectos vectores psílidos *Diaphorina citri* y que este vector ya ha sido detectado en el territorio nacional.

Que el HLB afecta directamente la calidad del fruto, impidiendo que se pueda utilizar para consumo, ocasionando la muerte económica de la planta.

Que por la complejidad de la plaga, los métodos de control son muy difíciles y las principales variedades y especies cítricas son susceptibles.

Que tanto la bacteria asociada como los insectos vectores, pueden hospedarse en otras plantas cítricas o Rutáceas frutales, ornamentales y silvestres comunes en el país.

Que en la actualidad esta plaga se encuentra presente en el Sureste Asiático, Australia, África, Estados Unidos, Brasil y ha sido reportada recientemente en Cuba, República Dominicana y Belice. El HLB está presente en los 3 países mayores productores de cítricos (China, EEUU y Brasil).

Que actualmente existe un alto tránsito y trasbordo de turistas procedentes de países reportados con esta enfermedad que pueden acarrear algún tipo de material vegetativo que puede estar infectado.

Que la producción de cítricos en el país representa un factor importante para la economía, generando un significativo número de empleos directos e indirectos. Además, los cítricos representan una fuente importante de nutrientes y vitaminas de la dieta diaria de la población.

Que la Ley N°. _____, faculta a la ONPF del Ministerio de Agricultura y Ganadería a establecer las medidas fitosanitarias de prevención, control y erradicación de plagas, tendientes a proteger el patrimonio agrícola nacional.

Que la norma _____ faculta a Cuarentena Agropecuaria para hacer cumplir las medidas fitosanitarias requeridas para prevenir la introducción, establecimiento y diseminación de la plaga hacia áreas libres de ella.

Por las consideraciones antes expuestas,

RESUELVE

- PRIMERO:** Adoptar y aplicar el Plan Regional de Contingencia para la Prevención y Contención de HLB en cítricos en la Región del OIRSA.
- SEGUNDO:** Prohibir la entrada al país, de material de cítricos (plantones y material de propagación), así como de la plantas ornamentales *Murraya paniculada* (mirto o limonaria ó jazmín) y *Swinglea glutinosa* (limoncillo) hospedante de *Diaphorina citri* y la bacteria, procedentes de países en que han sido reportado el HLB.
- TERCERO:** Fortalecer las capacidades cuarentenarias para aumentar la vigilancia que se debe realizar en los puestos de entrada al país como: aeropuertos, puertos marítimos y puestos fronterizos.
- CUARTO:** Prohibir el traslado de materiales de propagación de plantas de cítricos y otras Rutáceas que hayan sido producidas en los lugares infectados por la bacteria asociada al HLB, hacia las áreas libres de la plaga.
- QUINTO:** Los productores están en obligación de informar a Sanidad Vegetal del Ministerio o Secretaría de Agricultura, cualquier indicio sobre la presencia de la enfermedad en cualquier punto del país.
- SEXTO:** Una vez detectada la bacteria se prohíbe la producción de viveros a cielo abierto y se exige que los viveros para la producción de plantones de cítricos estén cubiertos por mallas antiáfidos.
- SÉPTIMO:** Implementar un programa nacional de certificación de cítricos.
- OCTAVO:** Ejecutar una prospección exhaustiva en áreas citrícolas comerciales, no comerciales y arboles de traspaso, para detección oportuna del HLB y sus vectores.
- NOVENO:** Facultar a las autoridades fitosanitarias para tener libre acceso a propiedades privadas a fin de realizar las acciones fitosanitarias requeridas (inspecciones, control, evaluación, toma de muestras).
- DÉCIMO:** Detectada la bacteria en campo, se deberá aplicar control químico al vector, con una tolerancia de cero al insecto, bajo la vigilancia de la autoridad competente.

DÉCIMO PRIMERO: Exigir al propietario de la finca la eliminación del árbol infectado con HLB (removiéndolo de raíz o cortándolo a nivel del suelo), aplicando herbicida en el corte para evitar el rebrote. La planta eliminada puede ser reemplazada inmediatamente si ésta proviene de un vivero certificado y se cumple con el control del vector.

DÉCIMO SEGUNDO: Las fincas positivas deberán ser evaluadas por la autoridad competente en coordinación con el propietario de la finca, para definir el grado de infección, ya que se recomienda que si la finca tiene 28% de infección se debe eliminar en su totalidad, debido a que se ha comprobado epidemiológicamente, que por cada planta positiva detectada hay tres más: una enferma que no se detectó, otra que no presenta síntomas (asintomática) y otra que será infectada próximamente.

DÉCIMO TERCERO: Fortalecer las capacidades de diagnóstico de laboratorio para el HLB por la técnica de biología molecular (equipos de PCR).

DÉCIMO CUARTO: Desarrollar programas de capacitación y divulgación dirigidos a técnicos, productores y público en general sobre el reconocimiento y detección de esta plaga.

DÉCIMO QUINTO: Toda acción u omisión de las disposiciones contenidas en el presente resuelto serán sancionadas conforme a lo establecido en la Ley N°__ la fecha_____.

DÉCIMO SEXTO: Este resuelto empezará a regir a partir de su publicación en la Gaceta Oficial.

PUBLÍQUESE Y CÚMPLASE.

**MINISTRO O SECRETARIO
MINISTERIO O SECRETARIO DE AGRICULTURA**

ANEXO 2.

Lista de Países donde ha sido reportado el Huanglongbing (Actualizada a 2010)

Arabia Saudita	Indonesia	Somalia
Australia	Japon	Sudáfrica
Bangladesh	Kenia	Swazilandia
Belice	Laos	Tailandia
Birmania	Madagascar	Taiwán
Brasil	Malasia	Tanzania
Burundi	Malawi	Timor
Buthan	Mauricio	Viet Nam
Camboya	Mexico	Yemen
Camerún	Myanmar	Zimbawe
China	Namibia	
Cuba	Nepal	
Estados Unidos (Florida, Hawai, Puerto Rico)	Nicaragua	
Etiopia	Nigeria	
Filipinas	Pakistan	
Georgia	Papua-Nueva Guinea	
Guatemala	Republica Centroafricana	
Haiti	Republica Dominicana	
Honduras	Reunión	
India	Rwanda	

ANEXO 3.

Plantas reportadas como hospedantes del HLB.

Aegle marmelos (L.). Corr.
Aeglopsis chevalieri Swingle
Afraegle gabonensis (Swingle) Engl.
Afraegle paniculada (Schum.) Hengl.
Atalantia missionis Oliver
Atlantia monophylla (L.) Corr.
Balsamocitrus dawei Stapf.
Burkillanthus malaccensis (Ridl.) Swingle
Calodendrum capensis Thunb.
Catharanthus roseus (L.) G. Don
X *Citroncirus webberi* J. Ingram & H.E. Moore (La X indica que es un híbrido).
Citrus amblycarpa Ochse
Citrus aurantiifolia (Christm.) Swingle
Citrus aurantium L.
Citrus depressa Hayata
Citrus grandis (L.) Osbeck
Citrus hassaku Hort. ex Tanaka
Citrus hystrix DC.
Citrus ichangensis Swingle
Citrus jambhiri Lushington
Citrus junos Sieb. ex Tanaka
Citrus kabuchi Hort. ex Tanaka
Citrus limon (L.) Burm.
Citrus x limonia Osbeck
Citrus x nobilis Lour. "Ortanique"
Citrus maxima (pomelo/shaddock)
Citrus medica L.
Citrus x nobilis Lour.
Citrus oto Hort. ex Tanaka
Citrus x paradisi Macfad.
Citrus reticulata Blanco
Citrus sinensis (L.) Osbeck
Citrus sunki Hort. ex Tanaka
Citrus unshiu (Mack.) Marc
Clausena indica Oliver
Clausena lansium (Lour.) Skeels
Cuscuta australis R. Br. (Convolvulaceae, Cuscutaceae)
Fortunella spp.
Limonia acidissima L.
Microcitrus australasica (F.J. Muell.) Swingle
Murraya koenigii (L.)
Murraya paniculata (L.) Jack
Poncirus trifoliata (L.) Raf.
Severinia buxifolia (Poiret) Ten.
Swinglea glutinosa (Blanco) Merr.
Toddalia lanceolata Lam (Burm. f.) *Triphasia trifolia* P. Wilson
Triphasia trifolia (Buró.) Wilson

ANEXO 4

FICHA TÉCNICA

HUANGLONGBING O GREENING DE LOS CÍTRICOS

(Candidatus Liberibacter spp.)



Julio 4 de 2009.

HUANGLONGBING O GREENING DE LOS CÍTRICOS

(*Candidatus Liberibacter* spp.)

Contenido

I.	Introducción.....	35
II.	Objetivo de la Ficha Técnica.....	35
III.	Antecedentes del HLB y su vector.....	35
IV.	Importancia económica.....	38
V.	Bacteria asociada al HLB.....	38
VI.	Rango de hospedantes.....	42
VII.	Sintomatología.....	42
	■ Generalidades en la sintomatología.....	42
	■ Asimetría del HLB versus simetría de deficiencias nutrientes.....	42
	■ Moteado asimétrico y difuso : síntoma más importante.....	44
	■ Retoños Amarillos.....	44
	■ Venas amarillas.....	44
	■ Islas verdes.....	44
	■ Nervaduras corchosas.....	45
	■ Síntomas en hojas versus diagnóstico positivo por PCR.....	45
	■ Recomendación en la búsqueda de síntomas del HLB.....	45
	■ Síntomas en frutos.....	45
VIII.	Diseminación del Huanglongbing (HLB).....	46
	■ Transmisión por insectos vectores.....	46
	■ Transmisión por injerto.....	48
	■ Transmisión por semilla.....	49
	■ Otros Métodos de transmisión.....	49
IX.	Control del HLB.....	50
	■ Control Químico.....	50
	■ Resistencia Genética.....	50
	■ Evolución de la enfermedad según la edad de la planta.....	50
	■ Estrategia de Control: prevención del contagio.....	50

HUANGLONGBING O GREENING DE LOS CÍTRICOS.

(*Candidatus Liberibacter asiaticus*).

I. Introducción.

El Organismo Internacional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA) implementa acciones para la prevención, control y erradicación de plagas en cultivos en el territorio nacional, las cuales son realizadas por la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF), de cada país. Para el caso de plagas cuarentenarias, como la bacteria asociada al Huanglongbing (HLB) de los cítricos *Candidatus Liberibacter asiaticus*, las actividades tienen como objetivo detectar oportunamente brotes en las zonas citrícolas y traspasito. Para ello, se realiza la búsqueda de síntomas del HLB, así como, toma de muestras de material vegetativo (hoja y fruta) y del vector para su diagnóstico por PCR en los laboratorios autorizados, para que en caso de una detección positiva se implementen las actividades fitosanitarias de control, contención y/o supresión.

La presente Ficha Técnica contiene información descriptiva del HLB y sus vectores, así como, la metodología a seguir en las actividades de prospección y control de la enfermedad y sus vectores. Este documento, es para uso de personal oficial y personal técnico de la ONPF, quienes realizan las actividades descritas, así como para colaboradores de Instituciones u Organizaciones, la mayoría de las cuales son integrantes de la Comisión Nacional de Apoyo Fitosanitario a la Cadena de Cítricos y otras frutas, así como, para el público en general.

II. Objetivo de la Ficha Técnica.

Conocer los antecedentes, importancia, aspectos técnicos de la bacteria, síntomas y demás información descriptiva del HLB y sus vectores, así como la metodología para una vigilancia fitosanitaria activa y sistemática para supresión y control.

Servir como manual de referencia para la capacitación y las metodologías para la vigilancia fitosanitaria activa y sistemática para la prospección, diagnóstico y control del HLB.

III. Antecedentes del HLB y su vector.

Esta enfermedad de los cítricos fue detectada por primera vez en Asia (China), a finales del siglo XVIII donde se reportaron severos problemas con una enfermedad descrita como “Muerte Regresiva” de los cítricos (Capoor, 1963). A finales del Siglo XIX, se reportó una enfermedad similar en Assam, India, y en 1912 era considerada serio problema en la provincia de Bombay (Capoor, 1963). La causa de esta enfermedad no era conocida. En 1919, Reinking (1919) describe brevemente un amarillamiento y moteado foliar en el Sur de China. Este autor afirma que los habitantes de esta región de China llamaban a la enfermedad: “**Huanglongbing**”, que él tradujo erróneamente como “Dragón Amarillo”. Posteriormente, Zhao (1981) aclaró que la traducción correcta era “**Retoños Amarillos**” y no “dragón amarillo”. *Liberibacter* significa bacteria en el

floema. El significado correcto de Huanglongbing es Huang (amarillo), Long (retoño) y Bing (enfermedad), lo que se traduce como **“Enfermedad de los Retoños Amarillos”**. Esto ha sido confirmado recientemente por estudios históricos-lingüísticos (Zhao, 2006) hechos en el Distrito de Chaosang, Provincia de Guandong, donde la enfermedad fue observada por primera vez en el Siglo XVIII (Lin, C., 1956, Lin, K. 1963). En 1927, Husain y Nath, describen los síntomas de la enfermedad en cítricos en Punjab y lo atribuyen al ataque masivo de psíidos. En su reporte se menciona las “frutas insípidas” por lo que los expertos no tienen duda que este es el primer reporte del HLB asociado al ataque de psíidos. En la década de 1920, nuevas enfermedades de cítricos, todas con síntomas similares al HLB, fueron reportadas en la mayoría de los países asiáticos.

En 1929, cultivadores de cítricos de Sud-África reportaron esta enfermedad (Oberholtzer, 1965) (Van del Merwe, 1937). En el oeste del país llamaron a la enfermedad “Rama Amarilla” mientras que en el este, la llamaron “Enverdecimiento” **“Greening”** debido al pobre color desarrollado por la fruta. El nombre de “Greening” fue usado para describir esta enfermedad por influencias de los científicos sudafricanos, pero, el significado del término está asociado a la inversión de color. En 1995, en el Congreso de la Organización Internacional de Virólogos de Cítricos realizado en China, se acordó usar el nombre original de **“Huanglongbing”** como el nombre oficial de la enfermedad (Moreno et al, 1996).

Por muchos años, esta enfermedad se consideró causada por deficiencias minerales, toxicidad o exceso de humedad en el suelo y no por un patógeno transmisible, hasta que Lin (1956) demostró su transmisión por injertos en 1956 en China. Poco después en Sud-África se comprobó la transmisión por injerto (Maclean & Oberholtzer, 1965a), así como, por el psíido africano *Trioza erytrae* Del Guercio (Maclean & Oberholtzer, 1965b).

Poco después en la India y Filipinas, se comprobó que la enfermedad era transmitida por otra especie de psíido, el *Diaphorina citri* Kuwayama que era el vector de la enfermedad en Asia. Posteriormente, la enfermedad a través de los años, se diseminó hacia varios países de ambos continentes **En África:** Burundi, Camerún, Islas Comores, Etiopía, Mauricio, Isla Reunión, Kenia, Madagascar, Malawi, Ruanda, Somalia, Suazilandia, Tanzania y Zimbabwe; **En Asia:** Arabia Saudita, Bangladesh, Hong Kong, India, Indonesia, Japón, Malasia, Nepal, Paquistán, Filipinas, Taiwán, Tailandia, Vietnam y Yemen.

Hasta el año 2004, no se había tenido ningún reporte de esta enfermedad en los países de América, sin embargo, en ese año se encontró en Sao Paulo (Brasil), en la región de Araraquara; posteriormente (septiembre de 2005), se confirma su detección en Florida-EE.UU. (<http://www.pestalert.org>) y en 2007 se informa de su presencia en Cuba (Da Graca, 2008) y en el 2008 en Louisiana, Texas y en el 2009 en Carolina del Sur EEUU. Reciente, en República Dominicana se declara a través de la Resolución No. 47-2008 de la Secretaría de Estado de Agricultura del 2 de diciembre de 2008 y <http://www.pestalert.org> y se declara en mayo de 2009 en Belize.

Figura 1. En rojo la bacteria en la raza africana, en amarillo en la raza asiática y en verde la americana.

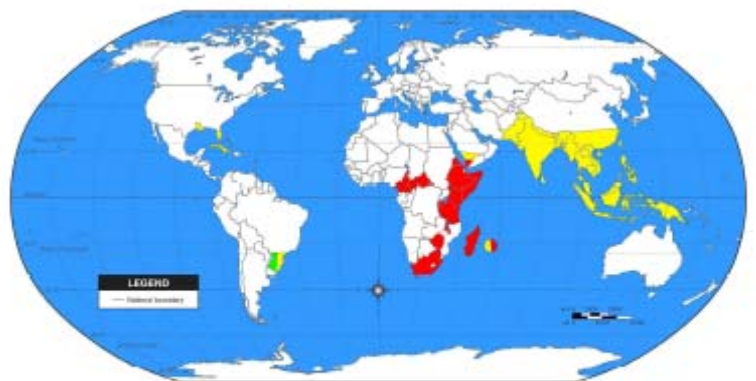


Figura 1. Distribución del HLB (*Candidatus Liberibacter* spp).
Mapa cortesía (modificado) de John da Graca (2008).

■ *L. asiaticus*
■ *L. africanus*
■ *L. americanus*

Con relación al vector, el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri*, se ha detectado en los países del sur de Asia, en la Región de OIRSA y Sudamérica, así como en Florida y Texas, EEUU. En el caso de México, se reportó oficialmente en el Estado de Querétaro en el año 2002 (<http://www.pestalert.org/espanol/pestnews.cfm>).

En la **Figura 2** se muestra la distribución de *Diaphorina citri* (en color amarillo), así como *Trioza erytreae* (en color rojo), éste último también vector de la bacteria, pero presente solo en países del continente africano.

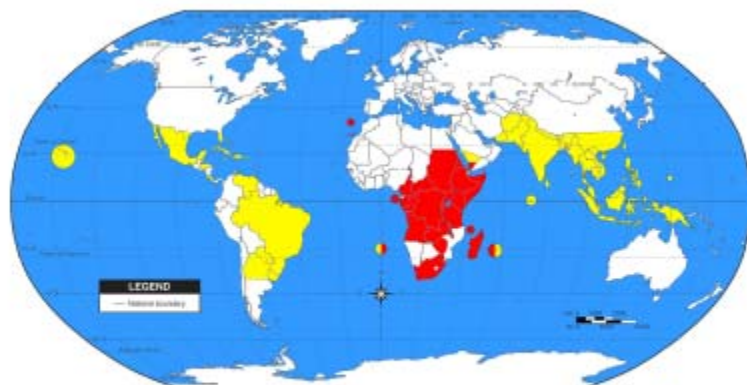


Figura 2. Distribución de los psíidos vectores del Huanglongbing de los cítricos.
Mapa cortesía de John da Graca (2008).

■ *Diaphorina citri*
■ *Trioza erytreae*

La Información detallada de los vectores del HLB se presenta en la Ficha Técnica en el Anexo 5.

IV. Importancia económica.

El HLB se considera una de las enfermedades más destructivas para los cítricos en el mundo. HLB es una enfermedad grave porque no permite el uso de injertos en la búsqueda de resistencia, como si sucede con otras enfermedades como la muerte súbita o la tristeza de los cítricos. A la fecha, el HLB infecta independientemente del injerto que sea utilizado (no hay materiales resistentes). Tampoco existe un control químico disponible, como si ocurre con otras enfermedades (para el Canker, por ejemplo, existe el sulfato de cobre). Los 3 países más grandes productores de cítricos (China, Brasil y EEUU) tienen el HLB.

Una reseña del impacto económico por este patógeno en diferentes partes del mundo señala:

- En Tailandia el 95 % de los árboles de cítricos fueron afectados en 1981 (Bové, 2009).
- En Sudáfrica ocasiona pérdidas anuales del 30 al 100% de la producción, siendo la enfermedad más importante desde hace algunas décadas, donde afecta todas las especies sin importar el tipo de portainjerto utilizado.
- En la Isla Reunión (África) se perdió la citricultura en 1960 y en Tailandia se han reportado plantaciones abandonadas por los estragos que causa el HLB.
- En Filipinas, la producción de cítricos en el año 1960 fue de 11,700 toneladas, disminuyendo por el ataque de este patógeno hasta las 100 toneladas durante 1970; lo anterior, debido a que afectó a 7 millones de plantas en esa década; los registros muestran que en 1971 causó la muerte de un millón de árboles en una sola provincia de ese país.
- En Indonesia, más de 3 millones de plantas fueron afectadas entre 1960 y 1970.
- En Java y Sumatra, 3 millones de árboles fueron destruidos entre 1960 y 1970, y en Bali se perdieron 3.6 millones de árboles entre 1984 y 1987.
- En Guandong (China), durante el período comprendido entre 1977 y 1981 fueron erradicadas 960,000 plantas de mandarinas y limones por causa del HLB, disminuyendo la producción de la región de 450,000 a 5,000 toneladas.
- Todas las plantaciones de mandarinas y naranja dulce de Arabia Saudita desaparecieron durante la década de 1975 a 1985.
- En Taiwán se reporta que gran parte de la citricultura ha sido destruida por esta enfermedad.
- La industria citrícola de la India está siendo destruida lentamente por esta enfermedad.
- En Brasil 3 millones de árboles de naranja dulce fueron erradicados en 2004.
- En Florida se diseminó por dicho territorio en tres años y se estima la pérdida por HLB y Canker en US \$ 9.3 billones.

V. Bacteria asociada al HLB.

Las pruebas de PCR para la identificación de la bacteria asociada al HLB se utilizan ahora eficazmente para el diagnóstico tanto en plantas infectadas (sintomática o

asintomáticas) como en los vectores. La bacteria también puede ser detectada con un Microscopio Electrónico, ELISA y técnicas inmunológicas.

Desafortunadamente, muchos árboles infectados pueden escaparse de ser detectados si solo se usan los síntomas. Se estima que entre el 15% y 20% de las plantas infectadas no presentan síntomas que puedan ser detectados por inspectores calificados. Las plantas pueden ser asintomáticas por 2 meses o por 2 años, motivo por el cual es recomendable el diagnóstico por PCR también en plantas asintomáticas. Esta asintomatología dificulta el proceso de control del HLB.

El agente asociado al HLB es una alfa proteobacteria fastidiosa Gram Negativa, de cerca de 2000 nm de largo y 100 a 200 nm de diámetro, la cual, hasta ahora no ha sido posible cultivarla en medios artificiales. Este organismo se restringe al floema de algunos géneros de las Rutáceas (**Figura 3**) aunque tiene la capacidad de multiplicarse en la hemolinfa y las glándulas salivares de los psílidos vectores.

La bacteria solo vive en el floema, o sea no es realmente patógena en el sentido que invade y mata las células, sino que obstruye los vasos del floema por su crecimiento, como una "arterioesclerosis" en el humano. Esquivel, comunicación personal. 2009.

Observaciones recientes con el Microscopio Electrónico en Brasil, demuestran que la bacteria varía en su forma desde redonda a ovalada alargada a baciliforme. Estos corpúsculos están rodeados por una doble membrana compuesta cada una de ellas por tres capas, una membrana citoplasmática y una exterior.

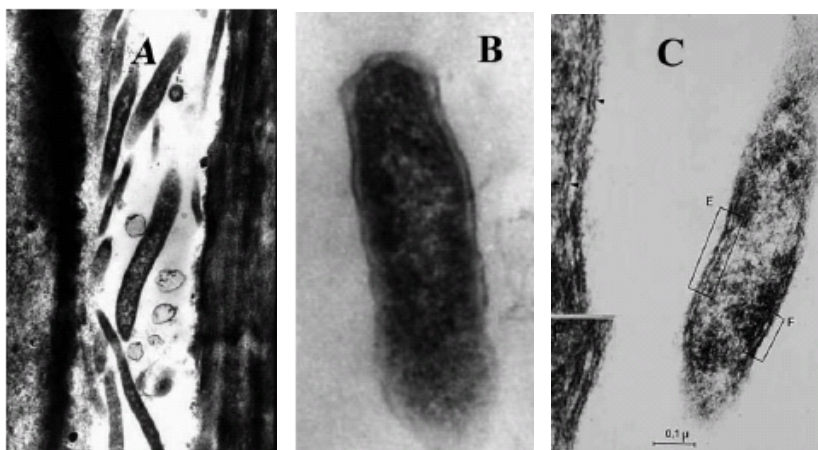


Figura 3. Fotografías de Microscopio Electronico de la Bacteria Liberobacter (Bové, 2006).

Dentro de estos insectos, la bacteria cruza la pared intestinal hasta llegar a las glándulas salivares, vía hemolinfa, tomándole de 1 a 3 semanas según la virulencia de la variante. Las investigaciones con anticuerpos monoclonales hechas con muestras de China, India y África, demostraron la existencia de varios serotipos o cepas de HLB. Las pruebas moleculares como el PCR y pruebas de tipos específicos de ADN, han sido

usadas exitosamente para detectar y diferenciar *Candidatus Liberacter spp* en plantas e insectos vectores.

También se sabe que, algunas especies de cítricos, como la Naranja Dulce y Mandarinas, producen un compuesto llamado glucósido gentísico, como resultado de la infección. El ácido gentísico brilla bajo luz ultravioleta y puede ser visto directamente en el albedo de las frutas de las naranjas dulces.

Por muchos años se han usado plantas indicadoras para el diagnóstico del HLB. Los mejores indicadores son el Ponkan (*Citrus reticulata*) y el tangelo Orlando (*Citrus tangelo*), sin embargo si están presente formas severas del Virus de la Tristeza (CTV) se puede confundir la expresión de los síntomas.

En la actualidad se reconocen tres razas de este patógeno:

- *Candidatus Liberibacter asiaticus*: Presente en Asia, Brasil, Florida, EEUU y la Región de OIRSA.
- *Candidatus Liberibacter africanus*: Presente en África
- *Candidatus Liberibacter americanus*: Presente en Brasil (en prevalencia muy baja actualmente, según Bové, 2009).

En Brasil 2004/2005, la raza americana **Liberibacter americanus** estaba presente en 95 % de los árboles. Sin embargo, en 2008 la situación se ha invertido y la que prevalece es la raza asiática **Liberibacter asiaticus**. Esta situación puede deberse a que **Liberibacter asiaticus** es tolerante al calor (San Pablo, en Brasil es caliente) Bové, 2009, comunicación personal.

La raza africana es menos agresiva y la temperatura ideal para manifestar síntomas es en climas frescos entre los 22°C y 24°C. En regiones con temperaturas más calientes (27°C a 30°C), los síntomas son menos severos; incluso la ocurrencia de temperaturas calientes por períodos largos puede inactivar completamente la variante africana del patógeno (no tolera 32°C). Por otra parte, los síntomas de infección por la raza asiática se manifiestan bien en altas temperaturas.

Otra diferencia entre ambas razas está relacionada con la altura sobre el nivel del mar a la cual se encuentra el cultivo. En el caso de la raza africana aparece con más frecuencia en zonas localizadas por encima de los 500 msnm, mientras la raza asiática se desarrolla en superficies más bajas y calurosas. La raza americana, recientemente detectada en Brasil se asemeja a la variante asiática del HLB en la expresión y severidad de los síntomas; sin embargo, estudios realizados en Brasil indican que es intolerante al calor como la raza africana (Gottwald, 2007).

Investigaciones muy recientes hechas en Florida, EEUU, a través de microscopia electrónica, PCR y la secuencia de productos de PCR han encontrado que el HLB no es causado por una sola especie de bacteria, sino por dos. El *Liberibacter sp* y una actinobacteria simbiote del género *Propionibacterium*. Al parecer, el *Propionibacterium sp* se encuentra comúnmente en los tejidos cítricos y en la hemolinfa de los psílidos

vectores y es esencial para el desarrollo del *Liberibacter sp* posiblemente por la producción de factores de crecimiento aún desconocidos (Davis et al, 2008).

El término *Candidatus* significa que la bacteria nunca ha sido cultivada en medios de cultivos en laboratorio y ha sido solo caracterizada por técnicas moleculares de ADN (Murray & Scheleifer, 1994). Por otro lado, no ha sido posible probar el postulado de Koch en esta bacteria por lo que se usa el término “**asociada al HLB**” y no es correcto referirse a la bacteria como “agente causal”. Actualmente el *Liberibacter sp* ha podido ser cultivado por investigadores en medios artificiales en co-cultivo con la bacteria *Propionibacterium sp*.

En 2007, árboles con hojas y frutos con síntomas de HLB mostraron que fueron negativos para todas las especies de **Liberibacter** pero fueron positivas a un fitoplasma, el fitoplasma (no tiene membrana celular) se encuentra en el mismo lugar que la bacteria de HLB. Es transmitido a los cítricos por un saltahoja (Cicadellidae) o por *Diaphorina citri* de una planta que no es cítrica. Fue identificado en plantas de leguminosa de cobertura en las plantaciones de los cítricos (*Crotalaria juncea*). En China hay otro fitoplasma asociado a HLB diferente al de Brasil (Bové, 2009. Comunicación personal).

Una nueva especie de *Candidatus* **Liberibacter solanacearum** ha sido asociada con enfermedades de plantas solanáceas como tomate, pimentón y papa en Nueva Zelanda y ha sido asociada con la enfermedad zebra de la papa en EEUU y México. El vector asociado es el psílido *Bactericera cockerelli* y la bacteria ha sido caracterizada como **Liberibacter psyllaureus**. Este psílido ha sido encontrado en EEUU, Canadá, México, Guatemala y Honduras. Los cítricos no son hospedantes de este psílido. El *Liberibacter* de la papa es el primer *Liberibacter* de hospedantes no cítricos. Los estudios muestran que las plantas solanáceas son hospedantes de un *Liberibacter* cítrico y el *Liberibacter* de la papa puede casi probablemente ser transmitido a la naranja dulce y si es así podría ser asociado con el HLB. Una vez en el cítrico, la bacteria podría ser transmitida por *Diaphorina citri* de cítrico a cítrico. Bové, 2009 (Liefting et al 2009- Hong Lin et al, 2009- Gudmestad and Secor, 2007). Recientemente, *Candidatus* **Liberibacter asiaticus** fue transmitido a tomate (Duan et al, 2008). Estos resultados muestran que el *Liberibacter* de los cítricos puede infectar tabaco y tomate. Así el *Liberibacter* de las solanáceas es capaz de infectar cítricos (Bové, 2009).

La enfermedad HLB es también conocida como Blotchy Mottle, Branco Disease, Citrus Greening, Dieback, Enverdecimiento de los Cítricos, Leaf Mottle, Likubin, Vein Phloem Degeneration, Yellow Branch, Yellow Dragon Disease y Yellow Shoot Disease, aunque el nombre oficial es Huanglongbing.

(黄龙病)

(Huanglongbing en chino).

VI. Rango de Hospedantes.

Algunos autores afirman que los síntomas se expresan de forma más severa (más susceptibles) en naranja dulce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) y toronjas. Los síntomas son más moderados en mandarinas (*Citrus reticulata*), limones (*Citrus lemon*) y naranja agria (*Citrus aurantium*), mientras que las manifestaciones son pocas o inexistentes en naranja trifoliata con sus híbridos. Casi todas las especies de *Citrus* y otras especies de la familia Rutaceae pueden ser infectadas por el HLB (alrededor de 50 especies). En el Anexo 3 se detalla la lista de especies susceptibles.

También es conveniente mencionar que aparte de alimentarse de brotes tiernos de los cítricos, el psílido asiático se alimenta de brotes de la Rutácea ornamental conocida como mirto o limonaria o jazmín (*Murraya paniculata*), la cual se considera el hospedero preferido por el psílido, lo que hace difícil su control, ya que es común encontrar esta especie en jardines, avenidas y traspatios de zonas urbanas (Zhou, 2007). En EEUU el HLB pasó de Florida a Louisiana a través del traslado de la *Murraya paniculata*. La especie ornamental *Swinglea glutinosa* (Limoncillo), es muy utilizada en cercas y divisiones de propiedades y Jardines, por su gran cantidad de espinas y está reportada como hospedera del *Diaphorina citri*, por lo que debe ser considerada en las prospecciones.

La Lima mexicana (*Citrus aurantifolia*) es la especie que en todos los países de OIRSA se le llama erróneamente limón, pero que es lima. Porque el verdadero limón es *Citrus limon* ó limón rugoso. La Lima mexicana y la *Murraya paniculata* (mirto, limonaria o jazmín) son "**plantas amplificadoras**". Este término significa que la lima mexicana y la *Murraya paniculata* son extremadamente atractivas al insecto vector *Diaphorina citri*. Por eso, el insecto *Diaphorina* siempre preferirá la Lima mexicana y la *Murraya paniculata* a otro cítrico o Rutácea. El insecto al comportarse de esa manera en estas plantas "amplifica" el inóculo de la bacteria debido a las altas poblaciones del insecto. Paralelamente, la Lima mexicana es más resistente a la bacteria o sea al HLB o greening, que la naranja. En resumen: la lima mexicana es mucho más susceptible al insecto, pero más resistente a la bacteria ó HLB (greening) que la naranja, lo que significa que eventualmente el Greening afectará más a la naranja que a la lima mexicana y la Región de OIRSA debe prepararse a esa proyección epidemiológica.

Esto explica porqué el HLB se ha detectado en República Dominicana y en Belize, en árboles de lima mexicana, en traspatio y generalmente hacia las costas del Caribe.

VII. Sintomatología.

Generalidades en la sintomatología.

Los síntomas varían con las especies, las variedades y la edad de la planta afectada, ya que estos se observan claramente en árboles jóvenes, mientras que en los afectados después de su desarrollo, los síntomas son menos marcados (INISAV, 1999).

La prospección debe ser dirigida hacia los árboles jóvenes de 6 a 9 años y de menores alturas de 5 a 9 pies porque son los más susceptibles al HLB, según experiencia de Brasil y Florida. Es importante recalcar que éstas experiencias indican que hay mayor prevalencia de síntomas en la parte superior de la copa de los árboles, así como, en los árboles que están al borde de la plantación “efecto de borde”, por lo que se recomienda buscar los síntomas de HLB en los primeros 100 metros hacia adentro de la plantación. Debido principalmente a la característica de asintomatología de esta enfermedad, se recomienda realizar 4 prospecciones por año, cuando se detecta la bacteria porque una sola no es suficiente (por la asintomatología).

Si no se tiene el HLB, las inspecciones pueden ser de 1%, 5% y 10 % dependiendo de la cercanía o lejanía a países o fincas que tengan la enfermedad. Los síntomas pueden presentarse durante todo el año, sin embargo, hay que analizar en cada país en qué periodo del año, se concentran las mayores probabilidades de tener más árboles asintomáticos, para evitar esos periodos e identificar en qué periodos del año se presentan los árboles más sintomáticos (probablemente en invierno), por el efecto de las condiciones climáticas y varietales de cada país o de la Región. Esta información será suministrada por la base de datos que muestre los registros mensuales en cada país, así, si se incrementa la cantidad de muestras es porque la incidencia de la enfermedad es mayor. Esta base de datos será una valiosa herramienta para tomar decisiones precisas y acertadas en el control del HLB.

Asimetría del síntoma de HLB versus simetría de deficiencias de nutrientes.

Los síntomas del HLB se basan en la asimetría lo cual consiste en que si dividimos visualmente la hoja por la nervadura central, los lados muestran patrones moteados asimétricos. Esta asimetría del

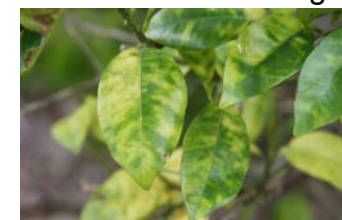


HLB contrasta con la marcada simetría que es característica en los síntomas de las deficiencias de nutrientes en las hojas (lado izquierdo muy similar al lado derecho), ejemplo: la deficiencia de Zinc.



Deficiencia de Zinc. Foto izquierda.

Moteado asimétrico y difuso (blotchy mottle): el síntoma más importante. Foto a la derecha.



importante en la prospección de la enfermedad y los recursos humanos y económicos deben ser dirigidos principalmente a la búsqueda de dicho síntoma. El blotchy mottle o moteado son manchas de formas irregulares, verdes-claras o amarillas mezclado con un verde normal, sin una clara división entre sí. Ver los síntomas al final de esta Ficha Técnica 4.

Moteado asimétrico difuso: el síntoma más importante.

Es importante mencionar que al ver el moteado, debe asegurarse que ese moteado no es causado por otra plaga, por ejemplo, mancha gracieta o alimentación de ácaros, para ello, se debe observar el envés de la hoja, de esta forma se asegura que el moteado es por HLB y no está enmascarado por otra plaga. El moteado en el haz debe reflejar que en el envés no hay otra causa (hoja limpia en el envés). Este moteado puede presentarse también en hojas pequeñas o jóvenes.

Retoños amarillos.

Es importante observar el árbol en su contexto general (a distancia), así se podrá apreciar los retoños amarillos de donde deriva el nombre de la enfermedad (enfermedad de los retoños amarillos). Estos retoños amarillos se forman cuando los moteados de las hojas han avanzado hacia la clorosis de las hojas (hojas amarillas). Posteriormente, esas hojas cloróticas caen y finalmente las ramas se secan.



Nervaduras Amarillas.

Probablemente el más prevalente síntoma en algunas épocas del año, sin embargo, no necesariamente el mejor síntoma de diagnóstico (solo para inspectores experimentados), debido a que las venas amarillas también pueden ser causadas por herbicidas, *Phytophthora* o daño físico y hay que ser cuidadosos con este síntoma.



Nervaduras amarillas.

Islas verdes.

Las islas verdes son un síntoma de extrema deficiencia de Zinc. Sin embargo, árboles con HLB mostrarán deficiencias de zinc, por lo cual, el síntoma puede estar asociado con el HLB. El síntoma de las islas verdes es frecuentemente encontrado después del blotchy mottle. La experiencia en Florida indica que cuando se encuentra solamente este síntoma y ninguno de los otros síntomas, no es HLB.



El HLB puede provocar deficiencia de Zinc y por esto expresarse como islas verdes. La deficiencia de Zinc, que es muy común, puede enmascarar los síntomas del HLB, por lo que es muy importante mantener la plantación o los plántones de viveros fertilizados. (Bové, 2009 Comunicación personal).

Nervaduras corchosas

En algunos casos se observa el engrosamiento de las nervaduras de las hojas, tomando un aspecto corchoso o protuberante.



Nervaduras corchosas

Síntomas en hojas versus diagnóstico positivo por PCR

Debido a que los síntomas del HLB en las hojas, varían de país en país, inclusive en la misma especie y variedad de cítrico, se recomienda que cada país caracterice su propia sintomatología basada en fotografías de síntomas de hojas con resultados positivos en PCR.

Recomendación en la búsqueda de síntomas de HLB.

Se recomienda que se camine la plantación observando minuciosamente y cuando se vean síntomas de deficiencias de nutrientes, venas amarillas, retoños amarillos y moteados difusos o blotchy mottle el inspector se detenga y tome la muestra del blotchy mottle, marque y registre el árbol. Es importante marcar el árbol y georreferenciar la finca porque de ser diagnosticado positivo al HLB por PCR, deberá ser removido lo más pronto posible.

Síntomas en Frutos.

Durante la infección las floraciones, éstas tienen pobre cuajado de frutos; se presenta la caída prematura y los que se mantienen en el árbol son pequeños y torcidos; también toman la coloración normal solo en la parte expuesta al sol, mientras que la otra parte toma una coloración verde-olivo intenso (Gottwald, 2007).

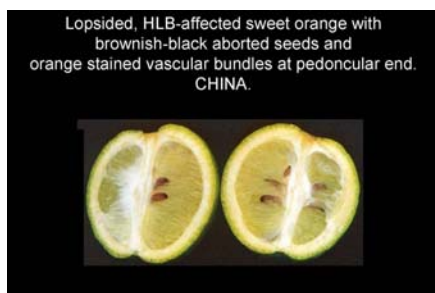
Los síntomas en las frutas, son fácilmente vistas en la naranja dulce y mandarina tangor. En una fruta de naranja normal cuando madura el color amarillo empieza desde el extremo de la fruta hacia el pedúnculo, sin embargo, en una fruta de naranja con HLB la maduración comienza desde el pedúnculo hacia el extremo (inversión de color).

Por otro lado, en la naranja dulce, la zona donde se une el pedúnculo al fruto es verde en una fruta sana y de color anaranjado en una fruta con HLB. Cuando la fruta de naranja dulce está infectada con HLB y está todavía verde la zona de inserción del pedúnculo se muestra de color anaranjado, mientras que en una fruta sana es de color verde pálido. El color anaranjado en este lugar peduncular de la fruta es el resultado de la inversión de color, que se inicia por allí y puede ser vista removiendo el pedúnculo. La invasión de la bacteria en este sector en que se une el pedúnculo con la fruta se proyecta hacia dentro

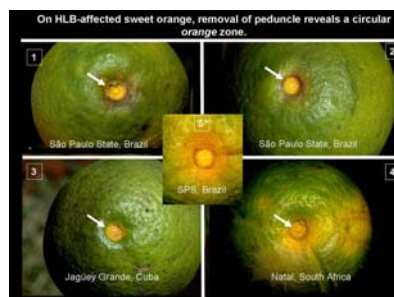


de la fruta como haces vasculares de color naranja (como una reacción del tejido infectado a la bacteria).

Si el pedúnculo está verde en su incisión, la fruta está sana y al alarla no se desprende. La fruta infectada es deforme o torcida y al ser cortado por la mitad se observa un lado del lóbulo bien desarrollado y el otro menos desarrollado, así como, el albelo más grueso (grosor de la cáscara). Ver fotos Bové, 2008.



Fruto torcido (ver lóbulos asimétricos)



Inserción color anaranjado por HLB.

Los frutos poseen una baja cantidad de jugo, además de poca concentración de sólidos solubles y azúcares, por lo que son muy ácidos y no pueden utilizarse en la industria por su sabor amargo-salado desagradable (INISAV, 1999). Las semillas son abortadas, pequeñas, semidesarrolladas y atrofiadas, con una coloración oscura y dispareja, a menudo con manchas.

En resumen, los daños causados por el HLB son los siguientes:

- Disminución del peso de los frutos.
- Disminución del nivel de azúcar (parámetro importante para la industria).
- Aumento del nivel de acidez.
- Disminución del porcentaje de jugo.
- Disminución del tamaño y alteración del color y forma.
- Una planta joven no llega a producir frutos.
- Afecta a todas las variedades independientemente de los patrones.
- La fruta no es apta para consumo, ni para el comercio.

Es importante anotar que el HLB no produce la muerte de los árboles de cítricos, pero en la práctica produce la “muerte económica” del árbol, ya que este deja de producir frutos.

VIII. Diseminación del Huanglongbing o Greening.

La diseminación de la bacteria se da por injertos y por el insecto vector.

▪ Transmisión por Insectos Vectores.

La principal forma de diseminación de este patógeno es a través de dos vectores: *Diaphorina citri* para la cepa bacterial asiática y *Trioza erytreae* para la cepa bacterial africana. Bajo condiciones favorables la diseminación de la enfermedad se da

rápidamente. Se calcula que el vector se dispersó en la isla de Cuba en menos de 3 años.

El patógeno posiblemente se multiplica en el vector, pero esto no ha sido demostrado hasta ahora.

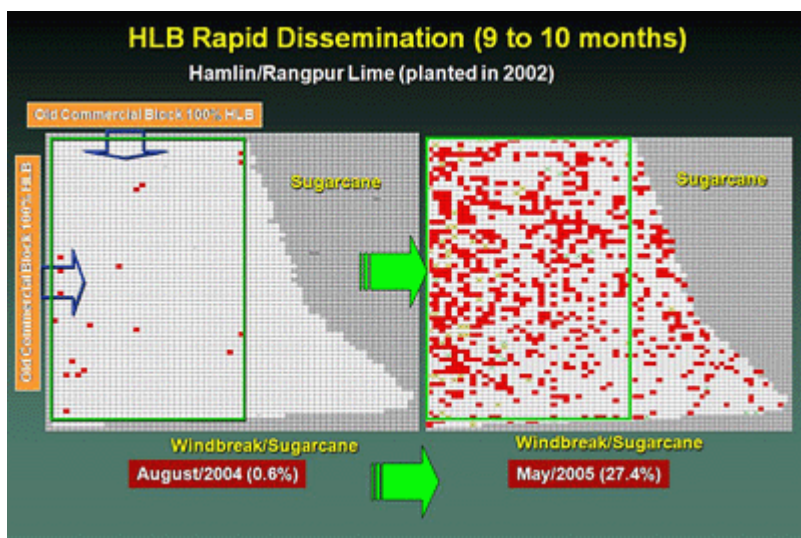


Figura 5. Comparación de detección de casos de HLB con una diferencia de 9 meses en Naranja Hamlin, en Brasil. Los cuadros blancos son árboles sanos, los rojos son infectados con HLB. Fundecitrus. 2009.

Trioza erytreae es muy sensible al calor y al clima seco. Lo favorece el frío (20°C - 24°C) y las condiciones que se presentan por encima de los 500-600 msnm. Los huevos son depositados en la epidermis de las hojas, donde existan las condiciones húmedas necesarias (**Figura 4**). Las hembras permanecen fértiles de 11 a 16 días en ausencia de machos adultos y su máxima producción de huevos (2,000 por hembra) la alcanza en la mitad de su ciclo vital que es de 17 a 50 días.

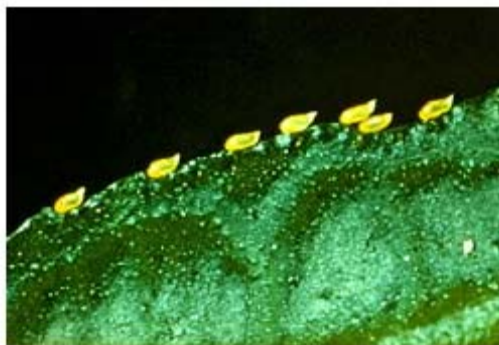
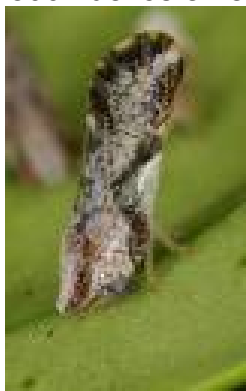


Figura 4. Huevos de *Trioza erytreae* sobre hojas de cítricos.
http://www.appo.org/CUAPANTIN/bacteria/Liboribacter_ahricanum/LIBESP_imags.htm

Diaphorina citri (**Figura 5**) tiene un corto período de vida y una alta fecundidad. Las hembras tienen un período de oviposición de 12 días y son capaces de depositar varios huevos por oviposición, los cuales eclosionan a los 3 días en verano y hasta los 23 días en invierno. El ciclo completo es de 15 a 47 días, pudiendo presentar hasta 10 generaciones por año. El adulto puede hibernar hasta por más de seis meses. Las hembras pueden ovipositar más de 800 huevos en el transcurso de su vida.



Adulto de *Diaphorina citri* alimentándose (posición en ángulo de 45°)

Un comportamiento típico de este insecto es saltar de las hojas cuando éstas son movidas, al estar sobrepobladas o cuando posean pocas condiciones para su desarrollo, efectuando saltos de 3 a 5 metros, diseminándose la enfermedad dentro de la plantación, a través de la alimentación. El insecto vector vuela de 25 a 50 metros entre plantas (Infección secundaria / fuente de inóculo local) y coloniza nuevas plantaciones hasta 3.5 kilómetros (Infección primaria / fuente de inóculo externo).

Ambos psílidos pueden adquirir el patógeno después de un corto período dealimentación, 15 a 30 minutos (100% de seguridad a la hora o más) y permanecen infectivos durante toda su vida (3 a 4 meses). No se ha probado la transmisión transovárica.

- **Transmisión por Injerto.**

Otra forma importante de diseminar el patógeno a grandes distancias es mediante el traslado de yemas y plantas infectadas, razón por la cual los países afectados han implementado programas de certificación de viveros, mediante los cuales garantizan que las plantas que llevan a campo van libres de éste y otros patógenos.

El Huanglongbing es una enfermedad transmitida por injerto lo que identifica la importancia del programa de certificación de viveros citrícolas, como programa necesario para eliminar las enfermedades citrícolas transmitidas por injertos en general y ésta en particular. A pesar de ello, no es 100 % seguro, por lo que es ideal hacer tratamientos como por ejemplo el microinjerto y la termoterapia. El principio se basa en que estas microyemas tienen un tejido meristemático que crece a una velocidad tan vertiginosa, que “escapa” al patógeno. Técnicas de indexado biológico y análisis de laboratorio son recomendados como programas complementarios de bioseguridad en el cuidado del Germoplasma.

La transmisión del HLB por injerto depende de varios factores, como por ejemplo, la parte de la planta usada para el injerto, cantidad de tejido usado y el tipo de patógeno. En África, con una sola yema, la transmisión del HLB varía de 0 a 50%. Los injertos laterales con ramas fueron los más eficientes en transmitir el patógeno, mientras que ramas frutales y yemas de tallos no fueron efectivas.



▪ Transmisión por Semilla.

Hay muy poca información sobre la transmisión del HLB por la semilla. La transmisión de *Candidatus Liberibacter asiaticus* por la semilla ha sido reportado por Zhou et al, 2008 en una frecuencia por PCR de ~ 2% en frutos de cítricos, pero, la progenie de esas semillas no produjeron síntomas de moteados. La transmisión del HLB por semilla no ha sido demostrada. Bové, 2009, INRA-Francia. Puede que se transmita la bacteria pero no la enfermedad. Al principio los análisis pueden salir positivos por PCR, pero meses después salen negativos por PCR. Michael Irey, 2009. Southern Garden, Florida.

Para los países de la Región del OIRSA, más importante que saber si HLB se transmite o no por semilla, es proteger urgentemente las plantas madres con mallas antiáfidos, que permitan obtener de ellas “yemas sanas”, antes que sea demasiado tarde.

Algunos investigadores han observado que las semillas de forma y tamaño normal de frutas de árboles con HLB, producen árboles sanos, mientras que las semillas deformes o pequeñas, producen plántones raquíuticos y cloróticos. Asimismo, dado que muchas frutas se pierden y en las que no, la mayoría de las semillas son pequeñas, semi-desarrolladas y atrofiadas raramente se utilizarán para reproducir y como consecuencia, es mínima la probabilidad de diseminar el patógeno de esta forma. Es un hecho histológico que el sistema vascular de las semillas no está conectado con el sistema vascular de la planta madre, teóricamente sería imposible que la bacteria pasara vía intracelular al embrión 1) Si el árbol está afectado por HLB en una forma inicial o asintomática, sus frutos serán normales. Estos son destinados al consumo, así que no hay peligro en el remoto caso de que alguna semilla sea plantada y 2) Si está afectado con síntomas, o avanzado de HLB, o no produzca frutos normales, o sean deformes, con mal sabor, pequeños, que lógicamente no podrán ser comercializados, así que tampoco serán comercializados. Además, si se siguen las directivas de control del HLB, los árboles con síntomas serán eliminados, así que mal podrían producir frutas para el comercio. Eduardo Esquivel, 2009.

Otros métodos de transmisión.

Se ha comprobado que la HLB, no se transmite mecánicamente (uso de herramientas: tijeras, cuchilla, machete y similares), ni en la ropa.

IX. CONTROL DEL HLB.

▪ Control Químico.

No existe hasta el momento un método de control curativo con productos químicos o antibióticos para la bacteria. Las inyecciones de antibióticos como Tetracilina, además de ser costosas, detienen el crecimiento de la bacteria temporalmente y se han reportado efectos secundarios en la planta.

▪ Resistencia Genética.

Se proyecta que la resistencia al HLB puede ser desarrollada en 5 o 10 años.

▪ Evolución de la Enfermedad según la edad de la planta.

La severidad del HLB en un árbol está en función de la edad de la planta al momento de la infección. Entre más joven es el árbol en el momento de la infección la severidad es mucho mayor. Los árboles jóvenes tienen mayor cantidad de brotes durante todo el año, lo cual es atractivo para el vector. En este contexto es mucho más difícil el control del HLB si la infección se presenta en árboles nuevos.

▪ Estrategia: Prevención del contagio epidemiológico. Tecnología de Brasil (Fundecitrus).

En ausencia de tratamientos curativos para la bacteria, esta estrategia de control se basa en los principios básicos de epidemiología para prevenir el contagio de la bacteria asociada al HLB, ya que es la única manera de enfrentarse al HLB, una vez que la enfermedad ha comenzado a establecerse en una región.

El control es preventivo y está basado en tres medidas: 1) eliminación del inóculo de la bacteria removiendo los árboles sintomáticos (la planta removida no contiene tejido vegetal apropiado ni para la bacteria ni para el insecto), 2) tratamiento con insecticida para mantener al psílido vector en poblaciones tan bajas como sea posible y 3) producción de árboles sanos de cítricos en viveros cubiertos con mallas, para reemplazar los árboles removidos.



Platform with 4 inspectors for examination of large trees

Para poder remover todos los árboles sintomáticos, debe efectuarse una prospección exhaustiva en todas las plantaciones cítricas comerciales, no comerciales y traspatio, en eso se basa la técnica de control. Para una prospección segura, se recomiendan 4 inspecciones por año en cada plantación (una sola inspección por año no es suficiente), debido a que en países con clima tropical se presenta retoños de floración durante todo el año, al igual que el riego estimula la brotación y hay que tomar en cuenta que el

vector prefiere alimentarse de los retoños tiernos, aumentando la infección de la bacteria. Además entre inspecciones, los vectores escapan al control químico.

Se estima que un inspector cubre 400 árboles por jornada. Es importante recalcar que los síntomas se intensifican en el estrato superior del árbol, razón por la cual se hace necesario el uso de plataformas hidráulicas acopladas al tractor. El uso de caballos puede ser una alternativa económica, principalmente en plantaciones con topografías quebradas y que permite observar también los síntomas en el estrato superior del árbol.

La Estrategia del Control efectivo del HLB se basa en detectar oportunamente la enfermedad (la bacteria) mediante los síntomas en las hojas (moteado asimétrico o blotchy mottle), síntomas en los frutos y la confirmación de muestras sospechosas por PCR. De esta manera, se pueden ubicar las fincas, las áreas y los árboles infectados y se recomienda la eliminación de estos árboles infectados lo más pronto posible. Si se encuentra una sola planta positiva en la finca, la bacteria ya llegó a la plantación y se estima que la finca está contaminada. En este caso, la planta infectada debe ser eliminada, lo más pronto posible (preferiblemente a las 48 horas después de haber sido diagnosticado el árbol como positivo) y deben hacerse aplicaciones de insecticida en toda el área y volver a hacerse una inspección, esta vez del 100% de los árboles. Entre las principales medidas fitosanitarias para el control del HLB es importante la eliminación de los árboles enfermos y la eliminación de las otras plantas Rutáceas hospedantes de *Diaphorina citri* dentro y en los alrededores de las plantaciones. Se estima que la remoción de árboles debe estar alrededor de 2 % por año. Las plantas de mayor edad (10 años o más) van a producir frutos, pero, las plantas deben ser removidas por constituirse en inóculos de la bacteria.

Dependiendo de la población de insectos vectores, se recomiendan 2 aplicaciones mensuales de insecticidas (pueden ser sistémicos en el invierno y de contacto en el verano). Una vez detectada la bacteria, no hay tolerancia para el insecto vector.

Las plantas eliminadas pueden reemplazarse de forma inmediata con plantas sanas si estas son procedentes de viveros certificados cubiertos con mallas antiáfidos. En Florida, los viveros antiguos han permanecido donde estaban, pero los viveros nuevos, deben estar ubicados a una milla de distancia de las plantaciones comerciales de cítricos. La reducción de los viveros en Florida ha sido muy marcada (de 1000 viveros han quedado alrededor de 42 activos).

Con esta estrategia, Brasil ha logrado controlar la prevalencia del HLB a **0.5%** lo cual es muy exitoso para esta enfermedad (Belasque, Información personal, 2009).



3. Closed nurseries for the production of HLB-free trees

Cuando la plantación tiene un 28% de infección, hay que eliminarla totalmente, debido a que se ha probado que epidemiológicamente que por cada planta positiva detectada hay tres más que no se detectaron (una enferma que no se detectó, otra que está infectada pero que no presenta síntomas (asintomática) y otra que será infectada próximamente) (FUNDECITRUS, 2009).

El HLB toma varios años para alcanzar niveles altos de incidencia. El avance de la incidencia del HLB es dependiente de a) las poblaciones del insecto vector, b) la extensión del inóculo y c) la edad del cultivo en la primera infección. En cultivos jóvenes (debajo de 3 años de edad) se ha requerido de 3 a 5 años para que la incidencia alcance niveles sintomáticos, mientras que en cultivos de mayor edad se requieren más de 5 años. Usualmente, las grandes concentraciones de árboles sintomáticos son encontradas en los bordes de las parcelas de cítricos (efecto de borde) Bové, 2009.

Aunque en un principio se pensó que la poda masiva de los árboles afectados podría tener algún efecto curativo o retrasar el desarrollo de la enfermedad, se ha comprobado que esta medida es inefectiva y hasta perjudicial, ya que proporciona fuentes activas de inóculo a los vectores, que dispersarán aún más la enfermedad. En África fue demostrado que la poda no funciona en el control del HLB. En Brasil el 90 % de los árboles podados, desarrolló síntomas en los rebrotes en 2007.

La eliminación de los árboles enfermos debe hacerse sacándolo de raíz o por medio de una tala al nivel del suelo (para que no queden yemas que ocasionen rebrotes). Si la eliminación de los árboles se da por una tala a nivel del suelo, se debe aplicar un herbicida (ejemplo glifosato), en el corte, para evitar rebrotes de yemas. Los árboles eliminados pueden ser reemplazados en forma inmediata, siempre y cuando sus reemplazos provengan de viveros cubiertos por mallas ó viveros certificados.

Es importante resaltar que para eliminar los árboles, primero hay que ubicarlos, por lo que, antes que todo, hay que hacer una prospección detallada del HLB en todo el país. Esto debe ser hecho paralelamente al desarrollo de un programa de capacidad de diagnóstico del HLB, con un laboratorio adecuado para el análisis del PCR o en su defecto acudir a los Laboratorios de Referencias.

Recientemente, en varios países, incluyendo los EEUU, se está probando una técnica de control natural descubierta en Viet-Nam, que consiste en intercalar árboles de guayaba (*Psidium guajaba*) con los de cítricos. La guayaba, al parecer produce una serie de compuestos volátiles que son repelentes a los psílidos vectores y se ha observado que las plantaciones que tienen este sistema permanecen libres de HLB o con muy bajas infecciones. En estos momentos, se está desarrollando la extracción de dichas sustancias volátiles para su aplicación por aspersión.

**Situaciones en que es más fácil o más difícil el control del HLB. Belasque,
Fundecitrus, 2009.**

Situación	Más Fácil	Más Difícil
Tamaño de la finca	Grande	Pequeña
Edad de los árboles	Viejos	Nuevos
Localización de la finca	Noroeste	Central
Fincas malas (sin control)	Lejos	Cerca
% árboles HLB (primera inspección)	Menos de 1%	Más de 10 %
Fecha de la 1ra Inspección	Temprana	Tarde
Número de inspectores	12 por año	4 por año
Número tratamientos con insecticidas	24/año	4/año

FOTOGRAFÍAS DE SÍNTOMAS CLÁSICOS DEL HUANGLONGBING



Fig.1 Hojas con amarillamiento o moteado en un solo lado.

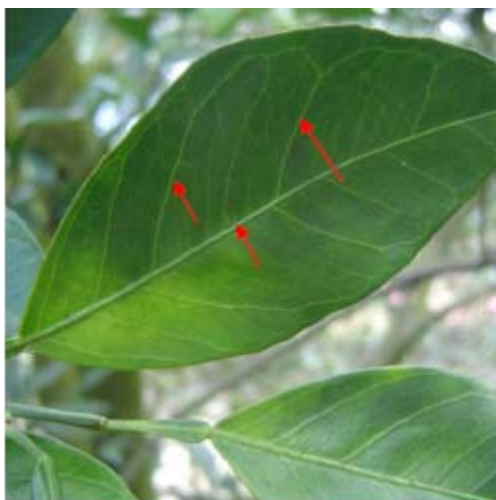


Fig. 2 Hojas con aclaración de las nervaduras.



Fig. 3. Hojas con nervaduras gruesas y corchosas.



Fig. 4 Brotes amarillos y muerte de ramas.

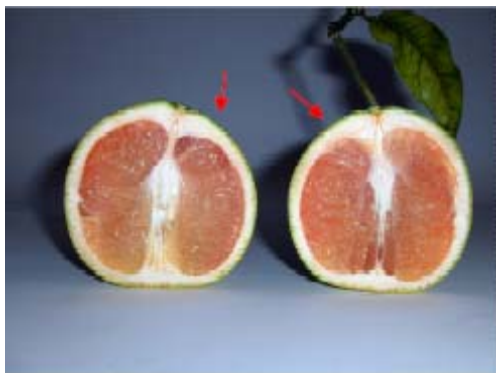


Fig.5 . Frutos deformes



Fig. 6 Coloración amarilla de la región vascular.



Fig.7 Inversión de color



Fig. 8. Semillas abortadas o atrofiadas

Observe los frutos de la foto a la izquierda. La inversión de color en naranjas dulces. Lo usual es que la maduración se inicie desde el ápice y no desde el pedúnculo. Son frutos infectados con HLB.

ANEXO 5

FICHA TÉCNICA

VECTORES DEL HLB DE LOS CÍTRICOS

(*Diaphorina citri* Kuwayama y *Trioza erytreae* del Guercio)



Julio 4 de 2009.

ÍNDICE

Diaphorina citri.

I. Generalidades.....	58
II. Morfología.....	58
III. Ciclo de vida.....	59
IV. Hospedantes.....	61
V. Dispersión.....	62
VI. Monitoreo y Detección.....	62
Ninfas	
Adultos	
VII. Control.....	62
Químico.....	63
Biológico.....	64
Cultural.....	66

Trioza erytreae

I. Morfología.....	68
Adultos	
Huevos	
Ninfas	
II. Daño.....	68
III. Diferencia entre los dos vectores.....	69

VECTORES DEL HLB DE LOS CÍTRICOS

(*Diaphorina citri* Kuwayama y *Trioza erytrae* del Guercio)

I. Generalidades.

Se ha comprobado que la enfermedad conocida como Huanglongbing ó Greening de los Cítricos, es transmitida por dos especies de insectos, los psílidos *Diaphorina citri* y *Trioza erytrae*.

La presencia de los vectores es necesaria para la rápida dispersión del HLB, sin embargo, en muchos países existen psílidos, aunque no haya sido reportada la enfermedad (la bacteria).

Estos insectos vectores pueden alimentarse de un gran número de especies, algunas de ellas Rutáceas ornamentales o silvestres, lo que dificulta su control y hace muy difícil la erradicación de la enfermedad cuando ésta se detecta.

A continuación se hace una detallada descripción de los dos principales psílidos vectores del HLB.

***Diaphorina citri* Kuwayama.**

Taxonomía: Insecta, Hemiptera, Sternorrhyncha, Psylloidea, Psyllidae.

Se han reportado otras cinco especies de ***Diaphorina*** en Cítricos: *Diaphorina punctulata* y *Diaphorina zebrana* en Swazilandia (África), *Diaphorina auberti* y *Diaphorina amoena* en Islas Comoros y *Diaphorina communis* en la India, aunque estas son consideradas de poca importancia como vectores del HLB.

II. Morfología.

Número de huevos: 800 / hembra (en toda su vida).

Los **huevos** son de forma ovoide con prolongación en las puntas, de color amarillo anaranjado y miden aproximadamente 0,2 mm. Son colocados en el extremo de los brotes tiernos, sobre y entre las hojas tiernas desplegadas; apareciendo con frecuencia un gran número en una misma ramita. La oviposición está condicionada a la presencia de brotes tiernos. Los huevos incuban en 2 a 4 días.

Las **ninfas** son aplanadas dorsoventralmente, de color marrón amarillento, sin manchas abdominales, con esbozos alares abultados. Presentan filamentos a lo largo del abdomen y tienen 5 estadíos ninfales. Son sedentarias; se establecen sobre los tallitos tiernos y sobre los pecíolos (**no sobre las hojas**), formando colonias con un número de individuos variable desde unos pocos hasta cientos. Las ninfas del quinto estadío dan lugar a adultos (machos y hembras). Tiene 5 instares ninfales que se completan en 11 a 15 días.

El adulto es de color marrón moteado y mide 2 - 3 mm de largo. Los machos son levemente más pequeños que las hembras y con la punta del abdomen roma, mientras que el abdomen de las hembras termina en punta bien marcada. Los adultos tienen poca capacidad para mantener vuelos muy largos. Cuando son molestados saltan rápidamente.

- Fases en que transmite la bacteria: 4° y 5° estadio ninfal y adulto.
- En 15 a 30 minutos alimentándose en una planta infectada adquiere la bacteria (100% de seguridad una hora ó más).
- El insecto no transmite la enfermedad a la descendencia (transováricamente).
- Detectar la bacteria en el cuerpo del insecto vector es sumamente difícil aún por PCR. En fincas muy infectadas por el HLB solo logran detectar 14 % de vectores infectados con la bacteria.

III. Ciclo de vida.

Los adultos viven entre uno y dos meses en dependencia de la temperatura y la planta hospedante en la que se alimenten. Se señala una longevidad promedio para la hembra de 39.6 a 47.5 días a una temperatura de 25°C, con la característica particular de que pueden vivir por varios meses esperando hasta que llegue el periodo de brotación de las plantas hospedantes. Los apareamientos se realizan después de uno a tres días de la emergencia y en condiciones favorables, caracterizadas por la presencia de brotes en las plantas. Un día después del apareamiento comienza la oviposición.

Otras fuentes consultadas describen para Europa un período de preoviposición de alrededor de 12 días, teniendo en cuenta las condiciones climáticas imperantes en esa región. El abdomen de la hembra grávida toma una coloración amarillo naranja brillante. Los adultos se pueden encontrar en condiciones naturales durante todo el año, depositando huevos dondequiera que haya brotes disponible. El periodo de oviposición es de 17 a 60 días.

Los huevos recién ovipositados son de color amarillo mate y se tornan amarillo naranja a medida que se acerca el momento de la eclosión, tienen forma almendrada y son colocados en el brote joven, cuando está en fase de punta de lanza. La cantidad de huevos depositados está en dependencia de la planta hospedante, por ejemplo, en toronja se ha encontrado una media de 857 huevos por hembra, mientras que en limón es de 572. Cuando la temperatura es de 25 °C la eclosión de los mismos ocurre a los 4 días. En condiciones de insectario a 25- 26°C las hembras depositan 8 huevos diarios y el desarrollo ninfal toma 11-15 días. En observaciones de campo, se ha podido precisar que las hembras depositan los huevos desde que el brote en punta de lanza tiene un tamaño menor de dos milímetros. Posee cinco instares ninfales muy parecidos que varían en tamaño después de cada muda.

En dependencia del instar ninfal, la longitud varía desde 0.25 hasta 1.7 mm y generalmente son de color amarillo naranja. Se alimentan exclusivamente de los brotes jóvenes, sobre todo los primeros tres instares.

Las ninfas del primer estadio son diminutas, de color amarillo claro, con tres pares de patas caracterizadas por el grosor que presentan y en el extremo terminal se observan dos setas conspicuas, rodeando la garra en que termina el tarso. En el transcurso de los días aumentan de tamaño, se mueven lentamente sobre la planta hospedante dejando como huella la cera que expelen por la estructura anal. No presentan esbozos alares y la coloración es más intensa.

En los dos últimos instares, las ninfas migran hacia otros brotes jóvenes. Las ninfas mayores (tercer, cuarto y quinto estadio) presentan los esbozos alares, que aumentan su tamaño en dependencia de la edad. El último instar se caracteriza por poseer los esbozos alares de mayor tamaño. Durante la alimentación de las ninfas es común observar secreciones cerosas, **signo que facilita la detección de la plaga**. A la temperatura señalada anteriormente, transcurren 15 días para completar los cinco instares ninfales. El desarrollo desde huevo hasta adulto requiere de 16 a 17 días a una temperatura de 25 C.

A causa de la corta duración del ciclo del desarrollo, pueden observarse rápidamente numerosas ninfas que dan lugar a los adultos, los cuales se presentan en una menor cantidad, en virtud de que se mueven hacia otros brotes para depositar sus huevos luego de la cópula y continuar la infestación. Otro elemento a resaltar es que existe buena sincronización entre el desarrollo del brote y el ciclo de vida de estos insectos, **por lo que los brotes en crecimiento constituyen un factor fundamental en el comportamiento de la especie**.

Este psílido no tiene diapausa y sus poblaciones declinan en los periodos en que las plantas no están en brotación. El rango de temperaturas más favorable es entre 22 y 29°C. Tanto las altas como las bajas temperaturas son perjudiciales para el incremento de su densidad poblacional. Por el contrario, en Florida, durante un año de estudio no se observaron incrementos poblacionales en los periodos de temperaturas favorables. Estudios recientes indicaron que *Diaphorina citri* no fue capaz de completar su ciclo de desarrollo con temperaturas de 10°C y 33°C.

Aunque se plantea que *Diaphorina citri* no tolera muy bien las heladas, en la Florida se ha observado que sus poblaciones pueden invernar cuando se presentan temperaturas hasta de -5°C en algunas noches. También, se ha afirmado que no tolera humedades cercanas al punto de saturación debido a que esto favorece las epizootias fúngicas a las cuales las ninfas son muy susceptibles; sin embargo se han encontrado pocos individuos infectados por hongos en esta región, a pesar de existir condiciones de alta humedad relativa. En periodos secos, los adultos son numerosos, mientras que las ninfas usualmente están ausentes.

Otra forma de estimación de los niveles poblacionales consiste en situar trampas amarillas para confirmar el momento de mayor captura (abundancia) y proceder con medidas de control químico. Se ha determinado el uso de trampas de color amarillo y verdes. La altura recomendada para situar las trampas es de 1.5 m desde el nivel del suelo. Éstas deben colocadas a una distancia entre si de 25 a 50 metros (debido que es

el rango de vuelo del vector) y éstas deben ser ubicadas en orientación hacia donde se encuentre la plantación infectada más cercana.

Se recomienda buscar los vectores cuando haya muchos brotes y usar las trampas, cuando no haya brotes.

Las poblaciones de *Diaphorina citri* pueden llegar a niveles extremadamente altos. En Pakistán se han detectado hasta más de 40 mil adultos por árbol de naranja. En Reunión, se han encontrado hasta 200 adultos por metro cuadrado en *Murraya paniculata*, succionados con una máquina aspiradora. En Florida, hay registros de 10,000 psilidos por acre y 10 psilidos por acre.

En términos generales, *Diaphorina citri* no se considera una plaga para los cítricos (no causa un daño económico a la planta). Su importancia es como vector muy eficiente, cuando existe la bacteria.

IV. Hospedantes.

En términos generales, las especies hospedantes del *Diaphorina citri* son las mismas mencionadas como susceptibles al HLB. Adicionalmente, se ha observado alta susceptibilidad en especies que no son Rutáceas, como en *Artocarpus* (Moraceae). En Los EEUU y Brasil, se menciona a la Rutácea, *Murraya paniculata* (Mirto o Limonaria o Jazmín), planta que se caracteriza por un olor muy fuerte a jazmin, como la planta hospedera más importante debido a la susceptibilidad tanto al vector como a la bacteria.



Hojas, flor y frutos (verdes y maduros) de Murraya paniculata. Bové, 2009.

En Indonesia, un estudio de la preferencia de alimentación del *Diaphorina citri* en Rutáceas nativas demostró que el *Swinglea glutinosa* (limoncillo) es mucho más preferido por el insecto que las demás especies. Le siguen en orden de importancia el *Aegle marmelos* (Marmelo) y la *Murraya paniculata* (mirto), después, *Limonia acidissima*, *Triphasia trifolia* y *Glycosmis pentaphylla*.

En otro ensayo similar, las plantas favoritas del insecto vector, entre 20 cultivares y especies de Rutáceas, fueron *Citrus junos*, *Swinglea glutinosa* y *Muraya exótica*. Durante este mismo experimentos, las ninfas fueron más comunes en *Citrus hystrix*, *Murraya exotica*, *Swinglea glutinosa* y *Bergera koenigii*.

La Lima Mexicana o Key lime (*Citrus aurantifolia*) y el Mirto, jazmín o Limonaria (*Murraya paniculata*) son muy atractivas para el vector, *Diaphorina citri*, por lo que se consideran plantas **amplificadoras** del HLB por lo que deben ser consideradas en la estrategia de control de esta plaga (Bové, 2009. Comunicación Personal). Los países que tienen HLB implementan una fuerte campaña para la eliminación de estas plantas, principalmente en áreas citrícolas.

V. Dispersión.

Este psílido se puede dispersar por huevos y ninfas a grandes distancias en plantones, yemas y portainjertos. En áreas donde la topografía es plana y no hay barreras rompevientos se ha observado que los adultos pueden volar y ser transportados por una brisa leve hasta 500 metros. Sin embargo, el radio de vuelo en condiciones normales es de 25 a 50 metros entre plantas de un mismo cultivo y hasta 3.5 kilómetros colonizando otros cultivos de cítricos fuera de la plantación original.

VI. Monitoreo y Detección.

Ninfas:

Siempre se encuentran en los nuevos crecimientos (retoños) o sea en las ramitas tiernas, no en las hojas y se mueven lentamente, aún cuando son molestadas. Las ninfas están completamente expuestas. Los retoños afectados muestran hojas deformes o retorcidas debido al efecto de la alimentación o succión de savia por estos insectos vectores, y de tamaño inferior al normal. Muchas veces, las hojas adultas están torcidas o curvas, y se observan cubiertas por fumagina *Capnodium citri*.



Hoja retorcida por alimentación del vector

Adultos:

Se mueven y esconden, o vuelan distancias cortas cuando son molestados. Usualmente se encuentran en grandes cantidades en la parte inferior de las hojas, con la cabeza tocando la superficie de la hoja y el cuerpo en un ángulo de 45 grados cuando se alimenta. El período de más actividad de este psílido corresponde con la emisión de nuevos brotes. En las hojas afectadas no se forman agallas ni verrugas, como en otros psílicos

VII. Control.

En presencia de la bacteria, no hay tolerancia para el insecto vector. En Brasil se actúa con un solo psílido en el campo. En Florida un solo psílido capturado en un invernadero en el proceso de fiscalización estatal, aunque no esté infectado con la bacteria, causa el cierre del invernadero. El control del vector será más necesario a medida que existan más brotes nuevos, pues las poblaciones del insecto se incrementan en este estado

fenológico de los cítricos. La exclusión del vector es un método de control para invernaderos o casas de vegetación y se logra utilizando mallas antiáfidos de 50 mesh y forma parte del programa de certificación de viveros.

Químico.

Todos los especialistas coinciden en que hay que controlar los psílidos con insecticidas. Las poblaciones de psílidos se consideran altas cuando alcanzan a tres ninfas y cinco adultos por rama. El control químico del vector, **donde no exista la bacteria** no es recomendado debido a que *Diaphorina citri*, por sí, no causa daños económicos a los cítricos, tiene una elevada reproducción debido a su corto ciclo biológico y además es un vector que se dispersa sumamente rápido debido a sus hospederos en áreas no comerciales. Sin embargo, es importante monitorear las poblaciones, llevar un registro de las mismas y suprimirlas cuando se detecte la presencia de la bacteria.

El momento de la aplicación de los insecticidas es crítico. En Florida (USA) se prefiere monitorear las ninfas directamente en las ramas o muestrear hembras adultas para observar cuando están grávidas. Su abdomen toma un color anaranjado cuando están próximas a depositar los huevos. Sin embargo, la mejor medida de control se toma observando las ninfas, debido a que es cuando los adultos emergen que la enfermedad se puede dispersar. Esto es particularmente cierto en el caso de los adultos que emergen de las ninfas que se han estado alimentando de plantas infectadas, porque estos pueden transmitir la bacteria apenas emergen.

Diaphorina citri puede ser controlada eficientemente con un amplio número de productos químicos; este método a largo plazo trae como consecuencia la aparición de plagas secundarias, al tener que efectuar varias aplicaciones por año. En Brasil, por ejemplo, se estima que el *Diaphorina citri* puede ser controlada con un programa de 24 aplicaciones de insecticidas por año.

En los EEUU, la Agencia Gubernamental (APHIS), aprobó el uso de seis insecticidas en viveros de cítricos: Acetamiprid, Chlorpyrifos, Fenpropathrin, Imidacloprid, Confidor, Kaolin y Cyfluthrin/imidacloprid. Estos plaguicidas deben aplicarse foliarmente con aspersoras manuales o con equipo motorizado de aspersión terrestre en verano y con aplicación sistémica en invierno.

En Brasil, se aplican insecticidas si la bacteria esta presente o la finca infectada esta a menos de 5 km de distancia de la finca sana (porque el vector puede volar 3.5 km). En áreas donde existe la bacteria se aplican insecticidas con la detección de un solo insecto vector (Belasque. Información Personal, 2009).

La Compañía BAYER, recientemente publicó una lista de insecticidas para su uso en cítricos en EEUU, con algunas restricciones:

- TEMIK® 15G Insecticida. Plaguicida de uso restringido disponible por recomendaciones de FIFRA como solo aplicable al suelo preventivamente con poder residual prolongado.
- ADMIRE® PRO Protector Sistémico para el suelo. Preventivamente con poder residual extendido.
- PROVADO® 1.6F Insecticida “flowable”. Aplicación Foliar. Producto sistémico de buena residualidad.
- DANITOL® 2.4EC. Plaguicida Foliar de uso restringido.
- LORSBAN® 4E. Plaguicida Foliar de uso restringido.
- DIMETHOATE. Insecticida Foliar.

Insecticidas de contacto utilizados en Brasil: Neonicotinoide: Actara, Confidor, Convince, Provado, Calypso. Organosfosforado: Acefato/Cefanol/Orthene, Dimetoato(s), Ethion, Malathion, Lorsban /Clorpirifos, Supracid/ Suprathion. Piretróide: Decis/ Keshet, Karate, Danimen/ Meothrin. Carbamato: Marshal. Otros: Vertimec, Trebon.

En la República de China para la rehabilitación de las áreas cítricas afectadas por el HLB se requiere de 10 a 13 aspersiones por año, durante los periodos de nuevos brotes. En Tailandia, se hacen aspersiones a intervalos de 10 a 20 días en estos periodos. En Brasil la recomendación es realizar 2 aspersiones de insecticidas por mes ó 24 por año, utilizando monocrotophos inyectado al tronco (sistémico) y organofosforados o piretroides por aspersión (contacto).

La inyección de soluciones de insecticidas sistémicos al tronco ha demostrado ser eficaces contra *Diaphorina citri*. Existen varios equipos de aplicadores que han sido usados con éxito en Sud-África y la India.

Hasta ahora se ha hecho poca investigación con los insecticidas “suaves” o “ambientalmente amigables”. Se sabe que algunos inhibidores de la síntesis de quitina trabajan bien en huevos y los primeros instares. La idea es que el insecticida actúe eliminando al insecto vector muy rápidamente, de manera tal que éste no tenga tiempo de alimentarse e infectar con dicha alimentación a otras plantas de cítricos.

Biológico.

El uso indiscriminado de insecticidas contra el *Diaphorina citri* ocasiona desequilibrios naturales, eliminando los enemigos naturales de la Mosca Blanca, *Aleurocanthus woglumi* y el Acaro Rojo, *Panonychus citri*, entre otros.

Tamarixia radiata (Waterston) (Hymenòptera: Eulophidae). Insecto benéfico (avispa) para el control biológico del vector del HLB.

Es una especie que fué introducida a la Isla de Guadalupe con regulares resultados. Otro parasitoide himenóptero utilizado en Florida, USA, es el *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Encyrtidae) que anteriormente había usado en la Isla de Reunión con mucho éxito para controlar la *Diaphorina citri*.

Se han reportado otros parasitoides de *Diaphorina citri*, como el *Psyllaephagus diaphorinae* Lin & Tao, *Syrphophagus taiwanus* Hayat & Lin, *Syrphophagus diaphorinae* Myartseva & Tryapitsyn y *Marietta exitiosa*.

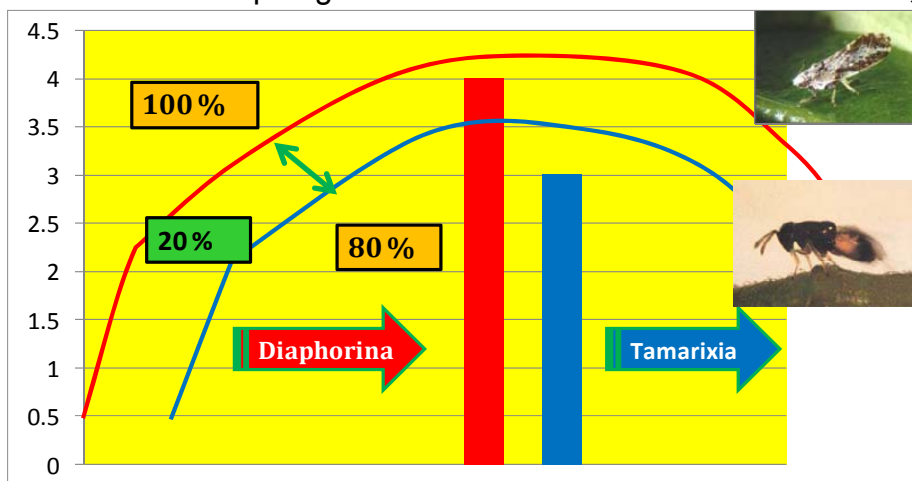
Se han encontrado depredadores de *Diaphorina citri* en todos los sitios donde ocurre el psílido. Una especie de *Scymnus* (Coccinellidae) ha sido reportada en Brasil. Sirfidos del género *Allograpta* han sido encontrados en Reunión, Nepal y Florida (USA). Varios coccinélidos y crisópidos también han sido reportados, pero, no existe mucha información sobre su efecto en la reducción de poblaciones de psílicos. En Florida, los depredadores más abundantes son: *Armonia axyridis* Pallas y *Olla v-nigrum* Mulsant. Los coccinélidos son, sin duda, los depredadores más importantes en el control biológico del *Diaphorina citri*.

El Control biológico cuando hay un vector tan eficiente.

El Control Biológico cuando hay un vector tan eficiente tiene dos grandes problemas: 1) La avispa *Tamarixia* tiene un hiperparásito (otro insecto que la controla a ella) y 2) lo máximo que se podría conseguir considerando ausencia del hiperparásito es 80 % (porque todo control biológico es denso dependiente de la población de la plaga). Este 20 % que no se logra controlar es suficiente para ocasionar una epidemia de la bacteria. Cuando se trata de insectos vectores de patógenos 20 % del vector es demasiado alto, la tolerancia debe ser cero.

Es necesario investigar si *Tamarixia* tiene o no hiperparásito en la Región de OIRSA. Esta situación, lamentablemente, ocurre en casi todas las regiones citrícolas.

Se recomienda promover la cría y liberación de *Tamarixia* para bajar poblaciones del vector del HLB, en las áreas libres de HLB y en los países que no tienen HLB, porque no aplicarán insecticidas y será una actividad muy importante en evitar la epidemia del HLB cuando la bacteria se introduzca al país.



Cultural.

Barreras Vivas.

En algunos países se ha observado que el uso de rompevientos o barreras vivas, disminuye la infección de la enfermedad en las plantaciones protegidas de esta forma. En algunos países asiáticos se utilizan barreras de árboles como *Raphia nitida* y *Polyaltha longifolia*, con buenos resultados.

En Indonesia y Vietnam se ha observado que la Guayaba (*Psidium guajaba*), plantada intercalada con los árboles de cítricos reduce significativamente la población de psílicos. Se ha confirmado que la Guayaba produce sustancias repelentes volátiles que ahuyentan los psílicos del área. Este método de control esta siendo investigado en países citrícolas importantes, como los EEUU, en la búsqueda comercial de una sustancia en base a elementos extraídos de la guayaba para la aplicación por aspersión.

Fotografías del *Diaphorina citri*

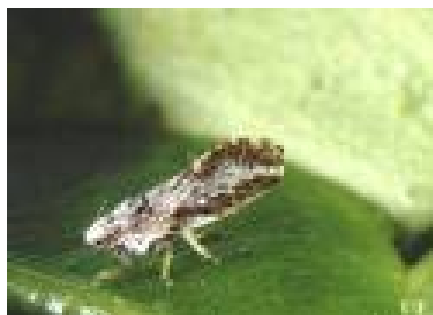


Fig.1 Adulto de *D. citri*

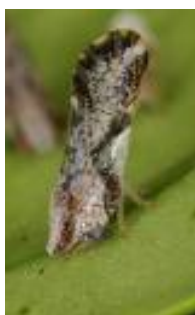


Fig.2- Adulto de *D. citri*
Alimentándose-

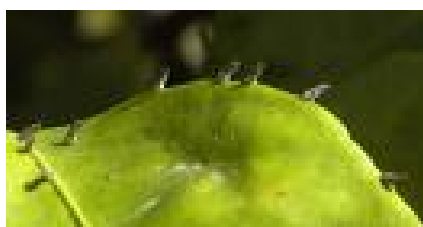


Fig.3- Adultos de *D. citri*
Alimentándose



Fig. 4. Adulto *D. citri*



Fig. 5. Huevos de *D. citri*



Fig. 6. Ninfas de *D. citri*



Fig. 7. Ninfas de *D. citri*



Fig.8. Instares ninfales de *D. citri*

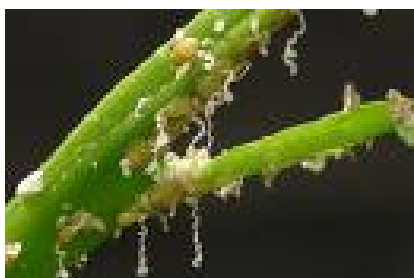


Fig. 9 Secreciones cerosas características de *D. citri*.



Fotografías del *Tamarixia radiata*



Figura 1. Fotografías de adultos de *Tamarixia radiata*.



Fig. 11. Ninfas parasitadas por *Tamarixia radiata*



12- *Tamarixia radiata* Fig. 12

***Trioza erytreae* Del Guercio**

Taxonomía: *Insecta: Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea: Triozidae*

Ubicación: Hasta el momento, solo en África.

I. Morfología.

Adultos:

El adulto de *Trioza erytreae* es de color marrón claro, de cerca de 4 mm de largo, con grandes alas con venas claramente delineadas. Los machos son más pequeños que las hembras y tienen la punta del abdomen roma, mientras que las hembras la tienen puntiaguda. Pueden volar bien y saltan o vuelan cuando son molestadas. Cuando se alimentan los adultos adoptan una posición característica, con el abdomen levantado en un ángulo de 35 grados en relación a la superficie de la hoja.

Generalmente hay más hembras que machos. El período de pre-oviposición es de 3 a 7 días, pero se puede extender considerablemente en ausencia de follaje joven. El apareamiento ocurre de 2 a 4 veces al día y la oviposición se da inmediatamente. Las hembras permanecen fértiles de 11 a 16 días en la ausencia de machos y la máxima producción de huevos se da en la mitad de su vida, que generalmente dura de 17 a 50 días.

Huevos.

Los huevos son de color amarillo o naranja, cilíndrico, con una extremidad puntiaguda. Cada huevo tiene un pedúnculo corto. Estos son depositados en las márgenes de las hojas y a lo largo de la nervadura central de las hojas tiernas en los retoños. Una hembra adulta puede poner hasta 2000 huevos. Estos tienen un período de incubación de 6 a 15 días.

Ninfas.

Esta especie tiene cinco instares ninfales. Este estado dura de 17 a 43 días. Las ninfas son aplanadas dorso-ventralmente con una distintiva franja de filamentos blancos y cerosos y varía en color desde el amarillo, verde oliva a gris oscuro. Son generalmente sedentarias y forman grandes colonias, principalmente en la parte inferior o envés de las hojas, donde, después de algunos días de alimentarse, producen las características agallas que se proyectan en el haz. Esto es típico de este vector y la diferencia de *Diaphorina citri*.

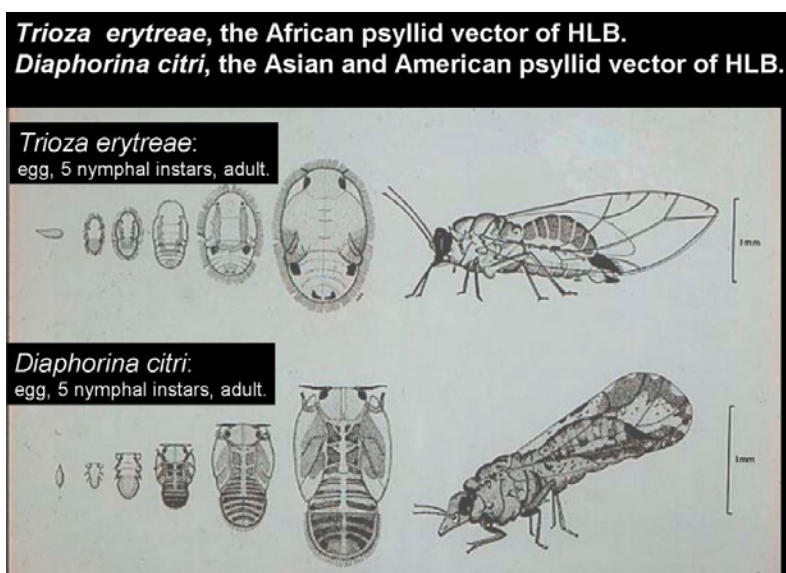
II. Daño.

Trioza erytreae causa una distorsión severa de las hojas, acompañada de agallas abiertas por el envés. Las hojas generalmente están cubiertas por el material fecal de las ninfas. A diferencia de *Diaphorina citri* que se encuentra en los brotes, *Trioza erytreae* si se encuentra en las hojas.

III. Diferencia entre los dos Insectos Vectores.

Algunas diferencias entre los dos vectores.

<i>Diaphorina citri</i>	<i>Trioza erytreae</i>
Coloca los huevos en los tallos de los brotes terminales	Coloca los huevos en las hojas
Las ninfas se desarrollan en los tallos de los brotes terminales y peciolo.	Las ninfas se desarrollan en las hojas
No produce agallas. Los síntomas son distorsión en las hojas.	Produce agallas abiertas en el envés y que se proyectan en al haz.
Los adultos, al alimentarse forman un ángulo de 45°	El ángulo al alimentarse no es tan marcado



Fotografías de *Trioza erytrae*.



Fig. 1 Adulto de *Trioza erytrae*



Fig. 2. Hojas con huevos de *Trioza erytrae*



Fig. 3. Ninfas de *Trioza erytrae*.



Fig. 4 Ninfas de *Trioza erytrae*



Fig. 5. Malformaciones foliares Producidas por *T. erytrae*.



Fig. 6. Detalle del daño foliar de *T. erytrae*.



Fig. 7 Daño de *T. erytrae* en Brotes tiernos.



Fig. 8 Hoja con Ninfas de *T. erytrae* y agallas.



Fig. 9. Tipos de trampas amarillas

OTROS PSÍLIDOS QUE ATACAN LOS CÍTRICOS.

Además de las especies de *Diaphorina citri* reportadas en Citrus y de la *Trioza erytreae*, hay otras cinco especies reportadas sobre cítricos: *Mesohomotoma lutheri* (Enderlein 1918) (= *Udamostigma lutheri* Enderlein), *Psylla citricola* Yang & Li 1984, *Psylla citrisuga* Yang & Li 1984, *Psylla murrayi* Mather 1975, *Trioza citroimpura* Yang & Li 1984, and *Trioza litseae* Bordage 1898 (= *Trioza eastopi* Orian 1972).

ANEXO 6

Esquema para determinar la probabilidad de la presencia del HLB en base a la sintomatología.

Síntomas observados	
1. Mancha clásica de HLB sola o acompañada por uno o más de los siguientes síntomas:	El Nivel de probabilidad del HLB es:
* Manchas foliares cloróticas en un solo lado de las hojas.	ALTO
* Deficiencia similar a la de Zinc	
*Nervaduras amarillas.	
*Nervaduras corchosas de color marrón.	
*Frutas deformes o con colores raros.	
* Frutas maduras insípidas.	
2. Mancha No Clásica, sola o en combinación con los siguientes síntomas.	MEDIO
* Nervaduras Amarillas	
* Nervaduras corchosas de color marrón.	
* Hojas cloróticas	
* Deficiencia de Zinc.	
3. Otros síntomas.	BAJO
* Deficiencias de Zinc y otras deficiencias nutricionales.	
*Manchas resultantes de ataque de insectos, enfermedades micóticas y daños mecánicos al tronco, ramas u hojas.	
*Hojas naturalmente senectas.	
*Variegación o Malformaciones genéticas.	

ANEXO 7.

PRUEBA PRELIMINAR DE CAMPO PARA SELECCIÓN DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO POR PCR DE HUANGLONGBING (ANÁLISIS YODO-ALMIDÓN).

1- Base científica del método.

Estudios anatómicos y bioquímicos, demostraron que en los tejidos foliares de las plantas de naranja dulce atacadas por el HLB, había una masiva acumulación de almidón. El almidón se forma normalmente en las hojas durante el día y se trasloca durante la noche. Debido a la obstrucción vascular por la bacteria del HLB, este almidón no se trasloca y se acumula en los tejidos de las hojas.

Investigaciones recientes han demostrado que la cantidad de almidón acumulada en estos tejidos infectados es de hasta 20 veces mayor que en tejidos sanos. El almidón de los tejidos reacciona rápidamente con el yodo, produciendo un colorante marrón oscuro a negro.

Las investigaciones recientes hechas en China, Viet Nam y Japón, han demostrado que este método se puede usar para un diagnóstico preliminar de campo del HLB. Las comparaciones de los resultados de esta prueba, comparados con los del PCR demuestran coincidencias del 95%.

2- Materiales de la Prueba Yodo-Almidón.

La prueba de Yodo-Almidón hecha en campo se basa en la reacción de secciones de hojas.

a- **Selección de las hojas.** Es un paso crucial para el diagnóstico o proceso de confirmación.

- 1- Seleccione las hojas con síntomas más claros (Usar una Guía de Campo de HLB).
- 2- Seleccione las hojas con síntomas de ramas sanas o sin daños mecánicos.
- 3- Seleccione hojas que se encuentren a pleno sol. Evite las hojas de áreas sombreadas.
- 4- Escoja solo de 3 a 4 hojas para la prueba preliminar.

b- **La Solución de Yodo.**

Se usa tintura de yodo comercial, vendida en las farmacias. Esta es una solución acuosa de yodo al 2 %.

No use la tintura de yodo pura, ya que esta concentración es muy alta para la prueba y la reacción es muy fuerte dando siempre falsos positivos.

Para el uso en este análisis la tintura de yodo debe diluirse en una proporción de 1 a 10 en agua (1 parte de yodo y 9 partes de agua).

Debido a que el yodo reacciona con la luz, la tintura de yodo diluida debe ser guardada en un frasco opaco. Este debe ser cubierto con papel de aluminio y así la solución puede durar muchos días.

3- Metodología de la prueba.

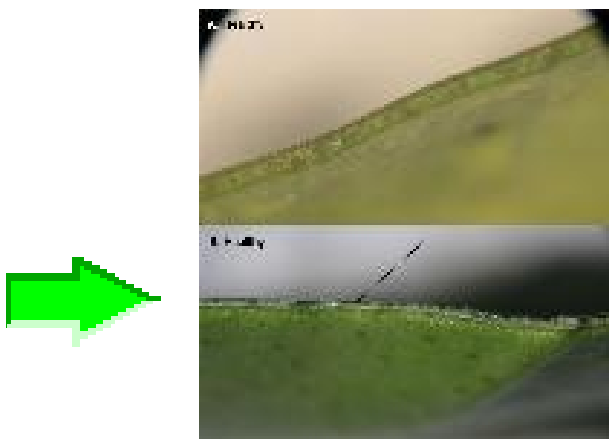
Esta prueba se supone que se debe realizar en el campo, sin embargo, si no es así, las muestras deben ponerse en bolsas de plástico con sello hermético y guardarse en un “cooler” con hielo hasta que sean analizadas. Estas no deben guardarse por más de 24 horas.

Procedimiento:

- a- Usando una hoja nueva de afeitar o un bisturí, corte una sección de la hoja seleccionada, que incluya el área con síntomas.
- b- Sumerja la sección cortada en la solución de yodo por 2 minutos.
- c- Examine el borde de la sección usando una lupa, para determinar su coloración.

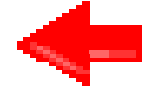


4- Interpretación de Resultados.



“Tipo Sandwich” significa que el corte solo se tiñe en los bordes y no en el centro (no es compacto).

LAS HOJAS SANAS DE CÍTRICOS NO MUESTRAN TEÑIDO NEGRO COMPACTO LO MUESTRAN TIPO SANDWICH.



LAS HOJAS CON INFECCION DEL HLB
MUESTRAN EL TEÑIDO NEGRO COMPACTO EN TODO EL CORTE



HOJAS QUE MUESTRAN DIFERENTES TIPOS DE CLOROSIS NO TÍPICAS DEL
HLB, POSIBLEMENTE POR DEFICIENCIAS NUTRICIONALES, DAN NEGATIVO A
LA PRUEBA

ANEXO 8.

Procedimiento para la colecta, preparación y envío de muestras vegetales para el diagnóstico de Huanglongbing.

Con la finalidad de asegurar la integridad de las muestras de cítricos que se envíen a los Laboratorios de Diagnóstico se deberá seguir el siguiente procedimiento:

1. Tomar las muestras de los árboles con síntomas cortando con tijeras podadoras, dos ramas de 10 a 15 cm de largo con todas sus hojas (Desinfectar las tijeras con Hipoclorito de Sodio al 2% antes de cada corte.)
2. Envolver las hojas y tallo en toallas de papel y colocarlas en una bolsa de polietileno con cierre hermético.
3. En el caso de muestras de frutas, incluir en la bolsa hojas con síntomas sospechosos del mismo árbol.
4. Colocar sobre la bolsa una etiqueta con el número de identificación de la muestra, escrito con tinta a prueba de agua. Asegurar que la etiqueta lleve la información completa sobre la muestra.
5. Extraer el aire de la bolsa, cerrarla e introducirla en una bolsa de polietileno de mayor tamaño.
6. Sellar la bolsa y colocarla en una hielera con gel refrigerante que no esté en contacto con las bolsas. Nunca congelar.
7. Las muestras se deben enviar en la hielera de espuma plástica, con el refrigerante para evitar su deterioro y que sean inservibles para el diagnóstico.
8. Las muestras se deben enviar de manera que no demoren más de 48 horas en llegar al laboratorio de diagnóstico.
9. El técnico responsable de las muestras debe confirmar su envío y recepción por el Laboratorio de diagnóstico por vía de correo electrónico o telefónica.

Modelo de Formato

Para la Prospección Huanglongbing (Greening)

(Información Requerida)

Información del Técnico (a)

Fecha de Colecta de muestra: _____ Fecha Envío _____

Nombre: _____ Institución: _____

Dirección: _____

Ciudad: _____ Distrito: _____ Comunidad: _____

Correo Electrónico: _____

Teléfono: _____ Fax: _____

Información del Productor (a) (Finca o Vivero)

Productor (a): _____

Dirección de la colecta de muestra: _____

Ciudad: _____ País: _____

Describe donde localizar el árbol o la muestra: _____

Latitud: _____ Longitud: _____

Planta Hospedante (variedad): _____

Edad del árbol: Tamaño del árbol: Síntoma:

Observaciones: _____

No escriba en esta área:

Fecha de recibido: _____ Código Lab: _____

ANEXO 9

Organizaciones que tienen la capacidad de diagnóstico del vector y del HLB.

Brasil

- **FUNDECITRUS**, Av. Dr. Adhemar Pereira de Barros, 201, CEP 14807-040, Araraquara, SP, BRASIL. **Fondo de Defensa de la Citricultura**
- **Centro de Citricultura** Sylvio Moreira. Rodovia Anhanguera, km 158 – Caixa Postal 4, 13490-970 Cordeirópolis, São Paulo, Brasil.
- **Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Piracicaba, Brasil.**

EEUU

- **Southern Gardens Diagnostic Laboratory, 111 Ponce de Leon Avenue, Clewiston, FL, 33440, 863-902-2249**
- **UF/IFAS Southwest Florida Research and Education Center, 2686 SR 29 N, Immokalee, FL, 34142, 239-658-3400, <http://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/>**
- **Florida Division of Plant Industry, P.O. Box 147100, Gainesville, FL, 32614-7100, 1-800-282-5153**
- **Dra. Mary E. Palm, USDA/APHIS/PPQ/PHP/RIPPS Senior Mycologist and Lab Director PPQ molecular Diagnostic Lab Director. PPQ Molecular Diagnostic Lab**
Mary.Palm@aphis.usda.gov
- **Joel Floyd**
Domestic Diagnostics Coordinator
National Identification Service
Plant Safeguarding & Pest Identification. USDA, APHIS, PPQ
Joel.p.floyd@aphis.usda.gov

ESPAÑA

Centro de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, Madrid, Spain

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada, Valencia, ESPAÑA.

FRANCIA

Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, INRA et Université de Bordeaux II, B.P. 81-33883 Villenave d'Ornon cedex, France.

TAIWAN

**Department of Plant Pathology and Entomology,
National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC, 2001-07-01**

ANEXO 10

PROCEDIMIENTOS PARA LA ENCUESTA DE DETECCIÓN Y MUESTREO DEL HLB DE LOS CÍTRICOS.

---Equipo de Trabajo.

Considerando que el HLB es un complejo patógeno-vector y que el vector del HLB puede estar presente en algunos países miembros de OIRSA, las labores de detección y muestreo deben enfocarse en dos vías:

- a- Búsqueda de árboles afectados por el HLB (Detección sintomática)
- b- Búsqueda del insecto vector, *Diaphorina citri*

Para ello, se debe contar con el personal técnico del ONPF local, debidamente entrenado para reconocer los síntomas del HLB y al psílido asiático, vector de la enfermedad.

Para realizar la exploración y muestreo, se requiere que cada grupo de trabajo este formado por lo menos por dos personas, ambas capacitadas en la búsqueda y reconocimiento de los síntomas causados por el HLB, así como en el registro de datos y coordenadas mediante GPS.

---Materiales y equipo.

Cada equipo de trabajo deberá disponer de una mochila o bolsa con los siguientes materiales y equipos para poder efectuar su labor.

- Alcohol al 75 %
- Aspirador manual de insectos
- Binoculares de alta resolución.
- Bisturí u hojas de afeitar.
- Bolsas de plástico de diferentes tamaños (Con cierre hermético)
- Bolígrafos, lápices y marcadores permanentes.
- Cámara Fotográfica Digital.
- Cloro al 2%.
- Cinta adhesiva transparente (Tape)
- Cinta de Plástico de color llamativo
- Contador manual.
- Equipo GPS.
- Formularios para toma de datos.
- Frascos Viales.
- Ficha técnica del HLB y vectores.
- Hojas blancas
- Hielera portátil
- Lupa
- Cuchilla multiuso (Navaja)

- Pinceles entomológicos.
- Pintura “spray” para marcar árboles.
- Solución de Yodo al 0.2%
- Tableros de apoyo
- Tijeras de poda
- Toallas de papel.

Nota: En el caso de que la exploración y muestreo se haga en plantaciones de tamaño considerable y las condiciones del terreno lo permitan, se recomienda el uso de plataformas acopladas al tractor.

---Superficies con prioridad para la prospección.

Para el caso del HLB, la prospección empezaría por las áreas citricolas del país, particularmente las plantaciones comerciales. Las huertas a explorar con este objetivo se pueden seleccionar de manera aleatoria en cada área citrícola. Y para la selección, se dará prioridad de la siguiente manera:

- a- En traspatio. Lima mexicana (erroneamente llamado limón).
- b- En áreas comerciales:Naranja, Mandarina, Tangelo y Tangerina.
- b- En áreas comerciales:Pomelo, Toronja y Naranja Agria
- c- En áreas comerciales:Limón y Lima.

Lo anterior quiere decir que una vez que se termine la exploración del área de Naranja, se seguirá con la Mandarina, después con el Tangelo, y así sucesivamente. También se le dará prioridad a lo siguiente:

- a- Plantaciones jóvenes (de 6 a 9 años de edad) y no muy altas (5 a 9 pies).
- b- Plantaciones jóvenes que estén junto a plantaciones adultas.
- c- Plantaciones cercanas a cuerpos de agua (ríos, lagos, quebradas). En el Plan de Trabajo, se deben seleccionar las áreas y plantaciones a explorarse y muestrearse en todo el año. La actividad se realizará de manera práctica, es decir, no es necesario explorar todas las plantaciones de la misma especie para entonces seguir con la otra especie. Si hay una plantación con varias especies en la misma zona, por razones prácticas y económicas, se explorarán otorgándoles la misma prioridad.

---Búsqueda de síntomas con fines de detección.

De acuerdo con el comportamiento epidemiológico demostrado por el HLB en otros países, el técnico debe recorrer las cinco hileras de la periferia de la plantación seleccionada (Figura 1) o adentrarse 100 metros en la plantación.

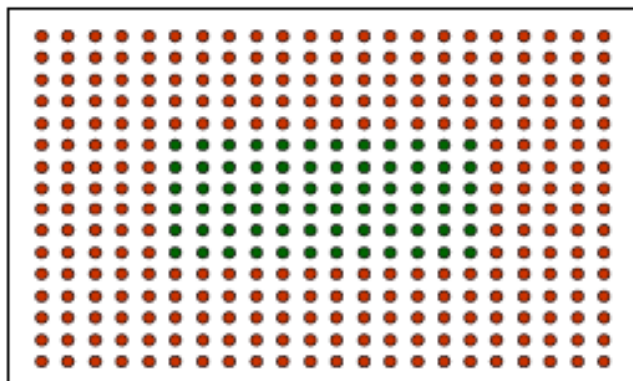


Fig.1- En color rojo se muestran las filas e hileras que se deben recorrer en busca de síntomas de HLB.

-- Caminar en parejas por los dos lados de cada hilera, realizar el recorrido y observar la apariencia general de cada planta por lo menos 60 segundos, una persona a cada lado de la planta. (Figura 2) Buscar los síntomas que se muestran en la Ficha Técnica.

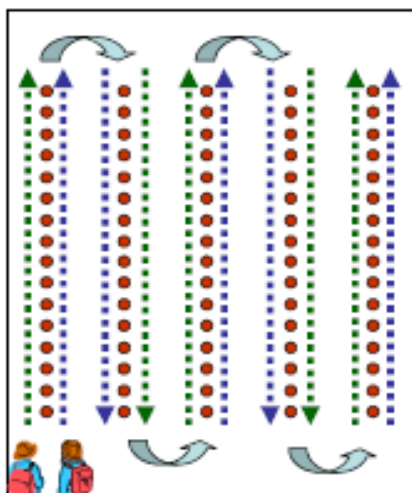


Fig.2- Recorrido a seguir en busca de síntomas de HLB.

-- La estrategia consiste en caminar buscando síntomas y detenerse cuando se vean síntomas de deficiencias minerales, venas corchosas, venas amarillas, frutas torcidas, brotes amarillos y blotchy mottle. Entonces, buscar el blotchy mottle y **TOMAR ESA MUESTRA.**

---En caso de considerar de que se trata de síntomas causados por HLB (Nivel de probabilidad Medio o Alto), tomar fotografías del área sintomática y el árbol completo. Las fotografías deben ser mínimo de 2 megapíxeles y tomadas con acercamiento



para captar los detalles de los síntomas.

---Marcar con pintura el árbol, las ramas con síntomas con las cintas de colores, con la finalidad de facilitar que posteriormente se tomen muestras (Figura 3.). También se debe marcar la hilera de la plantación donde se ubica este árbol.



Fig.3- Identificación de la rama con Síntomas sospechosos de HLB.

---Dibujar un croquis de la plantación, con la indicación del Norte y la ubicación de las plantas marcadas.

---Las fotografías y los informes relacionados deberán ser enviados al Jefe del Grupo Básico de Trabajo (GBT) vía correo electrónico. Este dará seguimiento al muestreo, diagnóstico, y acciones emprendidas en casos positivos.

--- Ante cualquier sospecha del HLB, un técnico de mayor experiencia debe ir a ver el árbol sospechoso y tomar muestras de hojas y/o frutos para el diagnóstico por preliminar y/o confirmativo.

--- Sitios de Vigilancia Epidemiológica o Fincas Centinelas (FC)

En las áreas citrícolas consideradas de Alto Riesgo se seleccionaran algunas plantaciones como Fincas Centinelas. Estas deberán cumplir con las siguientes características:

- a) Naranja Dulce.
- b) De 6 a 9 años de edad.
- c) Superficie menor a 50 Has.

En estas Fincas Centinelas se realizarán las siguientes actividades:

- a- Revisión del 100% de las plantas cada 2 meses. (Exploración para detección de síntomas) y muestreo de material vegetal en caso de ser necesario.
- b- Toma y envío de una muestra de psílicos de cada huerta cada 3 meses (Exploración para detección asintomática)

--- Muestreo y envío de material vegetativo.

Antes de la toma y envío de las muestras deben tomarse en cuenta los siguientes aspectos:

---Debido a que las muestras deben recibirse frescas en el laboratorio de diagnóstico, el Jefe del GBT debe asegurarse que el laboratorio pueda recibirlas al día siguiente de la colecta (se sugiere que se llame por teléfono previamente para asegurarse que puede enviar las muestras).

---Para agilizar el proceso de diagnóstico y comunicar a través del GBT los resultados en caso de encontrar positivos, las muestras se deben enviar en días determinados acordados previamente, utilizando los servicios de mensajería del ONPF de cada país.

---Para cumplir con lo señalado anteriormente, el Jefe del GBT debe determinar cuantas muestras se pueden recolectar y enviar para diagnóstico, tomando en cuenta el tiempo necesario para los traslados, el muestreo correcto y la preparación y envío de las muestras.

Los pasos a seguir para la toma y envío de las muestras son los siguientes:

---Localice la planta seleccionada basándose en los croquis, los datos del GPS y las cintas marcadoras.

---Tome las muestras en las áreas donde el árbol muestra los síntomas más claros. Colecte ramas (de 10 a 15 cm de largo) con sus hojas y pecíolos. De preferencia incluya ramas con hojas con síntomas y asintomáticas.

---Si alguna fruta muestra síntomas de HLB, recolecte varias frutas típicas sintomáticas, con muestras de ramas y hojas. No envíe frutas sin hojas o ramas que muestren síntomas del HLB.

---En el **Anexo 8** se describe con detalle el procedimiento completo para la toma e identificación de muestras.

---Mantenga frescas las muestras, pero no las someta a congelación. Es necesario mantenerlas en una hielera que contenga gel refrigerante.

---Marque el árbol con el número de identificación de la muestra. También registre las coordenadas GPS y los otros datos requeridos.

---Envíe las muestras el mismo día que las recolecte o el día siguiente por la mañana, utilizando los servicios de mensajería de la ONPF.

---Asegúrese que las muestras lleguen al laboratorio.

--Muestreo de psilidos para Diagnóstico del HLB.

Es importante recalcar que comunicaciones de Fundecitrus en Brasil señalan que la extracción de la bacteria en los insectos vectores es sumamente escasa, en plantaciones 100% infectadas por HLB solo se han encontrado 14 insectos vectores con la bacteria de 100 insectos vectores capturados, lo que lo hace un proceso poco práctico. Sin embargo, en los países en que no se encuentren síntomas en las hojas ó

la enfermedad HLB esté muy incipiente, los países pueden enviar psílicos al laboratorio para que a través del PCR, se pueda determinar si están infectados con la bacteria.

Se determinará la época en que se da la mayor cantidad de brotes en los cítricos y se tomarán muestras de psílicos adultos (al azar); para el caso de áreas de alto riesgo se tomara una muestra de 100 psílicos cada 50 ha, en áreas de riesgo medio será de 100 psílicos por 100 ha Y en las de riesgo bajo 100 psílicos cada 300 ha. La cantidad de muestras a tomar dependerá de los recursos disponibles. Para lo anterior debe tomarse en cuenta lo siguiente:

- No se deberán recolectar todos los psílicos en una misma planta, ni en una misma plantación con la finalidad de cubrir la mayor área posible de muestreo.
- Las personas que realizan la recolección deben estar equipadas con GPS, con la finalidad de ubicar la zona donde se lleguen a ubicar psílicos portadores de la bacteria.
- El muestreo de los psílicos en las plantaciones seleccionadas para exploración de detección será en bandas (en la periferia de la plantación). Para el caso del las Fincas Centinelas (FC), el muestreo se hará siguiendo un trazado en cruz que cubra la periferia y el medio de la plantación.
- Los psílicos serán recolectados con un aspirador manual y para su conservación se colocaran de inmediato en frascos viales con alcohol al 70%.
- Los frascos viales que contengan los psílicos deberán estar debidamente etiquetados con la información pertinente. La etiqueta debe estar pegada sobre el frasco y debe estar escrita con tinta indeleble. También se puede colocar una etiqueta de papel escrita con lápiz dentro del vial con los especímenes, este código deberá corresponder a la hoja de encuesta de detección conteniendo todos los detalles de la muestra, incluyendo su georreferenciación. Asegurarse que el frasco no tenga fugas de alcohol.

-- Reportes comunitarios sobre el HLB.

Con el objetivo de atender denuncias de productores y otras personas sobre posibles brotes de HLB, las ONPF deben disponer de un procedimiento para procesar estos reportes. Estos podrían ser hechos personalmente o por teléfono en las oficinas regionales, o vía correo electrónico a una dirección atendida por la GBT.

La persona que realiza el reporte debe suministrar los siguientes datos:

- Nombre
- Descripción del problema encontrado.
- Ubicación del problema.
- Datos para contacto posterior. (Número Telefónico, Correo Electrónico, Dirección Postal).

ANEXO 11.

METODOLOGÍA DE EXPLORACIÓN PARA DELIMITACIÓN DEL HLB

Este tipo de exploración se realizará cuando se detecte el HLB en algún área citrícola y su objetivo es determinar el área geográfica hasta donde se extiende la enfermedad. Las exploraciones que se realicen después de detectar por primera vez la presencia del HLB en el país deben ser más intensivas en los alrededores de las zonas en donde se haya detectado la misma. La intensidad de la exploración alrededor de las áreas en donde se haya reportado el HLB, será en círculos concéntricos en dirección contraria a los puntos positivos planteados en un mapa.

Debido a que el HLB se distribuye en forma aleatoria, todos los árboles de la zona donde se reportó el brote deben ser revisados para determinar la presencia de síntomas. Es necesario hacer una búsqueda minuciosa ya que los síntomas pueden no presentarse en todas las ramas o en toda la copa.

Para realizar una delimitación rápida se utiliza un patrón de anillos concéntricos en tramos circulares. Los grupos de trabajo inician la exploración en una o mas plantas afectadas de un lugar en particular, luego realizan exploraciones en incrementos de 8 kilómetros a lo largo de los arcos de los anillos concéntricos.

Dependiendo de la disponibilidad de hospedantes y recursos para la exploración, los primeros anillos (de 8 kilómetros), tendrán 16 puntos de exploración espaciados de manera equilibrada alrededor del círculo. Si se descubren hospedantes sospechosos en el primer arco de 8 kilómetros, los siguientes puntos de exploración serán en un anillo de 16 kilómetros, con 32 puntos, y un anillo de 24 kilómetros con 64 puntos, como se ilustra en la Figura 1.

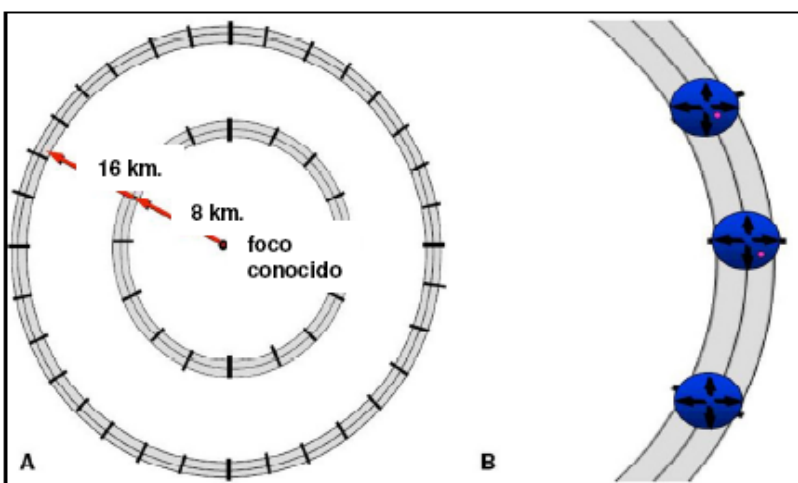


Fig.1- (A) Puntos de exploración a lo largo de los anillos concéntricos Transversales en incrementos de 8 Km. En dirección contraria Al árbol detectado con HLB. (B)- Puntos de exploración a lo largo De un arco transversal que muestra de donde se inicia la búsqueda

Para identificar el árbol huésped más cercano para la exploración.

Si no se encuentran síntomas de HLB en el área del punto de exploración, se deberá hacer una búsqueda de hospedantes y síntomas en los puntos adyacentes sobre el mismo anillo. Dependiendo de las instrucciones que tenga el equipo de exploración y si no existe evidencia de la enfermedad, las búsquedas se pueden iniciar en incrementos de 1,6 kilómetros en dirección del centro del anillo de exploración. (Figura 2.). En cada punto de exploración los técnicos buscarán al árbol hospedante más cercano del área inmediata a fin de determinar la presencia de hospedantes susceptibles.

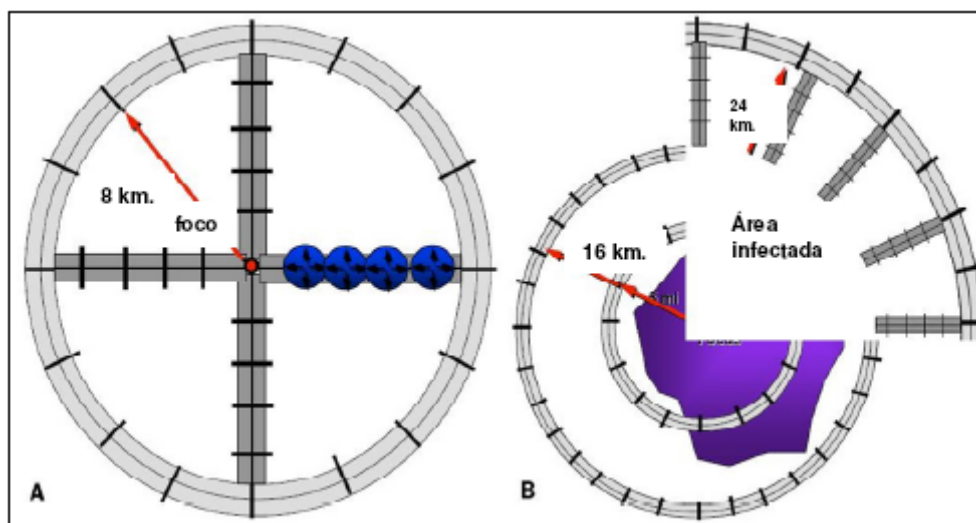


Fig.2 – (A) – Si no se encuentra la enfermedad en el punto trasversal de Exploración, retroceda hacia el centro en incrementos de 1.6 km. (B) Si se averigua que la enfermedad se extiende fuera de un anillo En una o dos direcciones, use un anillo parcial combinado con la Información de otras secciones transversales para definir los límites de la infección.

Para disminuir los límites de infección se podrán realizar exploraciones continuas en diferentes direcciones en el área de las secciones transversales recién definidas a lo largo del anillo. Una vez que se hayan ubicado las plantas sospechosas y que se señalen en un mapa las ubicaciones que se acaban de determinar como positivas, los puntos alrededor de los árboles positivos originales definirán más claramente el alcance de la enfermedad. La precisión de esto se podrá mejorar con un mayor número de exploraciones.

Dependiendo de la configuración del área en revisión, pueden utilizarse las secciones transversales lineares en vez de los anillos concéntrico para realizar una exploración delimitante rápida.

Exploración de Seguimiento.

Después de realizar cualquier actividad para la supresión o confinamiento del HLB, es necesario realizar exploraciones de seguimiento. En las áreas donde se hayan eliminado las plantas afectadas se debe verificar si algunas de ellas brotaron a partir del tocón o de las raíces que quedaron en el suelo. También se deben realizar exploraciones mensuales para detección de síntomas en el 100% de los árboles en las plantaciones donde hubo eliminación, con el objeto de buscar síntomas y proceder a eliminar oportunamente las plantas infectadas con HLB. Las actividades de exploración de seguimiento y eliminación de plantas deben ser responsabilidad del propietario de la plantación. El personal técnico de la ONPF apoyará en la capacitación, coordinación y seguimiento.

ANEXO 12

GLOSARIO

Acción de emergencia

Acción fitosanitaria rápida llevada a cabo ante una situación fitosanitaria nueva o imprevista [CIMF, 2001]

Acción fitosanitaria

Operación oficial, tal como inspección, prueba, vigilancia o tratamiento, llevada a cabo para aplicar medidas fitosanitarias [CIMF, 2001; revisado CIMF, 2005]

Agente de control biológico

Enemigo natural, antagonista o competidor u otro organismo, utilizado para el control de plagas [NIMF n. ° 3, 1996; revisado NIMF n. ° 3, 2005]

ALP

Área libre de plagas [FAO, 1995; revisado CIMF, 2001]

Antagonista

Organismo (normalmente patógeno) que no causa ningún daño significativo al hospedante, sino que con su colonización protege a éste de daños posteriores considerables ocasionados por una plaga [NIMF n. ° 3, 1996]

Aprobación (de un envío)

Verificación del cumplimiento con las reglamentaciones fitosanitarias [FAO, 1995]

Área

Un país determinado, parte de un país, países completos o partes de diversos países, que se han definido oficialmente [FAO, 1990, revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; definición basada en el Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio]

Área bajo cuarentena

Un área donde existe una plaga cuarentenaria y que está bajo un control oficial [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Área controlada

Un área reglamentada que la ONPF ha determinado como el área mínima necesaria para prevenir la dispersión de una plaga desde un área cuarentenaria [CEMF, 1996]

Área de baja prevalencia de plagas

Un área identificada por las autoridades competentes, que puede abarcar la totalidad de un país, parte de un país o la totalidad o partes de varios países, en donde una plaga específica se encuentra a niveles bajos y que está sujeta a medidas eficaces de vigilancia, control o erradicación [CIPF, 1997; aclaración, 2005; anteriormente área de

escasa prevalencia de plagas]

Área de escasa prevalencia de plagas

Véase área de baja prevalencia de plagas

Área en peligro

Un área en donde los factores ecológicos favorecen el establecimiento de una plaga cuya presencia dentro del área dará como resultado pérdidas económicamente importantes (véase el Suplemento n. ° 2 del Glosario) [FAO, 1995]

Área Libre de Plagas

Un área en donde una plaga específica no está presente, según se ha demostrado con evidencia científica y en la cual, cuando sea apropiado, dicha condición esté siendo mantenida oficialmente [FAO, 1995]

Área protegida

Área reglamentada que la ONPF ha determinado como área mínima necesaria para la protección eficaz de un área en peligro [FAO, 1990; omitida de la FAO, 1995; concepto nuevo del CEMF, 1996]

Autoridad

Organización Nacional de Protección Fitosanitaria, u otra entidad o persona designada oficialmente por un gobierno para encargarse de asuntos emanados de las responsabilidades fijadas en el Código [NIMF n. ° 3, 1996]

Brote

Población de una plaga detectada recientemente, incluida una incursión o aumento súbito importante de una población de una plaga establecida en un área [FAO, 1995; revisado CIMF, 2003]

Campo

Parcela con límites definidos dentro de un lugar de producción en el cual se cultiva un producto básico [FAO, 1990]

Categorización de plagas

Proceso para determinar si una plaga tiene o no tiene las características de una plaga cuarentenaria o de una plaga no cuarentenaria reglamentada [NIMF n. ° 11, 2001, anteriormente clasificación de plagas]

CIPF

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, depositada en 1951 en la FAO, Roma y posteriormente enmendada. [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001]

Clasificación de plagas

Véase categorización de plagas

Comisión

La Comisión de Medidas Fitosanitarias establecida en virtud de lo dispuesto en el Artículo XI [CIPF, 1997]

Competidor

Organismo que compite con las plagas por elementos esenciales (por ejemplo, alimentos, refugio) en el medio ambiente [NIMF n. ° 3, 1996]

Contaminación

Presencia de plagas u otros artículos reglamentados en un producto básico, lugar de almacenamiento, medio de transporte o contenedor, sin que constituya una infestación (véase infestación) [CEMF, 1997, revisado CEMF, 1999]

Contención

Aplicación de medidas fitosanitarias dentro de un área infestada y alrededor de ella, para prevenir la dispersión de una plaga [FAO, 1995]

Control (de una plaga)

Supresión, contención o erradicación de una población de plagas [FAO, 1995]

Control biológico clásico

La introducción intencional y el establecimiento permanente de un agente exótico de control biológico para el control de plagas a largo plazo [NIMF n. ° 3, 1996]

Control oficial

Observancia activa de la reglamentación fitosanitaria y aplicación de los procedimientos fitosanitarios obligatorios, con el propósito de erradicar o contener las plagas cuarentenarias o manejar las plagas no cuarentenarias reglamentadas (véase el Suplemento n. ° 1 del Glosario) [CIMF, 2001]

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria

Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, depositada en 1951 en la FAO, Roma y posteriormente enmendada [FAO, 1990]

Cuarentena

Confinamiento oficial de artículos reglamentados para observación e investigación, o para inspección, prueba y/o tratamiento adicional [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999]

Cuarentena intermedia

Cuarentena en un país que no es el país de origen o destino [CEMF, 1996]

Cuarentena pos entrada

Cuarentena aplicada a un envío, después de su entrada [FAO, 1995]

Cuarentena vegetal

Toda actividad destinada a prevenir la introducción y/o dispersión de plagas

cuarentenarias o para asegurar su control oficial [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Declaración Adicional

Declaración requerida por un país importador que se ha de incluir en el Certificado Fitosanitario y que contiene información adicional específica sobre un envío en relación con las plagas reglamentadas [FAO, 1990; revisado CIMF, 2005]

Depredador

Enemigo natural que captura otros organismos animales y se alimenta de ellos, matando algunos durante su vida [NIMF n. ° 3, 1996; anteriormente predador]

Detención

Mantenimiento de un envío en custodia o confinamiento oficial, como una medida fitosanitaria (véase cuarentena) [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; CIMF, 2005]

Diagnóstico de plaga

Proceso de detección e identificación de una plaga [NIMF n. ° 27, 2006]

Diseminación

Véase dispersión

Dispersión

Expansión de la distribución geográfica de una plaga dentro de un área [FAO, 1995; anteriormente diseminación]

Eficacia (del tratamiento)

Efecto definido, mensurable y reproducible mediante un tratamiento prescrito [NIMF n. ° 18, 2003]

Encontrar libre

Inspeccionar un envío, campo o lugar de producción y considerarlo libre de una plaga específica [FAO, 1990]

Encuesta

Procedimiento oficial efectuado en un período dado para determinar las características de una población de plagas o para determinar las especies de plagas presentes dentro de un área [FAO, 1990; revisado CEMF, 1996]

Encuesta de delimitación

Encuesta realizada para establecer los límites de un área considerada infestada por una plaga o libre de ella [FAO, 1990]

Encuesta de detección

Encuesta realizada dentro de un área para determinar si hay plagas presentes [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Encuesta de monitoreo

Encuesta en curso para verificar las características de una población de plagas [FAO, 1995; anteriormente encuesta de verificación]

Encuesta de verificación

Véase encuesta de monitoreo

Enemigo natural

Organismo que vive a expensas de otro en su área de origen y que puede contribuir a limitar la población de ese organismo. Incluye parasitoides, parásitos, depredadores, organismos fitófagos y patógenos [NIMF n. ° 3, 1996; revisado NIMF n. ° 3, 2005]

Entrada (de un envío)

Movimiento a través de un punto de ingreso hacia el interior de un área [FAO, 1995]

Entrada (de una plaga)

Movimiento de una plaga hacia adentro el interior de un área donde todavía no está presente, o si está presente, no está extendida y se encuentra bajo control oficial [FAO, 1995]

Erradicación

Aplicación de medidas fitosanitarias para eliminar una plaga de un área [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; anteriormente erradicar]

Especificidad

Medida del rango de hospedante de un agente de control biológico, en una escala que abarca desde un especialista extremo, que sólo puede completar su desarrollo sobre una especie o raza única de su hospedante (monófago) hasta un generalista, con muchas especies hospedantes que comprenden varios grupos de organismos (polífago) [NIMF n. ° 3, 1996]

Espécimen(es) de referencia

Espécimen(es) individual(es) de una población específica conservados en una colección de cultivos de referencia y, cuando sea posible, en una colección disponible al público [NIMF n. ° 3, 2005]

Establecimiento

Perpetuación, para el futuro previsible, de una plaga dentro de un área después de su entrada [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997; anteriormente establecida]

Establecimiento (de un agente de control biológico)

Perpetuación, para el futuro previsible, de un agente de control biológico, dentro de un área después de su entrada [NIMF n. ° 3, 1996]

Estación cuarentenaria

Estación oficial para mantener plantas o productos vegetales en cuarentena [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; anteriormente estación de cuarentena post-entrada]

Estatus de una plaga (en un área)

Presencia o ausencia actual de una plaga en un área, incluyendo su distribución donde corresponda, según lo haya determinado oficialmente el juicio de expertos basándose en los registros de plagas previos y actuales y en otra información pertinente [CEMF, 1997; revisado CIMF, 1998; anteriormente situación de una plaga (en un área)]

Evaluación del riesgo de plagas (para plagas cuarentenarias)

Evaluación de la probabilidad de introducción y dispersión de una plaga y de la magnitud de las posibles consecuencias económicas asociadas (véase el Suplemento n. ° 2 del Glosario) [FAO, 1995; revisado NIMF n. ° 11, 2001; NIMF n. ° 2, 2007]

Evaluación del riesgo de plagas (para plagas no cuarentenarias reglamentadas)

Evaluación de la probabilidad de que una plaga en plantas para plantar afecte el uso destinado de esas plantas, con repercusiones económicamente inaceptables (véase el Suplemento n. ° 2 del Glosario) [CIMF, 2005]

Examen visual

Examen físico de plantas, productos vegetales u otros artículos reglamentados utilizando solo la vista, una lupa, un estereoscopio o microscopio para detectar plagas o contaminantes sin realizar pruebas ni procesos [NIMF n. ° 23, 2005]

Exótico

No originario de un país, ecosistema o eco área en particular (se aplica a organismos que se han introducido intencional o accidentalmente como consecuencia de actividades humanas). Puesto que el Código está dirigido a la introducción de agentes de control biológico de un país a otro, el término “exótico” se utiliza para los organismos que no son originarios de un país [NIMF n. ° 3, 1996]

Germoplasma

Plantas destinadas para uso en programas de mejoramiento o conservación [FAO, 1990]

Incursión

Población aislada de una plaga detectada recientemente en un área que se desconoce si está establecida y la cual se espera que sobreviva en un futuro inmediato [CIMF, 2003]

Infestación (de un producto básico)

Presencia de una plaga viva en un producto básico, la cual constituye una plaga de la planta o producto vegetal de interés. La infestación también incluye infección [CEMF, 1997; revisado CEMF, 1999]

Introducción

Entrada de una plaga que resulta en su establecimiento [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997]

Introducción (de un agente de control biológico)

Liberación de un agente de control biológico en un ecosistema donde no existía anteriormente (véase también “establecimiento”) [NIMF n. ° 3, 1996]

Legislación

Cualquier decreto, ley, reglamento, directriz u otra orden administrativa que promulgue un gobierno [NIMF n. ° 3, 1996]

Legislación fitosanitaria

Leyes básicas que conceden la autoridad legal a la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria a partir de la cual pueden elaborar las reglamentaciones fitosanitarias [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Liberación (en el medio ambiente)

La liberación intencional de un organismo en el medio ambiente (véase también “introducción” y “establecimiento”) [NIMF n. ° 3, 1996]

Liberación inundativa

Liberación de una gran cantidad de agentes de control biológico u organismos benéficos producidos masivamente, previendo lograr un efecto rápido [NIMF n. ° 3, 1996; revisado NIMF n. ° 3, 2005]

Libre de (referente a un envío, campo o lugar de producción)

Sin plagas (o una plaga específica) en números o cantidades que puedan detectarse mediante la aplicación de procedimientos fitosanitarios [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; anteriormente libre de]

Lista de plagas de productos básicos

Lista de plagas que están presentes dentro de un área y que pueden estar relacionadas con un producto básico específico [CEMF, 1996]

Lista de plagas de un hospedante

Lista de plagas que infestan a una especie de planta en un área o globalmente [CEMF, 1996; revisado CEMF, 1999; anteriormente lista de plagas de un hospedero]

Lugar de producción libre de plagas

Lugar de producción en el cual una plaga específica no está presente, según se ha demostrado con evidencia científica y en el cual, cuando sea apropiado, esta condición esté siendo mantenida oficialmente por un período definido [NIMF n. ° 10, 1999]

Manejo del riesgo de plagas (para plagas cuarentenarias)

Evaluación y selección de opciones para disminuir el riesgo de introducción y dispersión de una plaga [FAO, 1995; revisado NIMF n. ° 11, 2001]

Manejo del riesgo de plagas (para plagas no cuarentenarias reglamentadas)

Evaluación y selección de opciones para disminuir el riesgo de que una plaga en plantas para plantar ocasione repercusiones económicamente inaceptables en el uso

destinado de esas plantas (véase el Suplemento n. ° 2 del Glosario) [CIMF, 2005]

Medida de emergencia

Medida fitosanitaria establecida en caso de urgencia ante una situación fitosanitaria nueva o imprevista. Una medida de emergencia puede ser o no una medida provisional [CIMF, 2001; revisado CIMF, 2005]

Medida fitosanitaria (interpretación convenida)

Cualquier legislación, reglamento o procedimiento oficial que tenga el propósito de prevenir la introducción y/o dispersión de plagas cuarentenarias o de limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas [FAO, 1995; revisado CIPF, 1997; CIMF, 2002; aclaración, 2005]

Medio de crecimiento

Cualquier material en el que crecen las raíces de plantas o destinado para ese propósito [FAO, 1990]

Microorganismo

Un protozoo, hongo, bacteria, virus u otra entidad biótica microscópica capaz de reproducirse [NIMF n. ° 3, 1996]

Monitoreo

Proceso oficial continuo para comprobar situaciones fitosanitarias [CEMF, 1996; anteriormente verificación]

NIMF

Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias [CEMF, 1996; revisado CIMF, 2001]

Norma

Documento establecido por consenso y aprobado por un organismo reconocido, que proporciona, para un uso común y repetido, reglas, directrices o características para actividades o sus resultados, con el fin de conseguir un grado óptimo de orden en un contexto dado [FAO, 1995; definición de GUÍA ISO/IEC 2:1991]

Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias

Norma internacional adoptada por la Conferencia de la FAO, la Comisión Interina de Medidas Fitosanitarias o la Comisión de Medidas Fitosanitarias, establecida en virtud de la CIPF [CEMF, 1996; revisado CEMF, 1999]

Normas internacionales

Normas internacionales establecidas de conformidad con lo dispuesto en los párrafos 1 y 2 del Artículo X [CIPF, 1997; aclaración, 2005]

Normas regionales

Normas establecidas por una Organización Regional de Protección Fitosanitaria para servir de guía a sus miembros [CIPF, 1997; aclaración, 2005]

Oficial

Establecido, autorizado o ejecutado por una Organización Nacional de Protección Fitosanitaria [FAO, 1990]

ONPF

Organización Nacional de Protección Fitosanitaria [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001]

Organismo

Entidad biótica capaz de reproducirse o duplicarse en su forma presente naturalmente [NIMF n. ° 3, 1996; revisado NIMF n. ° 3, 2005]

Organismo benéfico

Cualquier organismo favorable en forma directa o indirecta para las plantas o productos vegetales, incluidos los agentes de control biológico [NIMF n. ° 3, 2005]

Organización Nacional de Protección de las Plantas

Véase Organización Nacional de Protección Fitosanitaria

Organización Nacional de Protección Fitosanitaria

Servicio oficial establecido por un gobierno para desempeñar las funciones especificadas por la CIPF [FAO, 1990; anteriormente Organización nacional de protección de las plantas]

Organización Regional de Protección Fitosanitaria

Organización intergubernamental con las funciones establecidas mediante el Artículo IX de la CIPF [FAO, 1990, revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; anteriormente Organización regional de protección de las plantas]

ORPF

Organización Regional de Protección Fitosanitaria [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001]

Parásito

Organismo que vive dentro o sobre un organismo mayor, alimentándose de éste [NIMF n. ° 3, 1996]

Parasitoide

Insecto que es parasítico solamente durante sus etapas inmaduras, matando al hospedante en el proceso de su desarrollo y que vive libremente en su etapa adulta [NIMF n. ° 3, 1996]

Patógeno

Microorganismo causante de una enfermedad [NIMF n. ° 3, 1996]

Plaga

Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales [FAO 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997]

Plaga contaminante

Plaga transportada por un producto básico y en el caso de plantas y productos vegetales, no infesta a dichas plantas o productos vegetales [CEMF, 1996; revisado CEMF, 1999]

Plaga cuarentenaria

Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro aun cuando la plaga no esté presente o, si está presente, no está extendida y se encuentra bajo control oficial [FAO 1990; revisado FAO, 1995; CIPF, 1997; aclaración, 2005]

Plaga de plantas

Véase plaga

Plaga no cuarentenaria

Plaga que no es considerada como plaga cuarentenaria para un área determinada [FAO, 1995]

Plaga no cuarentenaria reglamentada

Plaga no cuarentenaria cuya presencia en las plantas para plantar afecta el uso destinado para esas plantas con repercusiones económicamente inaceptables y que, por lo tanto, está reglamentada en el territorio de la parte contratante importadora (véase el Suplemento n.º 2 del Glosario) [CIPF, 1997]

Plaga reglamentada

Plaga cuarentenaria o plaga no cuarentenaria reglamentada [CIPF, 1997]

Plaguicida biológico (bioplaguicida)

Término genérico, no definible específicamente, pero que se aplica en general a un agente de control biológico, normalmente un patógeno, formulado y aplicado de manera similar a un plaguicida químico y utilizado normalmente para la disminución rápida de la población de una plaga en un control de plagas a corto plazo [NIMF n.º 3, 1996]

Plantar (incluye replantar)

Toda operación para la colocación de plantas en un medio de crecimiento o por medio de injerto u operaciones similares para asegurar su posterior crecimiento, reproducción o propagación [FAO, 1990; revisado CEMF, 1999]

Plantas

Plantas vivas y partes de ellas, incluidas las semillas y el germoplasma [FAO, 1990; revisado CIPF, 1997; aclaración, 2005]

Plantas in vitro

Clase de producto básico para plantas en un medio aséptico y en un contenedor cerrado [FAO, 1990; revisado CEMF, 1999; CIMF, 2002 anteriormente plantas en cultivo de tejidos]

PNCR

Plaga no cuarentenaria reglamentada [NIMF n. ° 16, 2002]

Prácticamente libre

Referente a un envío, campo o lugar de producción, sin plagas (o una plaga específica), en números o cantidades superiores a aquellas que se espera que resulten y estén de acuerdo con las buenas prácticas culturales y de manipulación empleadas en la producción y comercialización del producto básico [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Pre certificación

Certificación fitosanitaria y/o aprobación en el país de origen, realizada por la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria del país de destino o bajo su supervisión regular [FAO, 1990; revisado FAO 1995]

Predador

Véase depredador

Presencia

La existencia en un área de una plaga oficialmente reconocida como indígena o introducida y no reportada oficialmente como que ha sido erradicada [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; NIMF n. ° 17, 2002; anteriormente presente]

Presente naturalmente

Componente de un ecosistema o una selección de una población silvestre, que no es alterada por medios artificiales [NIMF n. ° 3, 1996]

Procedimiento fitosanitario

Cualquier método oficial para la aplicación de medidas fitosanitarias, incluida la realización de inspecciones, pruebas, vigilancia o tratamientos en relación con las plagas reglamentadas [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; CIMF, 2001; CIMF, 2005]

Prohibición

Reglamentación fitosanitaria que veda la importación o movilización de plagas o productos básicos específicos [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Prueba

Examen oficial, no visual, para determinar la presencia de plagas o para identificar tales plagas [FAO, 1990]

Punto de control

Una etapa en un sistema en la cual pueden aplicarse procedimientos específicos para lograr un resultado determinado que pueda ser medido, verificado, controlado y corregido [NIMF n. ° 14, 2002]

Rango de hospedantes

Especies capaces de sustentar una plaga específica u otro organismo, bajo condiciones

naturales [FAO 1990; revisado NIMF n. ° 3, 2005; anteriormente rango de hospederos]

Rechazo

Prohibición de la entrada de un envío u otro artículo reglamentado cuando éste no cumple la reglamentación fitosanitaria [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Registro de una plaga

Documento que proporciona información concerniente a la presencia o ausencia de una plaga específica en una ubicación y tiempo dados, dentro de un área (generalmente un país), bajo las circunstancias descritas [CEMF, 1997]

Reglamentación fitosanitaria

Norma oficial para prevenir la introducción y/o dispersión de las plagas cuarentenarias o para limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas, incluido el establecimiento de procedimientos para la certificación fitosanitaria (véase el Suplemento n. ° 2 del Glosario) [FAO, 1990; revisado FAO, 1995; CEMF, 1999; revisado CIMF, 2001]

Replantar

Véase plantar

Requisitos fitosanitarios de importación

Medidas fitosanitarias específicas establecidas por un país importador concerniente a los envíos que se movilizan hacia ese país [CIMF, 2005]

Respuesta requerida

Nivel específico de efecto de un tratamiento [NIMF n. ° 18, 2003]

Restricción

Reglamentación fitosanitaria que permite la importación o movilización de productos básicos específicos que están sujetos a requisitos específicos [CEMF, 1996, revisado CEMF, 1999]

Riesgo de plagas (para plagas cuarentenarias)

Probabilidad de introducción y dispersión de una plaga y magnitud de las posibles consecuencias económicas asociadas a ella (véase el Suplemento n. ° 2 del Glosario) [NIMF n. ° 2, 2007]

Riesgo de plagas (para plagas no cuarentenarias reglamentadas)

Probabilidad de que una plaga presente en plantas para plantar afecte el uso destinado de esas plantas acarreando repercusiones económicas inaceptables (véase el Suplemento n. ° 2 del Glosario) [NIMF n. ° 2, 2007]

Secretario

Secretario de la Comisión nombrado de conformidad con el Artículo XII [CIPF, 1997; aclaración, 2005]

Semillas

Clase de producto básico correspondiente a las semillas para plantar o destinadas a ser plantadas y no al consumo o elaboración (véase grano) [FAO, 1990; revisado CIMF, 2001]

Sitio de producción libre de plagas

Parte definida de un lugar de producción en el cual una plaga específica no está presente, según se ha demostrado por evidencia científica y en el cual, cuando sea apropiado, esta condición esté siendo mantenida oficialmente por un período definido y que se maneja como unidad separada, de la misma forma que un lugar de producción libre de plagas [NIMF n. ° 10, 1999]

Situación de una plaga (en un área)

Véase estatus de una plaga (en un área)

Supresión

Aplicación de medidas fitosanitarias dentro de un área infestada para disminuir poblaciones de plagas [FAO, 1995; revisado CEMF, 1999]

Transitoriedad

Presencia de una plaga que no se espera que conduzca a su establecimiento [NIMF n. ° 8, 1998]

Transparencia

Principio que prescribe el divulgar, a nivel internacional, información sobre medidas fitosanitarias y su fundamento [FAO, 1995; revisado CEMF, 1999, definición basada en el Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio]

Tratamiento

Procedimiento oficial para matar, inactivar o eliminar plagas o ya sea para esterilizarlas o desvitalizarlas [FAO 1990; revisado FAO, 1995; NIMF n. ° 15, 2002; NIMF n. ° 18, 2003; CIMF, 2005]

Tratamiento térmico

Proceso mediante el cual un producto básico es sometido al calor hasta alcanzar una temperatura mínima, durante un período mínimo, conforme a especificaciones técnicas oficiales [NIMF n. ° 15, 2002; revisado CIMF, 2005]

Uso destinado

Propósito declarado para el cual se importan, producen o utilizan las plantas, productos vegetales u otros artículos reglamentados [NIMF n. ° 16, 2002; anteriormente uso propuesto]

Uso propuesto

Véase uso destinado

Verificación

Véase monitoreo

Vía

Cualquier medio que permita la entrada o dispersión de una plaga [FAO, 1990; revisado FAO, 1995]

Vigilancia

Un proceso oficial mediante el cual se recoge y registra información sobre la presencia o ausencia de una plaga utilizando encuestas, monitoreo u otros procedimientos [CEMF, 1996]

(FAO, Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (2007)).

ANEXO 13

LITERATURA CONSULTADA.

ACIAR. (2008). The 'guava effect': a new tool in the fight against citrus greening. In: Vietnam – Achievements. Australian Center for Internacional Agricultural Research/2007-2008 Report.

Ahmad R. 1961. Citrus psylla: Its damage, population and efficacy of some insecticides against it. Pakistan J. Science. 13:195–200.

Al-Ghamdi K. M. S. 2000. A field study on synchrony between the populations of citrus Psylla, *Diaphorina citri* (Kuwayama) [sic.] (Homoptera: Psyllidae) and its natural enemies in western Saudi Arabia. Bull. Fac. Agric., Cairo University. 51:227–238.

Aubert, B. 1987. *Trioza erytreae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. Fruits 42:149-162.

Aubert, B. 1987. Le greening, une maladie infectieuse des agrumes, d'origine bactérienne, transmise par des homoptères psyllides. Stratégie de lutte développée à l'île de la Réunion. Circonstances epidemiologiques en Afrique/Asie et modalités d'intervention. IRFA/CIAD-B. P. 180-97455 Saint Pierre Cedex.

Aubert, B., and Quilici, S. 1984. Biological control of psyllid vectors of greening disease in Reunion Island. Pages 118-123 in: Proc. of the 9th Conf. of the Intl. Organ. of Citrus Virologists. S. M. Garnsey, L. W. Timmer, and J. A. Dodds, eds. IOCV, Riverside, CA.

Aubert, B. 1990. Integrated activities for the control of huanglungbin-greening and its vector *Diaphorina citri* Kuwayama in Asia. Pages 133-144 in: B. Aubert, S. Tontyaporn, D. Buangsuwon., eds., Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region. Proc. of the Asia Pacific Intl. Conf. on Citriculture, Chiang Mai, Thailand , 4-10 February 1990. UNDP-FAO, Rome.

Aubert, B. 1992. Citrus greening disease, a serious limiting factor for citriculture in Asia and Africa. Proc. Intl. Soc. Citricult. 817-820.

Aubert, B., Grisoni, M., Villemain, M., and Rossolin, G. 1996. A case study of huanglongbing (greening) control in Reunion. Pages 276-278 in: Proc. of the 13th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. J. V. da Graça, P. Moreno, and R. K. Yokomi, eds. IOCV, Riverside CA.

Aubert, B., and Bové, J. M. 1980. Effect of penicillin or tetracycline injections of citrus trees affected by greening disease in Reunion Island. Pages 103-108 in: Proc. of the 8th Conf. of the Intl. Organ. of Citrus Virologists. E. C. Calavan, S. M. Garnsey, and L. W. Timmer, eds. IOCV, Riverside, CA.

- Aubert, B.**, Sabine, A., Geslin, P., and Picardi, L. 1984. Epidemiology of the greening disease in Reunion Island before and after the biological control of the African and Asian citrus psyllas. *Proc. Intl. Soc. Citricult.* 1:440-442.
- Aubert, B.**, Garnier, M., Guillaumin, D., Herbagyandodo, B., Setiobudi, L., and Nurhadi, F. 1985. Greening, a serious disease threat for the citrus production of the Indonesian archipelago. Future prospects of integrated control. *Fruits* 40:549-563.
- Bassanezi, R. B.**, Busato, L. A., Bergamin Filho, A., Amorim, L., and Gottwald, T. R. 2005. Preliminary spatial pattern analysis of Huanglongbing in São Paulo, Brazil. Pages 341-355 in: *Proc. of the 16th Conf. of the Intl. Organ. of Citrus Virologists*. M. E. Hilf, N. Duran-Vila, and M. A. Rocha-Peña. IOCV, Riverside, CA.
- Bassanezi, R. B.**, Montesino, L. H., Busato, L. A. and Stuchi, E. S. 2006. Damages caused by huanglongbing on sweet orange yield and quality in São Paulo. Page 39 in: *Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop*, Ribeirão Preto, Brazil.
- Belasque José.** FUNDECITRUS de Brasil. Comunicación personal. Febrero, 2009.
- Beattie, G. A. C.**, Holford, P., Mabberley, D. J., Haigh, A. M., Bayer, R., and Broadbent, P. 2006. Aspects and insights of Australia-Asia collaborative research on Huanglongbing. Pages 47-64 in: *Proc. of the Intl. Workshop for the Prevention of Citrus Greening Disease in Severely Infected Areas*. Intl. Res. Div., Agric. Forestry Fisheries Res. Counc. Secretariat, Ministry of Agric., Forestry and Fisheries, Tokyo, Japan.
- Bhagabati K. N.** 1993. Survey of greening disease of mandarin orange in the northeastern states of India. pp. 441-442 *In* P. Moreno, J. V. da Graça, and L. W. Timmer [eds.], *Proc. 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists*. University of California, Riverside
- Bové J. M.**, E. C. Calavan, S. P. Capoor, R. E. Cortez, and R. E. Schwarz. 1974. Influence of temperature on symptoms of California stubborn, South Africa greening, India citrus decline, and Philippines leaf mottling diseases. pp. 12-15 *In* L. G. Weathers and M. Cohen [eds.], *Proc. 6th Conference of the International Organization of Citrus Virologists*. University of California, Richmond.
- Bové, J. M.** 1986. Greening in Arab Peninsula: Towards new techniques for its detection and control. *FAO Plant Prot. Bull.* 34:7-14
- Bové J. M.**, N. M. Chau, H. M. Trung, J. Bourdeaut, and M. Garnier. 1996. Huanglongbing (greening) in Viet Nam: Detection of *Liberobacter asiaticum* by DNA-hybridization with probe In 2.6 and PCR-amplification of 16S ribosomal DNA. pp. 258-266 *In* J. V. da Graça, P. Moreno, and R. K. Yokomi [eds.], *Proc. 13th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*. University of California.
- Bové, J. M.** 2006. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathol.* 88:7-37.

Bové, J.M. and Ayres, A. J. (2006). Etiology of three recent diseases of citrus in São Paulo State: sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. IUBMB Life. 2007 Apr-May;59(4-5):346-54.

Bové, J. M., Erti Dwiastuti, M., Triviratno, A., Supriyanto, A., Nasli, E., Becu, P., and Garnier, M. (2000). Incidence of huanglongbing and citrus rehabilitation in North Bali, Indonesia. Pages 200-206 in: Proc. of the 14th Intl. Organ. Citrus Virol. J. V. da Graça, R. F. Lee, and R. K. Yokomi, eds. IOCV Riverside, CA.,

Bové, J.M. (2009) Huanglongbing, IBVM, Laboratoire de Biologie Cellulaire and Moléculaire, I.N.R.A./ Bourdeaux. Francia.

Bové Joseph. INRA de Francia. Comunicación personal. Abril de 2009.

Brlansky, R.H., Chung, K.R. and Rogers, M.E. 2007. Florida Citrus Pest Management Guide: Huanglongbing (Citrus Greening). University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/CG086>.

Broadbent P., L. R. Fraser, and J. McGeachan. 1976. Australian citrus dieback. pp. 141-146 *In* E. C. Calavan [ed.], Proc. 7th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. IOCV, Riverside, CA.

Buitendag, C. H., and von Broembsen, L. A. 2003. Living with citrus greening disease. Pages 269-271 in: Proc. of the 12th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. P. Moreno, J. V. da Graça and L. W. Timmer, eds. IOCV, Riverside, CA.

Burckhardt D. 1994a. Psyllid pests of temperate and subtropical crop and ornamental plants (Hemiptera, Psylloidea): A Review. Trends in Agricultural Sciences, Entomology. 2:173–186.

Burckhardt D. 1994b. Generic key to Chilean jumping plant-lice (Homoptera: Psylloidea) with inclusion of potential exotic pests. Rev. Chilean Entomol. 21:57–67.

Burckhardt D. 1988. Jumping plant lice (Homoptera: Psylloidea) of the temperate neotropical region. Part 3: Calophyidae and Triozidae. Zoological J. Linnean Soc. 92:115–191.

Burckhardt D., and M. Martinez. 1989. Note sur la présence su Honduras d'un redoutable ennemi des citrus: *Diaphorina citri* Kuwayama [Hom. Psylloidea Psyllidae]. Bulletin de la Société Entomologique de France 94:65–66.

Capoor, S. P. 1963. Decline of citrus trees in India. Bull. Nat. Inst. Sci. India 24:48-64.

Capoor, S. P., Rao, D. G., and Viswanath, S. M. 1967. *Diaphorina citri* Kuway, a vector of the greening disease of citrus in India. Ind. J. Agric. Sci. 37:572-576.

- Catling, H. D.** 1969. The bionomics of the South African citrus psylla *Trioza erytreae* Del Guercio (Homoptera: Psyllidae). 2. The influence of parasites and notes on the main species involved. J. Entomol. Soc. South. Afr. 32:209-223.
- Catling, H. D.** 1969. The bionomics of the South African psylla, *Trioza erytreae* Del Guercio (Homoptera: Psyllidae). 3. The influence of extremes of weather on survival. J. Entomol. Soc. S. Afr. 32:273-290.
- Catling, H. D.** 1970. The bionomics of the South African citrus psylla, *Trioza erytreae* Del Guercio (Homoptera:Psyllidae). 4. Influence of predators. J. Entomol. Soc. S. Afr. 33:341-348.
- Catling, H. D.,** and Atkinson, P. R. 1974. Spread of greening by *Trioza erytreae* (Del Guercio) in Swaziland. Pages 33-39 in: Proc. of the 6th Conf. Intl. Organ. Citrus Virologists. L. G. Weathers and M. Cohen, eds. IOCV, Div. Agric. Sci., Univ. of Calif., Riverside.
- Cermeli, M.,** P. Morales, and F. Godoy. 2000. Presencia del pailido asiático de los citricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. Boletín Entomologia Venezolana 15: 235-243.
- Chao, H. Y.,** Chiang, Y. H., Lee, S. L., Chiu, C. S., and Su, W. F. 1979. A preliminary study on the relation between the prevalence of the Citrus Yellow Shoot (Huanglungbin) and the citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama. Acta Phytopathol. Sin. 2:121-126.
- Chavan V. M.,** and A. S. Summanwar. 1993. Population dynamics and aspects of the biology of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw., in Maharashtra. pp. 286-290 In P. Moreno, J. V. da Graça, and L. W. Timmer [eds.], Proc. 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. University of California, Riverside.
- Chen M. H.,** T. Miyakawa, and C. Matsui. 1973. Citrus likubin pathogens in the salivary glands of *Diaphorina citri*. Phytopathology. 63:194–195.
- Chiu, S.-C.,** Aubert, B., and Chien, C. C. 1988. Attempts to establish *Tetrastichus radiatus* Waterston in Taiwan. Pages 265-268 in: Proc. of the 10th Conf. Intl. Organ. Citrus Virologists. L. W. Timmer, S. M. Garnsey, and L. Navarro, eds. IOCV, Riverside, CA.
- Colleta-Filho, H. D.,** Targon, M. L. P. N., Takita, M. A., De Negri, J. D., Amaral, A. M., Müller, G. W., Pompeu Júnior, J., Carvalho, S. A., and Machado, M. A. 2004. Detecção do agente causal do greening do citros (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) no estado de São Paulo. Summa Phytopathol. 30:510.
- Cook, S. M.,** Zeyaur, R. K., and Pickett, J. A. 2007. The use of Push-Pull strategies in integrated pest management. Annu. Rev. Entomol. 52:375-400
- da Graca J.V.** 1991. Citrus greening disease. Annu. Rev. Phytopathology 29:109-136.

da Graça, J. V., and Korsten, L. 2004. Citrus huanglongbing: Review, present status and future strategies. Pages 229-245 in: Diseases of Fruits and Vegetables Vol. I (S. A. M. H. Naqvi, ed.). Kluwer Acad. Press, Dordrecht.

da Graça, J.V. 2008. Biology, History and World Status of Huanglongbing. Memorias del Taller Internacional sobre el uanglongbing y el Psílido asiático de los cítricos. Hermosillo, Son.

Deacon V. E., M. A. van den Berg, and B. Sutherland. 1989. A further comparison of chitin synthesis inhibitors for the control of *Trioza erytreae* (Hemiptera: Triozidae) in South Africa. Tests of Agrichemicals and Cultivars. 10:6–7.

del Guercio G. 1918. Note ed osservazione di entomologia agrarian. Il cecidio delle foglie del limone ed il suo cicidoo in Eritrea. Agricoltura Coloniale. 1918:167–169 . 2 figs, 1 pl.

Deng, X., and Tang, W. 1996. The studies on detection of citrus Huanglongbin pathogen by polymerase chain reaction. *J. South China Agricultural University* **17**, 119-120.

Deng,X J. Chen*, Z. Shan, G. Zhou, H. Li, and E. L. Civerolo (2007). Identification of *Candidatus* Liberibacter asiaticus from Foshou (*Citrus medica*) in China. New Disease Reports. BSPP.

do Carmo Teixeira D, Luc Danet J, Eveillard S, Cristina Martins E, de Jesus Junior WC, Takao Yamamoto P, Aparecido Lopes S, Beozzo Bassanezi R, Juliano Ayres A, Saillard C, Bove JM. 2005. Citrus huanglongbing in Sao Paulo State, Brazil: PCR detection of the '*Candidatus*' Liberibacter species associated with the disease. *Mol Cell Probes* **19**, 173-179.

Etienne, J., and Aubert, B. 1980. Biological control of psyllid vectors of greening disease in Reunion Island. Pages 118-121 in: Proc. of the 8th Conf. Intl. Organ. Citrus Virologists. E. C. Calavan, S. M. Garnsey, and L. W. Timmer, eds. IOCV, Riverside, CA.

Étienne J., D. Burckhardt, and C. Grapin. 1998. *Diaphorina citri* (Kuwayama) [sic] en Guadeloupe, premier signalement pour les Caraïbes (Hem., Psyllidae). Bulletin de la Société Entomologique de France. 103:32.

Étienne J., S. Quilici, D. Marival, and A. Franck. 2001. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). Fruits. 56:307–315.

FFTC (2007). Evolution of Citrus Greening Pathogen (HLB) Strains in Aspac (Year 2). FFTC Pub. 2007-09-04.

Floyd, J. and C. Krass. 2006. New Pest Response Guidelines: Huanglongbing Disease of Citrus. USDA/APHIS/PPQ–Emergency and Domestic Programs, Riverdale, Maryland.

Fraser, L. R., Singh, D., Capoor, S. P., and Nariani, T. K. 1966. Greening virus, the likely cause of citrus dieback in India. *FAO Plant Prot. Bull.* 14:127-130.

French, J. V., Kahlke, C. J., and da Graça, J. V. 2001. First record of the Asian citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), in Texas. *Subtrop. Plant Sci.* 53:14-15.

Fundecitrus. 2007. Brasil .Manual técnico de Greening. Folleto técnico.

Gao S., M. Garnier, and J. M. Bové. 1993. Production of monoclonal antibodies recognizing most Asian strains of the greening BLO by in vitro immunization with an antigenic protein purified from the BLO. pp. 244-249 *In* P. Moreno, J. V. da Graça, and L. W. Timmer [eds.], *Proc. 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists*. University of California, Riverside

Garnier, M., and Bové, J. M. 1978. The organism associated with citrus greening disease is probably a member of the schizomycetes. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektions, Kra. Hyg. Reihe A* 241:221-222.

Garnier, M., and Bové, J. M. 1993. Citrus greening disease and the greening bacterium. Pages 212-219 in: *Proc. of the 12th Conf. Intl. Organ. Citrus Virologists*. P. Moreno, J. V. da Graça, and L. W. Timmer, eds. IOCV, Riverside, CA.

Garnier, M., Danel, N., and Bové, J. M. 1984. Etiology of citrus greening disease. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* 135A:169-179.

Garnier, M., Jagoueix-Eveillard, S., Cronje, C. P. R., Le Roux, H. F., and Bové, J. M. 2000. Genomic characterization of a liberibacter present in an ornamental rutaceous tree, *Calodendron capense* in the Western Cape province of South Africa. *Intl. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50:2119-2125.

Garnier, M., Martin-Gros, G., and Bové, J. M. 1987. Monoclonal antibodies against the bacterial-like organism associated with citrus greening disease. *Ann. Inst. Pasteur (Microbiol.)* 138:639-650.

Garnier, M. & JM. Bove. 1993. Citrus greening disease. *Proc. 12th IOCV Conference* pp.212-219.

Gatineau, F., Loc, H. T., Tuyen, N. D., Tuan, T. M., Hien, N. T. D., and Truc, N. T. N. 2006. Effects of two insecticide practices on population dynamics of *Diaphorina citri* and huanglongbing incidence in south Vietnam. Page 110 in: *Proc. of the Huanglongbing–Greening Intl. Workshop, Ribeirão Preto, Brazil.*

Gimenes, F. N. 2004. Combate ao greening em citros necessita de legislacao específica. Visao Agricola. 41-42.

Ghosh S. K., J. Giannotti, and C. Lewis. 1977. Multiplication intense des procaryotes associés aux maladies de type “greening” des agrumes dans les cellules criblées de Cuscutae. Ann. Phytopathol. 9:525–530.

Gómez, H.D. 2008. Experiencias on HLB (Huanglongbing) symptoms detection in Florida. Memorias del Taller Internacional sobre el Huanglongbing y el Psílido asiático de los cítricos. Hermosillo, Son.

Gonzales C. I., and R. C. Viñas. 1981. Field performance of citrus varieties and cultivars grown under control measures adopted against leaf mottling (greening) disease in the Philippines. Proc. International Soc. Citriculture. 1:463–464.

González C., M. Borges, D. Hernández, and J. Rodríguez. 2003. Inventory of natural enemies of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Cuba. Proc. International Soc. Citriculture. 9:859.

Gottwald, T. R., Aubert, B., and Huang, K. L. 1991. Spatial pattern analysis of citrus greening in Shantou, China. Pages 421-427 in: Proc. of the 11th Conf. Intl. Org. Citrus Virol. R. H. Brlansky, R. F. Lee, and L. W. Timmer, eds. IOCV, Riverside, CA

Gottwald. T. R., Aubert, B., and Zhao, X.-Y. 1989. Preliminary analysis of citrus greening (Huanglungbin) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. Phytopathology 79:687-693.

Gottwald, T. R., da Graça, J. V., and Bassanezi, R. B. 2007. Citrus Huanglongbing: The pathogen and its impact. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2007-0906-01-RV.

Gottwald T. R., Bergamin-Filho, A., Bassanezi, R. B., Amorim, L., Irey, M., Zhao, X., and Aubert, B. 2006. Concepts in Huanglongbing Epidemiology. Pages 1-10 in: Proc. of the Intl. Workshop for the Prevention of Citrus Greening Disease in Severely Infected Areas. Intl. Res. Div., Agric. Forestry Fisheries Res. Counc. Secretariat, Ministry of Agric., Forestry and Fisheries, Tokyo, Japan.

Gottwald, T. R., Cambra, M., Moreno, P., Camarasa, E., and Piquer, J. 1996. Spatial and temporal analyses of citrus tristeza in Eastern Spain. Phytopathology 86:45-55.

Gottwald, T. R., Garnsey, S. M., and Borbón, J. 1998. Increase and patterns of spread of citrus tristeza virus infections in Costa Rica and the Dominican Republic in the presence of the brown citrus aphid, *Toxoptera citricida*. Phytopathology 88:621-636.

Gottwald, T. R., Gibson, G., Garnsey, S. M., and Irey, M. 1999. Examination of the effect of aphid vector population composition on the spatial dynamics of citrus tristeza virus spread via stochastic modeling. Phytopathology 89:603-608

- Gottwald, T. R.**, Gonzales, C. I., and Mercado, B. G. 1991. Analysis of the distribution of citrus greening in groves in the Philippines. Pages 414-420 in: Proc. of the 11th Conf. Intl. Org. Citrus Virol. R. H. Bransky, R. F. Lee, and L. W. Timmer, eds. IOCV, Riverside, CA.
- Gottwald, T. R.**, Richie, S. M., and Campbell, C. L. 1992. LCOR2 - Spatial correlation analysis software for the personal computer. Plant Dis. 76:213-215.
- Gravena S., M. J. G.** Beretta, P. E. B. Paiva, R. Gallão, and P. T. Yamamoto. 1996. Seasonal abundance and natural enemies of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus orchards of São Paulo State, Brazil. p. 414 In J. V. da Graça, P. Moreno, and R. K. Yokomi [eds.], Proc. 13th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV). University of California, Riverside.
- Halbert, S.E. and Manjunath K. L.** 2004. Asian Citrus Psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and Greening Disease of Citrus: A literature review and assessment of risk of Florida. Florida Entomologist 87(3) 330-353.
- Halbert, S. E.**, C. L. Niblett, K. L. Manjunath, R. F. Lee, and L. G. Brown. 2002. Establishment of two new vectors of citrus pathogens in Florida. Proc. International Soc. Citriculture IX Congress, ASHS Press, Alexandria, VA. pp 1016-1017.
- Halbert, S.** 2005. The discovery of huanglongbing in Florida. Page 50 in: Proc. of the 2nd Intl. Citrus Canker and Huanglongbing Worksh., Orlando, FL.
- Halbert, S. E.**, and Nuñez, C. A. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Sternorrhyncha: Psyllidae) in the Caribbean basin. Fla. Entomol. 87:401-402.
- Harakava R.**, L. J. Marais, J. Ochasan, K. L. Manjunath, V. J. Bebres, R. F. Lee, and C. L. Niblett. 2000. Improved sensitivity in the detection and differentiation of citrus huanglongbing bacteria from South Africa and the Philippines. pp. 195-199 In J. V. da Graça, R. F. Lee, and R. K. Yokomi [eds.], Proc. 14th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Riverside, CA.
- Hocquellet A**, Toorawa P, Bove JM, 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 beta operon. *Mol Cell Probes* **13**, 373-379.
- Hollis D.** 1987a. A new citrus-feeding psyllid from the Comoro Islands, with a review of the *Diaphorina amoena* species group (Homoptera). Systematic Entomol. 12:47-61.
- Hollis D.** 1987b. A review of the Malvales-feeding psyllid family Carsidaridae (Homoptera). Bulletin of the British Museum of Natural History (Entomology). 56:87-127.

Hollis D. 1984. Afrotropical jumping plant lice of the family Triozidae (Homoptera: Psylloidea). Bulletin of the British Museum (Natural History). 49(1):1–102.

Hooker M. E., R. F. Lee, E. L. Civerolo, and S. Y. Wang. 1993. Reliability of gentisic acid, a fluorescent marker, for diagnosis of citrus greening disease. Plant Disease. 77:174–180.

Hoy M. A., A. Jeyaprakash, and R. Nguyen. 2001. Long PCR is a sensitive method for detecting *Liberobacter asiaticum* in parasitoids undergoing risk assessment in quarantine. Biological Control. 22:278–287.

Hughes, G., and Madden, L. V. 1992. Aggregation and incidence of disease. Plant Pathol. 41:657-660.

Hughes, G., and Madden, L. V. 1993. Using the beta-binomial distribution to describe aggregated patterns of disease incidence. Phytopathology 83:759-763.

Hung, T.-H., Wu, M.-L., and Su, H.-J. 2000. Identification of alternative hosts of the fastidious bacterium causing citrus greening disease. J. Phytopathol. 148:321-326.

Hung, T.-H., Wu, M.-L., and Su, H.-J. 2001. Identification of the Chinese box orange (*Severinia buxifolia*) as an alternative host of the bacterium causing citrus huanglongbing. Eur. J. Plant Pathol. 107:183-189.

Husain, M. A., and Nath, D. 1927. The citrus psylla (*Diaphorina citri* Kuw.) [Psyllidae: Homoptera]. Mem. Dept. Agric. India, Entomol. Ser. 10:1-27.

INISAV. 1999. La enfermedad del enverdecimiento de los cítricos y su vector (*Diaphorina citri* Kuwayama). Boletín Técnico (La Habana) 5 (1).

Irey, M. S., Gast, T., and Gottwald, T. R. 2006. Comparison of visual assessment and polymerase chain reaction assay testing to estimate the incidence of the Huanglongbing pathogen in commercial Florida citrus. Pages 88-93 in: Proc. of the Fla. State Hortic. Soc.

Irey Michael. Southern Garden, Florida. Comunicación personal. Mayo 2009.

Irey, M.S., Gast, T. and Snively, J. 2008. Grove Management at Southern Gardens Citrus in the Presence of Huanglongbing. Memorias del Taller Internacional sobre el Huanglongbing y el Psílido asiático de los cítricos. Hermosillo, Son.

Jagoueix S., J. M. Bové, and M. Garnier. 1996. PCR detection of the '*Candidatus*' *Liberobacter* species associated with greening disease of citrus. Molecular and Cellular Probes. 10:43–50.

Jagoueix S., J. M. Bové, and M. Garnier. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the α subdivision of the proteobacteria. International J. Systematic Bacteriology. 44:379–386 .

KARP, D. (2008). Citrus industry pins hope on studies of a dire disease. New York Times. D1. 8/28/2008.

Ke, S., Li, K. B., Ke, C., and Tsai, J. H. 1988. Transmission of the huanglongbing agent from citrus to periwinkle by dodder. Pages 258-264 in: Proc. of the 10th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. L. W. Timmer, S. M. Garnsey, and L. Navarro, eds. IOCV, Riverside, CA.

Ke, C., and C.-F. Xu. 1990. Successful integrated management of huanglongbing disease in several farms of Guangdong and Fujian by combining early eradication with targeted insecticide spraying, pp. 145-148. In B. Aubert, S. Tontyaporn, and D. Buangauwon (eds.), Proc. 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation. FAO-UNDP.

Knapp, J., Halbert, S., Lee, R., Hoy, M., Clark, R., and Kesinger, M. 1998. The Asian psyllid and citrus greening disease. Citrus Ind. 79:28-29.

Korsten, L., Sanders, G. M., Su, H. J., Garnier, M., Bové, J. M., and Kotzé, J. M. 1993. Detection of citrus greening-infected citrus in South Africa using a DNA probe and monoclonal antibodies. Pages 224-232 in: Proc. of the 12th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. P. Moreno, J. V. da Graça, and L. W. Timmer, eds. IOCV, Riverside, CA.

Korsten, L., Jagoueix, S., Bové, J. M., and Garnier, M. 1996. Huanglongbing (greening) detection in South Africa. Pages 395-398 in: Proc. of the 13th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. J. V. da Graça, P. Moreno, and R. K. Yokomi, eds. IOCV, Riverside, CA.

Koizumi M., M. Prommintara, and Y. Ohtsu. 1996. Wood apple, *Limonia acidissima*: A new host for the huanglongbing (greening) vector, *Diaphorina citri* pp. 271-275 In J. V. da Graça, P. Moreno, and R. K. Yokomi [eds.], Proc. 13th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV). University of California, Riverside.

Koizumi M., M. Prommintara, G. Linwattana, and T. Kaisuwan. 1993. Field evaluation of citrus cultivars for greening resistance in Thailand. pp. 274-279 In P. Moreno, J. V. da Graça, and L. W. Timmer [eds.], Proc. 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. University of California, Riverside.

Korsten L., S. Jagoueix, J. M. Bové, and M. Garnier. 1996. Huanglongbing (greening) detection in South Africa. pp. 395-398 In J. V. da Graça, P. Moreno, and R. K. Yokomi [eds.], Proc. 13th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV). University of California, Riverside.

Kuwayama S. 1908. Die psylliden Japans. Transactions of the Sapporo Natural History Society 2 (parts I and II): 149-189. (*D. citri*: p. 160-161, Plate III, Fig. 16).

- Lafière, D.**, and Bové, J. M. 1970. Structures de type mycoplasme dans les feuilles d'orangers atteints de la maladie du greening. C. R. Acad. Sci. Ser. D 270:455-465.
- Lallemand, J.**, Fos, A., and Bové, J. M. 1986. Transmission de la bacterie associée à la forme africaine de la maladie du "greening" par le psylle asiatique *Diaphorina citri* Kuwayama. Fruits 41:341-343.
- Lee, H. A.** 1921. The relation of stocks to mottled leaf of citrus leaves. Phil. J. Sci. 18:85-95.
- Lee R. F.** 2002. Citrus greening. <http://www.ecoport.org>.
- Lee R. F.** 1996. Citrus greening disease and its vectors. Naranja. 17:258–260.
- Le Roux, H. F.**, van Vuuren, S. P., and Manicom, B. Q. 2006. Huanglongbing in South Africa. Pages 5-9 in: Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, Ribeirão Preto, Brazil.
- Le Roux, H. F.**, van Vuuren, S. P., Pretorius, M. C., and Buitendag, C. H. 2006. Management of huanglongbing in South Africa. Pages 43-47 in: Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, Ribeirão, Brazil.
- Lin, K. H.** 1956. Observations on yellow shoot on citrus. Etiological studies of yellow shoot of citrus. Acta Phytopathol. Sin. 2:237-242.
- Lin, C. K.** 1963. Notes on citrus yellow shoot disease. Acta Phytophylact. Sin. 2:243-251.
- Lin, K.-Hsiang** and K.-Hsun Lin. 1990. The citrus huang lung bin (greening) disease in China, pp. 1-26 In B. Aubert, S. Tontyaporn, and D. Buangsuwon [eds.], Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region. Proc. Asia Pacific International Conference on Citriculture, Chiang Mai, Thailand, 4-10 February 1990. UNDP-FAO. Rome.
- Liu, Y. H.**, and J. H. Tsai. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). Ann. Applied Biol. 137:210-216.
- Lopes, S. A.**, Martins, E. C., and Frare, G. F. 2005. Detecção de *Candidatus Liberibacter americanus* em *Murraya paniculata*. Summa Phytopathol. 31:48-49.
- Lopes, S. A.**, Martins, E. C., and Frare, G. F. 2006. Detecção de *Candidatus Liberibacter asiaticus* em *Murraya paniculata*. Fitopatol. Bras. 31:303.
- Lopes, S. A.**, Frare, G. F., Yamamoto, P. T., and Ayres, A. J. 2006. Inefficacy of pruning to control citrus huanglongbing in Brazil. Page 49 in: Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, Ribeirão Preto, Brazil.

- Manicom, B. Q.**, and van Vuuren, S. P. 1990. Symptoms of greening disease with special emphasis on African greening. Pages 127-131 in: Proc. of the 4th Intl. Asia-Pacific Conf. Citrus Rehabilitation, Chang Mai, Thailand.
- Martinez, A. L.**, and Wallace, J. M. 1967. Citrus leaf-mottle-yellow disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid, *Diaphorina citri*. Plant Dis. Rep. 51:692-695.
- Massonie, G.**, Garnier, M., and Bové, J. M. 1976. Transmission of Indian greening by *Trioza erythrae* (Del Guercio), the vector of South African greening. Pages 18-20 in: Proc. of the 7th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. E. C. Calavan, ed. IOCV, Riverside, CA
- McClellan, A. P. D.**, and Oberholzer, P. C. J. 1965. Greening disease of sweet orange: Evidence that it is caused by a transmissible virus. S. Afr. J. Agric. Sci. 8:253-276.
- McClellan, A. P. D.**, and Oberholzer, P. C. J. 1965b. Citrus psylla, a vector of greening disease of sweet orange. S. Afr. J. Agric. Sci. 8:297-298.
- McClellan, A. P. D.**, and Schwarz, R. E. 1970. Greening or blotchy-mottle disease of citrus. Phytophylactica 2:177-194.
- McFarland, C. D.**, and M. A. Hoy. 2001. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under different relative humidities and temperature regimes. Florida Entomol. 84: 227-233.
- Mead, F. W.** 1977. The Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). Entomology Circular 180. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. 4 pp.
- Michaud, J. P.** 2002. Biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Florida: A preliminary report. Entomological news 113:216-222.
- Miyakawa T.** 1980. Experimentally-induced symptoms and host range of citrus likubin (greening disease) [In Japanese, English abstract and figure captions]. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 46:224-230
- Miyakawa T.**, and Z.-X. Yuan. 1990. Citrus host range of greening disease. pp. 118-121 In B. Aubert, S. Tontyaporn, and D. Buangsuwon [eds.], Proc. 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation. FAO-UNDP.
- Moll, J. N.**, and van Vuuren, S. P. 1977. Greening disease in Africa. Prot. Intl. Soc. Citricult. 3:903-912.

Moll J. N., and M. N. Martin. 1973. Electron microscope evidence that citrus psylla (*Trioza erytreae*) is a vector of greening disease in South Africa. *Phytophylactica*. 5:41–44.

Moreno, P., da Graça, J. V., and Yokomi, R. K. 1996. Preface. Pages v-vi in: *Proc. of the 13th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* P. Moreno, J. V. da Graça, and R. K. Yokomi, eds. IOCV, Riverside, CA.

Naidu R., and H. C. Govindu. 1981. Strains and strain interaction of the citrus greening pathogen in India. pp. 299-313 *In* K. Maramorosch and S. P. Raychaudhuri [eds.], *Mycoplasma Diseases of Trees and Shrubs*. Academic Press, New York. 362 p.

Nariani, T. K., Raychaudhuri, S. P., and Viswanath, S. M. 1973. Tolerance to greening in certain citrus species. *Curr. Sci.* 42:513-514.

Oberholzer, P. C. J., von Standen, D. F. A., and Basson, W. J. 1965. Greening disease of sweet orange in South Africa. Pages 213-219 in: *Proc. of the 3rd Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* W. C. Price, ed. Univ. Florida Press, Gainesville, FL.

Orozco, S. S. 1995. Enfermedades presentes y potenciales de los cítricos en México, Universidad Autónoma Chapingo, México. 150 p.

Ôtake, A. 1990. Bibliography of citrus greening disease and its vectors attached with indices, and a critical review on the ecology of the vectors and their control. Jap. Intl. Coop. Agency.

Planet, P., S. Jagoueix, J. M. Bové, and M. Garnier. 1995. Detection and characterization of the African citrus greening liberobacter by amplification, cloning, and sequencing of the *rpl-KAJL-rpoBC* operon. *Current Microbiology* 30: 137-141.

Robles, Pedro. 2008. Protocolo de Actuación ante la emergencia por la detección del Huanglongbing. SARGAPA/SENASICA. México.
www.senasica.gob.mx/default.asp?id=1013

Raychaudhuri, S. P., Nariani, T. K., and Lele, V. C. 1969. Citrus die-back problem in India. *Proc. of the 1st Intl. Citrus Symp.* 3:1433-1437.

Raychaudhuri, S. P., Nariani, T. K., Ghosh, S. K., Viswanath, S. M., and Kumar, D. 1974. Recent studies on citrus greening in India. Pages 53-57 in: *Proc. of the 6th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* L. G. Weathers and M. Cohen, eds. Univ. California, Div. Agric. Sci.

Regmi, C., and Lama, T. K. 1987. Greening incidence and greening vector population dynamics in Pokhara. Pages 238-243 in: *Proc. of the 10th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* L. W. Timmer, S. M. Garnsey, and L. Navarro, eds. IOCV, Riverside, CA.

Reinking, O. A. 1919. Diseases of economic plants in southern China. *Phil. Agric.* 8:109-135.

Roistacher, C. N. 1991. Techniques for biological detection of specific citrus graft transmissible diseases, pages 35-45 (Greening). FAO, Rome. 286 pp.

Roistacher, C. N. 1996. The economics of living with citrus diseases : huanglongbing (greening) in Thailand. Pages 279-285 in: *Proc. of the 13th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* P. Moreno, J. V. da Graça, and R. K. Yokomi, eds. IOCV, Riverside, CA

Rouseff ,R. L. , Onagbola, E. O., Smoot. J. M. and Stelinski .L. L. (2008). Sulfur Volatiles in Guava (*Psidium guajava* L.) Leaves: Possible Defense Mechanism. *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, 56 (19), pp 8905–8910.

Saligo P., D. Lafleche, C. Bonnnissol, and J. M. Bové. 1971. Isolement, culture et observations au microscope electronique des structures de type mycoplasme associes a la maladie du stubborn des argumes et leur comparaison avec les structures observees dans le cas de la maladie Greening des argumes. *Physiologie Vegetale.* 9:569–582

Schwarz, R. E. 1967. Results of a greening survey on sweet orange in the major citrus growing areas of the Republic of South Africa. *S. Afr. J. Agric. Sci.* 10:471-476.

Schwarz, R. E. 1968. Indexing of greening and exocortis through fluorescent marker substances. Pages 118-124 in: *Proc. of the 4th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* J. F. L. Childs, ed. IOCV, Riverside, CA.

Schwarz, R. E. 1968. Thin layer chromatographical studies on phenol markers of the greening virus in various citrus species. *S. Afr. J. Agric. Sci.* 11:797-801.

Schwarz, R. E., Knorr, L. C., and Prommintara, M. 1973. Presence of citrus greening and its psylla vector in Thailand. *FAO Plant Prot. Bull.* 21:132-138,

Shivankar, V. J., C. N. Rao, and S. Singh. 2000. Studies on citrus Psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama: A review. *Agricultural Reviews* (Karnal, India) 21: 199-204.

STOVER,E. et al. (2008). Guava SSR Analysis: Diversity Assessment and Similarity to Accessions Associated with Reducing Citrus Greening in Vietnam. USDA-ARS.

Su, H. J., and Wu, R. Y. 1979. Preliminary study on the etiology of Wentan pomelo decline. *Proc. of the ROC-UIS Co-op. Sci. Sem. Mycoplasma Dis. Plants* (Nat. Sci. Council Symp. Ser. No.1): 45-57.

Su, H.-J. and R.-S Huang. 1990. The nature of likubin organism, life cycle, morphology and possible strains, pp. 106-110 *In* B. Aubert, S. Tontyaporn, and D. Buangsuwon [eds.], *Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region.* *Proc. Asia Pacific International Conference on Citriculture.* Chiang Mai, Thailand, 4-10 February 1990. UNDP-FAO, Rome.

- Su, H. J.** and T. H. Hung. 2001. Detection of greening fastidious bacteria (GFB) causing citrus greening by dot hybridization and polymerase chain reaction (PCR) with DNA probes and primer pairs FFTC/ASPAC, Taipei, Taiwan. 5 pp.
- Su, H. J.,** J. U. Cheon, and M. J. Tsai. 1986. Citrus greening (Likubin) and some viruses and their control trials. Pp. 143-147. *In* Plant Virus Diseases of Horticultural Crops in the Tropics and Subtropics. FFTC Book Series No. 33
- Subandiyah S.,** T. Iwanami, S. Tsuyumu, and H. Ieki. 2000. Comparison of 16S RNA and 16S/23S intergenic region sequences among citrus greening organisms in Asia. *Plant Dis.* 84:15–18
- Supriyanto A.,** and A. M. Whittle. 1991. Citrus rehabilitation in Indonesia. pp. 409-413 *In* R. H. Brlansky, R. F. Lee, and L. W. Timmer [eds.], Proc. 11th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Riverside, CA.
- Sutton, B. D.,** Duan, Y.-P., Halbert, S., Sun, X.-A., Schubert, T., and Dixon, W. 2005. Detection and identification of citrus huanglongbing (greening) in Florida, USA. Page 59 in: Proc. of the 2nd Intl. Citrus Canker and Huanglongbing Workshop, Orlando, FL.
- Tang Y.-Q.,** and B. Aubert. 1990. An illustrated guide to the identification of parasitic wasps associated with *Diaphorina citri* Kuwayama in the Asian-Pacific region. pp. 228-239 *In* B. Aubert, S. Tontyaporn, and D. Buangsuwon [eds.], Proc. 4th International Conference on Citrus Rehabilitation, Chiang Mai, Thailand, 4-10 February, 1990.
- Tang Y.-Q.,** and M.-X. Wu. 1991. Interspecific host discrimination between two primary parasites of Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Kuwayama). pp. 99-103 *In* Proc. 6th International Asia Pacific Workshop on Integrated Citrus Health Management, Kuala Lumpur, Malaysia, 24-30 June, 1991.
- Texeira, D.C.,** J. Ayres, E.W. Kitajima, L. Danet, S. Jagoueix-Eveillard, C. Saillard, and J.M. Bové. 2005. First report of a huanglongbing-like disease of citrus in Sao Paulo State, Brasil and association of a new Liberibacter species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. Sao Paulo, Brasil.
- Teixeira, D. C.,** Saillard, C., Jagoueix-Eveillard, S., Danet, J. L., Ayres, A. J., and Bové, J. M. 2005b. "*Candidatus Liberibacter americanus*" associated with citrus huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil. *Intl. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55:1857-1862.
- Teixeira, D. C.,** Danet, J. L., Eveillard, S., Martins, E. C., Jesus Junior, W. C., Yamamoto, P. T., Lopes, S. A., Bassanezi, R. B., Ayres, A. J., Saillard, C., and Bové, J. M. 2005. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the "*Candidatus*" Liberibacter species associated with the disease. *Mol. Cell. Probes* 19:173-179.

- Tian, Y., S. Ke, and C. Ke.** 1996. Polymerase chain reaction for detection and quantitation of *Liberobacter asiaticum*, the bacterium associated with huanglongbing (greening) of citrus in China, pp. 252-257 *In* J. V. da Graça, P. Moreno, and R. K. Yokomi [eds.], Proc. 13th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV). University of California, Riverside.
- Tirtawidjaja, S.** 1980. Citrus virus research in Indonesia. Pages 129-132 in: Proc. of the 5th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. W. C. Price, ed. Univ. Florida Press, Gainesville, FL.
- Tirtawidjaja S.** 1981. Insect, dodder and seed transmissions of citrus vein phloem degeneration (CVPD). Proc. International Soc. Citriculture. 1:469-471.
- Toorawa, P.** 1998. La maladie du huanglongbing (greening) des agrumes a l'île Maurice. Detection de "*Candidatus Liberobacter asiaticum*" et "*Candidatus Liberobacter africanum*" dans les agrumes et les insectes vecteurs. Doctoral Thesis, L'Université de Bordeaux.
- Tsai, J. H., Z. Y. Chen, C. Y. Chen, and K. X. Jin.** 1988. Mycoplasmas and fastidious vascular prokaryotes associated with tree diseases in China. pp 69-97. *In* C. Hiruki (ed.). Tree mycoplasmas and mycoplasma diseases. The University of Alberta Press.
- Tsai, J. H., and Y. H. Liu.** 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. J. Econ. Entomol. 93: 1721-1725.
- Tsai, J. H., J. J. Wang and Y. H. Liu.** 2002. Seasonal abundance of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. Florida Entomol. 87: 446-451.
- Tsai, . C.-H. and H.-J. Su.** (2006). First Report of the Causal Agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") Infecting Kumquat in Taiwan. APS Net. Plant Disease.
- Van den Berg, M. A., van Vuuren, S. P., and Deacon, V. E.** 1991-92. Studies on greening disease transmission by the citrus psylla, *Trioza erytreae* (Hemiptera: Triozidae). Israel J. Entomol. 25-26:51-56.
- Van der Merwe, A. J., and Andersen, F. G.** 1937. Chromium and manganese toxicity. Is it important in Transvaal citrus greening? Fmg. S. Afr. 12:439-440.
- van Vuuren, S. P.** 1993. Variable transmission of African greening to sweet orange, pp. 264-268 *In* P. Moreno, J. V. da Graça, and L. W. Timmer (eds.) Proc. 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV). University of California, Riverside.

- van Vuuren S. P.**, J. B. van der Vyver, M. Luttig, and J. V. da Graça. 2000. Low incidence of huanglongbing fruit symptoms in the presence of a population of citrus tristeza virus. pp. 373-377 In J. V. da Graça, R. F. Lee, and R. K. Yokomi [eds.], Proc. 14th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Riverside, CA.
- Villechanoux S.**, M. Garnier, J. Renaudin, and J. M. Bové. 1992. Detection of several strains of the bacterium-like organism of citrus greening disease by DNA probes. Curr. Microbiol. 24:89-95.
- Viraktamath C. A.**, and B. X. Bhumannavar. 2002. Biology, ecology and management of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Pest management in Horticultural Ecosystems. 7:1 27.
- Weinert, M. P.**, Jackson, S. C., Grimshaw, J. F., Bellis, G. A., Stephens, P. M., Gunua, T. G., Kame, M. F., and Davis, R. I. 2004. Detection of Huanglongbing (citrus greening disease) in Timor-Leste (East Timor) and in Papua New Guinea. Aust. Plant Pathol. 33:135-136.
- Wulff, N. A.**, Teixeira, D. C., Martins, E. C., Leite, A. P. R., Padiar, N. R. H., Mariano, A. G., Carmo, A. E., Abrahão, D. P., Sousa, M. C., Ayres, A. J., and Bové, J. M. 2006. Huanglongbing diagnosis. Page 17 in: Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, Ribeirão Preto, Brazil.
- Xu, C. F.**, Xia, Y. H., Li, K. B., and Ke, C. 1988. Further study of the transmission of citrus huanglongbing by a psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. Pages 243-248 in: Proc. of the 10th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. L. W. Timmer, S. M. Garnsey, and L. Navarro, eds. IOCV, Riverside, CA
- Yamamoto, P. T.**, Felipe, M. R., Garbim, L. F., Coelho, J. H. C., Ximenes, N. L., Martins, E. C., Leite, A. P. R., Sousa, M. C., Abrahão, D. P., and Braz, J. D. 2006. *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus*. Page 96 in: Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, Ribeirão Preto, Brazil.
- Zhang, W. C.** 1981. Development and outlook of citrus industry in China. Proc. of the Intl. Soc. Citricult. 2:987-990.
- Zhao, X.-Y.** 1981. Citrus yellow shoot (Huanglungbin) in China: A review. Proc. of the Intl. Soc. Citricult. 1:466-469.
- Zhao X.-Y.** 2006. Huanglongbing in China. Page 3 in: Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, Ribeirão Preto, Brazil.
- Zhou, L.J., Gabriel, D.W., Duan, Y.P., Halbert, S.E. and Dixon, W.N.** 2007. First Report of Dodder Transmission of Huanglongbing from Naturally Infected *Muralla paniculata* to Citrus. Plant Disease 91:277: published on-line as DOI: 10.1094/PDIS-91-2-0227B. Accepted for Publication 15 october 2006.

