

**Métodos de
detección de HLB
y de monitoreo y
control biológico
del vector
Diaphorina citri en
cultivos de cítricos
en el Tolima**



Métodos de detección de HLB y de monitoreo y control biológico del vector *Diaphorina citri* en cultivos de cítricos en el Tolima

Autores

Edgar Herney Varón Devia
Lumey Pérez Artilés
Juan Humberto Guarín
Eleonora Rodríguez Polanco
Ángela María Vargas Berdugo
Demian Takumasa Kondo Rodríguez
Claudia Milena Flórez Cárdenas
Edgar Mauricio Rico Sierra
Paula Andrea Bermeo Fúquene

Colaboradores

Yenifer Campos Patiño
Jhonny Guarnizo Guevara
Gentil García Prada
Humberto Alarcón Ávila
Jorge Enrique Forero Navarro

**RESULTADO
PROYECTO:**



Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, AGROSAVIA, Centro de Investigación Nataima, Km 9 vía Espinal, Chicorral, Tolima, Colombia

Asociación de Productores de Limón del Valle del Magdalena, YUMA, Local 1 Mz 5 CS 16 Et. 3. Villa Café, Código Postal: 730005, Ibagué, Tolima, Colombia

Universidad del Tolima, Barrio Santa Helena, calle 42 1-02, Ibagué, Tolima, Colombia

Gobernación del Tolima, Carrera 3A entre calles 10A y 11 Ibagué, Tolima, Colombia

Esta obra fue financiada por la Gobernación del Tolima y la Universidad del Tolima mediante recursos del SGR derivados del convenio número 045-2019 ("Validación de tecnologías para el monitoreo y manejo del patosistema *Diaphorina citri* – *Candidatus Liberibacter Asiaticus* (HLB), en conglomerados de cítricos del centro y norte del departamento del Tolima"), enmarcado en el convenio marco 2011-2017 "Desarrollo de ventajas competitivas mediante actividades I+D+I en ocho cadenas del sector agropecuario en el departamento del Tolima".

Autores

Edgar Herney Varón Devia
Lumey Pérez Artilles
Juan Humberto Guarín
Eleonora Rodríguez Polanco
Ángela María Vargas Berdugo
Demian Takumasa Kondo Rodríguez
Claudia Milena Flórez Cárdenas
Edgar Mauricio Rico Sierra
Paula Andrea Bermeo Fúquene

Colaboradores

Yenifer Campos Patiño
Jhonny Guarnizo Guevara
Gentil García Prada
Humberto Alarcón Ávila
Jorge Enrique Forero Navarro

Editor

Edgar Herney Varón Devia

AGROSAVIA

Jorge Mario Díaz Luengas
Director ejecutivo
Lorenzo Peláez Suárez
Director C.I. Nataima
Ariel Hurtado Rodríguez
Director administrativo y financiero
Sandra Tatiana Rivero Espitia
Directora de Planeación y Cooperación Institucional
Yecenia Zambrano Urrego
Líder de Seguimiento y Evaluación C.I. Nataima

Asociación de Productores de Limón del Valle del Magdalena

Juan Guillermo Cano Sanz
Presidente
Anyela Andrea Peña Navas
Gerente

Gobernación del Tolima

Ricardo Orozco Valero
Gobernador
Beatriz Valencia Gómez
Secretaría de Desarrollo Agropecuario y Producción Alimentaria del Tolima
Juan Pablo García Poveda
Secretario de Planeación y TIC
Simón Harrison Bustos Torres
Juan Manuel Rojas Rojas
Supervisores del convenio

Universidad del Tolima

Omar A. Mejía Patiño
Rector
Jonh Jairo Méndez Arteaga
Director Oficina de Investigaciones
Angélica Piedad Sandoval Aldana, I.Q. Ph.D.
Coordinadora general del proyecto marco
Profesora asistente Facultad de Ingeniería Agronómica

Primera edición: 600 ejemplares, Bogotá, Colombia, julio de 2020
ISBN: 978-958-740-356-5

Coordinación editorial

Astrid Verónica Bermúdez Díaz

Corrección de estilo

Alejandro Ladino

Diseño y diagramación

Juanita Giraldo Polanco

Impresión

DGP Editores

Citación sugerida: Varón Devia, E.H. (2020). **Métodos de detección de HLB y de monitoreo y control biológico del vector *Diaphorina citri* en cultivos de cítricos en el Tolima.** Agrosavia, YUMA.

Cláusula de responsabilidad

AGROSAVIA y YUMA no son responsables de las opiniones e información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando en este último supuesto que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación; igualmente, declaran que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente frente a cualquier reclamo o demanda

Métodos de detección de HLB y de monitoreo y control biológico del vector *Diaphorina citri* en cultivos de cítricos en el Tolima / Edgar Herney Varón Devia [y otros ocho] -- Mosquera, (Colombia) : AGROSAVIA, 2020.

104 páginas (Colección Transformación del Agro) Incluye referencias bibliográficas, tablas, fotos ISBN obra impresa: 978-958-740-356-5

1. *Diaphorina citri* 2. Enemigos naturales 3. Enfermedades de las plantas 4. Síntomas 5. Producción vegetal 6. Protección de las plantas 7. Tolima (Colombia).

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura Agrovoc

Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

por parte de terceros relativa a los derechos de autor u otros derechos que se hubieran vulnerado como resultado de su contribución.

Línea de atención al

cliente: 018000121515
atencionalcliente@agrosavia.co
www.agrosavia.co/

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Gobernación del Tolima y la Universidad del Tolima mediante recursos del SGR derivados del convenio número 045-2019 ("Validación de tecnologías para el monitoreo y manejo del patosistema *Diaphorina citri* – *Candidatus Liberibacter Asiaticus* (HLB), en conglomerados de cítricos del centro y norte del departamento del Tolima"), enmarcado en el convenio marco 2011-2017 "Desarrollo de ventajas competitivas mediante actividades I+D+I en ocho cadenas del sector agropecuario en el departamento del Tolima"

Esta obra no habría sido posible sin el valioso apoyo de los productores de las asociaciones YUMA, Asobarroso, Afrugto y Asotomin, así como a todas aquellas personas que de manera directa o indirecta hayan aportado al proyecto y a su ejecución.

Licencia creative commons



Texto explicativo:

Atribución – No comercial – Compartir igual: Esta licencia permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de tu obra de modo no comercial, siempre y cuando te den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

Tabla de contenido

Prólogo	5
Introducción	7
Generalidades	11
Capítulo 1.	
Características biológicas y ecológicas de <i>Diaphorina citri</i>	17
Biología y ecología	18
Ciclo de vida de <i>Diaphorina citri</i>	18
Enemigos naturales	23
Manejo integrado	28
Capítulo 2.	
Técnicas de muestreo de <i>Diaphorina citri</i>	31
Recomendaciones	39
Capítulo 3.	
Dispositivos para incremento in-situ de <i>Tamarixia radiata</i>	43
Introducción	44
Construcción de dispositivos para incremento <i>in-situ</i> de <i>Tamarixia radiata</i>	46
Elaboración del dispositivo	47
Estimación de costos	57

Capítulo 4.

Guía de campo para el reconocimiento de síntomas de HLB y herramientas para su prediagnóstico	61
Introducción	62
Importancia	63
¿Qué causa la enfermedad?	64
¿Dónde se ubica la bacteria en la planta?	65
¿Cuáles son los síntomas de la enfermedad?	65
Síntomas en el árbol	66
Evolución de síntomas y daños en árboles afectados	67
Síntomas en las hojas	68
Síntomas en fruto	72
Síntomas similares a HLB producidos por deficiencias nutricionales	73
Efecto del HLB en el contenido nutrimental de hojas y empleo de la reacción yodo almidón para su prediagnóstico	80
Uso del kit de yodo como prediagnóstico de HLB	81
Estrategias para el control del HLB	86
Referencias	87
Autores	100

Prólogo

Investigación, creatividad y acción para la productividad y la competitividad del departamento del Tolima

Las políticas públicas que prevalecen en el tiempo deben ser la razón de los gobiernos. La construcción institucional y social deben ser orientadas a potenciar las enormes ventajas del departamento para volverlas competitivas. La Gobernación del Tolima ha realizado una gran apuesta sobre ocho cadenas productivas, las cuales son presentadas en esta serie de documentos que, sin duda, representan un gran salto en materia de productividad y competitividad en el mercado nacional e internacional.

Este hecho, junto con el ambicioso plan del gobierno “El Tolima nos une”, de construir el Centro de Investigación Tecnológica, quedaremos a la vanguardia en el país y seremos el departamento con mayores apuestas en CTel (Ciencia, Tecnología e Innovación), lo que permitirá mejorar la competitividad y la calidad de vida de los ciudadanos.

En este documento encontraremos el esfuerzo económico y de recurso humano que ha realizado la Gobernación del Tolima con sus grandes aliados, la academia, los productores y muchos otros actores que han dado lo mejor de sí en este gran proceso de construcción social, creativa y armónica para la competitividad.

José Ricardo Orozco Valero

Gobernador del departamento del Tolima

Introducción

Es importante señalar la relevancia de la integración activa del Gobierno Departamental del Tolima, la Universidad del Tolima, los citricultores y AGROSAVIA, en relación con la investigación y los criterios de competitividad, sostenibilidad y equidad para el desarrollo de ofertas tecnológicas que permitan a los productores solucionar los problemas que aquejan la producción de cítricos, los cuales, en la mayoría de los casos, ponen en riesgo la estabilidad social y económica de los sectores de importancia regional.

En este sentido, es fundamental resaltar el despliegue y el apoyo económico del Sistema General de Regalías (SGR), el cual destina las regalías generadas por la explotación de los recursos naturales no renovables (RNNR) al financiamiento de proyectos para el desarrollo social, económico y ambiental de las regiones; al ahorro para el pasivo pensional; a inversiones físicas en educación, ciencia, tecnología e innovación, y a la generación de ahorro público, entre otros, con el fin de aumentar la competitividad de la economía, mejorar las condiciones sociales de la población y atender los problemas relevantes en los territorios del sector productivo.

Esta estrategia de política de Estado permitió a los investigadores de AGROSAVIA prestar atención a la demanda presentada por el sector cítrico del departamento del Tolima, en torno al problema sanitario del Huanglongbing (HLB), principalmente por los grandes daños ocasionados en las plantaciones

y por las altas pérdidas económicas que este ocasiona. Ante esta situación, AGROSAVIA formuló una propuesta para atender dicha demanda, a partir de la convocatoria realizada por la Gobernación y la Universidad del Tolima, y considerando que fuera viable en el tiempo y financiable como parte del proyecto denominado “Ocho cadenas”.

Un componente fundamental sin el cual no se hubieran podido presentar los resultados generados radicó, principalmente, en las alianzas estratégicas institucionales entre la Gobernación del Tolima, la Universidad del Tolima, AGROSAVIA y el gremio citricultor, a partir de las cuales se integraron fortalezas científicas, tecnológicas y económicas, así como el conocimiento que los productores han desarrollado a través del tiempo para la protección de los cultivos del departamento y el manejo integrado de plagas (MIP) con énfasis en control biológico y el manejo adecuado de cercos vivos.

Este documento constituye, sin duda alguna, una importante fuente de consulta, de gran utilidad para todas las instituciones y citricultores. A partir de su lectura se pueden conocer los diferentes logros alcanzados en cuanto al diagnóstico y las medidas de control requeridas para contrarrestar los efectos de una posible infección de nuestros cítricos por causa del HLB.

Lorenzo Peláez Suarez



Generalidades

Edgar Herney Varón Devia

En Colombia, en el año 2019, fue registrada una producción de cítricos de 1 257 474 t, con un área cosechada de 84 147 ha, de las cuales 5 643 ha fueron cosechadas en el departamento del Tolima (6,7%). El rendimiento promedio de este cultivo fue para ese año de 15,20 ton/ha y generó una ocupación de 499 570 empleos, entre directos e indirectos (Minagricultura, 2019). Sin embargo, este rendimiento ha venido disminuyendo desde 18,33 ton/ha, en el 2007, hasta 15,95 ton/ha, en el año 2018 (Agronet, 2019), en parte, a causa de problemas fitosanitarios que afectan los cultivos (León & Kondo, 2017).

Los cítricos, por su carácter perenne, así como por estar establecidos en condiciones tropicales, presentan un amplio número de problemas fitosanitarios, entre los cuales se pueden mencionar las malezas, las plagas fitófagas (León & Kondo, 2017) y enfermedades (Barrientos, 2012; ICA, 2012) en la fase de vivero, establecimiento y producción de los cultivos.

El Huanglongbing (HLB), o enverdecimiento de los cítricos, es una enfermedad proveniente de Asia (Gottwald et al., 2007) que pone en riesgo la citricultura colombiana. Fue detectada desde el 2015 en el país, en el insecto vector *Diaphorina citri*, y en la actualidad está presente en ocho departamentos (Guajira, Atlántico, Cesar, Sucre, Bolívar, Magdalena, Norte de Santander y Córdoba) (ICA, 2019a). Para su control es de vital importancia el manejo integrado de plagas (MIP) con énfasis en control biológico, así como el manejo adecuado de cercos vivos (Pérez-Artiles et al., 2018).

En el Nuevo Mundo, esta enfermedad la causan las bacterias *Candidatus Liberibacter asiaticus* y *Candidatus Liberibacter americanus*, las cuales provocan el debilitamiento de las raíces (Albrigo & Stover, 2015), la malformación de los frutos (Da Graca & Korsten, 2004) y, principalmente, la acumulación excesiva de almidón, lo que ocasiona el bloqueo del floema y, como consecuencia, la muerte regresiva de las plantas (Lafleche & Bové, 1970).

Los resultados de las investigaciones realizadas por Belasque et al. (2010) plantean que, en plantaciones adultas de cítricos sin medidas de control apropiadas, el HLB puede generar inviabilidad económica de los huertos aproximadamente diez años después de la detección inicial de las primeras plantas infectadas. En Yucatán, México, en huertos de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka), con presencia de *Ca. L. asiaticus*, se observó una reducción del 17,31 % en peso y del 18,62 % en el volumen de jugo de los frutos colectados en árboles con HLB, en comparación con frutos de árboles sanos, lo que implicó una pérdida en producción de 2,4 ton/ha (Flores-Sánchez et al., 2015).

El psílido asiático de los cítricos (PAC), *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), es el principal vector de las bacterias *Ca. L. asiaticus* y *Ca. L. americanus*, patógenos asociados a los síntomas de HLB (Mead & Fasulo s. f.). Este insecto, además de transmitir estos patógenos, causa daño directo como resultado de su alimentación, durante la cual se remueven grandes cantidades de azúcares, lo que ocasiona un encrespamiento de las hojas y la formación de fumagina (*Capnodium citri* Berk. & Desm.). En caso de alta infestación del insecto, este puede causar la muerte o caída de las yemas terminales (Tsai et al., 2002).

En Colombia, *D. citri* fue registrada por primera vez en el 2007, y desde entonces se ha registrado en 26 departamentos del país: Antioquia, Arauca, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Caldas, Caquetá, Casanare, Cauca, Cesar, Córdoba, Cundinamarca, Huila, Guajira, Magdalena, Meta, Nariño, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, San Andrés, Santander, Sucre, Tolima, Valle del Cauca y Vichada (Ebratt-Ravelo et al., 2011a y 2011b; ICA, 2010; King, 2012; Kondo & Simbaqueba-Cortes, 2014; Kondo et al., 2012).

King (2012) informó sobre la presencia de *D. citri* en el departamento de Tolima, Colombia, en plantas de lima acida Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka), mandarina arrayana y oneco (*Citrus reticulata* Blanco), naranja valencia (*Citrus*

sinensis (L.) Osbeck), limón volcameriano (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq.), mirto (*Murraya paniculata* (L.) Jack) y swinglea (*Swinglea glutinosa* (blanco) Merr.).

Por su parte, la enfermedad HLB fue registrada en Colombia en el insecto *Diaphorina citri*, en noviembre del año 2015; en árboles de traspatio de limón (*Citrus aurantifolia*) en la Guajira, en el año 2016, y ya en noviembre de 2019 estaba presente en 40 municipios y ocho (8) departamentos (Guajira, Magdalena, Atlántico, Bolívar, Córdoba, Sucre, Norte de Santander y Cesar) (ICA, 2019a).

Los síntomas de la enfermedad son un amarillamiento sectorial de la copa del árbol; las hojas pueden presentar moteado clorótico o zonas con un color verde claro y asimétrico; las venas se ven prominentes y corchosas, y los frutos presentan manchas con bordes difusos e inversión de color, son pequeños y asimétricos, y su jugo es amargo y carece de valor comercial (Hernández, 2013).

Capoor et al. (1974) reportaron un alto porcentaje de transmisión de la enfermedad por injertos de tejido. Encontraron que las ninfas de cuarto y quinto estadio y los adultos de *D. citri* pueden transmitir la enfermedad. Estudios más recientes indican que las ninfas de tercer estadio también pueden contener la bacteria (Hung et al., 2004). Para adquirir la bacteria, *D. citri* requiere de un corto tiempo de alimentación (15 a 30 minutos) en una planta enferma, y luego de un periodo de incubación de alrededor de 21 días puede transmitir el agente patógeno adquirido. Los psílidos adultos que emergen de ninfas infectadas no necesitan alimentarse de plantas enfermas para convertirse en vectores, puesto que la bacteria fue adquirida en el estado ninfal. La adquisición de la bacteria causante del HLB alcanza un 100 % cuando un individuo de *D. citri* portador se alimenta de una planta por una hora o más. El patógeno se multiplica en el cuerpo del insecto, pero este lo transmite vía transovárica en un muy bajo porcentaje (2-6%) (Pelz-Stelinski et al., 2010). Esto quiere decir que las ninfas que recién emergen de huevos de una hembra infectada

no nacen en su gran mayoría con la bacteria y para convertirse en vectores de la enfermedad deben adquirir el patógeno.

El complejo HLB-*D. citri* es un problema fitosanitario que demanda un gran esfuerzo institucional y científico para la protección de la citricultura colombiana. Por ello, AGROSAVIA, en alianza con otras instituciones y el sector privado, está generando el conocimiento necesario para hacerle frente a este gran reto.



Capítulo 1.

Características biológicas y ecológicas de *Diaphorina citri*

Edgar Herney Varón Devia

Juan Humberto Guarín

Takumasa Kondo

Lumey Pérez Artilles

Claudia Flórez

Biología y ecología

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), es considerado como una de las principales plagas de los cítricos y se hospeda en unos veinticinco géneros de la familia Rutaceae (Halbert & Manjunath, 2004). Este insecto causa un daño directo a las plantas de cítricos al alimentarse: un encrespamiento de las hojas y una excreción de azúcares que favorece la formación de fumagina (por ejemplo, *Capnodium citri* Berk & Desm.). En altas poblaciones, este insecto puede causar la muerte de yemas apicales (Tsai et al., 2002).

Su principal importancia radica en ser el vector de la enfermedad Huanglongbing (HLB), también conocida comúnmente como dragón amarillo de los cítricos, enverdecimiento de los cítricos y *greening*, asociada a las bacterias *Candidatus Liberibacter asiaticus* y *Ca. L. americanus*, y que produce efectos catastróficos en las plantaciones de cítricos (Grafton-Cardwell et al., 2013). Esta enfermedad causa la obstrucción del floema por acumulación de calosa y almidón, por lo que disminuye su rendimiento y puede conducir a la muerte regresiva de los árboles (Lafleche & Bové, 1970).

Esta bacteria, además, afecta a otras especies de la familia Rutaceae como el mirto (*Murraya paniculata*). Los síntomas se manifiestan luego de un período de latencia de 6 a 12 meses, o más. La transmisión de la enfermedad se presenta por la reproducción de plantas, plántulas y yemas enfermas; además, por insectos vectores (*D. citri* y *Trioza erytrae*) que se alimentan de la savia de las plantas enfermas y luego vuelan a plantas sanas, contagiándolas (INTA EEA Concordia, 2019).

Ciclo de vida de *Diaphorina citri*

Su ciclo de vida puede estar influenciado, fundamentalmente, por la temperatura y el hospedero. En condiciones de temperatura controlada (27 ± 1 °C), el ciclo

de vida de este insecto varía de 14,90 días en naranja Valencia hasta 16,76 días en naranja Hamlin (Pérez-Artiles et al., 2017). García et al. (2016) reportaron que el tiempo transcurrido desde el huevo hasta el adulto es de alrededor de 15 días en *Murraya paniculata*. El insecto pasa por los estados de huevo, ninfa (I a V) y adulto (García et al., 2016).

Las características de estos estados, de acuerdo con García et al. (2016), son las siguientes:

Huevo: La hembra coloca los huevos en brotes tiernos, con un tamaño regular de 0,5 a 1,0 cm. Los huevos tienen una forma ovoide y un color amarillo recién puestos. Se tornan anaranjados con dos puntos rojos cuando van a eclosionar. Pueden medir 0,31 mm de largo X 0,18 mm de ancho. La incubación de los huevos tiene una duración de 2 a 5 días (figura 1).



Figura 1. Huevo recién puesto de *Diaphorina citri* en brote.

Foto: Edgar Varón.

Ninfa I instar: No tiene esbozos alares, con antenas de color similar al resto del cuerpo. Su cuerpo es de color amarillo-anaranjado con ojos rojos. Pueden medir 0,31 mm de largo x 0,18 mm de ancho. Son móviles y secretan cera blanca ondulada. Pueden durar de 1 a 6 días (figura 2).



Figura 2. | Ninfa I instar de *Diaphorina citri*.

Foto: Edgar Varón.

Ninfa II instar: Tiene esbozos alares y antenas blancas con la punta negra. Su color es amarillo-naranja. Son móviles y tienen ojos rojos. Pueden medir 0,50 mm de largo X 0,30 mm de ancho. Secretan cera. Pueden durar de 1 a 2 días (figura 3).



Figura 3. | Ninfa II instar de *Diaphorina citri*.

Foto: Claudia Flórez.

Ninfa III instar: Los esbozos alares se desarrollan un poco más. Las antenas presentan la punta negra y los ojos son rojos. Secretan cera menos abundante y en forma esférica. Pueden medir 1,00 mm de longitud X 0,75 mm de ancho. Pueden durar de 2 a 3 días (figura 4).



Figura 4. | Ninfa III instar de *Diaphorina citri*.

Foto: Edgar Varón.

Ninfa IV instar: Los esbozos alares son más desarrollados. Las antenas son en su mitad negras en la punta. Son muy móviles y tienen ojos rojos. Pueden medir 1,52 mm de largo X 1,13 mm de ancho. Su duración puede ser de 3 a 4 días (figura 5).



Figura 5. | Ninfa IV instar.

Foto: Claudia Flórez.

Ninfa V instar: Tiene esbozos alares muy desarrollados. Sus antenas son negras y tiene ojos rojos. El abdomen puede ser verde-azul. Puede medir 1,66 mm de largo X 1,12 mm de ancho. Su duración puede ser de 1 a 2 días (figura 6).



Figura 6. | Ninfa V instar.

Foto: Claudia Flórez.

Adulto: Cuando están posados forman un ángulo de 45° respecto a la superficie de contacto. Las alas son moteadas de color castaño. Las antenas son pequeñas y tienen la punta de color negro. Los adultos pueden medir 2,30 mm de largo X 0,65 mm de ancho. Su longevidad puede ser mayor a 76 días (figura 7).



Figura 7. | Adulto de *Diaphorina citri*. Nótese la típica postura del insecto con una inclinación de 45° sobre la hoja en que se alimenta.

Foto: Claudia Flórez.

Diaphorina citri es una especie que puede tener varias generaciones en un año (polivoltina), por lo que en los brotes se pueden encontrar todos los estados (huevos, ninfas y adultos). Pueden llegar a tener potencialmente 16 generaciones por año. Las temperaturas óptimas de desarrollo están en el rango entre 25 °C-28 °C. Las poblaciones están correlacionadas con la temperatura, precipitación pluviométrica y la presencia de brotes. Los adultos no pueden realizar vuelos largos y dependen del viento para dispersarse (INTA EEA, 2019).

Entre los factores que regulan las poblaciones de *D. citri* está la presencia de enemigos naturales como depredadores, parasitoides y hongos entomopatógenos. La acción de los enemigos naturales es importante en lugares donde otro tipo de controles como el químico es de difícil implementación, tales como plantaciones abandonadas o arboles de cítricos de traspatio (INTA EEA, 2019).

Enemigos naturales

Dentro de los enemigos naturales de *D. citri* se destacan los parasitoides, depredadores y los entomopatógenos.

Depredadores: Son organismos que atacan, matan y consumen varios o muchos individuos durante su vida (Flint et al., 1998). Dentro del grupo de los depredadores, los coccinélidos se han estudiado ampliamente y en algunos casos han sido reportados como reguladores importantes de *D. citri* (Kondo et al., 2015; Michaud, 2001, 2002, 2004; Qureshi & Stansly, 2009).

A nivel mundial el número de enemigos naturales artrópodos de *D. citri* puede estar por el orden de los 95, distribuidos en 9 órdenes y 23 familias. En el caso de Colombia, se han encontrado especies de enemigos naturales en seis familias y cinco órdenes alimentándose de *D. citri*. Nueve coccinélidos: *Azya orbígera*, *Cheilomenes sexmaculata*, *Chilocorus* cf. *cacti*, *Curinus colombianus*, *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyridis*, *Hippodamia convergens*,

Olla v-nigrum, *Scymnus rubicundus* (Coleoptera: Coccinellidae); dos especies de sírfidos *Allograpta* aff. *hians* y *Leucopodella* sp. (Diptera: Syrphidae); la chinche asesina: *Zelus* cf. *nugax* (Hemiptera: Reduviidae); la avispa *Polybia* sp. (Himenoptera: Vespidae); el parasitoide *Tamarixia radiata*: (Hymenoptera: Eulophidae) y dos especies de crisopas: *Ceraeochrysa* sp. y *Ceraeochrysa* cf. *claveri* (Neuroptera: Chrysopidae) (Kondo et al, 2015).

Dentro de los muestreos que se llevaron a cabo en fincas del centro y del norte del Tolima se encontraron una serie de potenciales depredadores de *D. citri*, los cuales pueden ejercer un control relativo de las poblaciones de *D. citri* (Figuras 8-16).

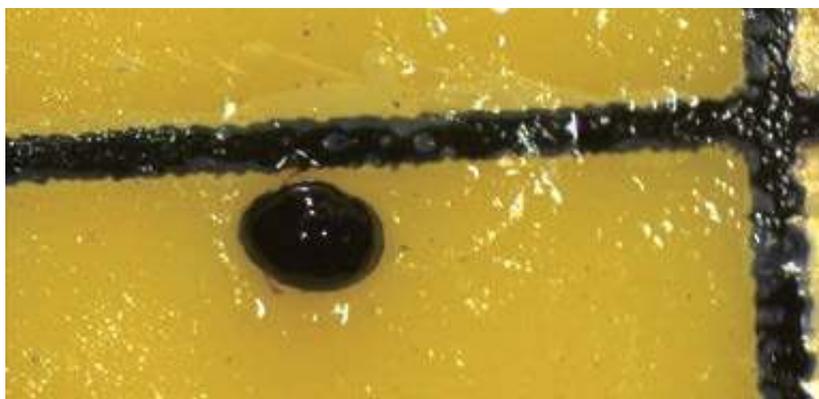


Figura 8. | Coccinélido atrapado en trampa cromática.

Foto: Claudia Flórez.



Figura 9. | Coccinélido atrapado en trampa cromática.

Foto: Claudia Flórez.



Figura 10. | Larva de una especie de crisópido.

Foto: Edgar Varón.



Figura 11. | Arañas.

Fotos: Edgar Varón.



Figura 12. | Mosca patona
(*Diptera: Dolichopodidae*).

Foto: Edgar Varón.



Figura 13. | Mosca de la familia *Tachinidae* (Diptera) atrapada en trampa cromática.

Foto: Claudia Flórez.



Figura 14. | Coccinélido *Cheilomenes sexmaculata* atrapado en trampa cromática.

Foto: Claudia Flórez.



Figura 15. | Coccinélido *Cycloneda sanguinea* atrapado en trampa cromática.

Foto: Claudia Flórez.



Figura 16. | Mosca de la familia *Asilidae* atrapada en trampa cromática.

Foto: Claudia Flórez.

Hongos entomopatógenos: Son organismos compuestos por filamentos denominados hifas y se reproducen mediante esporas. Solo los hongos y algunos nemátodos pueden penetrar la cutícula o piel de los insectos. Por lo tanto, los hongos, específicos a su respectivo insecto, son capaces de afectar áfidos, escamas, saltahojas, salivazos y otros hemípteros que viven expuestos, mientras se alimentan como chupadores de la savia de las plantas mediante un pico o estilete (Hanson & Hilje, 1993).

Parasitoides: Los adultos de los parasitoides son de vida libre y se alimentan del néctar de las flores, por lo que la larva es la que mata al hospedero. La hembra del parasitoide deposita uno o varios huevos. Al eclosionar el huevo, la larva parece un gusano pequeño y se alimenta de la hemolinfa (sangre del insecto) produciendo su muerte (Hanson & Hilje, 1993).

Tamarixia radiata: El parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) fue reportado en Colombia en el 2007 (Ebratt et al., 2011a). En algunos países donde ha sido introducido para el control de *D. citri* ha dado buen resultado, aunque en otros no, posiblemente por la ocurrencia de parasitoides secundarios o debido al uso de insecticidas para control de otras plagas de los cítricos (Ebratt et al., 2011b). En sentido estricto, *T. radiata* es un ectoparasitoide de *D. citri*, pues el huevo es colocado en el exterior, de manera que debe ingresar para parasitar. Ya en el interior del cuerpo de la ninfa (estados III-V), continúa su desarrollo larval hasta empupar y estar lista para emerger como adulto, lo que se puede confirmar removiendo cuidadosamente la “momia” de *D. citri* para dejar expuesta la pupa negra (melanizada) del parasitoide, o, si ya ha emergido, se visualiza una perforación circular en la región dorsal del tórax (Guarín-Molina & Ospina-Parra, 2020, En edición).

Manejo integrado

Un programa eficaz de manejo integrado de la enfermedad HLB es muy importante. En países con presencia de *D. citri* y HLB, este programa contempla la erradicación de plantas infectadas, el empleo de material de siembra certificado (libre de *D. citri* y del patógeno) y el manejo del insecto, con un control químico y biológico (Ebratt et al., 2011a).



Capítulo 2.

Técnicas de muestreo de *Diaphorina citri*

Edgar Herney Varón Devia

Lumey Pérez-Artiles

Claudia Flórez

El monitoreo de insectos plaga es importante porque permite la detección temprana del insecto y permite tomar medidas tempranas de control. En el caso de *Diaphorina citri*, permite detectar su presencia, la de poblaciones infectivas, obtener información sobre dinámica poblacional y detectar brotes de *D. citri* en huertos comerciales (Korytkowski, s.f.).

El monitoreo de insectos plaga debe balancear la facilidad de implementación, el costo y la precisión al describir las fluctuaciones reales de las poblaciones (Binns & Nyrop, 1992). Varios métodos de muestreo han sido propuestos y evaluados para monitorear las densidades de *D. citri* (Tsai & Liu, 2000; Hall & Albrigo, 2007; Qureshi & Stansly, 2007, Sétamou et al., 2008; Thomas, 2012).

Jameo: Para ejecutar este método de muestreo se usa una jama (red entomológica) de aproximadamente 35 cm de diámetro y un mango extensible desde 70 cm a 130 cm. En cada árbol seleccionado se determinan tres sitios (ramas), y en cada uno de ellos se hace oscilar la jama de izquierda a derecha tres veces (tres pases dobles de jama), de tal manera que, como en cada rama se hacen tres pases dobles y son tres ramas, resultarían 9 pases dobles de jama, a 180 grados, por árbol (figuras 17 y 18).



Figura 17. | Jama de muestreo.

Foto: Jorge Enrique Forero.



Figura 18. | Jameo en arbusto de cítrico.
Foto: Edgar Varón.

Una vez colectados los insectos en la jama, el contenido se puede verter en un recipiente plano que tenga una profundidad de unos 10 cm, con el fin de observar la cantidad de adultos de *D. citri* que se atraparón. De igual modo, si el monitor tiene amplia experiencia, puede contar directamente en la parte del fondo de la jama la cantidad de adultos del insecto que atrapó (figura 19).



Figura 19. | Revisión de individuos colectados con jama.
Foto: Edgar Varón.

Golpeteo: El muestreo por golpeteo de ramas consiste en golpear una rama seleccionada al azar tres veces con un tubo de PVC (40 cm x 1" de diámetro) o, en su defecto, sacudir la rama sobre una bandeja honda (32 cm x 32 cm x 8 cm de profundo) de aluminio colocada horizontalmente debajo de la rama. Los adultos de *D. citri* se cuentan sobre la bandeja una vez se ha golpeado o sacudido la rama (figuras 20 y 21).



Figura 20. | Muestreo por golpeteo en rama con tubo PVC.
Foto: Edgar Varón.



Figura 21. | Muestreo por golpeteo manual en rama en forma manual.
Foto: Jorge Enrique Forero.

Visual: Se lleva a cabo a través de la observación de brotes con auxilio de una lupa de aumento mínimo de 10x. Esta técnica permite visualizar estados inmaduros del insecto como ninfas y huevos (figura 22).



Figura 22. | Muestreo visual con lupa.

Foto: Humberto Alarcón.

Tablero cromático: Los tableros cromáticos son láminas plásticas de color amarillo que en una o ambas caras tienen adhesivo. Se utilizan tableros acrílicos amarillos de 24 cm x 18 cm aproximadamente, los cuales se forran en plástico vinipel por la cara cuadrículada y se impregnan con el producto Safertac® como adhesivo. Se ubican dos trampas por árbol previamente seleccionado y se ubican aproximadamente a 1,5 m del suelo, cerca al dosel exterior de las ramas visibles en puntos de acceso fácil para la recolección y/o reposición. Los tableros son evaluados semanalmente y cambiados cada 15 días.

Los insectos adultos son atraídos por el color amarillo y quedan atrapados en la sección pegajosa (figura 23). Si el lote es menor de 4 hectáreas, se pueden colocar un mínimo de 5 trampas por lote, con una disposición de un tablero por cada punto cardinal y una en el centro de este (INTA EEA Concordia, 2019) (figura 24).

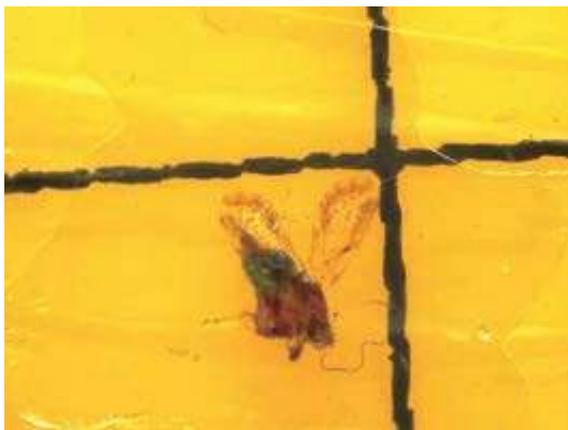


Figura 23. | Adulto de *Diaphorina citri* capturado en tablero cromático.

Foto: Edgar Varón.



Figura 24. | Tablero cromático colocado en árbol.

Foto: Edgar Varón.

Cada una de las técnicas de muestreo utilizadas para *D. citri* tienen ventajas y desventajas en su utilización. A continuación, se presenta una relación de ellas para cada técnica (tabla 1).

Tabla 1. | Ventajas y desventajas de técnicas de muestreo de *D. citri* en cítricos

Técnicas	Ventaja	Desventaja
Jameo	Poco equipamiento necesario.	Da información únicamente sobre insectos adultos solamente.
	Menor labor y tiempo necesarios.	Mayor posibilidad de escape de individuos.
		Se debe llevar a cabo en árboles bien desarrollados. Dificultad de conteo de los individuos.
Visual	Da información sobre adultos y especialmente de inmaduros.	Mayor labor y tiempo necesarios.
	Menor posibilidad de escape de individuos.	Conocimiento del insecto en diferentes fases de desarrollo.
	Se puede llevar a cabo en todo tipo de árboles.	Es posible llevarla a cabo solo en brotes iniciales.
	Poco equipamiento necesario.	Depende mucho de la experticia del observador.
	Bajo costo.	Se debe llevar a cabo cuando haya brotes.
Golpeteo	Poco equipamiento necesario.	Da información sobre adultos solamente.
	Menor labor y tiempo necesarios.	Mayor posibilidad de escape de individuos.
	Bajo costo.	Se debe llevar a cabo en árboles bien desarrollados. Se requiere mayor experticia en el monitoreo.

Continuación Tabla 1

Técnicas	Ventaja	Desventaja
Tablero cromático	Menor posibilidad de escape de individuos.	Mayor preparación para el muestreo.
	Menor labor y tiempo durante el muestreo.	Da información sobre adultos solamente.
	Permite monitorear áreas grandes.	Mayor equipamiento necesario.
	Permite la detección temprana del vector.	Se debe llevar a cabo en árboles bien desarrollados.
	Ofrece información acumulada del periodo que está en campo.	No son específicas para <i>Diaphorina citri</i> .
		Alto costo.
	Depende de la orientación de la superficie adhesiva para incrementar probabilidad de captura.	
	Su eficiencia está asociada a la ruta de desplazamiento de los adultos.	

Fuente: Elaboración propia con base en INTA EEA (2019) y resultados del proyecto: “Validación de tecnologías para el monitoreo y manejo del patosistema *Diaphorina citri* – *Candidatus Liberibacter asiaticus* (HLB) en conglomerados de cítricos del centro y norte del departamento del Tolima”.

Cada una de las técnicas de muestreo implican una serie de costos y tiempos para ser llevadas a cabo. De acuerdo con la experiencia obtenida en el proyecto desarrollado en el departamento del Tolima, se presentan los datos aproximados obtenidos para cada una de ellas (tabla 2).

Tabla 2. | Costos (\$ 2020) y tiempos* aproximados de muestreo para cuatro técnicas de muestreo de *D. citri*

Técnica	Materiales	Costo (\$)	Costo total (\$)	Esfuerzo de muestreo tiempo/ árbol en segundos
Jameo	Red entomológica telescópica	61 868	65 136	55
	Planillero plástico	3268		
Golpeteo en rama	Caja metálica	8000	18 718	34
	Tubo PVC	7450		
	Planillero plástico	3268		
Visual	Lupa 10x cuerpo metálico	32 130	35 398	40
	Planillero plástico	3268		
Tablero cromático	Tablero cromático amarillo 23 cm x 30 cm	11 300	71 468	204**
	Pegante 1 litro	51 900 (para 100 tableros)		
	Vinipel (1 rollo 10 metros)	5000 (para 30 trampas)		
	Planillero plástico	3268		

*Los tiempos determinados corresponden a muestreos en bajas poblaciones de *Diaphorina citri*, como es el caso que se presenta en la mayoría de los cultivos de cítricos en el Tolima.

** Incluye el cambio de tablero.

Fuente: Elaboración propia con base en resultados de proyecto “Validación de tecnologías para el monitoreo y manejo del patosistema *Diaphorina citri* – *Candidatus Liberibacter asiaticus* (HLB) en conglomerados de cítricos del centro y norte del departamento del Tolima”

Recomendaciones

Es importante que el agricultor o asistente técnico lleve a cabo un monitoreo de *D. citri* en su finca. Debido a las cambiantes condiciones del cultivo (brotación) y del clima, se debería hacer una combinación de métodos de acuerdo con las circunstancias.

Por ejemplo, cuando hay brotación prominente en el cultivo, tanto en árboles pequeños como grandes, es recomendable llevar a cabo el muestreo visual, por medio del cual se pueda establecer, principalmente, la presencia de estados inmaduros del insecto (huevos y ninfas). Si el árbol está bien desarrollado, el jameo sobre brotes nuevos en las ramas altas también brinda una información complementaria relevante sobre la presencia del insecto.

Cuando hay una cantidad muy baja de brotes, casos en los cuales las poblaciones tienden a ser bajas, la técnica del tablero cromático es más efectiva para determinar la presencia del insecto en el cultivo. Para ello, una colocación de 10 tableros/ha distribuidas en el cultivo, incluyendo los bordes del mismo, pueden brindar información valiosa (Korytkowski, s.f.).

El agricultor o asistente técnico debe combinar las técnicas de muestreo de acuerdo con las condiciones en que se encuentre el cultivo. Es importante que no se deje de monitorear el cultivo.



Capítulo 3.

Dispositivos para incremento in-situ de *Tamarixia radiata*

Juan Humberto Guarín
Edgar Herney Varón Devia
Takumasa Kondo
Lumey Pérez Artiles
Claudia Flórez

Introducción

Tamarixia radiata (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) es un ectoparasitoide originario de India (Parra et al., 2016) que parasita ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama. Los adultos son pequeñas avispas (0,92-1,04 mm de longitud) con ojos bien separados y la cabeza más ancha que larga, con alas transparentes y venas amarillas (Chávez et al., 2017) (figura 25).



Figura 25. | Adulto de *Tamarixia radiata*.
Foto: Claudia Flórez.

Este ectoparasitoide pone uno o dos huevos en ninfas de tercero a quinto instar de *D. citri*. Cuando el huevo termina la incubación, la larva se empieza a alimentar de la ninfa de *D. citri* (Parra et al., 2016). Al emerger el parasitoide adulto de la momia de *D. citri*, realiza un orificio en el tórax de la ninfa (figura 26).



Figura 26. | Ninfa de *Diaphorina citri* con evidencia de desalojo del ectoparasitoide *T. radiata* adulto.
Foto: Claudia Flórez.

En Colombia, *T. radiata* fue reportado de forma oficial, inicialmente, en los departamentos de Cundinamarca (Ebratt-Ravelo et al., 2011^a, 2011b) y Norte de Santander (Ebratt-Ravelo et al., 2011a). Posteriormente, Kondo et al. (2012) informaron de su presencia en el Valle del Cauca, en los municipios de Palmira, Sevilla y Zarzal; más recientemente fue reportada en el departamento de Caldas (Restrepo-García et al., 2016).

Los dispositivos para incremento *in-situ* de *T. radiata* (Guarín-Molina & Ospina-Parra, 2020. En edición) se han concebido como una estrategia para favorecer las poblaciones del parasitoide en las zonas productoras de cítricos y áreas de traspaso en cítricos u hospederos alternos donde aún no está presente o sus poblaciones son muy bajas, o para fomentar su establecimiento en condiciones de retaguardia en el proceso de implementación de las Áreas Regionales de Control (Arco).

El principal objetivo de la liberación de *T. radiata* es la de reforzar las poblaciones de este parasitoide en áreas urbanas, huertos orgánicos y huertos abandonados (Kondo, 2017), teniendo en cuenta también las cercas vivas de *Swinglea* y mirto. La condición característica para estas áreas es la baja o nula aplicación de insecticidas (Guarín-Molina & Ospina-Parra, 2020. En edición).

En otras regiones del mundo, las liberaciones de *T. radiata* incrementan el nivel de parasitismo natural en los puntos tratados (Senasica, 2014; Diniz et al., 2019).

Según Senasica (2014), las liberaciones de *T. radiata* se deben realizar de acuerdo con tres criterios básicos:

- En los huertos donde se vaya a liberar, no se deben haber efectuado aplicaciones de plaguicidas en los dos meses anteriores al día escogido.
- En el sitio de liberación deben estar presentes huevos o ninfas de *Diaphorina*, preferiblemente de tercer estadio en adelante.

- Los árboles de los huertos u hospederos alternos de las áreas urbanas donde se vayan a liberar deben tener presencia de brotes adecuados, lo que asegure la disponibilidad de ninfas de *D. citri*.

Construcción de dispositivos para incremento *in-situ* de *Tamarixia radiata*

Para la actividad de liberación de parasitoides en campo, en dispositivos de incremento *in-situ* de *T. radiata*, se requieren los siguientes materiales, insumos y personal.

Materiales por cada dispositivo

- Malla anti-trips (25 metros lineales por dispositivo aproximadamente)
- 17 estacaones de madera ordinaria de 3,45 metros (por cada dispositivo)
- Velcro negro para puerta de entrada de 1,50 x 80 cms. Son dos unidades por bioseguridad
- Puntillas de 3 pulgadas
- Martillo
- Dos escaleras
- Grapadora de golpe industrial
- Grapas de ¼ de pulgada
- Grapadora alicate (para vivero)
- Grapas de ¼ de pulgada para vivero
- Ángulos metálicos
- Barretón
- Pala draga (pala coca)
- Plástico negro
- Impermeabilizante

- Alambre dulce calibre 12
- Agua según requerimiento de la planta
- Tijera podadora
- Varillas de hierro corrugado
- Cintas para señalización de peligro
- Balastro
- Desinfectante. Sulfato de amonio o fertilizante equivalente

Elaboración del dispositivo

El dispositivo debe construirse, preferiblemente, alrededor de un arbusto de cítrico que tenga algo de sombra, con el fin de disminuir la temperatura dentro del mismo. Tendrá forma de cubo (con todos los lados iguales) y su tamaño será relativo al arbusto en el que se trabaje, dado que este debe ir dentro del cubo (figura 27); además, porque debe evitarse que las estructuras del árbol entren en contacto con la malla debido a su posterior crecimiento, lo que facilitaría la infestación por otros insectos o la proliferación de hongos (Guarín & Ospina, 2020. En edición).

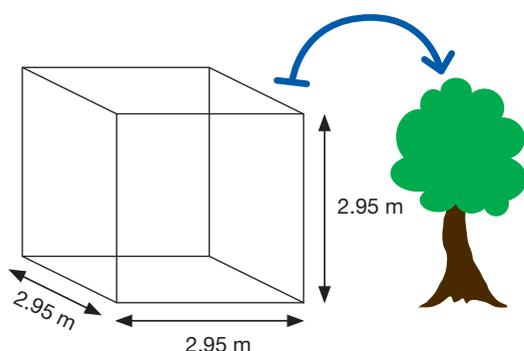


Figura 27. | Dispositivo para incremento de *Tamarixia radiata*.
Fuente: Elaboración propia.

Alrededor del arbusto se colocan verticalmente cuatro estacaones de madera impermeabilizados y forrados en plástico que quedarán enterrados como mínimo a 50 cm de profundidad, y serán separados por 2,95 m entre ellos,

aproximadamente. Posteriormente, se colocan horizontalmente cuatro estacones en la parte alta, de forma que unan los estacones verticales. En la base de los estacones colocados en el suelo, los cuales forman un cuadro, se colocan cuatro nuevos estacones para unir los estacones verticales, darle estabilidad al dispositivo y evitar el ingreso de otros animales no deseados. Finalmente, se colocan uno o dos estacones en la parte alta de forma transversal, para evitar que se formen “bolsas” en el techo del dispositivo que le hagan perder estabilidad o que se conviertan en bolsas de agua cuando sea periodo de lluvias. Adicionalmente, la puerta de acceso debe ser doble por razones de bioseguridad, y deben ser lo más estables posibles, por lo que se requiere de otros cuatro estacones y los respectivos travesaños para darle consistencia, funcionalidad y seguridad (puerta doble) (Guarín-Molina & Ospina-Parra, 2020. En edición).

En las figuras 28 a 32 se observa el proceso de elaboración del módulo de producción para incremento *in-situ* de *T. radiata*. En estas fotos se puede observar la instalación de la base del módulo y el inicio del proceso de enmallado. Se puede apreciar la sombra que generan los árboles cercanos al dispositivo.



Figura 28. | Selección de arbusto.

Foto: Humberto Alarcón.



Figura 29. | Colocación de los parales laterales.

Foto: Humberto Alarcón.



Figura 30. | Colocación de los soportes del techo.

Foto: Humberto Alarcón.



Figura 31. | Colocación del techo y la base del piso.

Foto: Humberto Alarcón.



Figura 32. | Colocación de la malla anti-trips.

Foto: Humberto Alarcón.

Se aprecia el módulo en etapa final. Hace falta cubrir con la malla la cara frontal y dejar el espacio para una puerta de entrada para labores posteriores (figura 33).



Figura 33. | Módulo en etapa final.

Foto: Humberto Alarcón.

Esta puerta de entrada se coloca en una de las caras laterales del dispositivo, a la cual se le coloca una cinta tipo velcro de color negro, de pulgada y media de ancho, para la entrada y salida habitual de infestación y retiro de individuos de *T. radiata* del dispositivo. Esta puerta debe quedar bien sellada, pero permitir la entrada y salida de personal (figura 34).



Figura 34. | Módulo finalizado.

Foto: Humberto Alarcón.

Adicionalmente, se adapta una puerta doble por razones de bioseguridad, de tal manera que se entre por una, se cierre a su espalda y se proceda a abrir la siguiente sin riesgo de que ingresen cuerpos extraños o salgan individuos desde la unidad de incremento. Una vez terminada la estructura para la unidad de incremento de *T. radiata*, debe tenerse especial cuidado en señalar adecuadamente la estructura con cinta de advertencia para evitar accidentes de los transeúntes (figuras 35 y 36).



Figura 35. | Dispositivo de producción *in-situ* de *Tamarixia radiata*. El retorno.
Foto: Edgar Varón.



Figura 36. | Dispositivo de incremento *in-situ* de *T. radiata*. Finca “La cosecha”.
Foto: Edgar Varón.

La mecánica para la rutina de salida de la unidad de incremento implica: abrir la primera puerta, pasar al área de un metro cuadrado, cerrarla a sus espaldas y ubicarse de frente a la puerta externa cerciorándose de no llevar insectos en la vestimenta; finalmente, se abre la puerta externa para salir y se cierra, cuidando en todos los casos que las superficies de velcro queden debidamente ajustadas y hermética la unidad de incremento (Guarín-Morina & Ospina-Parra, 2020. En edición).

Los listones de madera que van en el piso y están asegurados contra los verticales deben ir cubiertos de tierra, de manera que no queden luces y orificios que se vuelvan rutas de acceso de aves y animales no deseados (Guarín & Ospina, 2020. En edición).

Generación de brotes en arbusto: Se lleva a cabo una aplicación radicular de sulfato de amonio u otro fertilizante equivalente con el fin de estimular la producción de brotes. Se realiza, además, una poda de terminales para generar brotación adicional. De no presentarse lluvias, se procede a aplicar el riego necesario para estimular rebrotes.

*Infestación con *D. citri*:* Una vez el arbusto tenga cogollos (brotes en estado E15 los cuales no superan los 5 cm de longitud), se lleva a cabo la infestación del arbusto dentro del dispositivo con individuos adultos e inmaduros de *D. citri*. Para ello, se traen cogollos infestados, de más de 20 cm, con individuos de *D. citri* en diferentes estados de desarrollo de la misma finca, y se colocan en las ramas del arbusto. El tamaño de los brotes no puede ser corto, pues se deshidratarían sin haberse adecuado los especímenes al nuevo albergue. Se busca ofrecer las condiciones adecuadas para el proceso de colonización de la unidad de incremento (Guarín-Molina & Ospina-Parra, 2020. En edición).

*Infestación con *T. radiata* en dispositivos de incremento in-situ:* Durante el desarrollo del proyecto, se recibieron adultos de *T. radiata* a partir de la cría que AGROSAVIA tiene en el CI Palmira (figura 37). Cada recipiente trae una cantidad de

50 adultos. Una vez recibidos, se liberan lo más pronto posible dentro del cubo construido, recorriéndolo a medida que se van liberando. Se liberaron 50 individuos mensualmente dentro de cada dispositivo (figura 38).



Figura 37. | Recipiente con adultos de *Tamarixia radiata*.

Foto: Edgar Varón.



Figura 38. | Liberación de *Tamarixia radiata* desde frasco en dispositivo para incremento *in-situ*.

Foto: Humberto Alarcón.

Teniendo en cuenta la información referida por Arredondo et al. (2017) en relación al proceso de recepción de los ejemplares, en el caso de los dispositivos de incremento *in-situ* de producción de *T. radiata*, se deben seguir los pasos siguientes:

- 1.** Localizar el predio, huerto o área urbana con hospedero alterno donde se realizará la liberación de los adultos de *T. radiata*.
- 2.** Al recibir el paquete con los individuos de *T. radiata*, se deben verificar sus condiciones, proporcionar ventilación y mantener a temperatura de 19 °C.
- 3.** Es recomendable realizar la liberación en campo el mismo día en que se reciben los ejemplares, o, a más tardar, un día después, siempre y cuando se pueda mantener el material biológico en las condiciones antes citadas.
- 4.** Se debe elevar gradualmente la temperatura del material biológico a la del medio ambiente, para lo cual es preciso retirar el gel refrigerante de la nevera 10 a 20 minutos previos a la liberación.
- 5.** El material biológico no se debe dejar sin refrigeración. Además, se debe evitar la exposición directa al sol, dejarlo dentro de un vehículo cerrado o sin la supervisión de personal capacitado.
- 6.** En cada dispositivo de incremento se destapan los contenedores dentro del mismo, bajo la sombra de una rama y se golpea ligeramente el frasco para ayudar en la salida de los parasitoides.
- 7.** Deben registrarse en un libro de campo los datos de ubicación de la liberación y las coordenadas geográficas marcadas en el GPS.

Seguimiento al parasitismo de Tamarixia radiata: El seguimiento consiste en hacer una inspección visual de brotes en la planta de cítrico que está dentro del cubículo (figura 39). Se pueden tomar 5 brotes y en cada uno de ellos determinar visualmente el número de individuos de cada uno de los estadios ninfales

(I a V) de *D. citri*, además de la presencia de huevos y adultos. Simultáneamente, se debe determinar la cantidad de ninfas III, IV y V presentes, y cuántas están parasitadas por *T. radiata* (figura 40).



Figura 39. | Observación de parasitismo por *T. radiata* en módulo de incremento *in-situ*.

Foto: Humberto Alarcón.



Figura 40. | Ninfa de *Diaphorina citri* parasitada por *T. radiata*.

Foto: Claudia Flórez.

Liberación de T. radiata: Una vez los individuos de *D. citri* se encuentren parasitados con pupas del parasitoide (momias de *D. citri* parasitadas por *T. radiata*), se distribuyen los cogollos infestados con estas momias, en las áreas que se hayan seleccionado. La liberación se realiza preferentemente en áreas de cítricos, *swinglea* o mirto que no estén sometidos a un control químico periódico, con el fin de preservar el parasitoide.

De acuerdo con Sandoval-Jiménez et al. (2013) y Senasica (2014), debe evitarse la liberación de los parasitoides cuando hay ráfagas de viento o lluvias.

Estimación de costos

Con base en la información recolectada en el proyecto y otras fuentes, se estableció el costo promedio que puede tener la elaboración de un dispositivo de producción in-situ de *Tamarixia radiata* (Tabla 3).

Tabla 3. | Elementos para elaborar un dispositivo para incremento *in-situ* de *Tamarixia radiata* (Precios en pesos colombianos, año 2020).

Item	Unidad	Valor unitario	Cantidad	Total
Malla anti-trips (mesh 50)	Metro ancho 2,8 m	\$ 11 600	10	\$ 116 000
Estacones de madera	Estación de 3 metros	\$ 3000	16	\$ 48 000
Grapas de impacto	Caja de 5000 unidades	\$ 11 700	2	\$ 23 400
Grapadora industrial		\$ 69 900	1	\$ 69 900
Grapadora de vivero		\$ 65 000	1	\$ 65 000
Grapas para grapadora vivero	Caja de 1000 unidades	\$ 13 000	1	\$ 13 000
Varillas de hierro corrugado		\$ 9200	4	\$ 36 800

Continuación Tabla 3

Item	Unidad	Valor unitario	Cantidad	Total
Cintas para señalización de peligro	Metro	\$ 32	10	\$ 320
Puntillas de 3 pulgadas (caja)	Caja de 1000 unidades	\$ 9800	1	\$ 9800
Martillo	Unidad	\$ 12 900	2	\$ 25 800
Balastro	Kilogramos		2	\$ -
Pala coca		\$ 24 900	1	\$ 24 900
Barretón	Unidad	\$ 26 000	1	\$ 26 000
Escaleras de tijera	Unidad	\$ 129 900	2	\$ 259 800
Ángulos		\$ 2500	4	\$ 10 000
Impermeabilizante	Galón	\$ 51 000	1	\$ 51 000
Plástico negro	Metro	\$ 19 300	1	\$ 19 300
Alambre calibre 12	Kilogramos	\$ 5350	1	\$ 5350
Velcro negro	Metro	\$ 7185	1	\$ 7185
Operario	Día con todas las prestaciones	\$ 65 367	1	\$ 65 367
Total				\$ 876 922

Fuente: Guarín y Ospina, 2020; Proyecto: “Validación de tecnologías para el monitoreo y manejo del patosistema *Diaphorina citri* – *Candidatus Liberibacter asiaticus* (HLB) en conglomerados de cítricos del centro y norte del departamento del Tolima”



Capítulo 4.

Guía de campo para el reconocimiento de síntomas de HLB y herramientas para su prediagnóstico

Eleonora Rodríguez
Ángela María Vargas
Edgar Mauricio Rico
Paula Andrea Bermeo

Introducción

El Huanglonbing (HLB) o enverdecimiento de los cítricos (del inglés *citrus greening*) es la enfermedad más devastadora para la producción de cítricos en el mundo, ya que causa el deterioro y muerte de los árboles en un corto periodo de tiempo (Hodges & Thomas, 2012). A la fecha no se conoce una estrategia de manejo eficiente para su control y las medidas empleadas, como la erradicación de plantas enfermas, control de la población del vector y el empleo de material de propagación libre del patógeno, están más focalizadas en disminuir su dispersión y prolongar la vida útil del árbol.

En Colombia, la presencia de psílidos adultos de la especie *Diaphorina citri* infectados con la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, uno de los causantes del HLB, fue reportada por el ICA el 10 de diciembre de 2015 en el departamento del Magdalena (Resolución ICA, 2390, 2015). Posteriormente, la presencia de la bacteria causante de la enfermedad en árboles de limón común fue también reportada por el ICA en el departamento de La Guajira, el 28 de abril de 2016 (Resolución ICA, 4713 de 2016).

Actualmente, la enfermedad ya se encuentra presente en los departamentos de Magdalena, Atlántico, Bolívar, Cesar, La Guajira y Norte de Santander (ICA, 2019b). Como consecuencia de su rápida diseminación en el territorio nacional, se espera su presencia en la región andina, donde se concentra la mayor producción de cítricos del país. El conocimiento de los síntomas iniciales y progresivos de la enfermedad, unidos al empleo de una herramienta de prediagnóstico como el kit de reacción yodo-almidón, permite a los productores una rápida selección de árboles sospechosos de HLB, y la rápida aplicación de medidas de contingencia que disminuyan su dispersión. Después de la selección de árboles sospechosos, es posible la confirmación de la presencia de la bacteria en el árbol por parte de las autoridades

sanitarias del país, pues, a partir del 22 de febrero de 2019, tanto el vector como la bacteria causante de la enfermedad fueron declaradas plagas de control oficial por el ICA.

En el departamento del Tolima, donde la producción de lima ácida Tahití y limón común o pajarito es uno de los renglones agrícolas más importantes para la región, a la fecha no ha sido reportada la enfermedad, por lo que el prediagnóstico de árboles sospechosos constituye una medida importante de prevención y contingencia para disminuir el daño potencial del HLB a la producción.

Importancia

La enfermedad del HLB o enverdecimiento de los cítricos es causada por la alpha-proteobacteria *Candidatus Liberibacter* (Bull et al., 2012). Esta es una enfermedad de distribución mundial en el cultivo de cítricos. A la fecha no se conoce un tratamiento efectivo para su manejo. Los árboles afectados con HLB disminuyen rápidamente su producción, se tornan improductivos y finalmente mueren en un corto periodo de tiempo, estimado entre 3 a 5 años (Pitino et al., 2018; Bové, 2006). Debido a la falta de métodos eficientes de manejo, al efecto devastador en la producción y a la rapidez con la que se dispersa la bacteria por medio de su vector –el psílido *Diaphorina citri* (Kuwayama)–, se estima que ha ocasionado la destrucción de más de 60 millones de árboles en países de las regiones productoras de Asia, Sudáfrica y Brasil (Halbert & Manjunath, 2004; Bové, 2006).

Las pérdidas en el rendimiento causadas por HLB no han sido sencillas de establecer debido a que normalmente los árboles sintomáticos se eliminan tan pronto se confirma la presencia de la enfermedad. Algunos estimativos indican que HLB puede causar pérdidas en rendimiento cercanas al 65% (Gottwald et

al., 2007), o incluso causar pérdidas totales en ramas infectadas, como se ha observado en cultivares de cítricos en Kenia y Sudafrica (Alemán et al., 2007; Magomere et al., 2009).

Todavía no se conocen fuentes de resistencia genética al HLB dentro del género *Citrus* y muchos de los géneros cercanos. No obstante, estudios recientes sugieren niveles de tolerancia entre diferentes especies o variedades de cítricos (Fan et al., 2012; Stover et al., 2010). En general, las mandarinas, las naranjas dulces y los pomelos son relativamente más susceptibles al HLB, mientras que el naranjo agrio, los limones, las limas y las citranges son menos susceptibles (Folimonova et al., 2009). Sin embargo, en México los daños más severos se han observado en plantaciones de limón común o pajarito y lima ácida Tahití (Senasica, 2008).

La especie *Poncirus trifoliata* y algunos de sus híbridos pueden tolerar y/o suprimir la infección con *Candidatus Liberibacter*, patógeno asociado al HLB de manera significativa (Stover et al., 2010). Por otro lado, la bacteria causante del HLB (*Candidatus Liberibacter*) ataca también plantas de mirto o azahar de la India, y de swinglea, especies que son generalmente utilizadas como plantas de traspatio y cercos vivos (Sétamou & Bartels, 2015).

¿Qué causa la enfermedad?

Los síntomas del HLB están asociados a la presencia de una alpha-proteobacteria, gram negativa, cuya multiplicación se restringe al floema de las plantas hospederas, denominada como *Candidatus Liberibacter* (Bull et al., 2012).

Actualmente se conocen por lo menos 5 especies de esta bacteria (Ilardi & Catara, 2013; Morris et al., 2017); sin embargo, solo tres de ellas, transmitidas por psílidos, son las que causan enfermedad en cítricos (Haapalainen, 2014). La primera de ellas es *C. Liberibacter asiaticus*, reportada en Colombia

y con la mayor distribución mundial de las tres. Esta afecta los cítricos de los países asiáticos, de Brasil, Florida, México y el Caribe, y es transmitida por el psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). La segunda es *C. Liberibacter africanus*, registrada en algunas regiones citrícolas de África, y la tercera es *C. Liberibacter americanus*, detectada en Brasil y Asia (Li et al., 2006).

Adicional y específicamente en Colombia, se ha reportado la especie *C. Liberibacter caribeannus* en muestras vegetales de cítricos, aunque aún no se ha determinado si causa o no enfermedad en este cultivo (Keremane et al., 2015).

¿Dónde se ubica la bacteria en la planta?

La especie *Candidatus Liberibacter asiaticus* se distribuye de manera heterogénea en el floema de la corteza, la nervadura central de las hojas, las raíces, en diferentes partes florales y en frutos (Fu et al., 2015; Tatineni et al., 2008). No se ha demostrado que la enfermedad se transmita por la semilla (Bové, 2006; Hilf, 2011), aunque se ha encontrado en altas concentraciones en el pedúnculo del fruto.

¿Cuáles son los síntomas de la enfermedad?

En algunas especies de cítricos no es fácil diagnosticar el HLB tomando como base únicamente los síntomas visuales, debido a que ninguno de ellos es específico de la enfermedad; la bacteria, al ocasionar el taponamiento del floema, afecta a su vez la traslocación de nutrientes (Shen et al., 2013). Adicionalmente, los árboles de cítricos son frecuentemente afectados por otros problemas que provocan síntomas similares, relacionados con la disponibilidad del agua y la fertilidad del suelo, y que pueden ser confundidos con HLB (Razi et al., 2011).

Los síntomas manifiestos en las hojas pueden, además, confundirse con deficiencias nutricionales o incluso con el daño de plagas u otras enfermedades. No obstante, un adecuado monitoreo del vector y una descripción detallada de la aparición de síntomas a nivel del árbol en su conjunto, o específicamente en algunas partes de este como las hojas y el fruto, son útiles en campo.

Candidatus Liberibacter asiaticus afecta los tejidos del floema y ocasiona fuertes problemas para la traslocación de asimilados en la planta, los cuales se manifiestan en las hojas como manchas amarillentas con aspecto de moteado sin patrón definido; retraso en el crecimiento y desarrollo de la planta; fruta deforme, pequeña y con pobre coloración, o el desprendimiento prematuro de esta con semillas necrosadas (Bové, 2006; Sagaram et al., 2009). Los árboles suelen morir de 3 a 8 años después de diagnosticada la presencia de la bacteria (Bové, 2006; Folimonova et al., 2010).

Síntomas en el árbol

En los árboles de limas ácidas como limón común (limón pajarito) y lima ácida Tahití, a diferencia de otros cítricos, los síntomas se expresan de forma más pronunciada y se observa claramente un moteado difuso y asimétrico en las hojas. En las limas ácidas se pueden encontrar ramas terminales amarillentos (enverdecimiento) como síntoma avanzado de la enfermedad, en árboles de más de 3 años (figura 41). Pero los brotes nuevos crecen con aspecto sano y apariencia normal, y se originan a partir de ramas o sectores evidentemente sintomáticos de HLB.

Evolución de síntomas y daños en árboles afectados



Figura 41. | Sectores o brotes cloróticos en árboles de lima ácida Tahití de más de 3 años. a. Enverdecimiento de ramas en diferentes sectores del árbol de lima ácida Tahití en etapas avanzada; b. Acercamiento de rama afectada en la que se evidencia clorosis avanzada y moteado difuso en hojas ya desarrolladas.

Foto: Angela María Vargas.

En etapas muy avanzadas de la enfermedad, en las ramas o árboles afectados con HLB, se presenta defoliación, lo que da la apariencia de follaje escaso y, en consecuencia, una capacidad de floración y fructificación reducida (figura 42).



Figura 42. | Estado avanzado de la enfermedad. a. Árbol de limón común con caída de ramas y estado intermedio de defoliación; b. Árbol de limón común con defoliación avanzada como consecuencia de HLB.

Foto: Ángela María Vargas.

Con el avance de la enfermedad, la planta sufre defoliación y caída excesiva de frutos. Se observa un síntoma de paloteo severo que vuelve al árbol improductivo y causa su muerte, debido al taponamiento de los haces conductores del floema (figura 43).



Figura 43. | a. Muerte productiva de árboles de lima Tahití alrededor de árboles con síntomas avanzados de HLB; b. Acercamiento de árbol con muerte productiva. Foto: Angela María Vargas.

Síntomas en las hojas

En el limón pajarito o limón común, como se mencionó anteriormente, las hojas de brotes vegetativos en desarrollo presentan forma y color similares a las que se observan en hojas de árboles sanos. Cuando los brotes alcanzan entre 45 y 60 días de edad, las hojas empiezan a desarrollar pequeños puntos de color amarillento, distribuidos en toda la lámina foliar (figura 44).

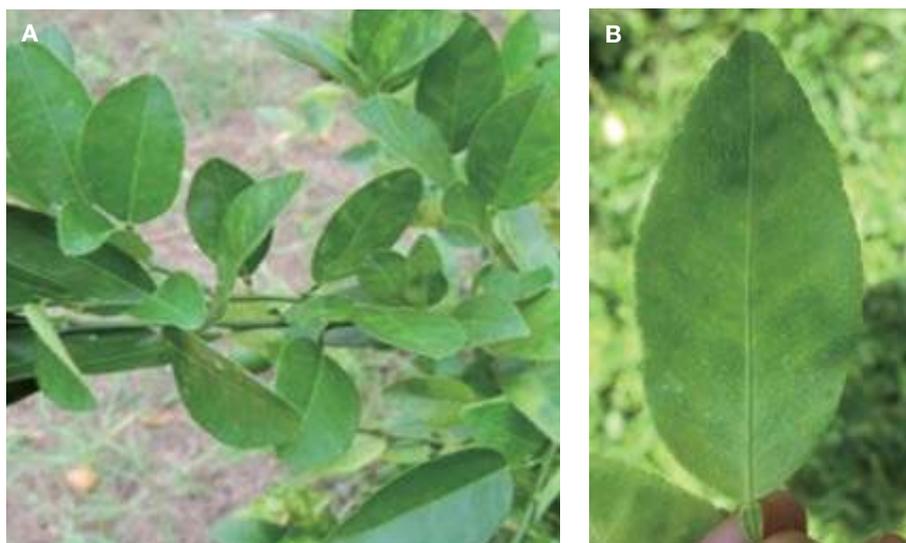


Figura 44. | Brotes vegetativos normales de limón común, que emergen de ramas con síntomas de HLB, pero que presentan aspecto vigoroso y saludable. a. Puntos de color amarillento distribuidos en la lámina foliar en brotes maduros. b. Acercamiento de hoja con síntomas iniciales.

Foto: Eleonora Rodríguez P. y Ángela María Vargas.

Cuando los brotes vegetativos tienen entre 60 y 70 días, esas pequeñas manchas forman un moteado difuso con distribución irregular en la hoja (figuras 45 y 46).

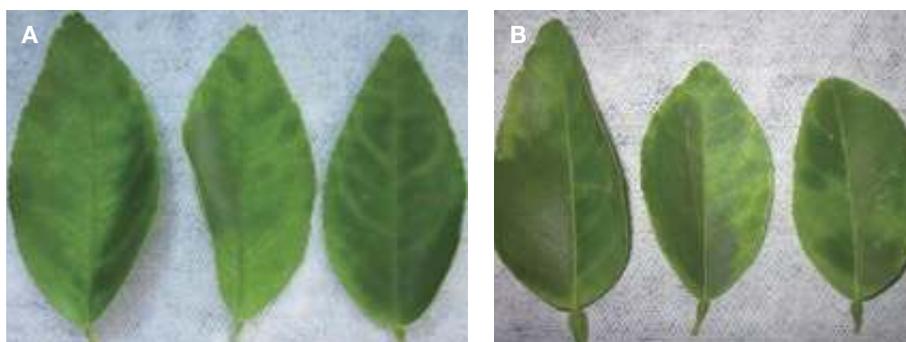


Figura 45. | Clorosis asimétrica y moteado difuso en hojas. a. Lima ácida Tahití; b. Limón común.

Foto: Ángela María Vargas.

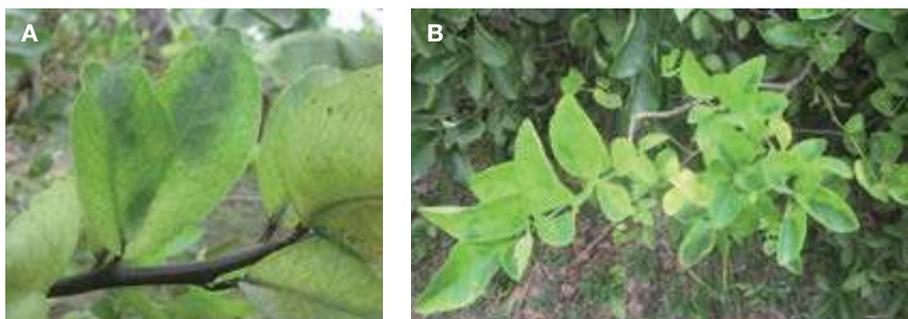


Figura 46. | a. Moteado difuso de forma irregular en la hoja; b. Foliolos con moteado difuso en su mayoría.

Foto: Ángela María Vargas.

Las manchas de un lado de la hoja no pasan generalmente al otro lado de la nervadura central, por lo que se genera la distribución asimétrica que caracteriza esta enfermedad y la distingue de síntomas de deficiencias nutricionales o daños de plagas u otras enfermedades (figura 47).



Figura 47. | Síntomas de mancha con moteado asimétrico (sin patrón) en hojas. El moteado de manchas se puede apreciar en hojas de los brotes subterminales cuando ya han madurado.

Foto: Ángela María Vargas y Eleonora Rodríguez P.

Otra característica de los síntomas causados por HLB es la decoloración, el engrosamiento de las nervaduras y el aspecto corchoso de las hojas (figura 48).

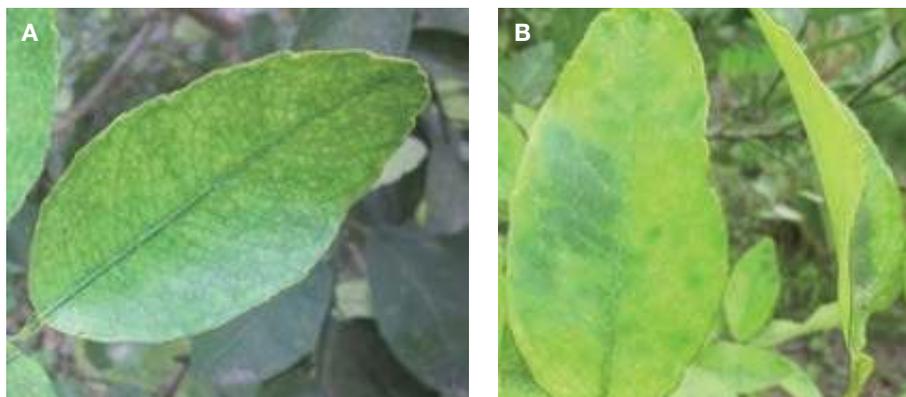


Figura 48. | Síntomas avanzados de HLB en hoja de limón común. a. Engrosamiento de la nervadura central; b. Aspecto corchoso en las márgenes de las hojas.

Foto: Ángela María Vargas y Eleonora Rodríguez P.

Con el tiempo, las hojas dañadas se tornan de color amarillo (figura 49).



Figura 49. | Síntomas de reverdecimiento o clorosis generalizada en hojas de lima Tahití. En una misma rama se evidencia moteado difuso o asimétrico, clorosis y engrosamiento de la nervadura central.

Foto: Ángela María Vargas y Eleonora Rodríguez P.

En los árboles que han tenido un manejo nutricional adecuado, las manchas pueden ser de color verde amarillento (figura 50a), mientras que en árboles con un manejo deficiente, las manchas son de color amarillo claro; en estas desaparece el color verde característico, se tornan seniles en poco tiempo y se desprenden desde su punto de unión en el peciolo (figura 50b).

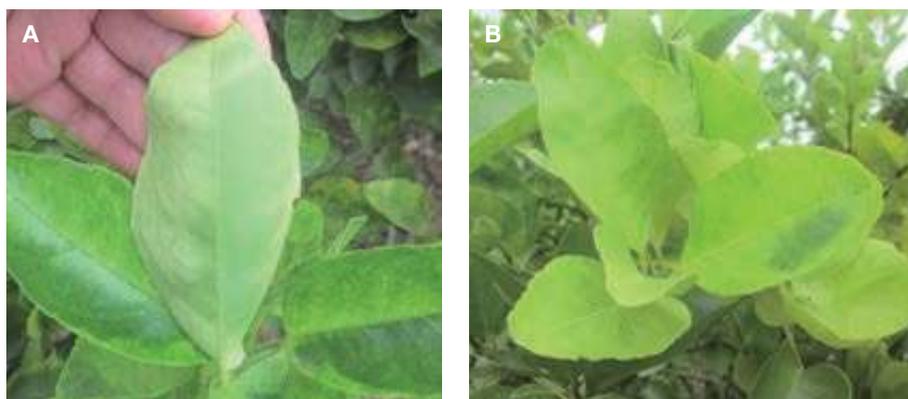


Figura 50. | Síntomas del moteado causado por HLB en hojas con diferente manejo nutricional. a. Color verde amarillento en árbol con buen manejo nutricional; b. Color amarillo claro. Pérdida de la coloración verde en hojas con deficiente manejo nutricional.

Foto: Ángela María Vargas y Eleonora Rodríguez P.

Síntomas en fruto

El HLB induce también síntomas muy característicos en la fruta, especialmente en las naranjas dulces, las mandarinas y, a veces, en las toronjas. En el caso de la naranja, la fruta en estado inmaduro presenta color verde, pero también puede tener en la parte externa zonas o manchas de color amarillento, similar al moteado. A medida que maduran, su extremo estilar se mantiene verde, de ahí el nombre de *citrus greening* o enverdecimiento. Al hacer un corte en la base del fruto, justo bajo el pedúnculo, se puede encontrar una mancha amarilla. Si el corte se hace longitudinalmente, se observa el eje curvado y las mitades resultan asimétricas. Además, los haces vasculares dentro del eje del fruto y en el

extremo peduncular adquieren una tinción de color marrón. A menudo contiene semillas abortadas de color marrón o negro.

A pesar de que en los árboles de limón común y lima ácida Tahití expresan síntomas foliares característicos de la enfermedad, no se han observado síntomas de inversión de color, desviación de la columna y semillas abortadas. Sin embargo, sí se observa asimetría y amarillamiento exterior leve (figura 51a), que al cortarlo muestra un desarrollo interno también asimétrico (figura 51b)

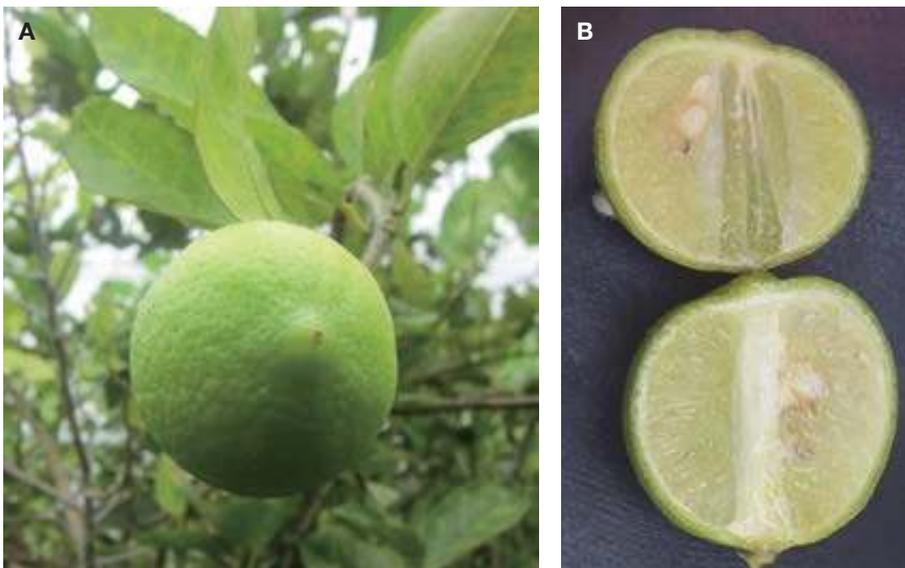


Figura 51. | Alteraciones en fruto de limón común. a. Leve asimetría y aclaramiento externo del fruto; b. Asimetría interna del fruto.

Foto: Eleonora Rodríguez P. y Ángela María Vargas.

Síntomas similares a HLB producidos por deficiencias nutricionales

Una de las herramientas diagnósticas para las deficiencias nutricionales en cítricos, por lo general, se encuentra relacionada con la descripción visual de la morfología y coloración de las ramas o folíolos dentro del cultivo (Srivastava, 2013). Sin embargo, los síntomas de HLB en hojas pueden confundirse con

deficiencias nutricionales. No obstante, existen algunas características que permiten diferenciar la enfermedad de las principales deficiencias encontradas en el departamento del Tolima. Por lo general, los síntomas de HLB se producen por focos y son sectorizados en el árbol. Igualmente, el moteado difuso y la presencia de islas verdes de manera asimétrica en la lámina foliar son una característica importante de la enfermedad (Bové, 2006; Gottwald et al., 2007).

Dentro de los síntomas de deficiencias nutricionales que erróneamente pueden asociarse con HLB y que son comunes en las zonas de producción de cítricos en el departamento del Tolima, están las deficiencias de Zinc, Magnesio, Hierro y Manganeso.

Deficiencia de zinc (Zn)

El zinc es absorbido por la planta en forma de Zn^{2+} . Es un elemento de poca movilidad dentro del árbol y su disponibilidad se ve afectada negativamente en suelos calcáreos de alto contenido de fósforo y/o salinos (Manthey et al., 2000). Visualmente las etapas de déficit de Zn se pueden evidenciar de la siguiente manera:

- *Etapas I:* Desarrollo de hojas nuevas con brotación excesiva y de tonalidad amarilla (figura 52a).
- *Etapas II:* Aclaramiento foliar entre las venas, en las hojas maduras, con la nervadura principal de color verde (figura 52b).
- *Etapas III:* En etapas muy avanzadas, las hojas son puntiagudas, anormalmente estrechas con tendencia a mantenerse erguidas y reducidas en tamaño (figura 52c).

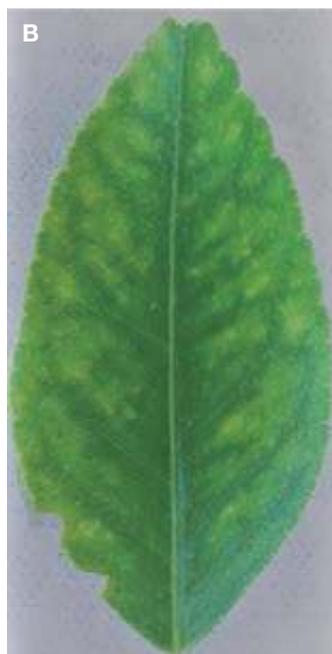


Figura 52. | Síntoma de deficiencia de zinc en hojas. a. Hojas jóvenes con brotación excesiva y de color amarillo; b. Hojas maduras que conservan la nervadura central de color verde; c. Hojas estrechas y estado avanzado de deficiencia de Zn.

Foto: Eleonora Rodríguez P. y Ángela María Vargas.

Deficiencia de magnesio (Mg)

El magnesio (Mg) se absorbe en forma de Mg^{2+} . Es uno de los principales nutrientes móviles y parte activa de la clorofila. Este elemento se asocia principalmente con la capacidad de intercambio de carbono del suelo. Propiedades del suelo como su pH, salinidad, concentración de sodio (Na) y humedad afectan la disponibilidad de Mg (Tang y Chen, 2012). Las sintomatologías de

deficiencia de Mg siguen las etapas enumeradas a continuación, de acuerdo con el grado de afectación del árbol:

- *Etapa I:* Los síntomas aparecen por primera vez en las hojas maduras.
- *Etapa II:* Manchas amarillas irregulares que inician cerca de la base y avanzan a lo largo de las nervaduras medias de las hojas maduras cercanas del fruto. Estas manchas luego se hacen más grandes y eventualmente se unen para formar un área grande de tejido amarillo a cada lado de la nervadura central de las hojas. Esta coloración gradualmente se extiende por toda la lámina foliar hasta que la tonalidad verde se conserva únicamente en la nervadura central, la base y el ápice de la hoja, evidenciando un área invertida en forma de V (figura 53).
- *Etapa III:* Dentro de árbol, las ramas desarrollan síntomas extremos de deficiencia de Mg, y luego se defolian por completo.



Figura 53. | Síntoma de deficiencia de magnesio en las hojas. Clorosis generalizada en toda la lámina foliar en forma de V invertida (triangular).

Foto: Eleonora Rodríguez P. y Ángela María Vargas.

Deficiencia de hierro (Fe)

El hierro se absorbe en la planta en forma de Fe^{2+} . Es un elemento que se vuelve extremadamente móvil en condiciones anegadas; de lo contrario, es

altamente inmóvil en la planta. En suelos ácidos, el hierro soluble podría fijar fosfatos. Su deficiencia se hace más evidente por un nivel freático alto y el anegamiento. Adicionalmente, su disponibilidad se reduce en suelos con un pH superior a 7,8 (Martínez-cuenca et al., 2017). La deficiencia de hierro puede visualmente seguir las siguientes etapas:

- *Etapa I:* Aclaramiento de las nervadura central y laterales, las cuales mantienen una pigmentación verde del resto de la lámina foliar (figura 54 a).
- *Etapa II:* Clorosis completa de las hojas (figura 54 b). Los márgenes y los bordes pueden presentar síntomas de quemazón.
- *Etapa III:* En casos agudos, las hojas son de tamaño reducido, frágiles y muy delgadas, que se desprenden temprano.
- *Etapa IV:* Los árboles mueren severamente en la periferia y, especialmente, en la parte superior.



Figura 54. | Síntoma de deficiencia de hierro en hojas. a. Clorosis intervenal en hojas. Las nervaduras adquieren una tonalidad blanca. b. Clorosis completa de la rama.

Foto: Eleonora Rodríguez P. y Ángela María Vargas.

Deficiencia de manganeso (Mn)

El manganeso se absorbe en forma de Mn^{2+} . Este elemento es altamente inmóvil en la planta y extremadamente móvil en suelos ácidos y anegados. La disponibilidad de Mn en suelos se reduce a un pH del suelo alrededor de 6,5. Su absorción, además, se afecta en suelos calcáreos y salinos (Dhawale et al., 2016). Visualmente el desarrollo de la deficiencia puede evidenciarse en las siguientes etapas (figura 55):

- *Etapas I:* Clorosis intervenal con nervaduras primarias y secundarias verde claro y lámina foliar amarilla o blanca, que aparece primero en los folíolos jóvenes.
- *Etapas II:* Las hojas jóvenes comúnmente muestran un patrón fino o una red de venas de verde oscuro a verde más claro.
- *Etapas III:* Cuando las hojas alcanzan su tamaño completo, el patrón se vuelve distintivo, como una banda verde a lo largo de la hoja. La nervadura lateral media y las nervaduras laterales principales toman una pigmentación verde clara entre las venas.



Figura 55. | Síntoma de deficiencia de manganeso en hojas. Pigmentación de las hojas jóvenes de verde pálido y amarillo a blanco. Conservan la pigmentación verde de la nervadura central, laterales y secundarias.

Foto: Ángela María Vargas.

Síntomas similares a HLB producidos por fisiopatías

En el Tolima, existe de manera generalizada la presencia de la fisiopatía conocida como *wood pocket* (WP) (cuarteaduras de la corteza) o “mancha del limón” (*lime blotch*). Su presencia está asociada a zonas productoras que presentan elevadas temperaturas (superiores a 35 °C). El daño que ocasiona se incrementa por deficiencia en la cantidad de agua que requiere la planta para su funcionamiento normal (déficit hídrico). En la zona productora de cítricos del Tolima, esta falta de agua en el suelo está relacionada con su escasa retención, las pocas precipitaciones y los sistemas de riego inadecuados. La WP es una fisiopatía que afecta, según se ha reportado, únicamente a la lima Tahití y al limón común o pajarito.

La WP ocasiona una muerte descendente de las ramas, generalmente en el tercio superior o medio del árbol, sectorizadas en una región específica de este, y avanza en un corto periodo de tiempo (1 a 2 años) hasta causar su deceso (figura 56a y b).



Figura 56. | Efecto del WP desde las etapas iniciales hasta las avanzadas de la fisiopatía. a. Síntoma inicial: muerte de ramas apicales en un sector del árbol. b. Muerte sectorizada, que avanza en un sector del árbol.

Foto: Eleonora Rodríguez P.

En esta fisiopatía se observa también un agrietamiento extensivo y cuarteaduras de la corteza del tronco y las ramas, además de un cambio de color de la madera, la cual se torna de color oscuro en el interior de la corteza (Figura 57a y b)

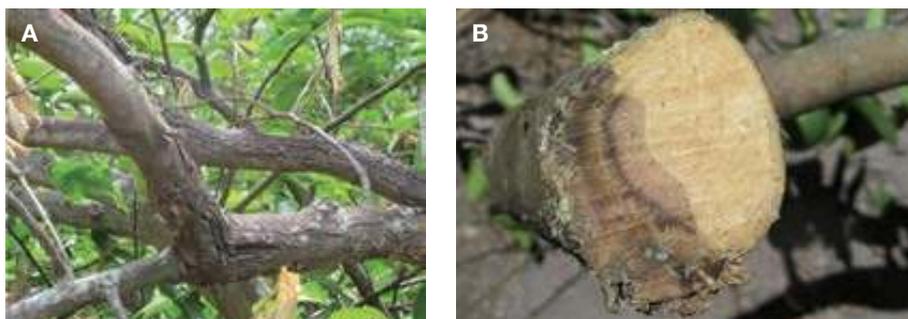


Figura 57. | Síntoma de WP en las ramas de árboles. a. Agrietamiento en la corteza de las ramas. b. Necrosis del tejido interno en el sitio donde se observa el agrietamiento.

Foto: Eleonora Rodríguez P.

En la lámina foliar, además, es posible observar moteado o variegación en hojas, un manchado sectorial de hojas y frutos tipo quimera o líneas verticales a lo largo del fruto, semejando el rayado de un balón (Figura 58a y b).



Figura 58. | Síntomas de WP en hojas y fruto. a. Moteado asimétrico en hojas. b. Síntoma típico de quimera o rayado vertical en franjas en el fruto.

Fotos: Eleonora Rodríguez P.

Efecto del HLB en el contenido nutrimental de hojas y empleo de la reacción yodo almidón para su prediagnóstico

Cuando las plantas de cítricos se encuentran infectadas por *Candidatus Liberibacter asiaticus*, causante del HLB, estudios anatómicos realizados encontraron “acumulación masiva” de almidón en muestras de hojas recolectadas

de naranja enfermas (Etxeberria et al., 2009; Folimonova & Achor, 2010). De hecho, la acumulación de almidón en las hojas de los cítricos con síntomas de HLB e infectados por *Candidatus Liberibacter asiaticus* es cinco veces más alto de lo normal y se puede utilizar como método de selección de árboles sospechosos de HLB en campo (Whitaker et al., 2014), el cual debe ser confirmado por métodos de detección específica para la bacteria.

De forma general, el almidón se puede clasificar en dos tipos: almidón transitorio, que se produce en los órganos fotosintéticos ubicados en el área foliar de las plantas (hojas), y el almidón de reserva, que se produce en los órganos de almacenamiento como las semillas (Wang et al., 2013). El almidón acumulado durante el día se degrada durante la noche siguiente, proporcionando un suministro continuo de carbohidratos en ausencia de fotosíntesis (Gibon et al., 2009). Debido a que se produce un movimiento continuo de almidón, en condiciones normales o en una planta sana este almidón no es visualmente detectable. En las plantas superiores, como los cítricos, la producción de almidón está regulada por su metabolismo (Liu et al., 2015). No obstante, es importante tener en cuenta que deficiencias de Zn, así como la ruptura de ramas pueden producir una masiva acumulación de almidón en hojas, de forma similar a lo que sucede con HLB.

Uso del kit de yodo como prediagnóstico de HLB

¿Por qué usar yodo?

La técnica se basa en una reacción del yodo con el almidón acumulado en las hojas con síntomas de la planta enferma, debido a que la bacteria del HLB causa una obstrucción de los haces vasculares en el floema. Como se mencionó anteriormente, las hojas sintomáticas de planta enferma acumulan cinco veces más almidón en las hojas que una planta sana.

¿Qué tan confiable es?

Este diagnóstico rápido de campo tiene un 80% de confiabilidad, y permite seleccionar árboles sospechosos de HLB, así como también descartar otros con síntomas en hoja similares, pero sin HLB, por presentar reacción negativa de almidón. Así, la planta es considerada sospechosa y es necesario realizar un diagnóstico confirmatorio de la presencia de la bacteria en el árbol, mediante la técnica de laboratorio de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), que en nuestro país es realizado en su totalidad por el ICA, desde el proceso de selección y la custodia del material vegetal a ser evaluado hasta la emisión del concepto confirmativo o no.

- *Materiales necesarios para realizar la prueba yodo – almidón.* Se observan en la figura 59. Solución preparada de yodo. La fórmula del yodo es (KI 3% + I2 1,5 %). Disolver 3 g de KI y 1,5 g de I2 en 100 ml de agua potable. Para evitar el contacto directo con la luz, utilizar un frasco color ámbar o recubrir el frasco con papel aluminio. Guardar la solución a temperatura ambiente.
- Bolsa plástica. Se sugiere usar una bolsa con cierre hermético: 5 x 8,5 cm.
- Agua potable
- Papel de lija de agua nº. 240. Cuadrado de 2 cm²
- Hojas con síntomas relacionados con HLB



Figura 59. | Materiales requeridos para realizar la prueba yodo - almidón en hojas de cítricos.

Foto: Ángela María Vargas.

Procedimiento de la prueba yodo – almidón

1. Seleccionar 3 ramas de un árbol que muestren síntomas relacionados con HLB de la siguiente manera: árboles con presencia de ramas con hojas cloróticas o moteados (color verde claro a amarillo), que se distingan fácilmente.
2. De esos árboles, seleccionar y marcar de 2 a 3 ramas que tengan hojas en las que se observen manchas de verde oscuro a verde claro por ambas caras y que no presenten ningún otro tipo de daño o síntomas como los descritos anteriormente para HLB. Seleccionar 2 hojas por rama (figura 60).



Figura 60. | Procedimiento para selección de hojas sintomáticas para la reacción yodo - almidón.

Foto: Ángela María Vargas.

3. Limpiar el polvo o los cuerpos extraños de la hoja con servilleta o papel absorbente seco para procesarla de manera independiente de la siguiente manera:
4. En cada hoja, frotar 20 veces con papel de lija en los costados de la vena central, garantizando que se frote el haz y envés de la hoja (figura 61).

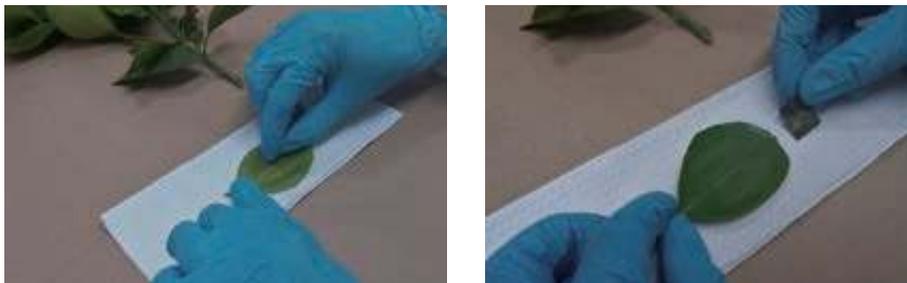


Figura 61. | Frotamiento de la hoja con papel lija.

Foto: Ángela María Vargas

5. Poner la lija frotada en la bolsa con cierre hermético y agregar 1 cm³ de agua potable (figura 62).



Figura 62. | Colocación de lija y agua en bolsa de cierre hermético.

Foto: Ángela María Vargas

6. Remover con los dedos, suavemente, el raspado de la lija, para que los tejidos adheridos en esta se desprendan y se mezclen con el agua potable agregada dentro de la bolsa. Mover la lija al extremo inferior de la bolsa y agregar una gota de la solución de yodo (figura 63).



Figura 63. | Colocación de solución de yodo en bolsa.

Foto: Ángela María Vargas

7. Esperar 5 minutos para la reacción del yodo con el almidón.
8. Cuando la tonalidad de la sustancia líquida cambia de amarillo a color oscuro, se considera que la acumulación de almidón es *positiva*, y, en consecuencia, la muestra es *sospechosa* de HLB. Cuando la solución conserva la tonalidad amarilla, la muestra *no* es sospechosa de HLB (Figura 64).



Figura 64. | Reacción del yodo con el almidón.

Foto: Ángela María Vargas



9. Las ramas de donde provenían las hojas con resultado positivo para almidón se marcan con una cinta fácilmente identificable, de tal manera que se pueda rastrear su origen. Finalmente, se informa a las autoridades sanitarias competentes, quienes realizan el proceso de confirmación mediante pruebas sensibles y específicas para HLB.

Estrategias para el control del HLB

La mejor estrategia para el control del HLB consiste en evitar que esta enfermedad arribe a las regiones productoras de cítricos. Sin embargo, cuando esto no se puede evitar, teniendo en cuenta la experiencia de otras regiones del mundo en las que se han presentado epidemias de HLB, se propone el manejo de la enfermedad mediante tres acciones principales que son complementarias entre sí. Estas acciones son (Bassanezi, 2012; Bové, 2006; Stansly, 2012):

1. Control eficiente de las poblaciones del insecto vector.
2. Detección y eliminación oportuna de árboles infectados con HLB.
3. Uso de plantas de cítricos certificadas y producidas dentro de estructuras de malla antiáfidos.

Referencias

- Agronet (2019). *Área, producción y rendimiento nacional por cultivo*. <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>. Consultado: 21-01-2020.
- Albrigo, L., & Stover, E. (2015). Effect of plant growth regulators and fungicides on Huanglongbing-related preharvest fruit drop of citrus. *Hort Technology*, 25(6), 785-790.
- Alemán, J., Baños, H., & Ravelo, J. (2007). *Diaphorina citri* y la enfermedad huanglongbing: una combinación destructiva para la producción cítrica. *Protección Vegetal*, 22, 154-165.
- Arredondo, B., H. C., Campos-Patiño, Y., Colorado-Herrera, L. I., Kondo, T., & Sánchez-González J. (2017). Procedimientos para la cría masiva de *Diaphorina citri* y *Tamarixia radiata*. En T. Kondo (Ed.), *Protocolo de cría y liberación de Tamarixia radiata (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae)* (pp. 81-95.) Mosquera (Colombia) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). Editorial Corpoica.
- Barrientos, C. (2012). Reconocimiento y manejo de las plagas y enfermedades de mayor importancia económica en los cítricos de la hacienda La cristalina en el municipio de Támesis. <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/607/1/RECONOCIMIENTO%20Y%20MANEJO%20DE%20LAS%20PLAGAS.pdf>.

- Bassanezi, R. B. (2012). *Epidemiology of Huanglongbing in Citrus*. IV Simposio Nacional y III Internacional de Bacterias Fitopatógenas. Guadalajara, Jalisco, México.
- Belasque, J. R., Yamamoto, P. T., De Miranda, M., Bassanezi, R., Ayres, A., & Bové, J. M. (2010). Controle do huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. *Citrus Research and Technology*, 31, 53-64.
- Binns, M., & Nyrop, J. (1992). Sampling insect populations for the purpose of IPM decision making. *Annual Review of Entomology*, 37, 427-453.
- Bové, J. M. (2006). Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, 88, 7-37.
- Bull, C. T., De Boer, S. H., Denny, T. P., Firrao, G., Fischer-Le Saux, M., Saddler, G. S., Scortichini, M., Stead, D. E., & Takikawa, Y. (2012). List of new names of plant pathogenic bacteria (2008-2010) Prepared by the International Society of Plant Pathology Committee on the Taxonomy of Plant Pathogenic Bacteria (ISPP-CTPPB.). *Journal of Plant Pathology*, 94(1), 21-27.
- Capoor, S. P., Rao, D. G., & Viswanath, S. M. (1974). Greening disease of citrus in the Deccan Trap Country and its relationship with the vector, *Diaphorina citri* Kuwayama. En: L. G. Weathers & M. Cohen (Eds.), Proceedings of the 6th Conference of the International Citrus Virology (pp. 43-49). Davis, EE. UU: University of California, Division of Agricultural Sciences.
- Chávez, Y., Chirinos, D. T.; González, G., Lemos, N., Fuentes, A., Castro, R., & Kondo, T. (2017). *Tamarixia radiata* (Waterston) and *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) as biological control agents of *Diaphorina citri* Kuwayama in Ecuador. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 77(2), 180-184.
- Da Graca, J. V., & Korsten, L. (2004). Citrus huanglongbing: Review, present status and future strategies. In: Naqvi, S. A. M. H. (Ed.). *Diseases of Fruits and Vegetables*, 1, 229-245.

- Dhawale, C. A., Misra, S., Thakur, S., & Jambhekar, N. D. (2016). Analysis of nutritional deficiency in citrus species tree leaf using image processing. En: 2016 International Conference on Advances in Computing, Communications and Informatics (ICACCI) (pp. 2248-2252). IEEE. Septiembre 2016.
- Diniz, A. J. F., Garcia, A. G., Alves, G. R., Reigada, C., Vieira, J. M., Parra, J. R. P. (2019). The enemy is outside: releasing the parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in external sources of HLB inocula to control the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Neotropical Entomology*, 49(2), 250-257. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00736-y>.
- Ebratt, E. E., Rubio, L. T., Costa, V. A., Zambrano, E. M., Castro, A. P., & Santamaria, M. Y. (2011a). Primer registro de *Tamarixia radiata* (Waterston 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 64(2), 6141-6146.
- Ebratt-Ravelo, E. E., Rubio-Gonzalez, L. T., Costa, V. A., Castro-Avila, A.P., Zambrano-Gomez, E. M., & Angel-Diaz, J. E. (2011b). *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1907) and *Tamarixia radiata* (Waterston 1922) in citrus crops of Cundinamarca, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 29(3), 487-493.
- Etcheberria, E., González, P., Achor, D., & Albrigo, G. (2009). Anatomical distribution of abnormally high levels of starch in HLB-affected Valencia orange trees. *Physiology Molecular Plant Pathology*, 74, 76-83. doi: 10.1016/j.pmpp.2009.09.004.
- Fan, J., Chen, C., Yu, Q., Khalaf, A., Achor, D. S., Brlansky, R. H., Moore, G. A., Li, Z., & Gmitter, F. G. (2012). Comparative transcriptional and anatomical analyses of tolerant rough lemon and susceptible sweet orange in response to 'Candidatus Liberibacter asiaticus' infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25(11), 1396-1407.

- Flint, M. L., Dreistadt, S. H., & Clark, J. K. (1998). *Natural enemies handbook: The illustrated guide to biological pest control*. UC Division of Agriculture and Natural Sciences.
- Flores-Sánchez, J. L., Mora-Aguilera, G., Loezakuk, E., López-Arroyo, J. I., Domínguez-Monge, S., Acevedo-Sánchez, G., & Robles-García, P. (2015). Pérdidas en producción inducidas por *Candidatus Liberibacter asiaticus* en limón persa, en Yucatán México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(2), 195-210.
- Folimonova, S. Y., Robertson, C. J., Garnsey, S. M., Gowda, S., & Dawson, W. O. (2009). Examination of the responses of different genotypes of citrus to Huanglongbing (Citrus Greening) under different conditions. *Phytopathology*, 99, 1346-1354.
- Folimonova, S. Y., & Achor, D. S. (2010). Early events of citrus greening (Huanglongbing) disease development at the ultrastructural level. *Phytopathology*, 100, 949-958. doi: 10.1094/PHYTO-100-9-0949.
- Fu, S. M., Hartung, J., Zhou, C. Y., Su, H. N., Tan, J., & Li, Z. A. (2015). Ultrastructural changes and putative phage particles observed in sweet orange leaves infected with 'Candidatus Liberibacter asiaticus'. *Plant Disease*, 99(3), 320-324.
- García, Y., Ramos, Y. P., Sotelo, P. A., & Kondo, T. (2016). Biología de *Diaphorina citri* (Hemiptera. Liviidae) bajo condiciones de invernadero en Palmira; Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 42(1), 36-42.
- Gibon, Y., Pyl, E. T., Sulpice, R., Lunn, J. E., Höhne, M., Günther, M., Stitt, M. et al. (2009). Adjustment of growth, starch turnover, protein content and central metabolism to a decrease of the carbon supply when *Arabidopsis* is grown in very short photoperiods. *Plant, Cell & Environment*, 32, 859-874. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01965.x.

- Gottwald, T. R., da Graça, J. V., & Bassanezi, R. B. (2007). Citrus Huanglongbing: the pathogen and its impact. Online. *Plant Health Progress*. doi:10.1094/PHP-2007-0906-01-RV.
- Grafton-Cardwell, E. E., Stelinski, L. L., & Stansly, P. A. (2013). Biology and management of Asian citrus -psyllid, Vector of the huanglongbing pathogens. *Annual Review of Entomology*, 58, 413-432.
- Guarín M. J., & Ospina P. C. (2020). *Incremento local de insectos benéficos para el cultivo de cítricos*. Editorial Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, AGROSAVIA.
- Haapalainen, M. (2014). Biology and epidemics of *Candidatus Liberibacter* species, psyllid-transmitted plant-pathogenic bacteria. *Annals of Applied Biology*, 165(2), 172-198.
- Halbert, S. E., & Manjunath, K. L. (2004). Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist*, 87, 330-353.
- Hall, D.G., & Albrigo, L. G. (2007). Estimating the relative abundance of flush shoots in citrus with implications on monitoring insects associated with flush. *Hortscience*, 42, 364-368.
- Hanson, P., & Hilje, L. (1993). Control biológico de insectos. CATIE. Serie técnica. Informe técnico No. 208. Colección de temas de fitoprotección para extensionistas. https://books.google.com.co/books?hl=en&lr=&id=NtzQPP6ntXkC&oi=fnd&pg=PA1&dq=control+biologico&ots=u3ibegrBT7&sig=cM-apKIk-CpryHHg3f3T0cDmkK2Q&redir_esc=y#v=onepage&q=control%20biologico&f=false.
- Hernández, B. (2013). Enfermedades bacterianas asociadas a cítricos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(Suplemento), S61-S62.

- Hilf, M. E. (2011). Colonization of citrus seed coats by '*Candidatus Liberibacter asiaticus*': Implications for seed transmission of the bacterium. *Phytopathology*, 101(10), 1242-1250.
- Hodges, A., & Thomas, S. (2012). "Economic Impacts of Citrus Greening (HLB). En: Florida, 2006/07–2010/11". EDIS 2012 (1). <https://journals.flvc.org/edis/article/view/119504>.
- Hung, T. H., Hung, S. C., Chen, C. N., Hsu, M. H., & Su, H. J. (2004). Detection by PCR of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the bacterium causing citrus huanglongbing in vector psyllids: application to the study of vector–pathogen relationships. *Plant Pathology*, 53(1), 96-102.
- Instituto Colombiano Agropecuario. (2010). *Situación actual de HLB (Huanglongbing) y su vector el psílido asiático de los cítricos (Diaphorina citri Kuwayama) en Colombia*. Boletín Epidemiológico, ICA.
- Instituto Colombiano Agropecuario. (2012). *Manejo fitosanitario del cultivo de cítricos (citrus), medidas para la temporada invernal*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Produmedios.
- Instituto Colombiano Agropecuario. (2012). *Manejo fitosanitario del cultivo de cítricos*. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/getattachment/18307859-8953-4a7d-8d7f-864e3f4898cf/Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-citricos.aspx>.
- Instituto Colombiano Agropecuario. (2019a). *Dispersión del HLB de los cítricos en Colombia. Factores asociados*. <https://www.revistaagrollanos.com/2019/12/13/dispersion-del-hlb-de-los-citricos-en-colombia-factores-asociados/>.
- Instituto Colombiano Agropecuario. (2019b). *Subgerencia de Protección Vegetal, Boletín n. 8. Alerta temprana fitosanitaria: Todos unidos contra el Huanglongbing (HLB) de los cítricos y su vector Diaphorina citri, Kuwayama - Alerta Amarilla*. <http://www.ica.gov.co/Multimedia/swf/RevistaVirtual/2015/alerta8.pdf>.

- Ilardi, V., & Catara, V. (2013). Candidatus Liberibacter'spp. Emerging Threats for Agriculture in the European and Mediterranean Region. *Biosafety*, 2, e135.
- INTA EEA Concordia. (2019). *Guía para identificar Huanglongbing (HLB) y su insecto vector*. https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_concordia_guia_hlb.pdf. Consultado: 21-01-2020.
- Keremane, M. L., Ramadugu, C., Castaneda, A., Díaz, J. E. P., Chen, E. A., Duan, Y. P., Halbert, S. E., & Lee, R. F. (2015). Report of *Candidatus Liberibacter caribbeanus*, a new citrus- and psyllid-associated Liberibacter from Colombia, South America. En: American Phytopathological Society Annual Meeting. APS Annual meeting. August 1-5. Pasadena, California. USA. http://www.apsnet.org/meetings/Documents/2015_meeting_abstracts/aps2015abO253.htm.
- King, W. (2012). Dispersión de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en el departamento del Tolima (Colombia). *Revista Tumbaga*, 7, 51-60.
- Kondo, T. (2017). Capítulo II. *Tamarixia radiata*. Pp. 35–38. En: Kondo, T. (Ed.). *Protocolo de cría y liberación de Tamarixia radiata Waterston (Hymenoptera: Eulophidae)* (pp. 35-38). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Kondo, T., González, G., Tauber, C., Guzmán, S., Y. C., Vinasco, M., A. F., & Forero, D. (2015). A checklist of natural enemies of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) in the department of Valle del Cauca, Colombia and the world. *Insecta Mundi*, 0457, 1-14.
- Kondo, T., & Simbaqueba-Cortes, R. (2014). *Sarucallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae), a new invasive aphid on San Andres island and mainland Colombia, with notes on other recent invasive species. *Insecta Mundi*, 0362, 1-10.
- Kondo, T., Quintero, E. M., Campuzano, M., Wyckhuys, K. A. G., & Heraty, J. (2012). First report of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), a

- parasitoid of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in the department of Valle del Cauca, Colombia. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 13(1), 48-51.
- Korytkowski, C. (s.f.) Protocolo para el monitoreo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). FAO. OIRSA. [https://www.oirsa.org/contenido/2018/Sanidad_Vegetal/WEB%20-%20DRSV-UCom%20-HLB/HLB/2.%20Manejo%20Integrado%20del%20HLB/Manuales/PROTOCOLO%20PARA%20EL%20MONITOREO%20DE%20Diaphorina%20citri%20Kuwayama%20\(HEMIPTERA%20PSYLLIDAE\)%20.pdf](https://www.oirsa.org/contenido/2018/Sanidad_Vegetal/WEB%20-%20DRSV-UCom%20-HLB/HLB/2.%20Manejo%20Integrado%20del%20HLB/Manuales/PROTOCOLO%20PARA%20EL%20MONITOREO%20DE%20Diaphorina%20citri%20Kuwayama%20(HEMIPTERA%20PSYLLIDAE)%20.pdf). Consultado: 13-12-2019.
- Laféche, D., & Bové, J. M. (1970). Structures de type mycoplasme dans les feuilles d'orangers atteints de la maladie du Greening. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris*, 270, 1915-1917.
- León, G., & Kondo, T. (2017). *Insectos y ácaros de los cítricos: compendio ilustrado de especies dañinas y benéficas, con técnicas para el manejo integrado de plagas*. Corpoica.
- Li, W., Hartung, J. S., & Levy, L. (2006). Quantitative real-time PCR for detection and identification of Candidatus Liberibacter species associated with citrus huanglongbing. *Journal of Microbiological Methods*, 66(1), 104-115.
- Liu, Y., Fang, Y., Huang, M. J., Jin, Y. L., Sun, J. L., Tao, X., et al. (2015). Uniconazole-induced starch accumulation in the bioenergy crop duckweed (*Landoltia punctata*) II: transcriptome alterations of pathways involved in carbohydrate metabolism and endogenous hormone crosstalk. *Biotechnology for Biofuels*, 8, 64. Doi: 10.1186/s13068-015-0245-8.
- Magomere, T. O., Obukosia, S. D., Mutitu, E., Ngichabe, C., Olubayo, F., & Shibairo, S. (2009). Molecular characterization of candidatus Liberibacter species/strains causing huanglongbing disease of citrus in Kenya. *Electronic Journal*

- of *Biotechnology*, 12, 1-14. <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol12/issue2/full/2/>.
- Manthey, J. A., Grohmann, K., Berhow, M. A., & Isserat, B. (2000). Changes in citrus leaf flavonoid concentrations resulting from blight-induced zinc-deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38(4), 333-343.
- Martínez-Cuenca, M. R., Primo-Capella, A., & Forner-Giner, M. A. (2017). Tolerance response mechanisms to iron deficiency stress in citrus plants. In Stress signaling in plants. *Genomics and Proteomics Perspective*, 2, 201-239.
- Mead, F. W., & Fasulo, T. R. (s. f.). Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae). Eeny-033. IFAS Extension University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN16000.pdf>. 7 p.
- Michaud, J. P. (2001). Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of Asian citrus psyllid, (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. *Florida Entomologist*, 84(4), 608-612.
- Michaud, J. P. (2002). Biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Florida: a preliminary report. *Entomological News*, 113(2), 216-222.
- Michaud, J. P. (2004). Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. *Biological Control*, 29(2), 260-269.
- Minagricultura.(2019).Cadenadecítricos:indicadoreseinstrumentos.Diciembre2019. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Citricos/Documentos/2019-12-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf?ID=352>. Consultado: 29-04-2020.
- Morris, J., Shiller, J., Mann, R., Smith, G., Yen, A., & Rodoni, B. (2017). Novel 'Candidatus Liberibacter' species identified in the Australian eggplant psyllid, *Acizzia solanicola*. *Microbial Biotechnology*, 10(4), 833-844.
- Parra, J. R., Alves, G., Diniz, A. J., & Vieira, J. (2016). *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) × *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): mass

- rearing and potential use of the parasitoid in Brazil. *Journal of Integrated Pest Management*, 7, 1-11.
- Pelz-Stelinski, K. S., Bransky, R. H., Ebert, T. A., & Rogers, M. E. (2010). Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 103(5), 1531-1541.
- Pérez-Artiles, L., Busoli, A. C., Sotelo, P. A., & Arcila, A. M. (2017). Biología y parámetros reproductivos de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) en diferentes hospederos de Rutaceae. *Revista Colombiana de Entomología*, 43(2), 141-150. ISSN 0120-0488.
- Pérez-Artiles, L., Guarín, J. H.; Rubiano, J. A.; Builes, S., Kondo, D.T., Porcel, M., Rodríguez, D. M., Castillo, G. P., González, C. E., Montes, J. M., Varón, E. H., Arcila, A. M., León, G., Fernández, M., & Hernández, J. F. (2018). *Tecnologías para el manejo integrado del patosistema Diaphorina citri – HLB en el cultivo de los cítricos en Colombia*. Agrosavia. Proyecto de investigación agenda 2018-2022.
- Pitino, M., Allen, V., Duan, Y. (2018). Las Δ 5315 Effector Induces Extreme Starch Accumulation and Chlorosis as Ca. *Liberibacter asiaticus* Infection in *Nicotiana benthamiana*. *Front. Plant Sci*, (9): 113. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00113>.
- Qureshi, J. A., & Stansly, P. A. (2007). Integrated approaches for managing the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 120, 110-115.
- Qureshi, J. A., & Stansly, P. A. (2009). Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. *Biological Control*, 50(2), 129-136.
- Razi, M. F., Khan, I. A., Jaskani, M. J. (2011). Citrus plant nutritional profile in relation to Huanglongbing prevalence in Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 48(4), 299-304.

- Restrepo-García, A. M., Arias-Ortega, P. L., & Soto-Giraldo, A. (2016). Primer reporte de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en el departamento de Caldas, Colombia. *Boletín Científico Museo de Historia Natural, Universidad de Caldas*, 20(1), 204-210.
- Sagaram, U. S., Deangelis, K. M., Trivedi, P., Andersen, G. L., Lu, S. E., & Wang, N. (2009). Bacterial diversity analysis of huanglongbing pathogen-infected citrus, using phylochip arrays and 16s rRNA gene clone library sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 1566-1574.
- Sandoval-Jiménez, D. E., Sánchez-González, J. A., Palomares-Pérez, M., & Arredondo-Bernal, H. C. (2013, noviembre 7-8). Avances sobre el estudio de la dispersión de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en huertas cítricas. En: Sociedad Mexicana de Control Biológico. Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca de Juárez, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2008). *Manual técnico para la detección y manejo del huanglongbing de los cítricos*. Dirección de Protección Fitosanitaria. Dirección General de Sanidad Vegetal MAT-DPF-HLB. Mayo/2008.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2014). *Manual de reproducción masiva de Tamarixia radiata, principal parasitoida del psílido asiático, vector del HLB de los cítricos*. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico.
- Sétamou, M; Bartels, DW. (2015). *Living on the edges: spatial niche occupation of asian citrus psyllid, Diaphorina citri kuwayama (Hemiptera: Liviidae), in citrus groves*. *PLoS One*, 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131917>.

- Sétamou, M., Flores, D., French, J. V., & Hall, D. G. (2008). Dispersion patterns and sampling plans for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. *Journal of Economic Entomology*, 101, 1478-1487.
- Shen, W., Cevallos-Cevallos, J. M., Da Rocha, U. N., Arevalo, H. A., Stansly, P. A., Roberts, P. D., & van Bruggen, A. H. (2013). Relation between plant nutrition, hormones, insecticide applications, bacterial endophytes, and Candidatus Liberibacter Ct values in citrus trees infected with Huanglongbing. *European Journal of Plant Pathology*, 137(4), 727-742.
- Srivastava, A. K. (2013). Nutrient deficiency symptomology in citrus: An effective diagnostic tool or just an aid for post-mortem analysis. *Agricultural Advances*, 2(6), 177-194.
- Stansly, P. A. (2012). *Biology and management of Asian citrus psyllid and HLB in Florida*. IV Simposio Nacional y III Internacional de Bacterias Fitopatógenas. Guadalajara. Jalisco, México.
- Stover, E., Shatters, R., McCollum, G., Hall, D.G., & Duan, Y. (2010). Evaluation of Candidatus Liberibacter asiaticus titer in field-infected trifoliolate cultivars: preliminary evidence for HLB resistance. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 123, 115-117.
- Tang, N., Li, Y., & Chen, L. S. (2012). Magnesium deficiency-induced impairment of photosynthesis in leaves of fruiting *Citrus reticulata* trees accompanied by up-regulation of antioxidant metabolism to avoid photo-oxidative damage. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 175(5), 784-793.
- Tatineni, S., Sagaram, U. S., Gowda, S., Robertson, C. J., Dawson, W. O., Iwanami, T., & Wang, N. (2008). In planta distribution of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and real-time PCR. *Phytopathology*, 98(5), 592-599.

- Thomas, D. B. (2012). Comparison of insect vacuums for sampling Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) on citrus trees. *Southwestern Entomologist*, 37, 55-60.
- Tsai, J. H., & Liu, Y. H. (2000). Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. *Journal of Economic Entomology*, 93, 1721-1725.
- Tsai, J. H., Wang, J. J., & Liu, Y. H. (2002). Seasonal abundance of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. *Florida Entomologist*, 85, 446-451.
- Wang, Y., Yu, B., Zhao, J., Guo, J., Li, Y., Han, S., et al. (2013). Autophagy contributes to leaf starch degradation. *Plant Cell*, 25, 1383-1399. doi: 10.1105/tpc.112.108993.
- Waterston, J. (1922). On the chalcidoid parasites of psyllids (Hemiptera, Homoptera). *Bulletin of Entomological Research*, 13(1), 41-58.
- Whitaker, D. C., Giurcanu, M. C., Young, L. J., Gonzalez, P., Etxeberria, E., Roberts, P., et al. (2014). Starch content of citrus leaves permits diagnosis of huanglongbing in the warm season but not cool season. *HortScience*, 49, 757-762.

Autores

Edgar Herney Varón Devia

Correo: evaron@agrosavia.co

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-9964-6968>

Ingeniero agrónomo de la Universidad del Tolima, con maestría en Agricultura Ecológica del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) y doctorado en Entomología de CATIE (Universidad de Idaho). Tiene experiencia de 13 años en el manejo integrado de plagas en cultivos, principalmente frutales, como mango, aguacate, pasifloras y cítricos. Su interés está enfocado en desarrollar programas de manejo integrado de artrópodos plaga en frutales de clima cálido y medio, que incluyan estrategias de muestreo de poblaciones, uso de control biológico e implementación de criterios de aplicación y desarrollo de herramientas alternativas a las tradicionales de carácter químico. Actualmente ocupa el cargo de investigador PhD asociado en el centro de investigación Nataima (El Espinal - Tolima) de AGROSAVIA.

Ángela María Vargas Berdugo

Correo: avargas@agrosavia.co

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0671-3055>

Investigadora con máster de AGROSAVIA. Asociada al centro de investigación Nataima, en la Red de innovación Cultivos Transitorios y Agroindustriales,

a partir de 2017. Microbióloga de la Universidad de los Andes y máster en Ciencias Agrarias, en el área de profundización de Fitopatología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Tiene una experiencia de 14 años en el diagnóstico de enfermedades y la estandarización de metodologías de detección causadas por patógenos obligados en cultivos de cítricos, maíz y ornamentales. Trabajó en el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y en el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Fitosanitario (LNDF). En la docencia, se ha desempeñado en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, y como investigadora en la Universidad Estatal de Michigan, en la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, y en la Universidad de los Andes, en investigaciones relacionadas con estudios poblacionales de patógenos de plantas.

Eleonora Rodríguez Polanco

Correo: lrodriguezp@agrosavia.co.

Código de Orcid: 0000-0002-8553-2449

Ingeniera agrónoma de la Universidad del Tolima, con maestría en Ciencias Agrarias, énfasis en Fitopatología, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, y doctorado en Fitopatología de la Universidad Federal de Vicosa MG-Brasil. Tiene experiencia de 19 años en el manejo integrado de enfermedades en cultivos, principalmente en cacao y frutales como mango, aguacate, cítricos y pasifloras. Su interés está enfocado en desarrollar programas de manejo integrado de enfermedades limitantes en frutales de clima cálido y medio, a partir de estudios de biología, etiología y caracterización de patógenos, mecanismos de resistencia microscópico y bioquímico en la planta, a través de criterios de aplicación y desarrollo de estrategias de manejo que consideren el empleo de inductores de resistencia, biomoléculas y fungicidas de baja

toxicidad. Actualmente ocupa el cargo de investigador PhD en el centro de investigación Nataima (El Espinal- Tolima) de AGROSAVIA.

Lumey Pérez Artilés

Correo: lpereza@agrosavia.co

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8192-1896>

Bióloga egresada de la Universidad de La Habana, Cuba, con maestría en Fruticultura Tropical y doctorado en Entomología Agrícola, de la Universidad Estatal Paulista, Julio de Mesquita Filho, Brasil. Tiene más de 15 años de experiencia en el manejo integrado de plagas y enfermedades. En la actualidad se desempeña como investigador PhD en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), centro de investigación Caribia. Entre sus líneas de investigación se encuentra el manejo integrado de plagas, fundamentalmente de insectos vectores de fitopatógenos en frutales, control biológico, diagnóstico de patógenos y manejo de los sistemas productivos de frutales. Además, cuenta con experiencia en transferencia de tecnologías de productos de la investigación y evaluación de su implementación. En los últimos años, sus trabajos de investigación han estado relacionados con el manejo del patosistema huanglongbing (HLB)- *Diaphorina citri* en cítricos.

Juan Humberto Guarín Molina

Correo: jguarin@agrosavia.co

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7757-0763>

Ingeniero agrónomo de la Universidad Nacional de Colombia, con maestría en Entomología, sede Medellín, y doctorado en Entomología de la Universidad de Sao Paulo, Escuela de posgrados USP-ESALQ, Piracicaba, Brasil. Tiene experiencia de 30 años en el manejo integrado de plagas en cultivos frutales como

cítricos, mora y pancoger. Su interés ha estado enfocado en el uso del control microbiano como parte integral del manejo de organismos asociados a estos cultivos, con la participación de los productores agropecuarios en la implementación de prácticas sostenibles, a partir de la biodiversidad de los sistemas productivos. Actualmente ocupa el cargo de investigador PhD en entomología del centro de investigación La Selva (Rionegro, Antioquia) de AGROSAVIA.

Demian Takumasa Kondo Rodríguez

Correo: tkondo@agrosavia.co

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3192-329>

Ingeniero agrónomo con maestría de la Universidad de Agricultura de Tokio (Japón) y doctorado en Entomología de la Auburn University, Alabama, EE.UU. Tiene 30 años de experiencia en la taxonomía de insectos escama (*Hemiptera: Coccoomorpha*) y 11 años de experiencia en el manejo integrado de plagas en cultivos, principalmente palma de aceite, chontaduro y en frutales tropicales como aguacate, cítricos, mango, pasifloras y pitaya amarilla. Tiene un interés en el control biológico aumentativo, clásico y de conservación. Actualmente ocupa el cargo de investigador PhD senior en AGROSAVIA, centro de investigación Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

Claudia Milena Flórez Cárdenas

Correo: cmflores@agrosavi.co

Código Orcid: 0000-0001-9266-6018

Ingeniera agrónoma de la Universidad del Tolima. Tiene experiencia de 6 años en el manejo integrado de plagas en cultivos, como cacao, café, mango, cítricos y guayaba. Su interés está enfocado en desarrollar programas de manejo integrado de plagas, que incluyan estrategias de uso de control biológico y desarrollo de herramientas que sustituyan manejo químico. Actualmente ocupa el

cargo de profesional de apoyo a la investigación en el centro de investigación Nataima (El Espinal, Tolima) de AGROSAVIA.

Paula Andrea Bermeo Fúquene

Correo: pbermeo@agrosavia.co

Código Orcid: 0000-0002-1838-3578

Ingeniera agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia. Experiencia de 2 años en microorganismos asociados con enfermedades y biocontrol en cultivos frutales como cítricos y pasifloras, de interés industrial como cacao, y en especies transitorias como arroz y forrajes. Su interés se enfoca en el uso de estrategias de diagnóstico alternativas y prácticas para la detección de enfermedades en plantas. Actualmente ocupa el cargo de profesional de apoyo a la investigación en el centro de investigación Nataima (El Espinal, Tolima) de AGROSAVIA.

Edgar Mauricio Rico Sierra

Correo: emrico@agrosavia.co

Código Orcid: orcid.org/0000-0003-4291-7119

Biólogo de la Universidad Nacional de Colombia con énfasis en biología molecular. Tiene 4 años de experiencia en el estudio de interacciones planta-patógeno, identificación de genes de resistencia en plantas e identificación molecular de insectos, hongos, virus y bacterias fitopatógenas. Adelanta procesos de investigación en el área de fitopatología molecular, ejecutando proyectos de investigación científica que permitan la generación de soluciones a problemas fitopatológicos apoyados en el conocimiento científico. Actualmente ocupa el cargo de profesional de apoyo a la investigación en el centro de investigación Nataima (El Espinal, Tolima) de AGROSAVIA.

**RESULTADO
PROYECTO:**

