



## El impacto de Huanglongbing, HLB, en la producción mundial de cítricos

Bryan G. Pineda Cagua, José Luis Hernández Mendoza,  
San Juana Hernández Delgado, Homar Rene Gill Langarica,  
Jesús Gerardo García Olivares, Xóchilt Fabiola De La Rosa Reyna,  
and Jesús Di Carlo Quiroz Velásquez\*

Centro de Biotecnología Genómica,  
Instituto Politécnico Nacional, Boulevard del Maestro, s/n esq. Elías Piña,  
Col. Narciso Mendoza, Cd. Reynosa, Tamaulipas, México, C.P. 88710

**Keys:** *Citrus tolerance, Huanglongbing, Genetic strategies;* **Claves:** *Tolerancia a los cítricos, Huanglongbing, Estrategias genéticas*

### ABSTRACT

**The impact of Huanglongbing (HLB) on global citrus production.** Orange cultivation originated in the Eastern Hemisphere, primarily in China, and later spread globally as a commercial fruit. In 2022, global orange production increased to a total of 49 million metric tons. Top producers include Brazil, China, the EU, Mexico, and the US. However, the citrus industry faces challenges due to Huanglongbing (HLB) disease. Researchers are exploring genetic modifications to achieve tolerance. This review explores the impact of the disease, citrus species of importance, improved varieties, and HLB's global evolution.

### RESUMEN

El cultivo de naranja se originó en el hemisferio oriental, principalmente en China, y luego se extendió por todo el mundo como fruta comercial. En 2022, la producción mundial de naranjas aumentó a un total de 49 millones de toneladas métricas. Los principales productores incluyen Brasil, China, la UE, México y Estados Unidos. Sin embargo, la industria de los cítricos enfrenta desafíos debido a la enfermedad de Huanglongbing (HLB). Los investigadores están explorando modificaciones genéticas para lograr tolerancia. Esta revisión explora el impacto de la enfermedad, las especies de cítricos de importancia, las variedades mejoradas y la evolución global del HLB.

Revista Boliviana de Química, 2024, 41, 34-43  
ISSN 0250-5460, Rev. Bol. Quim. Paper edition  
ISSN 2078-3949, Rev. boliv. quim. e-edition, Jan-Apr  
30 abril 2024, <https://doi.org/10.34098/2078-3949.41.1.5>

© 2024 Universidad Mayor de San Andrés,  
Facultad de Ciencias Puras y Naturales,  
Carrera Ciencias Químicas, Instituto de Investigaciones Químicas  
Open Access: <http://bolivianchemistryjournal.org>

<sup>1</sup> Recibido el 1 de diciembre 2023, aceptado el 11 de abril 2024, publicado el 30 de abril 2024. \*Mail: [jquiroz@ipn.mx](mailto:jquiroz@ipn.mx)



## INTRODUCCIÓN

EL cultivo de naranja tiene sus orígenes en el hemisferio oriental siendo principalmente cultivada en China, desde allí inicio su distribución hasta convertirse en un fruto de importancia comercial. En 2022 la producción mundial logró un aumento de 1.8 millones de toneladas métricas (MMT), llegando a un estimado total de 49 MMT. Los principales productores de naranja son Brasil (16.9 MMT), China (7.6 MMT), la Unión Europea (6.1 MMT), México (4.3 MMT) y Estados Unidos (3.5 MMT). Sin embargo, los tres principales productores de zumo de naranja son Brasil (1.1 MMT), Estados Unidos (190,000 toneladas) y México (170,000 toneladas)<sup>[1]</sup>.

Sin embargo, la producción cítrica se ha visto gravemente afectada por la enfermedad de Huanglongbing (HLB) inicialmente descubierta a finales del siglo XIX en China, conocida a nivel mundial como “Greening” por su nombre en inglés (Citrus Greening), o dragón amarillo (por la traducción literal de la palabra China Huanglongbing); una patología producida por la Alfa-Proteobacteria *Candidatus Liberibacter spp.*<sup>[2]</sup>.

Estudios en México durante el 2010, permitieron estimar que las pérdidas debido al HLB rondaron los \$239,000 millones de pesos, pues la superficie total del hospedante era 589,757.57 hectáreas (ha) con una producción de 8.3 MMT<sup>[3]</sup>. A la fecha, debido a condiciones de clima desfavorables y aumento de la ocurrencia de HLB, se estima que la producción en Estados Unidos se reducirá en un 13 % (siendo 3.5 MMT la producción más baja de los últimos 55 años), datos que contrastan con el aumento de la proyección China, pues su producción alcanzará el récord de 7.6 MMT, gracias al aumento de plantaciones y disminución de perdidas por la ocurrencia de HLB<sup>[1]</sup>.

La complejidad aumenta porque no existe una resistencia para el HLB y las estrategias de prevención se enfocan en mantener al margen la presencia de vectores que propaguen la  $\alpha$ -proteobacteria aplicando técnicas combinadas de biocontrol e insecticidas. Sin embargo, no solo es importante el manejo de la enfermedad basado en el control del insecto vector, sino que el manejo de la fenología del cultivo debe estar basado en la relación patógeno-planta y sus variaciones a través del tiempo<sup>[4]</sup>.

Por otro lado, múltiples estudios se han enfocado en introducir genes de resistencia al HLB en cítricos bien sea utilizando técnicas moleculares o mediante tratamientos con inductores de resistencia vegetal, pero estos no han sido concluyentes porque se requiere controlar varios factores adicionales para conservar las características de sabor de las frutas y rendimientos, garantizar y controlar la expresión génica de las plantas en campo, además de conseguir que sean selectivamente eficientes en el control del HLB<sup>[5]</sup>.

Por su parte, los productores han desarrollado una serie de estrategias de control que incluyen mantener al margen el vector, manejo nutricional mejorado, uso de vástagos tolerantes a HLB y portainjertos<sup>[6]</sup>, pero aún no ha sido posible identificar en detalle los posibles mecanismos involucrados en la tolerancia de los cítricos a la enfermedad, por ello presentamos esta revisión del impacto de la enfermedad en el cultivo de cítricos, abordando su etiología y reportes experimentales de estrategias genéticas de control, pues a la fecha las técnicas tradicionales de control han resultado ineficientes.

## ESPECIES DE CÍTRICOS DE IMPORTANCIA

El género *Citrus* comprende diferentes especies nativas y cultivadas comercialmente (híbridos con mutaciones o cruces específicos) que se han obtenido a partir de cruces específicos que iniciaron en China hace más de 4,000 años, tiempo en el que los frutos eran ácidos, pequeños y llenos de semillas<sup>[7]</sup>. Al respecto, se ha logrado identificar un locus involucrado en la disminución de la acidez, ubicado en el cromosoma 8 (0.3-2.2 Mb) de todas las variedades de las mandarinas y naranjas dulces actuales de baja acidez, el cual habría sido introgresado del pomelo; además compararon el genoma de 58 genotipos representativos, y determinaron que los cítricos descienden de diez especies naturales de un área cercana al Himalaya, delimitada por el este de la India, el norte de Myanmar y el oeste de Yunnan; resulta entonces posible que un cruce entre *C. reticulada* (mandarina) y *C. máxima* (pomelo) dio lugar a un fruto comestible que siguió cruzándose<sup>[8]</sup>.

Hoy en día los más importantes incluyen la naranja dulce (*C. sinensis*), naranja agria (*C. aurantium L.*), toronja (*C. paradisi*), naranja pomelo (*C. máxima*), mandarina (*C. reticulata*), lima (*C. aurantifolia*), y limón (*C. lemon*)<sup>[9]</sup>.

## Variedades mejoradas

Predominan variedades cultivadas obtenidas por cruzamientos tradicionales y hay algunas que han sido modificadas genéticamente que resultaron exitosas en la expresión de características deseables en la fruta, fenotipo de la planta y resistencia. Sin embargo, estos procesos de mejoramiento son complejos y largos en tiempo pues el género presenta: alta heterogeneidad genética, incompatibilidad propia y cruzada, poliembrionía, esterilidad y una fase juvenil larga [9]. Aun así, la transformación genética funciona para la mejora genética de los cítricos ya que se basa en la introducción de rasgos específicos en genotipos conocidos, sin alterar los antecedentes genéticos de elite [10] y, sobre todo, controlando las limitantes descritas anteriormente y por ende mejorando la eficiencia de las transformaciones y la posibilidad de regenerar plantas completas al lograr combinar las técnicas clásicas de botánica y citogenética con los avances de la genética, la biología molecular y la biotecnología.

La transformación de cítricos inducida por *Agrobacterium tumefaciens* ha sido estudiada y, a pesar de que los cítricos no son naturalmente susceptibles a esta bacteria, diversos estudios han logrado tasas de eficiencia de transformación que varían entre 0 y 45% utilizando cepas como LBA4404, C58, EHA101 y EHA105 [11]. Se destaca la cepa A281 derivada de EHA105, que logró la formación temprana y frecuente de tumores en el epicotilo y tallos de varias variedades de cítricos (Naranja piña-dulce, lima mexicana, carrizo, limón fino, mandarina cleopatra y mediterránea). Los callos resultaron ser las células más competentes para la regeneración, lo que sugiere la importancia de utilizar medios de cultivo ricos en auxinas y períodos de oscuridad de 2 a 4 semanas para mejorar la eficiencia de la transformación [10], [12].

Otra técnica de transformación implica el uso de bombardeo de partículas microscópicas en los epicotilos de los cítricos con la que se ha logrado la transformación exitosa de *Carrizo citrange* mediante este método, donde el ADN de interés se inserta en el genoma de la planta [13]. También se ha utilizado la tecnología CRISPR/Cas9 para editar genes específicos en cítricos, como la modificación del gen CsLOB1 para mejorar la resistencia al cáncer de los cítricos y la edición del gen PDS en naranja dulce para lograr embriones transgénicos albinos [7], [10], [14]-[17].

La regeneración de plantas transgénicas de cítricos es un desafío debido a su recalcitrancia. Se han utilizado métodos como la organogénesis y la embriogénesis somática para regenerar plantas transgénicas de varias especies de cítricos. La orientación del explante, la polaridad, el contacto con la superficie del medio y los reguladores de crecimiento son factores críticos para mejorar la eficiencia de la transformación. Además, se han empleado técnicas de microinjerto para enraizar los brotes y embriones; y la edición del genoma también ofrece oportunidades para mejorar características de interés en los cítricos [10].

Es importante resaltar que el proceso de desarrollo de variedades mejoradas de cítricos puede llevar muchos años, ya que implica la selección y evaluación de múltiples generaciones de planta; tradicionalmente es a través de cruces selectivos y la evaluación continua de las plantas que se logra obtener nuevas variedades mejoradas que se adaptan a las condiciones y demandas de los productores y consumidores. Por su parte, los programas de mejoramiento genético se centran en características como sabor, jugosidad, resistencia a enfermedades, tamaño del fruto y otros atributos deseables [10]; en la tabla 1 se muestran algunos desarrollos biotecnológicos en *citrus sinensis*:

Tabla 1. Modificaciones genéticas en citrus sinensis

Rasgo	Gen de interes	Estrategia	Referencias
Resistencia al cáncer de los cítricos	CsLOB1	Edición génica	[15]
	WRKY22	Edición génica	[16]
	hrpN	Sobreexpresión	[18]
	Attacin A	Sobreexpresión	[19]
	MdSPDS1	Sobreexpresión	[20]
	NPR1 (T)	Sobreexpresión	[21]
Resistencia al HLB	Cecopin B	Sobreexpresión	[22]
	SAMT1	Sobreexpresión	[23]
Reducción de la atracción por D. citri	Enzima $\beta$ -cariofileno sintasa	Sobreexpresión	[24]
Resistencia al Virus de la Psoriasis de los Cítricos	Proteína de cubierta CPsV	Silenciamiento de ARN	[25]
Síntesis del contenido de $\beta$ -Caroteno	Cs $\beta$ -CHX	Silenciamiento de ARN	[26]

Por otro lado, hay ocasionalmente mutaciones esporádicas o espontáneas que resultan críticas para el desarrollo de nuevas variedades de cítricos, pero son poco comunes; y las mutaciones inducidas, que pueden aumentar intensamente la tasa de mutación, incrementando la variación genética disponible para la selección. Para lograr el mejoramiento se han utilizado mutágenos químicos, luz ultravioleta, rayos de alta energía, rayos X, neutrones rápidos, neutrones térmicos y rayos gamma (que se ha convertido en el inductor estándar responsable de la liberación de variedades mutadas comercialmente exitosas, ver tabla 2):

Tabla 2. Variedades de cítricos mejoradas más cultivadas [9]

Especie	Variedad parental	Mutante	Característica mejorada	mutagénesis
<i>C. deliciosa</i>	común	EC31/1	Bajo contenido de semillas y tolerancia al frío	Radiaciones Gamma
<i>C. sinensis</i>	Valencia	Valencia 2 INTA	Formación de frutos	Rayos X (20 GY)
	Ruby Red	Rio Red	Color del fruto	Neutrones térmicos
<i>C. paradisi</i>	Hudson	Star Ruby	Sin semillas	Neutrones térmicos

En la producción comercial de naranjas se suele hacer propagación de semillas para obtener portainjertos, mismos que luego se injertan con el cultivar deseado. Entre los factores que influyen en la selección del portainjerto se encuentra la compatibilidad con el vástago, el vigor deseado del árbol, tolerancia al estrés y las enfermedades transmitidas por el suelo; y aunque generalmente esta tolerancia no se transfiera al árbol injertado de manera que reduzca la incidencia de la enfermedad, si permite, por ejemplo, que el vástago mantenga su productividad bajo condiciones endémicas de HLB [27].

### ENFERMEDAD DE HUANGLONGBING (HLB)

Esta enfermedad es endémica de la provincia China de Guangdong, y aunque la principal característica es el amarillamiento general de las hojas, allí la sintomatología comúnmente fue agrupada en tres tipos: amarillamiento, moteamiento y visualmente similar a la deficiencia de Zinc (Zn) [28], ver Figura 1

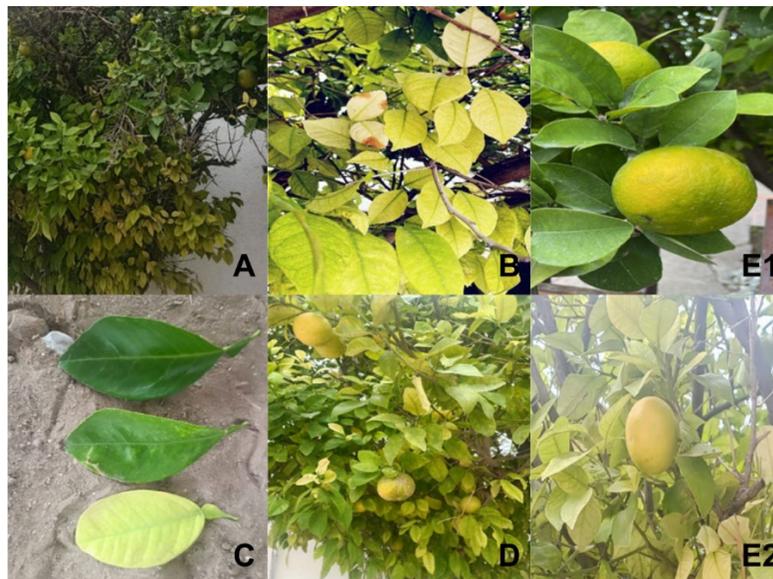


Figura 1. Tipos de síntomas del HLB: **A**, brotes amarillos; **B**, hoja uniformemente amarillenta; **C**, hojas moteadas; y **D**, similar a la deficiencia de Zn. **E1**, fruto con cambio de color iniciado desde el extremo del tallo y **E2**, fruto con cambio de color iniciado desde el extremo de la flor.



Los síntomas de HLB en hojas pueden confundirse con deficiencias nutricionales o incluso con el daño de plagas y otras enfermedades, sin embargo, presenta características distintivas: diferentes estudios indican que el HLB estructuralmente afecta los tejidos del floema causando problemas para el transporte de nutrientes en las plantas hospederas [29], esto desencadena la presencia de brotes vegetativos maduros amarillentos con moteado y distribución asimétrica, retraso en el crecimiento de plantas en desarrollo, menores porcentaje de rendimiento, producción de fruta deforme, con pobre coloración, con menos peso y tamaño, la que además puede desprenderse del árbol prematuramente [30].

Histológicamente, los síntomas incluyen acumulación de almidón en las hojas, depósitos de calosa que bloquean los poros del tubo criboso y, finalmente, necrosis y colapso del floema. El desequilibrio metabólico se genera con el tiempo debido al suministro deficiente de compuestos de carbono, también se ha encontrado deficiencias de almidón en raíces estructurales grandes [31], las frutas de árboles con HLB tienen menos azúcar y con el avance de la enfermedad se encuentra almidón en abundancia en las hojas maduras [32].

Se considera a esta enfermedad como una de las más destructivas de los cítricos en el mundo por la severidad de los síntomas, la rapidez con la que se dispersa y porque aún no existe una cura definitiva, todo esto se correlaciona con los reportes de impacto epidémico, con niveles de incidencia que van desde el 26 % en Brasil, hasta el 100 % en China [33].

### ***Candidatus liberibacter spp (CaL)***

Es el agente causal del HLB, estudios filogenéticos de la región 16s ARNr demuestran que pertenece a las  $\alpha$ -proteobacterias. *CaL*. tiene de 0.2 a 0.3  $\mu\text{m}$  de diámetro, una membrana característica de las bacterias Gramnegativas, una capa de peptidoglicano poco visible, y no tiene evidencia de flagelos. Se aloja en los tubos cribosos del floema y puede presentar formas redondas cuando termina su ciclo celular. Se transmite por insectos vectores, donde se encuentra en la hemolinfa y las glándulas salivales; también se puede dispersar por brotes, injertos y escasamente por semilla infectada (inóculo primario en campo) [34].

De acuerdo con la Norma Internacional de Medidas Fitosanitarias (NIMF) No. 5 Glosario de términos fitosanitarios, *C. Liberibacter spp.* cumple con la definición de plaga cuarentenaria y tiene como hospedante principal a las plantas de la familia Rutaceae [35].

### **Evolución de la enfermedad a nivel mundial**

Los primeros reportes fueron a finales del siglo XIX en el continente asiático en China, de ahí la nomenclatura de “*Ca. L. asiaticus*”. Luego se reportó en 1920 en Taiwán y las islas Filipinas. A finales de ese mismo año se detectó una nueva especie de *Candidatus* en Sudáfrica nombrada “*Ca. L. africanus*”. En 2004, se detectó la especie *Ca L. asiaticus* en la localidad de Araracuara, Sao Paulo, Brasil, posteriormente, se reportó una nueva especie de “*C. Liberibacter spp.*” en cítricos a la que se nombró “*Ca. L. americanus*”. En 2005, se reportó a “*Ca. L. asiaticus*” en Florida, EUA; y en 2015 se reportó por primera vez en Colombia la especie “*Ca L. caribbeanus*” [35].

El HLB representa una seria amenaza para la industria citrícola en México, un ejemplo de su impacto se observó en los municipios de Tecomán y Armería, en el estado de Colima, donde entre 2010 y 2014 el HLB provocó la conversión de alrededor de 5000 hectáreas de plantaciones de cítricos a otros cultivos [35]; Esto resultó en una disminución de aproximadamente 84,721 toneladas de limón y una pérdida económica de MX\$302,636,729. Además de los impactos económicos, esta enfermedad también impone restricciones en la movilización y comercialización de plantas y frutas cítricas en el país [36].

### **Vector**

Los vectores asociados con la propagación del HLB son *Diaphorina citri* (Hemiptera: *Psyllidae*) y *Trioza erytrae* (Hemiptera: *Trioziidae*), nativos del continente asiático y africano respectivamente. La infestación de *D. citri* en arboles cítricos es asintomática, mientras que *T. erytrae* produce agallas globulares en la parte inferior de las hojas por la alimentación de las ninfas [37].

El insecto inyecta la bacteria dentro del árbol, esta se mueve por el floema e impide la correcta circulación del agua y sustancias orgánicas derivadas de la fotosíntesis. Si un adulto del insecto se alimenta de una planta infectada con HLB, adquiere al patógeno antes de media hora y la bacteria se reproduce dentro de él. En cambio, a las ninfas les basta con alimentarse durante 15 minutos para incubar y transferir la bacteria a la semana, o semana y media [38].



*D. citri* fue reportado por primera vez en México en 2002 en los estados de Campeche y Quintana Roo; En los años siguientes, se desplazó hacia las zonas costeras occidentales y del norte, y en solo 6 años se dispersó y se estableció en casi todas las zonas de cultivo de cítricos del país y en áreas urbanas donde existen plantas de cítricos [36].

### Transmisión de *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs)

La transmisión de CLAs está estrechamente relacionada al desarrollo del insecto, en el estado ninfal ocurre la adquisición y está se correlaciona directamente con la cantidad de CLAs disponible en el tejido vascular de las hojas (Hosseinzadeh y Heck, 2023). CLAs es responsable de la síntesis de calosa en la placa de tamiz del floema, lo que conduce a la obstrucción de los poros que proporcionan conexiones entre los elementos de tamiz adyacentes, limitando el transporte simplástico de los azúcares y almidones sintetizados en las hojas a los otros órganos de la planta [39].

Un modelo de la dinámica entre el agente causal y el vector propone que las células bacterianas invaden las células epiteliales mediante endocitosis y se detecta la presencia de CLAs en hemocitos y gotas de grasa. Luego, CLAs llega a la lámina basal de la glándula salival, donde se reproduce en niveles elevados en adultos. Durante la salivación, *D. citri* inyecta saliva que contiene CLAs en las células del floema de la planta, junto con proteínas efectoras salivales que fortalecen la inmunidad de la planta. En el floema, CLAs se replica y se disemina por toda la planta. Las ninfas recién nacidas adquieren células CLAs del tejido vascular en desarrollo, lo que provoca la muerte celular y la apoptosis, contribuyendo así al desarrollo de los síntomas de HLB. Además, CLAs también puede invadir los órganos reproductores del insecto en niveles bajos, lo que resulta en la transmisión sexual o la infección materna de la descendencia. Las interacciones de CLAs con el bacterioma del insecto son menos conocidas, y se necesita más investigación para comprender cómo CLAs afecta a la comunidad de otros endosimbiontes bacterianos en el psílido [40].

Autores reportan que a partir de semillas de frutos con HLB propagaron plántulas de diferentes especies de cítricos incluyendo naranja dulce para determinar si la enfermedad era transmitida, los resultados indican que se redujo significativamente el peso de la semilla, la germinación y altura de las plántulas, sin embargo, éstas no desarrollaron síntomas típicos de HLB a lo largo del experimento ni se pudo identificar la presencia de CLAs por PCR en dichas plantas aun cuando se hicieron pruebas a lo largo de 6 años [41].

### GENOTIPOS CÍTRICOS TOLERANTES A CLAS

La definición de resistencia varía; en general, una planta resistente tendrá un nivel mucho más bajo del patógeno en comparación con una planta susceptible y no será sintomática. Los taxones susceptibles suelen tener una concentración de patógeno más alto y mostrarán síntomas. Sin embargo, la tolerancia es difícil de medir porque las plantas tolerantes pueden tener síntomas típicos de la enfermedad, pero continúan produciendo frutos. Por otro lado, la inmunidad se define como un estado en el que el patógeno nunca se detecta en la planta, aunque esté expuesta al mismo [42].

Las plantas pueden desarrollar inmunidad innata debido a defensas estructurales, químicas o basadas en proteínas [43]; estas proteínas y sus respectivos genes son objeto de intensa investigación en el campo de la biología de plantas y patología vegetal, ya que entender su funcionamiento y regulación es crucial para desarrollar estrategias de mejora de cultivos más resistentes a enfermedades. En la tabla 3 se mencionan algunas proteínas asociadas con la interacción planta-patógeno.

Especies cercanas taxonómicamente entre los cítricos parecen permitir la replicación de CaL por un corto período de tiempo antes de suprimirlos por completo, por ejemplo, la manzana de madera india (*Limonia acidissima*; sin. *Feronia acidissima*) es un huésped transitorio de CLAs. También se ha informado que las especies de *Murraya* tienen concentraciones muy bajas de CLAs y pueden actuar como posibles huéspedes transitorios de *Liberibacter spp.* [42].

La respuesta de los cítricos al HLB aún es confusa, la variabilidad puede darse por los genotipos del huésped, la ubicación geográfica, las prácticas culturales o las diferencias en la patogenicidad de diversos aislados de CaL [42]; por ejemplo, se informó que las toronjas de muchos países asiáticos son resistentes al HLB, pero estudios posteriores de las mismas regiones geográficas informan que las toronjas son susceptibles. *Murraya paniculata* ha sido reportada como resistente a HLB de Taiwán, pero como susceptible a ambos *Ca L. asiaticus* y *Ca. L. americanus* de Brasil [42], [44].

Algunos genotipos de cítricos han sido reportados como tolerantes a la infección de CLAs y aunque los mecanismos moleculares involucrados aún son poco claros, la evidencia sugiere que se debe a una mejor actividad en la dinámica del floema. Estudios de la respuesta transcripcional de hojas de limón persa infectado con CLAs mostraron una

sobreexpresión de los genes CIPR1, CINFP, CIDRL27, and CISPCK mientras que la expresión de los genes CIHLS1, CIRPP13, CIPDR1, and CINAC fue reprimida [44].

Tabla 3. Proteínas asociadas con la interacción planta-patógeno

<b>Tipo de proteína</b>	<b>Función</b>	<b>Genes relacionados</b>
De reconocimiento de patógenos (PR)	Componentes clave del sistema de defensa de las plantas, participan en la detección y respuesta temprana a la presencia de patógenos.	PR1, PR2, PR3, PR4, PR5
Quinasas asociadas a la resistencia (R):	Señalización intracelular que activa las respuestas de defensa específicas.	RIN4, RPS2, RPM1
Efectoras del patógeno	son secretadas por los patógenos y tienen como objetivo suprimir la respuesta inmune de la planta	AvrPto, AvrRpm1, AvrPm3
De defensa inducidas por patógenos	activación y regulación de las respuestas de defensa de la planta, brindando resistencia frente a los patógenos invasores.	PR-10, chitinasa, $\beta$ -1,3-glucanasa
De señalización en respuesta a patógenos	mediadores en la comunicación intracelular, transmitiendo información sobre la presencia de patógenos y desencadenando respuestas de defensa coordinadas	NPR1, MAP quinasas, ERFs

Al evaluar la tolerancia al HLB en la variedad de lima persa (triploide que se considera uno de los cultivares más tolerante) comparando su comportamiento a nivel fisiológico y bioquímico con el de su progenitor diploide, la lima mexicana, se infirió que la mayor tolerancia de la lima persa al HLB se asoció con un mayor tamaño de poro en la placa cribosa de las células del floema en el peciolo de la hoja en comparación con la lima mexicana. Además, al investigar muestras de peciolos infectados en hojas asintomáticas, observaron una mayor deposición de calosa en la lima mexicana en comparación con la lima persa, mientras que en hojas sintomáticas se observaron importantes deposiciones de calosa en ambos tipos de lima [39]. Estos resultados proporcionan información sobre rasgos específicos asociados con la poliploidía, como el tamaño de los poros del floema, así como los procesos de desintoxicación de la lima persa, los cuales ayudan a mantener el flujo del floema en la planta y, por lo tanto, resultan en una mejor tolerancia al HLB.

También se ha identificado que árboles transgénicos de naranja valencia (*Citrus sinensis Osbeck*) que sobre-expresaban el gen NPR1 de *Arabidopsis thaliana* (AtNPR1) se mantuvieron libres de HLB cuando se cultivaron en un sitio con presencia de la enfermedad, y tras realizar un análisis del transcriptoma se concluyó que AtNPR1 regula positivamente los mecanismos de defensa innata en los cítricos, fortaleciendo la resistencia y protegiendo eficazmente a la planta contra el HLB [45].

Por otro lado, utilizando la técnica de secuenciación de ARN (ARN-Seq) se han evaluado las diferencias de expresión génica entre dos cultivares estrechamente relacionados después de la infección por HLB: los árboles tolerantes al HLB de pomelo "Jackson" y los árboles susceptibles al HLB de pomelo "Marsh". Los autores lograron identificar un total de 686 genes con expresión diferencial (DE) entre los dos cultivares, de ellos, 247 genes mostraron una mayor expresión y 439 genes mostraron una menor expresión en los árboles cítricos tolerantes al HLB. Con esta investigación se identificaron algunos blancos potenciales, como genes similares a DMR6 y NPR1 para el mejoramiento de cítricos tolerantes a HLB en el futuro [16].

Se reporta que el tipo de portainjertos utilizados para el cultivo de cítricos tiene un efecto sobre la incidencia de la enfermedad HLB en los cultivares vástagos [41]. considerando esto, Ramadugu y colaboradores en 2016 [42] cultivaron plántulas a partir de semillas pudiendo evaluar los cultivares sin los efectos de confusión de los portainjertos. De este estudio solo dos accesiones (de un total de 90) fueron totalmente inmunes al HLB y seis se consideraron hospedantes resistentes. Los autores también concluyen que las dos accesiones de *Poncirus* estudiadas son resistentes al psilido y tolerantes a HLB, sin embargo, la tolerancia HLB registrada en las accesiones de *Poncirus trifoliata* no se observó en



cuatro híbridos de *Citrus* y *Poncirus* probados en este estudio, *citrango* 'Rusk', *citrangelo* 'S-281', *citrumelo* 'Swingle' (*C. paradisi* Duncan × *P. trifoliata*), y 'X639' (*Citrus reshni* Cleopatra mandarina × *Poncirus trifoliata*).

## CONCLUSIONES

Entender los mecanismos involucrados en la transmisión y propagación del HLB es fundamental para lograr desarrollar diferentes estrategias de mejoramiento, inducción de tolerancia y control convencional en cítricos que puedan mitigar los efectos que esta enfermedad ocasiona en la producción mundial. Los avances tecnológicos, que van desde la inducción de mutaciones aleatorias hasta la edición precisa de genes utilizando CRISPR/Cas9, representan una serie de herramientas poderosas para abordar desafíos críticos como la resistencia al (HLB) y otras amenazas fitosanitarias.

Es importante destacar que, aunque estas tecnologías ofrecen un gran potencial para la mejora de cultivos, la percepción pública sigue siendo un factor fundamental. La comprensión y aceptación de estas técnicas por parte de la sociedad son esenciales para impulsar políticas menos restrictivas y permitir avances más rápidos en la investigación agrícola, por ello quisimos resaltar que la edición de genes no implica la introducción de material genético exógeno en las plantas, lo que debería contribuir a disminuir los sesgos y temores infundados.

## RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional – Centro de Biotecnología Genómica, al CONACYT al programa BEIFI-IPN, al Proyecto SIP IPN 20230455 por el financiamiento otorgado. Al programa de Estímulo al Desempeño de los Investigadores (EDI IPN), al cual pertenece el Dr. Jesús Di Carlo Quiroz Velásquez (EDI IPN, nivel 4) y Nivel Candidato del SNI.

## REFERENCIAS

- <sup>1</sup> USDA, “Citrus: World Markets and Trade,” 2023. Online. Available: <https://public.govdelivery.com/accounts/USDAFAS/subscriber/new>
- <sup>2</sup> X. Zhao *et al.*, “Pollen magnetofection for genetic modification with magnetic nanoparticles as gene carriers,” *Nat Plants*, vol. 3, no. 12, pp. 956–964, Nov. 2017, doi: 10.1038/s41477-017-0063-z.
- <sup>3</sup> D. Salcedo *et al.*, “Evaluación del impacto económico de la enfermedad de los cítricos huanglongbing (HLB) en la cadena citrícola mexicana,” *Perspectivas*, vol. 40, 2011.
- <sup>4</sup> J. Abel Lopez *et al.*, “Dynamics of Huanglongbing-associated Bacterium Candidatus Liberibacter asiaticus in *Citrus aurantifolia* Swingle (Mexican Lime),” *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol. 20, no. 3, pp. 113–123, Feb. 2017, doi: 10.3923/pjbs.2017.113.123.
- <sup>5</sup> J. Hu, J. Jiang, and N. Wang, “Control of Citrus Huanglongbing via Trunk Injection of Plant Defense Activators and Antibiotics,” *Phytopathology*, vol. 108, no. 2, pp. 186–195, Feb. 2018, doi: 10.1094/PHYTO-05-17-0175-R.
- <sup>6</sup> K. D. Bowman and U. Albrecht, “Rootstock Influences on Health and Growth Following Candidatus Liberibacter asiaticus Infection in Young Sweet Orange Trees,” *Agronomy*, vol. 10, no. 12, p. 1907, Dec. 2020, doi: 10.3390/agronomy10121907.
- <sup>7</sup> R. L. Gómez, L. S. Sendín, V. A. Ledesma, L. A. Romero, and M. P. Filippone, “Mejoramiento genético de los cítricos: millones de años de evolución Citrus Breeding: million years of evolution,” 2020.
- <sup>8</sup> G. A. Wu *et al.*, “Genomics of the origin and evolution of Citrus,” *Nature*, vol. 554, no. 7692, pp. 311–316, Feb. 2018, doi: 10.1038/nature25447.
- <sup>9</sup> K. Gill, P. Kumar, A. Kumar, B. Kapoor, R. Sharma, and A. K. Joshi, “Comprehensive mechanistic insights into the citrus genetics, breeding challenges, biotechnological implications, and omics-based interventions,” *Tree Genetics and Genomes*, vol. 18, no. 2. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, Apr. 01, 2022. doi: 10.1007/s11295-022-01544-z.
- <sup>10</sup> G. Conti, B. Xoconostle-Cázares, G. Marcelino-Pérez, H. E. Hopp, and C. A. Reyes, “Citrus Genetic Transformation: An Overview of the Current Strategies and Insights on the New Emerging Technologies,” *Frontiers in Plant Science*, vol. 12. Frontiers Media S.A., Nov. 30, 2021. doi: 10.3389/fpls.2021.768197.
- <sup>11</sup> V. Febres, L. Fisher, A. Khalaf, and G. A., “Citrus Transformation: Challenges and Prospects,” in *Genetic Transformation*, InTech, 2011. doi: 10.5772/24526.
- <sup>12</sup> L. Peña, M. Martín-Trillo, J. Juárez, J. A. Pina, L. Navarro, and J. M. Martínez-Zapater, “Constitutive expression of Arabidopsis LEAFY or APETALA1 genes in citrus reduces their generation time,” *Nat Biotechnol*, vol. 19, no. 3, pp. 263–267, Mar. 2001, doi: 10.1038/85719.



- <sup>13</sup> H. Wu, Y. Acanda, H. Jia, N. Wang, and J. Zale, “Biostilic transformation of Carrizo citrange (*Citrus sinensis* Osb. × *Poncirus trifoliata* L. Raf.),” *Plant Cell Rep*, vol. 35, no. 9, pp. 1955–1962, Sep. 2016, doi: 10.1007/s00299-016-2010-2.
- <sup>14</sup> H. Jia *et al.*, “Genome editing of the disease susceptibility gene *Cs <scp>LOB</scp> 1* in citrus confers resistance to citrus canker,” *Plant Biotechnol J*, vol. 15, no. 7, pp. 817–823, Jul. 2017, doi: 10.1111/pbi.12677.
- <sup>15</sup> A. Peng *et al.*, “Engineering canker-resistant plants through <scp>CRISPR</scp> /Cas9-targeted editing of the susceptibility gene *Cs <scp>LOB</scp> 1* promoter in citrus,” *Plant Biotechnol J*, vol. 15, no. 12, pp. 1509–1519, Dec. 2017. H. Jia *et al.*, “Genome editing of the disease susceptibility gene *Cs <scp>LOB</scp> 1* in citrus confers resistance to citrus canker,” *Plant Biotechnol J*, vol. 15, no. 7, pp. 817–823, Jul. 2017, doi: 10.1111/pbi.12677.
- <sup>16</sup> L. Wang, S. Chen, A. Peng, Z. Xie, Y. He, and X. Zou, “CRISPR/Cas9-mediated editing of *CsWRKY22* reduces susceptibility to *Xanthomonas citri* subsp. *citri* in Wanjincheng orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck),” *Plant Biotechnol Rep*, vol. 13, no. 5, pp. 501–510, Oct. 2019, doi: 10.1007/s11816-019-00556-x.
- <sup>17</sup> M. Dutt, Z. Mou, X. Zhang, S. E. Tanwir, and J. W. Grosser, “Efficient CRISPR/Cas9 genome editing with Citrus embryogenic cell cultures,” *BMC Biotechnol*, vol. 20, no. 1, p. 58, Dec. 2020, doi: 10.1186/s12896-020-00652-9.
- <sup>18</sup> J. M. Barbosa-Mendes, F. de A. A. M. Filho, A. B. Filho, R. Harakava, S. V. Beer, and B. M. J. Mendes, “Genetic transformation of *Citrus sinensis* cv. Hamlin with *hrpN* gene from *Erwinia amylovora* and evaluation of the transgenic lines for resistance to citrus canker,” *Sci Hortic*, vol. 122, no. 1, pp. 109–115, Sep. 2009, doi: 10.1016/j.scienta.2009.04.001
- <sup>19</sup> S. C. Cardoso *et al.*, “Transgenic Sweet Orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Expressing the attacin A Gene for Resistance to *Xanthomonas citri* subsp. *citri*,” *Plant Mol Biol Report*, vol. 28, no. 2, pp. 185–192, Jun. 2010, doi: 10.1007/s11105-009-0141-0.
- <sup>20</sup> X.-Z. Fu, C.-W. Chen, Y. Wang, J.-H. Liu, and T. Moriguchi, “Ectopic expression of *MdSPDS1* in sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck) reduces canker susceptibility: involvement of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and transcriptional alteration,” *BMC Plant Biol*, vol. 11, no. 1, p. 55, Dec. 2011, doi: 10.1186/1471-2229-11-55.
- <sup>21</sup> M. Dutt, G. Barthe, M. Irely, and J. Grosser, “Transgenic Citrus Expressing an Arabidopsis NPR1 Gene Exhibit Enhanced Resistance against Huanglongbing (HLB; Citrus Greening),” *PLoS One*, vol. 10, no. 9, p. e0137134, Sep. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0137134.
- <sup>22</sup> X. Zou *et al.*, “Transgenic citrus expressing synthesized cecropin B genes in the phloem exhibits decreased susceptibility to Huanglongbing,” *Plant Mol Biol*, vol. 93, no. 4–5, pp. 341–353, Mar. 2017, doi: 10.1007/s11103-016-0565-5.
- <sup>23</sup> X. Zou *et al.*, “Overexpression of Salicylic Acid Carboxyl Methyltransferase (*CsSAMT1*) Enhances Tolerance to Huanglongbing Disease in Wanjincheng Orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck),” *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 6, p. 2803, Mar. 2021, doi: 10.3390/ijms22062803.
- <sup>24</sup> B. Alquézar, L. Carmona, S. Bennici, M. P. Miranda, R. B. Bassanezi, and L. Peña, “Cultural Management of Huanglongbing: Current Status and Ongoing Research,” *Phytopathology*, vol. 112, no. 1, pp. 11–25, Jan. 2022, doi: 10.1094/PHYTO-08-21-0358-IA.
- <sup>25</sup> C. A. Reyes, M. C. Zaneck, K. Velázquez, N. Costa, M. I. Plata, and M. L. Garcia, “Generation of Sweet Orange Transgenic Lines and Evaluation of *Citrus psorosis virus* -derived Resistance against Psorosis A and Psorosis B,” *Journal of Phytopathology*, vol. 159, no. 7–8, pp. 531–537, Aug. 2011, doi: 10.1111/j.1439-0434.2011.01800.x.
- <sup>26</sup> E. Pons *et al.*, “Metabolic engineering of β-carotene in orange fruit increases its *in vivo* antioxidant properties,” *Plant Biotechnol J*, vol. 12, no. 1, pp. 17–27, Jan. 2014, doi: 10.1111/pbi.12112.
- <sup>27</sup> U. Albrecht, I. Tripathi, and K. D. Bowman, “Rootstock influences the metabolic response to *Candidatus Liberibacter asiaticus* in grafted sweet orange trees,” *Trees*, vol. 34, no. 2, pp. 405–431, Apr. 2020, doi: 10.1007/s00468-019-01925-3.
- <sup>28</sup> Z. Zheng, J. Chen, and X. Deng, “Historical Perspectives, Management, and Current Research of Citrus HLB in Guangdong Province of China, Where the Disease has been Endemic for Over a Hundred Years,” *Phytopathology*, vol. 108, no. 11, pp. 1224–1236, Nov. 2018, doi: 10.1094/PHYTO-07-18-0255-IA.
- <sup>29</sup> S. Y. Folimonova and D. S. Achor, “Early Events of Citrus Greening (Huanglongbing) Disease Development at the Ultrastructural Level,” *Phytopathology*, vol. 100, no. 9, pp. 949–958, Sep. 2010, doi: 10.1094/PHYTO-100-9-0949.
- <sup>30</sup> M. M. R. González, M. O. Santos, M. Á. M. Ramírez, J. J. V. Monreal, V. M. M. Urrutia, and E. S. Stuchi, “Experiencias con huanglongbing en limón Mexicano en el Estado de Colima, México,” *Citrus Research & Technology*, vol. 39, 2018, doi: 10.4322/crt.16518.



- <sup>31</sup> N. Kumar, F. Kiran, and E. Etxeberria, “Huanglongbing-induced Anatomical Changes in Citrus Fibrous Root Orders,” *HortScience*, vol. 53, no. 6, pp. 829–837, Jun. 2018, doi: 10.21273/HORTSCI12390-17.
- <sup>32</sup> S. Welker, M. Pierre, J. P. Santiago, M. Dutt, C. Vincent, and A. Levy, “Phloem transport limitation in Huanglongbing-affected sweet orange is dependent on phloem-limited bacteria and callose,” *Tree Physiol*, vol. 42, no. 2, pp. 379–390, Feb. 2022, doi: 10.1093/treephys/tpab134.
- <sup>33</sup> G. Mora-Aguilera, J. I. López-Arroyo, G. Acevedo-Sánchez, and S. Dominguez-Monge, “Situación Actual y Perspectivas del Manejo del HLB de los Cítricos Current situation and Perspectives for Management of Citrus HLB Epidemiology of sugarcane pests View project Opuntia ficus-indica (prickly pear) pests, management and natural enemies View project,” 2016. Online. Available: <https://www.researchgate.net/publication/313189033>
- <sup>34</sup> M. Camacho-Tapia, R. I. Rojas-Martínez, Á. Rebollar-Alviter, S. Aranda-Ocampo, and J. Suárez-Espinosa, “Biological, ecological, epidemiological and management aspects of *Candidatus Liberibacter*,” *Rev Chapingo Ser Hortic*, vol. XXII, no. 1, pp. 5–16, Apr. 2016, doi: 10.5154/r.rchsh.2015.09.021.
- <sup>35</sup> SENASICA, “Huanglongbing *Candidatus Liberibacter* spp. Ficha técnica No. 78,” 2019. Accessed: Oct. 11, 2023. Online. Available: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/463426/78\\_Ficha\\_tecnica\\_Huanglongbing\\_Mayo\\_2019.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/463426/78_Ficha_tecnica_Huanglongbing_Mayo_2019.pdf)
- <sup>36</sup> O. Rodríguez-Aguilar, J. López-Collado, A. Soto-Estrada, M. de la C. Vargas-Mendoza, and C. de J. García-Avila, “Future spatial distribution of *Diaphorina citri* in Mexico under climate change models,” *Ecological Complexity*, vol. 53, p. 101041, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.ecocom.2023.101041.
- <sup>37</sup> B. Alquézar, L. Carmona, S. Bennici, M. P. Miranda, R. B. Bassanezi, and L. Peña, “Cultural Management of Huanglongbing: Current Status and Ongoing Research,” *Phytopathology*, vol. 112, no. 1, pp. 11–25, Jan. 2022, doi: 10.1094/PHYTO-08-21-0358-IA.
- <sup>38</sup> S. E. Halbert, Manjunath, and Keremane L, “ASIAN CITRUS PSYLLIDS (STERNORRHYNCHA: PSYLLIDAE) AND GREENING DISEASE OF CITRUS: A LITERATURE REVIEW AND ASSESSMENT OF RISK IN FLORIDA,” 2004, doi: 10.1653/0015.
- <sup>39</sup> G. Sivager *et al.*, “Specific Physiological and Anatomical Traits Associated With Polyploidy and Better Detoxification Processes Contribute to Improved Huanglongbing Tolerance of the Persian Lime Compared With the Mexican Lime,” *Front Plant Sci*, vol. 12, Aug. 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.685679.
- <sup>40</sup> S. Hosseinzadeh and M. Heck, “Variations on a theme: factors regulating interaction between *Diaphorina citri* and ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ vector and pathogen of citrus huanglongbing,” *Curr Opin Insect Sci*, vol. 56, p. 101025, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.cois.2023.101025.
- <sup>41</sup> U. Albrecht and K. D. Bowman, “*Candidatus Liberibacter asiaticus* and Huanglongbing Effects on Citrus Seeds and Seedlings,” *HortScience*, vol. 44, no. 7, pp. 1967–1973, Dec. 2009, doi: 10.21273/HORTSCI.44.7.1967.
- <sup>42</sup> C. Ramadugu *et al.*, “Long-Term Field Evaluation Reveals Huanglongbing Resistance in *Citrus* Relatives,” *Plant Dis*, vol. 100, no. 9, pp. 1858–1869, Sep. 2016, doi: 10.1094/PDIS-03-16-0271-RE.
- <sup>43</sup> J. H. Doughari, “An Overview of Plant Immunity,” *J Plant Pathol Microbiol*, vol. 6, no. 11, 2015, doi: 10.4172/2157-7471.1000322.
- <sup>44</sup> H. Estrella-Maldonado *et al.*, “Insights into the Molecular Basis of Huanglongbing Tolerance in Persian Lime (*Citrus latifolia* Tan.) through a Transcriptomic Approach,” *Int J Mol Sci*, vol. 24, no. 8, p. 7497, Apr. 2023, doi: 10.3390/ijms24087497.
- <sup>45</sup> W. Qiu *et al.*, “Potential Mechanisms of AtNPR1 Mediated Resistance against Huanglongbing (HLB) in Citrus,” *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 6, p. 2009, Mar. 2020, doi: 10.3390/ijms21062009.