

# Detección de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en diferentes partes de plantas de cítricos (*Citrus* spp., Rutaceae).

**Xiomara A. Cayetano**, Andrea O. Feliz, Deysi M. Hernández, Yara Y. de la Rosa, Luis A. Matos

*Centro de Tecnologías Agrícolas (CENTA)-IDIAF*

VI Congreso SODIAF

REPUBLICA DOMINICANA  
Octubre-24, 2013.

# Introducción

- **Huanglongbing de los cítricos**

El HLB es actualmente la principal enfermedad del cultivo de los cítricos, la cual está afectando la citricultura a nivel mundial.

- Asociada a la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, (CLas), *C. L. africanus*, (CLaf) *C. L. americanus* (CLam).

- Transmitida por injertos y *Diaphorina citri*, (Hemiptera: Psyllidae) en Asia, América y *Tryoza erytreae* en África.

# Introducción

## Huanglongbing de los Cítricos (HLB)

- CLas afecta el sistema vascular provocando el declinamiento de las plantas afectadas, convirtiéndolas en improductivas.
- CLas no es sostenible en medios de cultivos artificiales, no tiene cura la enfermedad que produce.
- En República Dominicana se han eliminado más de 55 mil árboles en las principales zonas productoras.

## Cronología del HLB en la República Dominicana

- 2001- Reporte de la *Diaphorina citri*.
- 2007- Distribución en casi todo el país del Psílido.
- Agosto 2008 – Observación plantas sintomáticas al HLB en Luperón, Puerto Plata.
- Septiembre 2008. Seis (6) de 16 muestras tomadas resultaron positivas al HLB.



Primeros síntomas observados en lima 'Criollo' o 'Mexicana'

## Objetivos

- Determinar la distribución vertical de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en su principal hospedero *Citrus* spp.
- Determinar los órganos de la planta de mayor prevalencia de *Candidatus Liberibacter asiaticus*

# **MATERIALES Y METODOS**

# Descripción del proceso de análisis

**1. Colección de muestras**

**2. Extracción de AND**

Comerciales (Kit)

**3. Amplificación por PCR**

**4. Electroforesis**

**5. Lectura y Registro  
de Resultados**

# La extracción del ADN se realizó con un kit Quiagen®





# Proceso de extracción de ADN



# PCR

Se utilizaron iniciadores que amplifican un fragmento de 650 pb del gen 16S de la proteína ribosomal de la bacteria.

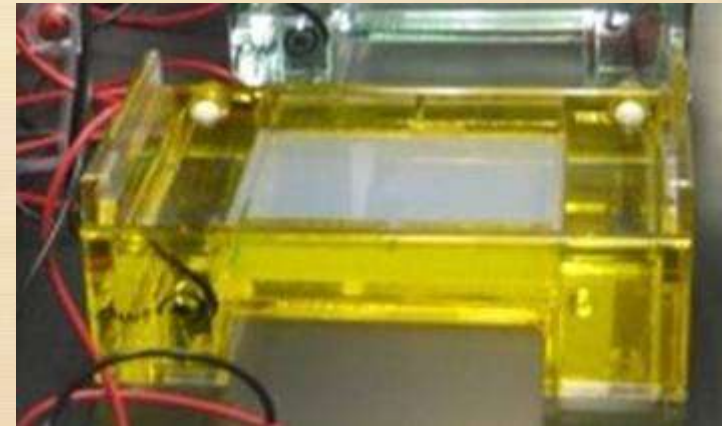
Una mezcla master: *Taq* polimerasa, dNTPs,  $MgCl_2$ .

Un programa de PCR: 94C 3 Minutos

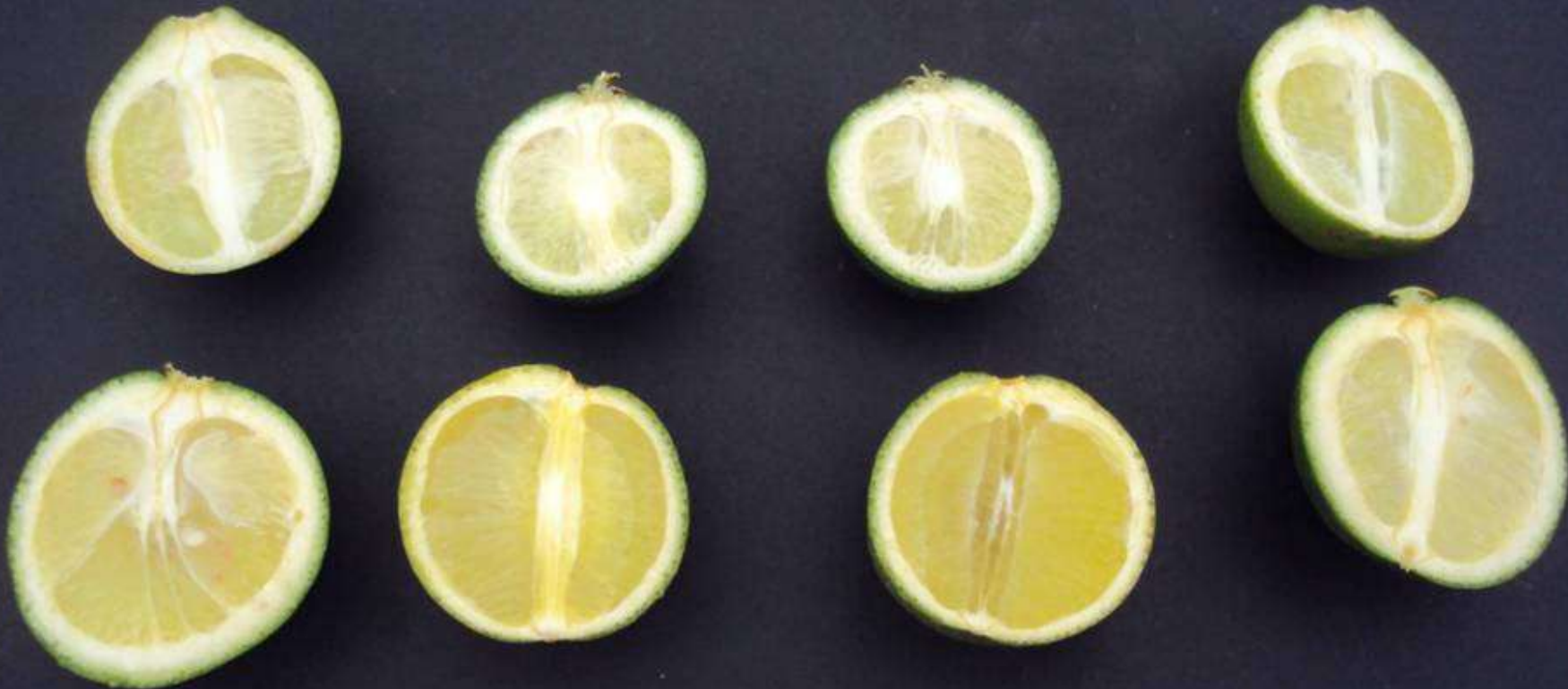
94C 30s

30 ciclos de: 55C 30s

72C 72s



## Frutos deformados y usados como muestras



# Frutos deformados



# Frutos deformados



# Partes analizadas del fruto



Columela

Jugo



Semilla

Cotiledon

Cubierta semilla

## Partes analizadas de la planta



# **RESULTADOS Y DISCUSION**



# Resultados

Muestras	Sánchez Ramírez			
	Raíz	Tallo	Hoja llena	Brote tierno
Muestra 1	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa
Muestra 2	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa
Muestra 3	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva
Muestra 4	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa
Muestra 5	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

# Resultados

Muestras	Monte Plata			
	Raíz	Tallo	Hoja llena	Brote tierno
Muestra 1	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
Muestra 2	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
Muestra 3	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
Muestra 4	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
Muestra 5	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

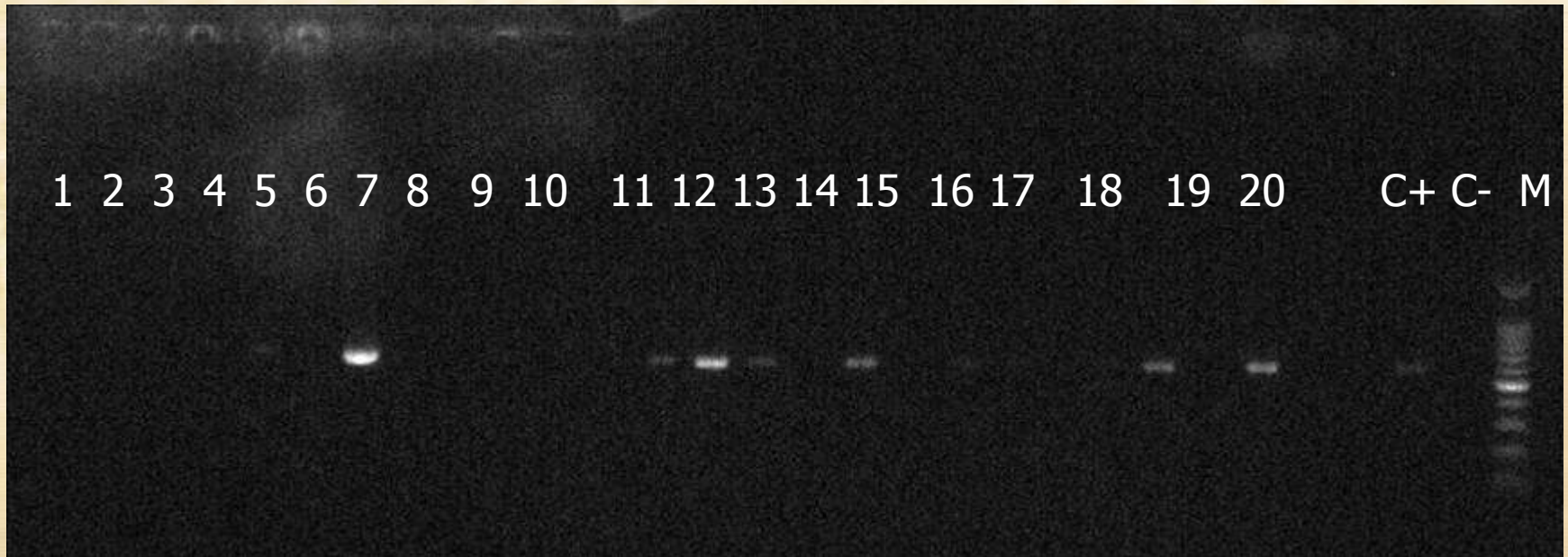
# Resultados

Muestras	Hato Mayor			
	Raíz	Tallo	Hoja llena	Brote tierno
Muestra 1	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa
Muestra 2	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa
Muestra 3	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa
Muestra 4	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
Muestra 5	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva

# Resultados

Muestras	Frutos			
	Cubierta semilla	Cotiledón	Columela	Jugo
Muestra 1	Negativa	Positiva	Positiva	Negativa
Muestra 2	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa
Muestra 3	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa
Muestra 4	Negativa	Positiva	Positiva	Negativa
Muestra 5	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva

# Resultados de Electroforesis



# Discusión

Los resultados obtenidos indican que la bacteria fue encontrada en todas las partes analizadas.

La prevalencia de la bacteria fue mayor en las hojas llenas, el endospermo y la columela del fruto respectivamente.

Sin embargo, de cinco muestras analizadas de jugos, por lo menos uno fue positiva, esto significa que la bacteria es capaz de invadir y colonizar la mayoría de los tejidos de las plantas afectadas.



## Conclusiones

Es de significativa importancia desde el punto de vista diagnóstico la parte a ser muestreada para obtener resultados mas confiables y seguros.

Muchas plantas sintomáticas suelen dar resultados negativos, sobre todo en épocas de altas temperaturas, por lo que es de vital importancia durante este tiempo, el muestreo multi-órganos.

# Conclusiones

En las plantas con edades entre 15 a 20 años, la bacteria se encuentra en mayor proporción en las hojas llenas y brotes tiernos y va disminuyendo en la corteza del tallo y las raíces

Mientras que en plantas con edades entre 5 y 6 años, solo encontramos la bacteria en hojas llenas y brotes tiernos. Sin embargo, esto no quiere decir que en plantas jóvenes la bacteria solo aparece en los órganos encontrados.



Muchas Gracias