

## Efecto del HLB sobre el rendimiento de limón mexicano en Colima, México\*

### Effect of HLB on Mexican key lime yield in Colima, Mexico

Marciano Manuel Robles-González<sup>§</sup>, Mario Orozco-Santos, Miguel Ángel Manzanilla-Ramírez, José Joaquín Velázquez-Monreal y Silvia Heréndira Carrillo-Medrano

Campo Experimental Tecomán-INIFAP. Carretera Colima-Manzanillo km. 35. Tecomán, Colima, México. CP. 28930. Tel. 01 (800)0882222, ext. 84332. (orozco.mario@inifap.gob.mx; manzanilla.miguel@inifap.gob.mx; velazquez.joaquin@inifap.gob.mx; carrillo.silvia@inifap.gob.mx. <sup>§</sup>Autor para correspondencia: robles.manuel@inifap.gob.mx.

#### Resumen

La enfermedad del Huanglongbing (HLB) asociada a la bacteria ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ es la amenaza más grave que ha enfrentado el cultivo de limón mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] en Colima, México. Se detectó en abril de 2010 y en poco tiempo se extendió por todas las zonas productoras, causando fuertes pérdidas de producción. Con la finalidad de caracterizar las pérdidas de rendimiento, debido al HLB, se muestrearon 700 árboles con distintos porcentajes de copa afectada por la enfermedad. Con ayuda de un aro metálico de 0.75 m<sup>2</sup>, dividido en cuadrantes, se cuantificó el número de frutos por metro cuadrado de copa (fr m<sup>-2</sup>). En los árboles con HLB se observó una tendencia a reducir el fr m<sup>-2</sup> conforme aumenta el porcentaje de copa afectada, tanto en los sectores sintomáticos ( $y = 4.6953x + 53.731$ ;  $R^2 0.8072$ ) como en los sectores asintomáticos ( $y = 7.1643x + 67.781$ ;  $R^2 0.9146$ ). Los árboles sin síntomas de HLB promediaron 60.3 fr m<sup>-2</sup>. En contraste los árboles con síntomas de HLB cubriendo toda la copa promediaron 27.6 fr m<sup>-2</sup>, lo que representa una reducción de 45.8%. Este trabajo proporciona información de cómo el HLB afecta la productividad de los árboles de limón mexicano desde etapas tempranas de la infección hasta

#### Abstract

Huanglongbing disease (HLB) associated with the bacterium *Candidatus Liberibacter asiaticus* is the most serious threat faced by the Mexican key lime crop [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] in Colima, México. It was detected in April 2010 and soon it spread to all producing areas, causing heavy production losses. In order to characterize yield losses, due to HLB, 700 trees with different percentages of treetop affected were sampled. Using a metal ring of 0.75 m<sup>2</sup>, divided into quadrants, the number of fruits per square meter of treetop (fr m<sup>-2</sup>) was quantified. In HLB trees a tend to reduce the fr m<sup>-2</sup> was observed as the percentage of affected treetop increases, both in symptomatic ( $y = 4.6953x + 53.731$ ;  $R^2 0.8072$ ) and asymptomatic sectors ( $y = 7.1643x + 67.781$ ;  $R^2 0.9146$ ). Trees without HLB symptoms, averaged 60.3 fr m<sup>-2</sup>. In contrast trees with HLB symptoms covering the entire treetop averaged 27.6 fr m<sup>-2</sup>, representing a reduction of 45.8%. This paper provides information on how HLB affects yield of Mexican key lime trees from the early stages of infection until when the entire treetop display the symptoms of the disease and helps to explain the yield fall in the production of this citrus in the region.

\* Recibido: marzo de 2017  
Aceptado: mayo de 2017

que toda la copa presenta los síntomas de la enfermedad, y ayuda a explicar la caída de producción de este cítrico en la región.

**Palabras clave:** *Citrus aurantifolia*, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, productividad, sector sintomático.

## Introducción

De acuerdo con datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP-SAGARPA, 2016), durante 2015 se registraron 78 934.6 ha dedicadas al cultivo de limón mexicano, distribuidas principalmente en los estados de Michoacán, Colima, Oaxaca y Guerrero. La producción anual de fruta superó el millón de toneladas, con un valor superior a los 3.829 millones de pesos. Esta agroindustria genera una gran cantidad de empleos para jornaleros y profesionales en el campo, los empaques, la industria, el transporte y la comercialización. Además, existe un considerable número de viveros productores de plantas, así como de empresas proveedoras de insumos que se benefician con este cultivo (Robles-González *et al.*, 2014).

La enfermedad Huanglongbing (HLB) es la amenaza más grave a que ha enfrentado el cultivo de limón mexicano en Colima. Los síntomas de esta enfermedad están asociados a la presencia de una  $\alpha$ -proteobacteria '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' del tipo Gram-negativa, restringida al floema de las plantas hospederas y que es diseminada por el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*). Actualmente se le considera como la enfermedad más destructiva de los cítricos (Wang *et al.*, 2016) y se ha convertido en la más seria amenaza para la producción de cítricos en todo el mundo (McCollum *et al.*, 2016). No se conoce cura para los árboles infectados (Gottwald *et al.*, 2007), los que en poco tiempo se vuelven decadentes e improductivos, y en algunos casos mueren.

En algunas especies de cítricos, se ha determinado que el HLB afecta fuertemente los tejidos del floema (Folimonova *et al.*, 2009; Achor *et al.*, 2010; Fan *et al.*, 2013), lo que causa problemas para la translocación de asimilados en las plantas hospederas. Por otra parte, estudios a nivel genómico han podido determinar que el HLB puede alterar la expresión de una gran cantidad de genes en diferentes órganos de las plantas infectadas (Kim *et al.*, 2009; Liao y Burns, 2012;

**Keywords:** *Citrus aurantifolia*, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, symptomatic sector, yield.

## Introduction

According to data from the Agri-Food and Fisheries Information Service (SIAP-SAGARPA, 2016), during 2015, 78 934.6 ha dedicated to the cultivation of Mexican lime were recorded, mainly distributed in the states of Michoacán, Colima, Oaxaca and Guerrero. The annual fruit production exceeded one million tons, with a value exceeding 3 829 million pesos. This agribusiness generates a large number of jobs for day laborers and field professionals, packaging, industry, transportation and marketing. In addition, a considerable number of plant nurseries producers as well as inputs suppliers benefit from this crop (Robles-González *et al.*, 2014).

Huanglongbing disease (HLB) is the most serious threat faced by Mexican lime in Colima. The symptoms of this disease are associated with the presence of an  $\alpha$ -proteobacteria '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' of Gram-negative type, restricted to phloem of host plants and spreaded by the Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*). It is now considered as the most destructive citrus disease (Wang *et al.*, 2016) and has become the most serious threat to citrus production worldwide (McCollum *et al.*, 2016). No cure for infected trees is known (Gottwald *et al.*, 2007), which soon become decadent and unproductive, and in some cases die.

For some citrus species, there has been determined that the HLB strongly affects the phloem tissues (Folimonova *et al.*, 2009; Achor *et al.*, 2010; Fan *et al.*, 2013), causing problems for translocation of assimilates in host plants. Moreover, studies at the genomic level have been ascertained that HLB can alter the expression of a large number of genes in various organs of infected plants (Kim *et al.*, 2009; Liao and Burns, 2012; Mafra *et al.*, 2013; Zheng and Zhao, 2013; Aritua *et al.*, 2013; Zhong *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016). Some genes are overexpressed, but others reduce its expression. Genes whose expression is altered are mainly related to the plant's defense systems (Kim *et al.*, 2009; Rawat *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016), the sucrose and starch metabolism (Xu *et al.*, 2015; Rawat *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016), synthesis and signaling hormones (Martinelli *et al.*, 2012), nutrients absorption and transport (Zhang *et al.*, 2015; Rawat *et al.*, 2015; Zhong *et al.*, 2015).

Mafra *et al.*, 2013; Zheng y Zhao, 2013; Aritua *et al.*, 2013; Zhong *et al.*, 2015; Wang, *et al.*, 2016). Algunos genes son sobre expresados, pero otros reducen su expresión. Los genes cuya expresión es alterada están relacionados principalmente con sistemas de defensa de la planta (Kim *et al.*, 2009; Rawat *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016), el metabolismo de sacarosa y almidón, (Xu *et al.*, 2015; Rawat *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016), síntesis de hormonas y de señalización (Martinelli *et al.*, 2012), absorción y transporte de nutrientes (Zhang *et al.*, 2015; Rawat *et al.*, 2015; Zhong *et al.*, 2015).

Hasta principios de 2004, el continente americano era considerado libre de HLB, pero en marzo de ese año la enfermedad fue detectada en el estado de São Paulo, Brasil. En Estados Unidos de América se detectó por primera vez en agosto de 2005, en el estado de Florida, posteriormente en Louisiana durante 2008, Georgia en 2009, Texas y California en 2012. Actualmente se ha reportado en Cuba, Belice, Jamaica, y otros países de la cuenca del Caribe, donde está causando fuertes daños a la citricultura (Wang y Trivedi, 2013).

En México la enfermedad se detectó por primera vez en julio de 2009, en árboles de limón mexicano de traspatio en Tizimín, Yucatán (Trujillo, 2010). Ese mismo año también se encontró en los estados de Quintana Roo, Nayarit y Jalisco en árboles de limón mexicano y limón persa (*C. latifolia* Tanaka). Durante 2010, se hicieron nuevas detecciones que incluyeron a Campeche, Colima, Sinaloa y Michoacán. Actualmente el HLB se ha detectado en 391 municipios de 22 estados de la república mexicana (SENASICA, 2016). Se ha vuelto endémico en las áreas productoras de limón mexicano y limón persa en los estados de Colima, Michoacán Jalisco y Nayarit, donde ha causado un impacto económico y social muy importante. Tan solo en Colima, de 2010 a 2012 se estimó una caída en la demanda de mano de obra para labores de campo y cosecha por 2 435 empleos de tiempo completo (Avalos y González, 2013).

En Colima, los primeros árboles con síntomas y diagnóstico positivo para HLB, se detectaron en abril de 2010 en una plantación comercial de limón mexicano de cuatro años de edad, muy cerca de la costa del Pacífico. La diseminación de la enfermedad fue muy rápida y en solo siete meses ya se habían detectado árboles positivos al HLB en todas las zonas productoras de limón mexicano en el estado (CESAVECOL, 2011). En un muestreo sistemático realizado en julio de 2013, se determinó que el HLB, se encontraba afectando 100% de los árboles de

Until early 2004, the American continent was considered free from HLB, but in March of that year the disease was detected in the state of São Paulo, Brazil. In the United States of America it was first detected in August 2005, in the state of Florida, later in Louisiana during 2008, Georgia in 2009, Texas and California in 2012. It has been reported in Cuba, Belize, Jamaica, and others Countries of the Caribbean basin, where it is causing severe damage to citrus agriculture (Wang and Trivedi, 2013).

In México the disease was detected for the first time in July 2009, in Mexican backyard lime trees in Tizimín, Yucatán (Trujillo, 2010). That same year it was also found in the states of Quintana Roo, Nayarit and Jalisco in Mexican and Persian lime trees (*C. latifolia* Tanaka). During 2010, new detections were made that included Campeche, Colima, Sinaloa and Michoacán. Currently HLB has been detected in 391 municipalities of 22 states of the Mexican Republic (SENASICA, 2016). It has become endemic in the producing areas of Mexican and Persian lime in the states of Colima, Michoacán, Jalisco and Nayarit, where it has caused a very important economic and social impact. Only in Colima, from 2010 to 2012, a drop in the demand for labor for field and harvest work was estimated for 2 435 full-time jobs (Avalos and González, 2013).

In Colima, the first trees with symptoms and positive diagnosis for HLB were detected in April 2010 on a four-year-old Mexican lemon plantation, very close to the Pacific coast. The spread of the disease was very rapid and in only seven months HLB-positive trees had already been detected in all Mexican lemon producing areas in the state (CESAVECOL, 2011). In a systematic sampling conducted in July 2013, it was determined that HLB was affecting 100% of trees in all producing areas. To this date, the trees had symptoms on 50% of their treetops on average and had already been highly affected in fruit yield (Robles-González *et al.*, 2013b).

In Mexican lime the HLB symptoms are very evident and easy to detect in the field. At first, the trees show one or two small sections of its top with yellowish speckles, giving a sectorized aspect of the disease, as described by Bové (2006) for other citrus fruits. In the next four to five months, the number and size of the symptomatic sectors in these trees, increases significantly, covering the entire treetop with symptoms. The speed with which the disease covers treetops is closely related to the amount of infective psyllids generated in the plantation or in neighboring plantations (Robles-González *et al.*, 2013a).

todas las zonas productoras. Para esta fecha, los árboles manifestaban síntomas en promedio de 50% de sus copas y presentaban ya fuerte afectación en su rendimiento de fruta (Robles-González *et al.*, 2013b).

En limón mexicano los síntomas del HLB son muy evidentes y fácil de detectar en campo. Al principio, los árboles muestran uno o dos sectores pequeños de su copa con moteado amarillento, dando un aspecto sectorizado de la enfermedad, tal como lo describe Bové (2006) para otros cítricos. En los siguientes cuatro a cinco meses, el número y tamaño de los sectores sintomáticos en esos árboles, se incrementa significativamente, llegando a cubrir toda la copa con síntomas. La velocidad con que la enfermedad cubre la copa de los árboles está estrechamente relacionada a la cantidad de psílicos infectivos generados en la plantación o en plantaciones vecinas (Robles-González *et al.*, 2013a).

Magomere *et al.* (2009) señala que no es sencillo recabar información experimental precisa de las pérdidas de rendimiento que causa la enfermedad HLB. Los autores señalan que en los cítricos de Kenya las ramas infectadas con *Candidatus Liberibacter africanus* produjeron poco o nada de fruta comercial y que en algunos casos se registraron pérdidas en rendimiento de 100%. Al ser una enfermedad relativamente nueva en México no se tiene información sobre los impactos que tiene sobre la producción de fruta en árboles de limón mexicano. El presente trabajo tiene como objetivo caracterizar las pérdidas de rendimiento provocadas por el HLB en árboles de limón mexicano.

Este es el primer artículo que presenta información sobre el efecto del HLB en la capacidad productiva de los árboles de limón mexicano, desde que se presentan los primeros síntomas en una parte del árbol, hasta que toda la copa es afectada por la enfermedad. Estos resultados ayudan a explicar la caída de la producción de este cítrico en el estado de Colima.

## Material y métodos

La investigación se realizó de febrero a junio de 2012 en la zona productora de limón mexicano de Tecomán, Colima, México, caracterizada por tener clima tropical seco y semiseco, con temperatura media de 26° C y precipitación media de 750 mm. Para este año, la cantidad de huertos afectados por HLB era muy alta y la mayoría de los árboles

Magomere *et al.* (2009) points out that it is not easy to collect precise experimental information on yield losses caused by HLB disease. The authors note that in Kenya citrus the *Candidatus Liberibacter africanus* infected branches yield little or no commercial fruit and in some cases yield losses of 100% were recorded. Being a relatively new disease in México, there is no information about the impacts it has on fruit yield in Mexican lime trees. This paper aims to characterize the yield losses caused by HLB in Mexican lime trees.

This is the first paper that shows information about the effect of HLB on the yield capacity of Mexican lime trees, since the first symptoms appeared in one section of the tree, until the whole treetop is affected by the disease. These results help to explain the yield fall of this citrus in the state of Colima.

## Materials and methods

The research was carried out from February to June 2012 in the Mexican lime producing area of Tecomán, Colima, México, characterized by dry and semi-dry tropical climate, with an average temperature of 26 °C and a mean precipitation of 750 mm. For this year, the number of affected orchards by HLB was very high and most trees showed symptoms of the disease, in varying proportions ranging from a few twigs, to the whole of its treetop. However, apparently healthy trees could still be found, as they did not show symptoms of the disease, which gave an opportunity to estimate the yield losses of the trees related to the percentage of treetop affected by the disease. Two methods were used.

### Number of fruits per square meter of treetop

Seven orchards were chosen with good agronomic management, especially regarding irrigation and fertilization. Trees grafted on *C. macrophylla*, were four to six years old, according to the orchard, and were planted in density of 312 trees ha<sup>-1</sup>.

Sampling was carried out on a different date, beginning in February for the first orchard and ending in June with the last one. In each orchard, 20 trees were selected for each of the treatments, which were determined based on the percentage of treetop that showed symptoms of the disease at the time of sampling: (T1; trees without symptoms, T2; 10-25%, T3; 25-50%, T4; 50-75% and T5; 75-100% treetop area with

mostraban los síntomas de la enfermedad, en proporciones variables que iban desde unas cuantas ramillas, hasta la totalidad de su copa. No obstante, aún se podían encontrar árboles aparentemente sanos, al no presentar síntomas de la enfermedad, lo que dio oportunidad de estimar las pérdidas de rendimiento de los árboles relacionadas con el porcentaje de copa afectada por la enfermedad. Para ello se utilizaron dos métodos.

### Número de frutos por metro cuadrado de copa

Se eligieron siete huertos con buen manejo agronómico, especialmente riegos y fertilización. Los árboles injertados sobre *C. macrophylla*, tenían edades de entre cuatro a seis años, según el huerto, y estaban plantados en densidad de 312 árboles ha<sup>-1</sup>.

Los muestreos se realizaron en distinta fecha, iniciando en febrero para el primer huerto y terminando en junio con el último. En cada huerto se seleccionaron 20 árboles para cada uno de los tratamientos, los cuales se determinaron en base al porcentaje de copa que mostraba síntomas de la enfermedad al tiempo del muestreo: (T1; árboles sin síntomas, T2; 10-25%, T3; 25-50%, T4; 50-75% y T5; 75-100% de área de copa con síntomas). Este procedimiento diseñado en 2010 se había probado en 2011 (Robles-González *et al.*, 2013a). Se utilizó un aro de 0.75 m<sup>2</sup>, dividido en cuadrantes. El aro se colocó frente a la copa del árbol, a una altura de 1.5 m del suelo y en cuatro posiciones, que coincidieron con los cuatro puntos cardinales. Se registró el número de frutos llegados a madures de cosecha (color verde claro, forma esferoide y diámetro ecuatorial mínimo 35 mm) visualizados dentro de cada cuadrante. También se registró si la ubicación del aro correspondía a un sector con o sin síntomas del HLB. Con esos datos se estimó el número de frutos/m<sup>2</sup> de copa. Los datos de cada huerto se utilizaron como repetición y se analizaron en un diseño en bloques al azar con ayuda del paquete estadístico Statistix 9 (2008).

### Rendimiento kg árbol<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> antes y después de la infección con HLB

Se aprovechó un lote experimental en el que desde el 2006 se evaluaba el comportamiento productivo de las variedades de limón mexicano 'Lise' y 'Colimex'. Los árboles injertados sobre *C. macrophylla*, estaban plantados en un suelo migajón arcillo arenoso, con alto contenido de CaCO<sub>3</sub> (40 000 ppm), en terrenos del INIFAP-campo experimental Tecomán y con densidad de 312 árboles ha<sup>-1</sup>. Se utilizaron

symptoms). This procedure was designed in 2010, tested in 2011 (Robles-González *et al.*, 2013a). A ring of 0.75 m<sup>2</sup> was used, divided into quadrants. The ring was placed in front of the treetop, at a height of 1.5 m from the ground and in four positions, which coincided with the four cardinal points. The number of fruits at harvest maturity (light green, spheroid shape and minimum equatorial diameter of 35 mm) were recorded within each quadrant. It was also recorded whether the location of the ring corresponded to a sector with or without HLB symptoms. With these data the number of fruit m<sup>-2</sup> treetop was estimated. Data from each orchard were used as replicate and analyzed in a randomized block design with the statistical package Statistix 9 (2008).

### Yield kg tree<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> before and after infection with HLB

An experimental plot was used in which, since 2006, the yield behavior of the Mexican lime varieties 'Lise' and 'Colimex' was evaluated. Trees grafted on *C. macrophylla*, were planted in sandy loam clay soil, with high content of CaCO<sub>3</sub> (40 000 ppm) in lands of the INIFAP experimental field, Tecomán Campus with a density of 312 trees ha<sup>-1</sup>. Five trees were used as experimental unit, taking the three central trees as a useful plot, with five replicates. Yield data (kg tree<sup>-1</sup>) were recorded for each crop, with which the annualized yields were calculated in t ha<sup>-1</sup>. Statistical analysis was done in a randomized block design with the statistical package Statistix 9 (2008).

## Results and discussion

In Colima, from the first HLB detections in April 2010, a quick spread within and between productive zones of the State was observed (Robles-González *et al.*, 2010). As pointed out by Bove (2006) for other citrus fruits, the disease was shown by sectors in the treetops. At first, one or two small sectors are detected in the crown of the tree whose leaves show characteristic symptoms of the disease, but in a short time the number and size of sectors with symptoms increases until 100% of the tree crown is covered. By 2012, the number of orchards affected by HLB was high and most trees showed symptoms of the disease. The affected crown percentages in the trees ranged from a small sector to the entire treetop. However, asymptomatic trees could still be found, which provided an opportunity to estimate tree yield losses related to the HLB-affected crown ratio and to compare them with the yield of asymptomatic trees under the same management conditions.

cinco árboles como unidad experimental, tomando los tres árboles centrales como parcela útil, con cinco repeticiones. Se registraron datos de rendimiento ( $\text{kg árbol}^{-1}$ ) en cada cosecha, con los que se calculó el rendimiento anualizado en  $\text{t ha}^{-1}$ . El análisis estadístico se hizo en un diseño en bloques al azar con ayuda del paquete estadístico Statistix 9 (2008).

## Resultados y discusión

En Colima, desde las primeras detecciones del HLB en abril de 2010, se observó una rápida diseminación dentro de las zonas productoras (Robles-González *et al.*, 2010). Tal como lo señala Bove (2006) para otros cítricos, la enfermedad se presentó por sectores en la copa de los árboles. Al principio se detecta uno o dos sectores pequeños en la copa del árbol cuyas hojas muestran síntomas de la enfermedad, pero en poco tiempo el número y tamaño de los sectores con síntomas se incrementa hasta cubrir 100% de la copa del árbol. Para el año 2012, la cantidad de huertos afectados por HLB era alta y la mayoría de los árboles mostraban síntomas de la enfermedad. Los porcentajes de copa afectada en los árboles van desde un pequeño sector, hasta la totalidad de su copa. Sin embargo, aún se podía encontrar árboles asintomáticos, que dio oportunidad de estimar las pérdidas de rendimiento de los árboles, relacionadas con la proporción de copa afectada por HLB y compararlos con el rendimiento de árboles asintomáticos que estaban en las mismas condiciones de manejo.

### Número de frutos por metro cuadrado de copa

Producción de fruta en sectores con y sin síntomas. En las siete huertas utilizadas, el HLB estaba fuertemente diseminado. Los árboles sintomáticos presentaban amplia diversidad en cuanto a la proporción de copa siendo afectada por la enfermedad. En estos árboles, las ramas ubicadas en los sectores sin síntomas tenían follaje verde y producción de fruta aparentemente similar al observado en las ramas de árboles asintomáticos. Por el contrario, las ramas ubicadas en sectores sintomáticos presentaron follaje amarillento y menor cantidad de fruta. De las 2 800 posiciones muestreadas con el aro, 1 505 se ubicaron en sectores asintomáticos y 1 295 a sectores con síntomas. Las posiciones ubicadas de los sectores asintomáticos registraron un promedio de  $45.46 \text{ fr m}^{-2}$  de copa, mientras que las posiciones de sectores con síntomas promediaron  $37.29 \text{ fr m}^{-2}$  de copa, lo que representa una reducción de 18% respecto a lo observado en sectores sin síntomas (Cuadro 1).

### Number of fruits per square meter of treetop

Fruit production in sectors with and without symptoms. In the seven orchards used for the study, HLB was widely disseminated. Symptomatic trees showed wide diversity in the proportion of the crown affected by the disease. In these trees, the branches located in the sectors without symptoms had green foliage and fruit production apparently similar to that observed in the branches of asymptomatic trees. In contrast, the branches located in symptomatic sectors had yellowish foliage and less fruit. Of the 2 800 positions sampled with the ring, 1 505 were located in asymptomatic sectors and 1 295 in sectors with symptoms. Positions located in asymptomatic sectors recorded an average of  $45.46 \text{ fr m}^{-2}$  of treetop, while the positions corresponding to sectors with symptoms averaged  $37.29 \text{ fr m}^{-2}$  of treetop, which represents a reduction of 18% compared to that observed in sectors without symptoms (Table 1).

#### Cuadro 1. Número de frutos por $\text{m}^2$ de copa en sectores con y sin síntomas en árboles de limón mexicano con distinta proporción de copa afectada por HLB.

Table 1. Number of fruits per  $\text{m}^2$  of cup in sectors with and without symptoms in Mexican lime trees with different proportion of treetop affected by HLB.

Condición del sector	Posiciones muestreadas	Frutos por $\text{m}^2$	
		Número	(%)
Asintomáticos	1 505	45.46 a	100
Con síntomas	1 295	37.29 b	82

The above is explained because in the sectors of the tree showing HLB symptoms, most of the leaves show irregularly yellow spots (Robles-González *et al.*, 2010) largely on its surface and is encouraged by the loss of green pigments. This can cause a sharp reduction of the photosynthetic production in those leaves as pointed by (Nwugo *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2015). In some cases there is also a premature leaf drop (Robles-González *et al.*, 2010). All this causes the sectors affected by the HLB to reduce its fruit production capacity, as estimated by Bassanezi *et al.* (2011) for different varieties of sweet orange.

Fruit production in trees with different percentage of treetop affected by HLB. When analyzing data of  $\text{fr m}^{-2}$  of treetop of sectors with and without symptoms and relate them to the different proportions of treetop showing HLB symptoms, it was determined that the production of fruit, is not only affected

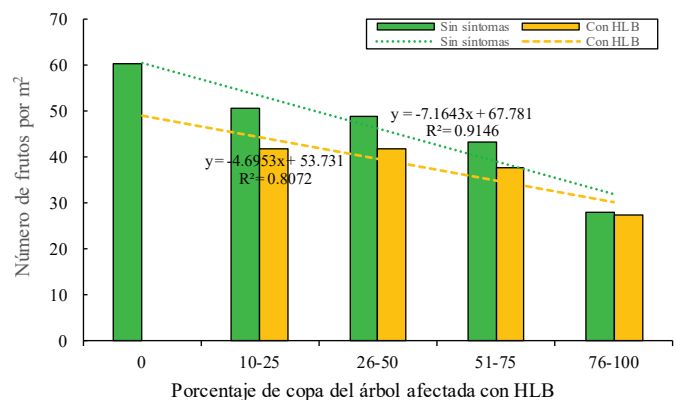
Lo anterior se explica debido a que en los sectores del árbol que muestran síntomas de HLB, la mayoría de las hojas presentan manchas amarillentas de forma irregular (Robles-González *et al.*, 2010) en gran parte de su superficie y que es propiciada por la pérdida de los pigmentos verdes. Esto puede provocar una fuerte reducción en la producción de fotosintatos en esas hojas como lo señalan (Nwugo *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2015). En algunos casos se presenta además la caída prematura de hojas (Robles-González *et al.*, 2010). Todo esto provoca que los sectores afectados por el HLB reduzcan su capacidad de producción de fruta, tal como pudo estimar Bassanezi *et al.* (2011) para distintas variedades de naranja dulce.

Producción de fruta en árboles con distinto porcentaje de copa afectada por HLB. Al analizar los datos de fr m<sup>-2</sup> de copa de sectores con y sin síntomas y relacionarlos con las distintas proporciones de copa del árbol que mostraban síntomas del HLB, se pudo determinar que la producción de fruta, no solo es afectada en las ramas ubicadas en sectores con síntomas de la enfermedad. Como se puede observar en la Figura 1, tanto los sectores sintomáticos como los asintomáticos presentan una clara tendencia a reducir en número de frutos por metro cuadrado de copa, conforme se incrementa el porcentaje de copa en los árboles manifestando síntomas del HLB. Con esos datos, se generó la ecuación  $y = -7.0962x + 68.079$  con un valor de  $R^2 = 0.91$  para los sectores sin síntomas. Los sectores sintomáticos mostraron una tendencia similar y generaron la ecuación  $y = -4.7304x + 53.864$  y una  $R^2 = 0.81$ . Lo antes expuesto demuestra que, aunque la enfermedad se presenta en forma sectorizada en la copa de los árboles y reduce de manera evidente la producción de fruta en los sectores con síntomas, también provoca una pérdida generalizada de vigor en todo el árbol, que se traduce en reducción de la capacidad de producción de fruta también en los sectores sin síntomas.

Tales pérdidas de producción se van acentuando conforme se incrementa el porcentaje de área de copa afectada por el HLB. Este resultado difiere con los señalado por Bassanezi *et al.*, 2011 quien concluye que el HLB se restringe solo a las ramas con síntomas de la enfermedad. En otros estudios con limón mexicano, también se pudo determinar que los árboles afectados por HLB tienden a producir mayor cantidad de brotes vegetativos, pero reducen la emisión de brotes con inflorescencias (Robles-González *et al.*, 2013b) lo que puede explicar parte de la reducción del rendimiento.

Al parecer la pérdida de pigmentos verdes en las hojas con los síntomas del HLB, que conlleva a la reducción en la actividad fotosintética y en consecuencia menor producción

in those branches located in sectors with disease symptoms. As can be seen in Figure 1, both the symptomatic and the asymptomatic sectors show a clear tendency to reduce the number of fruits per square meter of treetop, as the treetop percentage increases in the trees manifesting HLB symptoms. With these data, the equation  $y = -7.0962x + 68.079$  was generated with a value of  $R^2 = 0.91$  for sectors without symptoms. Symptomatic sectors showed a similar trend and generated the equation  $y = -4.7304x + 53.864$  and  $R^2 = 0.81$ . The above shows that, although the disease occurs in a sectorized way in the treetop and clearly reduces fruit production in sectors with symptoms, it also causes a generalized loss of vigor in the whole tree, which translates in reduced capacity of fruit production also in the sectors without symptoms.



**Figura 1. Frutos por metro cuadrado en sectores con y sin síntomas del HLB en árboles de limón mexicano con distinto porcentaje de copa afectada por la enfermedad.**

**Figure 1. Fruits per square meter in sectors with and without HLB symptoms in Mexican lime trees with different percentage of treetop affected by the disease.**

Such production losses are accentuated as the percentage of treetop area affected by the HLB increases. This result differs from the indicated by Bassanezi *et al.*, 2011 who concluded that the HLB is restricted to the branches with symptoms of the disease. In other studies with Mexican lime, it could also be determined that trees affected by HLB tend to produce more vegetative buds, but reduce the emission of shoots with inflorescences (Robles-González *et al.*, 2013b) which may explain a part of yield reduction.

It seems that the loss of green pigments in the leaves with HLB symptoms, which leads to the reduction in the photosynthetic activity and consequently less production

de fotoasimilados, no solo impacta las ramas afectadas por la enfermedad. Es probable que la menor producción de fotosintatos, junto con la reducción en su transporte hacia otros órganos, especialmente la raíz, afecte el vigor general del árbol. Aunque no se ha estudiado el efecto de la enfermedad en la densidad de raíces, se presume que la cantidad de raíces disminuye en árboles afectados por la enfermedad, como lo sugiere Graham *et al.* (2013).

### Producción de fruta en árboles con distinto nivel de afectación de la copa.

Al analizar los datos de  $\text{fr m}^{-2}$  de copa y relacionarlos con el porcentaje de copa afectada por el HLB, se puede apreciar que los árboles asintomáticos y que sirvieron como testigo, registraron la mayor cantidad de frutos, con un promedio significativamente diferente al registrado en los árboles que mostraron síntomas de la enfermedad. Como se muestra en el Cuadro 2, los árboles que presentaron de 10 a 25% y de 50 a 75% de su copa afectada por HLB, produjeron 80% y 75% de fruta respectivamente, en comparación con el testigo. Cuando los árboles tenían entre 50 a 75% de copa afectada, su rendimiento apenas fue de 65.7% respecto al testigo. Sin embargo, cuando la proporción de copa afectada por HLB llega a ser de 75 a 100%, el rendimiento de fruta apenas llega a ser de 45.6% respecto al testigo. Con estos resultados queda claro que la capacidad de producción de los árboles de limón mexicano con HLB va disminuyendo conforme aumenta el porcentaje de copa afectada por la enfermedad, hasta alcanzar su mínimo cuando toda la copa presenta los síntomas. Este resultado tiene semejanza con lo que señala Bassanezi *et al.* (2011) para distintas variedades de naranja dulce.

### Cuadro 2. Número de frutos por $\text{m}^2$ en árboles de limón mexicano con distinto porcentaje de copa afectada por HLB.

Table 2. Number of fruits per  $\text{m}^2$  in Mexican lime trees with different percentage of treetop affected by HLB.

Copa con síntomas de HLB (%)	Árboles muestreados (número)	Frutos por $\text{m}^2$ de copa	
		(número)	(%)
0	140	60.358 a	100
10 - 25	140	48.767 b	80.8
26 - 50	140	45.814 b	75.9
51 - 75	140	39.669 c	65.7
76 - 100	140	27.666 d	45.8

of photoasimilates, not only impacts the branches affected by the disease. The lower production of photosynthates, together with the reduction of its transport to other organs, especially the root, is likely to affect the overall vigor of the tree. Although the effect of disease in root density has not been studied, it is presumed that the amount of tree roots decreases in trees affected by the disease, as suggested by Graham *et al.* (2013).

### Fruit production in trees with different level of affection in the treetop.

When analyzing data of  $\text{fr m}^{-2}$  of treetop and relate them with the percentage of treetop affected by HLB, it can be seen that asymptomatic trees which served as control showed the highest amount of fruits, with significantly different average to that recorded in the trees that showed symptoms of the disease. As shown in Table 2, trees with 10 to 25% and 50 to 75% of its HLB-affected treetop produced 80% and 75% of fruit respectively, compared to the control. When the trees had between 50 and 75% of affected treetop, its yield was hardly of 65.7% with respect to the control. However, when the cup proportion affected by HLB reaches 75 to 100%, fruit yield barely reaches 45.6% with respect to the control. With these results it is clear that the production capacity of Mexican lime trees with HLB decreases as the percentage of treetop affected by the disease increases until reaching its minimum when the whole treetop shows the symptoms. This result has resemblance to what points Bassanezi *et al.* (2011) for different varieties of sweet orange.

This behavior in fruit production occurs in plantations with good agronomic management, especially irrigation and fertilization. In these orchards, when all trees reach 100% of HLB affected treetops, their yields can fall between 40 and 60% with respect to that determined in trees without HLB symptoms. However, in plantations with inadequate irrigation and fertilization, trees affected by HLB become practically unproductive.

### Yield $\text{kg tree}^{-1} \text{ year}^{-1}$ before and after infection with HLB

Production losses of trees affected by HLB were also estimated in an experimental batch of INIFAP in which two Mexican lime varieties grafted on *C. macrophylla* were evaluated. In this experiment, the fruit yield had been recorded since 2008, when the plantation was two years old. In this plantation the HLB was detected since 2011. In that year, the two varieties under study



Este comportamiento en la producción de fruta se presenta en plantaciones con un buen manejo agronómico, especialmente el riego y fertilización. En estas huertas, cuando todos los árboles alcanzan 100% de copa afectada por HLB, sus rendimientos pueden bajar entre 40 y 60% respecto a lo determinado en árboles sin síntomas de HLB. Sin embargo, en plantaciones con riegos y fertilización inadecuados, los árboles afectados por el HLB se tornan prácticamente improductivos.

### Rendimiento $\text{kg arbol}^{-1} \text{ año}^{-1}$ antes y después de la infección con HLB

Las pérdidas de producción de los árboles afectados por el HLB también se estimaron en un lote experimental del INIFAP en el que se evaluaban dos variedades de limón mexicano injertadas sobre *C. macrophylla*. En este experimento se venía registrando el rendimiento de fruta desde 2008, cuando la plantación tenía dos años de edad. En esta plantación el HLB se detectó a partir de 2011. En ese año, las dos variedades en estudio registraron rendimientos anualizados superiores a las 40 ton/ha. Para 2013, 100% de los árboles presentaba los síntomas del HLB con porcentajes de copa afectada que superaron 50%, lo que provocó una ligera reducción del rendimiento en ambas variedades. Sin embargo, para 2014 los rendimientos bajaron hasta solo 23.4 y 22.9  $\text{t ha}^{-1}$  para 'Colimex' y 'Lise' respectivamente (Cuadro 3).

Los resultados de ambos experimentos ayudan a explicar la caída de la producción de limón mexicano en el estado de Colima, donde la enfermedad está presente afectando 100% de los árboles en todas las zonas productoras. En este estado, hasta 2011 el rendimiento promedio por año en el estado superaba las 20  $\text{t ha}^{-1}$ ; sin embargo, a partir de 2012 la producción mostro una tendencia a la baja, hasta alcanzar un promedio de solo 9.3  $\text{t ha}^{-1}$  en 2014 (SIAP-SAGARPA, 2015). Es importante señalar que la enfermedad del HLB ha provocado que los productores empiecen a mejorar el manejo de sus huertas, con lo que los árboles empezaron a mejorar los rendimientos de fruta y para el 2015, se registró un promedio estatal de 10.55  $\text{t ha}^{-1}$  (SIAP-SAGARPA, 2016).

## Conclusiones

Se pudo determinar que el HLB provoca la pérdida generalizada de vigor en los árboles de limón mexicano, que se agrava conforme aumenta el porcentaje de copa

registered annualized yields higher than 40  $\text{t ha}^{-1}$ . By 2013, 100% of the trees had HLB symptoms with affected treetop percentages exceeding 50%, which led to a slight reduction in yield in both varieties. However, by 2014 yields fell to 23.4 and 22.9  $\text{t ha}^{-1}$  for 'Colimex' and 'Lise' respectively (Table 3).

### Cuadro 3. Rendimientos anualizados en dos variedades de limón mexicano de 2010 a 2014.

Table 3. Annualized yields in two varieties of Mexican lime from 2010 to 2014.

Variedad	Rendimientos anuales ( $\text{t ha}^{-1}$ )				
	2010	2011	2012	2013	2014
Lise	42.6 a	48.7 a	39.3 a	37.9 b	22.9 a
Colimex	37.5 a	42 a	39 a	43.9 a	23.4 a

The results of both experiments help to explain the fall in the production of Mexican lime in the state of Colima, where the disease is affecting 100% of the trees in all producing areas. In this state, until 2011 the average yield per year in the state exceeded 20  $\text{t ha}^{-1}$ ; however, from 2012 production showed a downward trend, reaching an average of only 9.3  $\text{t ha}^{-1}$  2014 (SIAP-SAGARPA, 2015). It is important to note that the HLB disease has caused producers to start improving their orchards, leading to improve fruit yields and by 2015 and a state average of 10.55  $\text{t ha}^{-1}$  (SIAP-SAGARPA, 2016) was recorded.

## Conclusions

It was possible to determine that HLB causes a generalized loss of vigor in Mexican lime trees, which is aggravated as the percentage of treetop affected by the disease increases and results in a reduction in fruit production capacity, both in the symptomatic sectors as in the sectors without symptoms of the trees affected by the disease. This reduction in fruit production is directly related to the treetop percentage showing symptoms of the disease. When HLB manifests itself in 100% of the treetop, it causes losses of production near to 50% compared to the trees without symptoms. This occurs in plantations with good agronomic management, especially in irrigation and fertilization. However, in plantations with poor irrigation and fertilization, trees become practically unproductive. Good management of

que es afectada por la enfermedad y que se traduce en reducción de la capacidad de producción de fruta, tanto en los sectores sintomáticos como en los sectores sin síntomas de los árboles afectados por la enfermedad. Esta reducción en la producción de fruta está directamente relacionada con el porcentaje de copa de los árboles que presenta síntomas de la enfermedad. Cuando el HLB se manifiesta en 100% de la copa, provoca pérdidas de producción cercanas al 50% comparado con árboles sin síntomas. Esto ocurre en plantaciones con buen manejo agronómico, especialmente riego y fertilización. Sin embargo, en plantaciones con riego y fertilización deficientes, los árboles se tornan prácticamente improductivos. Un buen manejo de la nutrición y el uso de mayores densidades de plantación pueden ayudar a recuperar la productividad de las plantaciones y reducir el impacto del HLB en este cítrico.

## Literatura citada

- Achor, D. S.; Etxeberria, E.; Wang, N.; Folimonova, S. Y.; Chung, K. R. and Albrigo, L. G. 2010. Sequence of anatomical symptom observations in citrus affected with Huanglongbing disease. *Plant Pathol. J.* 9:56-64.
- Aritua, V.; Achor, D.; Gmitter, F.G.; Albrigo, G.; Wang, N. 2013. Transcriptional and microscopic analyses of citrus stem and root responses to *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection. *PLoS ONE.* 8(9): 73742. doi:10.1371/journal.pone.0073742.
- Avalos, V. O. y González, S. R. F. 2013. El impacto social, y económico en el comercio del HLB en la cadena de limón mexicano en Colima. *In: Memorias del IX Simposio Internacional Citrícola. 1<sup>er</sup> Simposio internacional sobre HLB en cítricos ácidos. Velázquez-Monreal, J. J.; Manzanilla-Ramírez, M. A.; Robles-González, M. M. y Orozco-Santos, M. (Eds.). COEPLIM-INIFAP. Tecomán, Colima, México. 1-30 pp.*
- Bassanezi, R. B.; Montesino, L. H.; Godoy, G. M. C.; Filho, A. B. and Amorin, L. 2011. Yield loss caused by Huanglongbing in different sweet orange cultivars in Sao Paulo, Brazil. *Eur. J. Plant Pathol.* 130:577-586.
- Bové, M. J. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathol.* 88:7-37.
- CESAVECOL (Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Colima). 2011. Campaña contra el Huanglongbing de los cítricos (HLB). Acciones y resultados. Reportes mensuales del periodo abril de 2010 al 28 mayo 2011.
- Fan, J.; Chen, C.; Achor, D. S.; Brlansky, R. H.; Li, Z. G. and Gmitter, F. G. Jr. 2013. Differential anatomical responses of tolerant and susceptible citrus species to the infection of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'. *Physiol Mol Plant Pathol.* 83:69-74.
- Folimonova, S. Y.; Robertson, C. J.; Garnsey, S. M.; Gowda, S. and Dawson, W. O. 2009. Examination of the responses of different genotypes of citrus to Huanglongbing (citrus greening) under different conditions. *Phytopathology.* 99:1346-1354.
- Gottwald, T. R.; Da Graça, J. V. and Bassanezi, R. B. 2007. Citrus Huanglongbing: the pathogen and its impact. Online. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2007-0906-01-RV.
- Graham, J. H.; Johnson, E. G.; Gottwald, T. R. and Irey, M. S. 2013. Presymptomatic fibrous root decline in citrus trees caused by Huanglongbing and potential interaction with *Phytophthora* spp. *Plant Dis.* 97:1195-1199.
- Kim, J. S.; Sagaram, U. S.; Burns, J. K.; Li, J. L. and Wang, N. 2009. Response of sweet orange (*Citrus sinensis*) to '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' infection: microscopy and microarray analyses. *Phytopathology.* 99:50-57.
- Liao, H. L. and Burns, J. K. 2012. Gene expression in *Citrus sinensis* fruit tissues harvested from Huanglongbing-infected trees: comparison with girdled fruit. *J. Exp. Bot.* 63(8):3307-3319.
- Mafra, V.; Martins, P. K.; Francisco, C. S.; Ribeiro, A. M.; Freitas, A. J. and Machado, M. A. 2013. *Candidatus Liberibacter americanus* induces significant reprogramming of the transcriptome of the susceptible citrus genotype. *BMC Genomics.* 14(247):1-15.
- Martinelli, F.; Uratsu, S. L.; Albrecht, U.; Reagan, R. L.; Phu, M. L.; Britton, M.; Buffalo, V.; Fass, J.; Leicht, E.; Zhao, W.; Lin, D.; D'Souza, R. and Davis, C. E. 2012. Transcriptome profiling of citrus fruit response to Huanglongbing disease. *PLoS ONE.* 7(5):e38039. doi:10.1371/journal.pone.0038039.
- McCollum, G.; Hilf, M.; Irey, M.; Luo, W. and Gottwald, T. 2016. Susceptibility of sixteen citrus genotypes to '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'. *Plant Dis.* 100:1080-6.
- Nwugo, C. C.; Duan, Y. and Lin, H. 2013. Study on citrus response to Huanglongbing highlights a down-regulation of defense-related proteins in lemon plants upon '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' infection. *PLoS ONE* 8(6): e67442. doi:10.1371/journal.pone.0067442.
- Rawat, N.; Kiran, S. P.; Du, D.; Gmitter, F. G. Jr. and Deng, Z. 2015. Comprehensive meta-analysis, co-expression, and miRNA nested network analysis identifies gene candidates in citrus against Huanglongbing disease. *BMC Plant Biology.* 15:184 p.
- Robles, G. M. M.; Velázquez, M. J. J.; Manzanilla, R. M. A.; Orozco, S. M.; Medina, U. V.M.; López, A. J. I. y Flores, V. R. 2013a. Síntomas del Huanglongbing (HLB) en árboles de limón mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] y su dispersión en el estado de colima, México. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 19(1):15-31.
- Robles, G. M. M.; Velázquez, M. J. J.; Manzanilla, R. M. A.; Orozco, S. M.; Flores, V. R. y Medina, U. V. M. 2010. Diseminación del Huanglongbing HLB en la zona productora de limón mexicano del estado de Colima. *In: Memorias del 1<sup>er</sup> simposio nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los cítricos y el Huanglongbing en México. CONACYT-INIFAP. Monterrey, México. 93-97 pp.*

*End of the English version*



- Robles, G. M. M.; Velázquez, M. J. J.; Manzanilla, R. M. Á.; Orozco, S. M. y Medina, U. V. M. 2013b. Experiencias sobre el Huanglongbing (HLB) en limón mexicano de Colima. *In: IX simposio internacional cítrícola. Memorias del 1<sup>er</sup> simposio internacional sobre HLB en cítricos ácidos*. 1-30 p.
- Robles, G. M. M.; Orozco, S. M.; Manzanilla, R. M. Á. y Velázquez, M. J. J. 2014. El Huanglongbing (HLB). *In: el limón mexicano (Citrus aurantifolia)*, Orozco-Santos, M.; Robles-González, M. M.; Velázquez-Monreal, J. J. y Manzanilla-Ramírez, M. Á. (Eds.). Libro Técnico Núm. 1. SAGARPA, INIFAP, CIRPAC, Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. 242-283 pp.
- SENASICA-SAGARPA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2016. Campaña contra Huanglongbing de los cítricos. Dirección General de Sanidad Vegetal. Dirección de Protección Fitosanitaria. Situación fitosanitaria actual SENASICA SAGARPA. <http://www.senasica.gob.mx/?id=4608>.
- SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2015. Producción agrícola: Cíclicos y perenes 2014. México.
- SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2016. Producción agrícola: cíclicos y perenes 2015. México.
- Trujillo, A. J. 2010. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Dirección General de Sanidad Vegetal. Oficio B00.01,01,01.03.-02788. Circular No. 056. 16 de abril de 2010.
- Wang, Y.; Zhou, L.; Yu, X.; Stover, E.; Luo, F. and Duan, Y. 2016. Transcriptome profiling of Huanglongbing (HLB) tolerant and susceptible citrus plants reveals the role of basal resistance in HLB tolerance. *Front. Plant Sci.* 7:933.
- Wang, N. and Trivedi, P. 2013. Citrus Huanglongbing: a newly relevant disease presents unprecedented challenges. *Phytopathology*. 103(7):652-665.
- Xu, M.; Li, Y.; Zheng, Z.; Dai, Z.; Tao, Y. and Deng, X. 2015. Transcriptional analyses of mandarins seriously infected by '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'. *PLoS ONE* 10(7):e0133652. doi:10.1371/journal.pone.0133652.
- Zhang, M. Q.; Guo, Y.; Powell, C. A.; Doud, M. S.; Yang, C. Y.; Zhou, H. and Duan, Y. P. 2016. Zinc treatment increases the titre of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in huanglongbing-affected citrus plants while affecting the bacterial microbiomes. *Plant Pathol.* 120(6):1616-1628.
- Zheng, Z. L. and Zhao, Y. 2013. Transcriptome comparison and gene co-expression network analysis provide a systems view of citrus response to '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' infection. *BioMed Central Genomics*. 14 (27):14-27.
- Zhong, Y.; Cheng, C-z.; Jiang, N-h.; Jiang, B.; Zhang, Y-y. and Wu, B. et al. 2015 Comparative transcriptome and iTRAQ proteome analyses of citrus root responses to *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection. *PLoS ONE* 10(6): e0126973. doi:10.1371/journal.pone.0126973.