



**AGRICULTURA**  
SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL



**SENASICA**  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,  
INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA



# Monitor Fitosanitario



22 DE SEPTIEMBRE DE 2020



## **Monitor Fitosanitario**

### Contenido

Desarrollo y validación de nuevos ensayos de PCR convencional multiplex y PCR en tiempo real cuádruple para la detección en un tubo de <i>Phyllosticta citricarpa</i> , <i>Elsinoe fawcettii</i> , <i>Elsinoe australis</i> y <i>Pseudocercospora angolensis</i> en cítricos. ....	2
Variación en las características del xilema de razas botánicas de <i>Persea americana</i> y su influencia potencial en la susceptibilidad al patógeno <i>Raffaelea lauricola</i> . ....	3
Estimación de la probabilidad de infección de <i>Xylella fastidiosa</i> susp. <i>pauca</i> usando métodos de geoestadística. ....	4
Detección de especímenes del complejo de especies de <i>Euwallacea fornicatus</i> recolectados en O'ahu y la Isla Grande, Hawái. ....	4
<i>Pseudomonas brassicae</i> , nueva especie infectando brócoli en Japón. ....	5

## DIRECCIÓN DE SISTEMATIZACIÓN Y ANÁLISIS SANITARIO

### **Desarrollo y validación de nuevos ensayos de PCR convencional multiplex y PCR en tiempo real cuádruple para la detección en un tubo de *Phyllosticta citricarpa*, *Elsinoe fawcettii*, *Elsinoe australis* y *Pseudocercospora angolensis* en cítricos.**



**Plaga o enfermedad:** *Phyllosticta citricarpa*, *Elsinoe fawcettii*, *Elsinoe australis* y *Pseudocercospora angolensis*  
**Especie reportada afectada:** Cítricos  
**Clave (s) de identificación:** FITO.115.008.05.22092020

El 14 de septiembre de 2020, investigadores del Agricultural Research Center, el Ministerio de Agricultura y la oficina Regional de la FAO de Egipto y, el Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité de Mycologie de Francia, publicaron un artículo en el journal Applied Microbiology and Biotechnology sobre nuevos ensayos de PCR convencional multiplex y PCR en tiempo real cuádruple para la detección en un solo tubo de los principales patógenos de los cultivos de cítricos.

*Phyllosticta citricarpa*, *Elsinoe fawcettii*, *Elsinoe australis* y *Pseudocercospora angolensis* son los principales patógenos que afectan los cultivos de cítricos en todo el mundo y pueden causar síntomas no característicos que pueden llevar a confusión con respecto al agente causante. Estos hongos están sujetos a regulaciones fitosanitarias internacionales y a pruebas en frutas u hojas. En este estudio se desarrollaron nuevos ensayos de PCR multiplex convencional y PCR en tiempo real para lograr una detección simultánea de alta precisión de los cuatro patógenos fúngicos en los tejidos de la fruta.

Durante el estudio, fueron diseñadas nuevas combinaciones de oligonucleótidos para *P. citricarpa*, *E. fawcettii* y *E. australis* y se combinaron con cebadores y sondas de hidrólisis, ya disponibles, para usar en cualquiera de los ensayos a través de la técnica por PCR. El límite de detección para la PCR convencional multiplex fue tan bajo como  $100 \text{ pg}/\mu\text{L}^{-1}$  para *P. citricarpa*, *E. fawcettii* y *E. australis*, y  $10 \text{ pg}/\mu\text{L}^{-1}$  de ADN objetivo por tubo de reacción para *P. angolensis*.

El experimento de validación reveló que el ensayo de PCR multiplex en tiempo real mostró una alta especificidad, asimismo, el ensayo se pudo utilizar siguiendo diferentes procedimientos de extracción de ADN, lo que respalda la idoneidad para los análisis de rutina.

Estas nuevas herramientas multiplex deberían ser de gran interés como soluciones rentables para las autoridades reguladoras y los laboratorios de diagnóstico, permitiendo la prueba de cuatro patógenos importantes en reacciones de un solo tubo.

Los ensayos múltiples se pueden aplicar para ayudar a diagnosticar patógenos con síntomas ambiguos o en una etapa temprana. Por ejemplo, los analistas no

**DIRECCIÓN DE SISTEMATIZACIÓN Y ANÁLISIS SANITARIO**

necesariamente sabrán con precisión qué patógeno podría estar presente. La alta especificidad y sensibilidad combinadas con un corto tiempo para procesar las muestras y la facilidad de manipulación, hacen de los ensayos moleculares una alternativa robusta a las técnicas tradicionales. Estos ensayos podrían incorporarse convenientemente a los métodos de detección oficiales que llevan a cabo los laboratorios de diagnóstico.

Fuente: Journal Applied Microbiology and Biotechnology (Artículo científico).

Referencia: Ahmed, Y., Hussein, A., Hubert, J. et al. (2020). New multiplex conventional PCR and quadruplex real-time PCR assays for one-tube detection of *Phyllosticta citricarpa*, *Elsinoë fawcettii*, *Elsinoë australis*, and *Pseudocercospora angolensis* in Citrus: development and validation. Appl Microbiol Biotechnol. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10880-w>

### **Variación en las características del xilema de razas botánicas de *Persea americana* y su influencia potencial en la susceptibilidad al patógeno *Raffaelea lauricola*.**



**Plaga o enfermedad:** *Raffaelea lauricola*

**Especie reportada afectada:** Aguacate

**Clave (s) de identificación:** FITO.078.002.05.22092020

El 18 de septiembre de 2020, investigadores del McHenry County College, la Universidad de Minnesota y la Universidad de Florida en Estados Unidos de América, publicaron en el Journal Tropical Plant Pathology, una investigación sobre la variación en las características del xilema de razas botánicas de *Persea americana* y su influencia potencial en la susceptibilidad al patógeno *Raffaelea lauricola*.

El aguacate (*Persea americana*) está amenazado por la enfermedad invasiva, el marchitez del laurel, el patógeno *Raffaelea lauricola*, se propaga rápidamente en el xilema de los árboles infectados, provocando el bloqueo del flujo de agua y nutrientes y el marchitamiento vascular letal. Estudios anteriores mostraron que existe una variación en la susceptibilidad a la enfermedad entre las diferentes razas de aguacate, siendo la raza antillana la más susceptible.

Para explicar las posibles diferencias en la susceptibilidad, se examinaron las características del xilema de catorce cultivares de aguacate de las razas botánicas de Guatemala, México y las Indias Occidentales. Las muestras de cada cultivo se evaluaron para establecer el tamaño, la densidad, la agregación y la conductividad hidráulica potencial específica del xilema.

La raza de las Indias Occidentales tuvo diámetros medios, máximos medios y conductividades hidráulicas potenciales específicas del xilema significativamente mayores que las razas guatemalteca y mexicana, que a su vez, no difirió para ninguna de estas variables.

Las diferencias en la susceptibilidad a la marchitez del laurel en el aguacate pueden deberse a los diferentes mecanismos de resistencia. Sin embargo, los conocimientos del presente estudio indican que el diámetro de los vasos puede ser un factor clave en la susceptibilidad y resistencia a esta enfermedad.

## DIRECCIÓN DE SISTEMATIZACIÓN Y ANÁLISIS SANITARIO

Los investigadores concluyeron que se necesitan estudios adicionales para examinar la susceptibilidad de la raza antillana y las características específicas del xilema y las respuestas del huésped que limitan la infección por el patógeno, lo que podría estar asociado con los atributos de los vasos. También se justifican estudios histológicos continuos para caracterizar los mecanismos de compartimentación entre las razas de aguacate.

Fuente: Journal Tropical Plant Pathology (Artículo científico).

Referencia: Beier, G.L., Lund, C.D., Held, B.W. *et al.* (2020). Variation in xylem characteristics of botanical races of *Persea americana* and their potential influence on susceptibility to the pathogen *Raffaelea lauricola*. Trop. plant pathol. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00397-y>

### Estimación de la probabilidad de infección de *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* usando métodos de geoestadística.



**Plaga o enfermedad:** *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*

**Especie reportada afectada:** Olivo

**Localización:** Italia

**Clave (s) de identificación:** FITO.159.015.01.22092020

El 17 de septiembre de 2020, el periódico Ambient & Ambienti de Italia, comunicó acerca de una próxima investigación utilizando la geoestadística para determinar la probabilidad de infección de *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* en árboles de olivo.

La investigación, se publicará en enero de 2021, en la revista Science of The Total Environment, en la cual se plantea el uso de la geoestadística como acercamiento a la fusión de datos, combinando los datos de sensores remotos y proximales, así como, las inspecciones visuales en conjunto con el resultado de las pruebas diagnósticas realizadas en árboles de olivo de la localidad de Oria en la provincia de Brindisi, Italia, esto con la finalidad de contar con información para realizar el mapeo de la probabilidad del riesgo de infección.

Las variables que se utilizaron fueron: radiación electromagnética (obtenida por drones), estudios geofísicos del tronco y los datos obtenidos de las pruebas PCR, dicha información se procesó mediante la fusión de datos, lo cual es considerado un método geoestadístico multivariado no paramétrico.

Como resultado obtuvieron un mapa que demarcaba las áreas con mayor probabilidad de infección, el cual puede ser utilizado para el enfoque de estrategias de prevención.

Fuente: Ambient & ambient (nota de prensa) y Science of The Total Environment (Artículo científico)

Referencia: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969720353432> y <https://www.ambienteambient.com/xylella-un-approccio-innovativo-per-spiegare-le-dinamiche-del-contagio/>

### Detección de especímenes del complejo de especies de *Euwallacea fornicatus* recolectados en O'ahu y la Isla Grande, Hawái.



**Plaga o enfermedad:** *Euwallacea fornicatus*

**Especie reportada afectada:** No aplica

**Localización:** Hawaii, Estados Unidos de América

**Clave (s) de identificación:** FITO.048.008.01.22092020

## DIRECCIÓN DE SISTEMATIZACIÓN Y ANÁLISIS SANITARIO

El 17 de septiembre de 2020, investigadores de la Universidad de California, publicaron a través de la revista académica PeerJ Computer Science, la identificación del complejo de especies *Euwallacea fornicatus*, establecidas en las islas O'ahu y la Isla Grande en Hawái.

De acuerdo con la investigación, en septiembre de 2016 se lograron identificar mediante secuenciación genética a dos ejemplares previamente colectados en 2007, los cuales resultaron positivos a *E. fornicatus*.

Actualmente se consideran para la identificación cuatro linajes de ADN que inicialmente reciben los nombres comunes de tea shot hole borer (TSHB) 1A y 1B, polyphagous shot hole borer (PSHB) y kuroshio shot hole borer (KSHB); con lo cual, estas especies podrían reconocerse fácilmente por la secuenciación del gen citocromo oxidasa 1 (COI) mitocondrial de su ADN.

Como parte del estudio de diversidad de escarabajos, desde junio de 2018 hasta finales de septiembre de 2019, se realizó la captura de especímenes, los cuales fueron identificados mediante el análisis de alta resolución de fusión (HRM, High Resolution Melt) y, basado en la caracterización genética (HRM y secuenciación) de los especímenes capturados, determinaron que el TSHB (*E. perbrevis*) y PSHB (*E. fornicatus*) se encuentran en la Isla Grande y en O'ahu.

Los investigadores mencionan que aún se desconoce cuánto tiempo PSHB y TSHB han estado presentes en Hawái y no han sido cuantificados los daños económicos o ecológicos. Asimismo, enfatizan que el estudio confirmó que dos miembros del complejo de especies de *E. fornicatus*: TSHB y PSHB, se han establecido con éxito en las islas hawaianas, se desconoce la extensión geográfica completa de las dos especies.

Por último, se mencionó que a través de esta investigación fue desarrollado un ensayo molecular económico y confiable para el diagnóstico preciso de especies.

Además de la identificación de PSHB en O'ahu y la Isla Grande, Hawái, también fueron identificadas las especies de hongos asociadas con los escarabajos.

Fuente: Peerj (Artículo científico).

Referencia: <https://peerj.com/articles/9987/>

### ***Pseudomonas brassicae*, nueva especie infectando brócoli en Japón.**



**Plaga o enfermedad:** *Pseudomonas brassicae*

**Especie reportada afectada:** Brócoli

**Localización:** Japón

**Clave (s) de identificación:** FITO.283.001.01.22092020

El 02 de septiembre de 2020, la Organización Nacional de Investigación en la Agricultura y Alimentación de Japón, publicó en la revista de la Sociedad de Microbiología un estudio acerca de una nueva especie de *Pseudomonas* infectando cultivos de brócoli.

De acuerdo con la investigación, se observaron lesiones de podredumbre en unidades de producción de brócoli (*Brassica oleracea*) ubicados en Hokkaido, Japón. Por consiguientes se colectaron vegetales para su identificación taxonómica, logrando



## DIRECCIÓN DE SISTEMATIZACIÓN Y ANÁLISIS SANITARIO

aislar a una bacteria gram negativa, aeróbica, sin formación de esporas, con movilidad de uno o dos flagelos y formación de colonias amarillas.

Asimismo, se realizó la secuenciación genética del rRNA 16s, con lo que se identificó que la bacteria pertenece al género *Pseudomonas* y, mostró similitud del 98% con 4 especies, sin embargo, con base en el análisis multilocus y por los datos de patogenicidad, fenotípico y genotípicos se observó que se trataba de una nueva especie, por lo que los investigadores la denominaron *Pseudomonas brassicae* sp. nov.

Al ser una especie nueva se sugiere realizar estudios del impacto y la diversidad de esta bacteria, ya que hasta el momento el único hospedante identificado es el brócoli.

Este hallazgo no representa una amenaza para México, ya que no hay importación de mercancía hospedante originaria de Japón.

Fuente: Microbiology (Artículo científico),

Referencia: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.004412>