

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Ficha Técnica No.36

Mancha negra de los cítricos

Guignardia citricarpa Kiely



Fotografías: Halueendo, Reeder *et al.*, Pazoti *et al.*,
University of Florida

Elaborada por:

SENASICA
Laboratorio Nacional de
Referencia Epidemiológica
Fitosanitaria
LANREF-CP

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Mancha negra de los cítricos ***Guignardia citricarpa* Kiely**

**Servicio Nacional de Sanidad,
Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
(SENASICA)**

**Calle Guillermo Pérez Valenzuela No.
127, Col. Del Carmen C.P. 04100,
Coyoacán, México, D.F.**

Primera edición: Julio 2013
ISBN: 978-607-715-155-5

Nota del autor:

La última actualización de este documento
se realizó en junio de 2014.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Contenido

IDENTIDAD	4
Nombre	4
Sinonimia.....	4
Clasificación taxonómica	4
Nombre común.....	4
Código EPPO	4
Categoría reglamentaria	4
Situación de la plaga en México.....	4
IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA PLAGA.....	4
Impacto económico de la plaga.....	4
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA PLAGA.....	5
HOSPEDANTES	5
Distribución nacional de hospedantes	7
ASPECTOS BIOLÓGICOS	7
Ciclo de vida.....	7
Descripción morfológica.....	7
Síntomas	11
ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	13
Epidemiología de la plaga	13
Dispersión	14
Métodos de diagnóstico.....	14
MEDIDAS FITOSANITARIAS	16
Esquema de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria	16
Alerta fitosanitaria.....	16
Protección	16
BIBLIOGRAFÍA	17

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

IDENTIDAD

Nombre

Teleomorfo: *Guignardia citricarpa* Kiely.
Anamorfo: *Phyllosticta citricarpa*
(McAlpine) Van der Aa.

Sinonimia

Phoma citricarpa McAlpine
Phoma citricarpa var. Mikan Hara
Phyllosticta citricarpa (McAlpine) Aa
Phyllostictina citricarpa (McAlpine) Petr

Clasificación taxonómica

Dominio: Eucariota
Reino: Fungi
Phylum: Ascomycota
Subphylum: Pezizomycotina
Clase: Dothideomycetes
Familia: Botryosphaeriaceae
Orden: Botryosphaeriales
Género: *Guignardia*
Especie: *G. citricarpa*
(*Phyllosticta citricarpa*)

Nombre común

Español	Mancha negra de los cítricos
---------	------------------------------

Inglés	Citrus black spot
--------	-------------------

Código EPPO

GUIGCI (*Guignardia citricarpa*)
(EPPO, 2012).

Categoría reglamentaria

Plaga ausente (DGSV, 2012).

Situación de la plaga en México

De acuerdo a la NIMF no 8 (IPPC, 1998), esta plaga se considera como Ausente: no hay registros de la plaga.

IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA PLAGA

Es una de las enfermedades más importantes en áreas cítricas de Asia, Australia, Sudamérica y África. La enfermedad es importante sobre todo en precosecha por causar lesiones en la cáscara y demeritar la calidad de los frutos (EPPO, 2012). Casi todos los cultivares de cítricos comercialmente importantes son susceptibles (Kotzé, 1981).

Impacto económico de la plaga

La mancha negra de los cítricos es una enfermedad de gran importancia económica en Australia (Kiely, 1969), en Guangdong provincia de China (Fawcett, 1936) y Sudáfrica (McOnie, 1965).

Durante 1931 en Windsor y Río Hawkesbury, Australia, todos los huertos de naranjas cv. "Washington

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Navel”, “Jope” y “Siletta Blanca” fueron severamente afectados los cuales presentaron pérdidas hasta del 80 % en cada huerto (Kiely, 1969). Antes de la aplicación de medidas de control para esta enfermedad, fueron reportadas grandes pérdidas en naranjo cv. “Valencia” en huertos de la costa de Nueva Gales del Sur (Kiely, 1948).

En Sudáfrica, el 90 % de la fruta para exportación provenía de árboles protegidos con fungicidas y en los casos donde no ocurrió manejo del cultivo más del 80 % de los frutos se perdió (McOnie, 1965). Las lluvias de verano en huertos de limón fueron el factor más importante para iniciar el desarrollo de la epidemia y hasta la fecha la mancha negra no se ha logrado erradicar de la zona (Kotzé, 1981).

En Zimbabue la mancha negra fue identificada desde 1965, pero alcanzó proporciones epidémicas hasta 1978 (Kotzé, 1981).

Durante el período comprendido entre 1929 y 1939, cuando la epidemia estaba en su peor momento en Australia, el mercado mayorista de naranjas en Sydney estaba en detrimento, debido a que los productores crearon un exceso de oferta, por temor a que los frutos en desarrollo se vieran afectados por la enfermedad (McOnie, 1965; Halueendo, 2008).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA PLAGA

Los países y regiones listadas en el Cuadro 1, corresponde a los lugares donde está presente o existen evidencias suficientes que sugieren la presencia de *G. citricarpa*. Actualmente la mancha negra de los cítricos se ha reportado en diferentes países del mundo (Figura 1) (CABI, 2011).

HOSPEDANTES

Los principales hospedante de *G. citricarpa* son especies del género *Citrus* como limón mandarina (*C. limonia*), tangor (*C. nobilis*), mandarino (*C. poonensis*), *C. tankan*, pomelo (*C. paradisi*), limones (*C. limon*), limas (*C. aurantifolia*), mandarinas (*C. reticulata*), naranjas (*C. sinensis*) y *Fortunella* sp.

El naranjo agrio (*C. aurantium*) no es susceptible, pero las naranjas de maduración tardía, limones, mandarinas y pomelos son los más susceptibles. El limón puede ser utilizado como indicador durante actividades de monitoreo de la enfermedad por ser el hospedante preferencial (EPPO, 2012; Kotzé, 2000). Para el desarrollo de una epidemia se requiere sólo de un grupo reducido de árboles infectados (Kotzé 1981).

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Cuadro 1. Distribución geográfica actual de la mancha negra de los cítricos.

Países donde se reporta la presencia de <i>G. citricarpa</i>	
Asia	Bután, China (Fujian, Guangdong, Hong Kong, Sichuan, Yunnan, Zhejiang), Indonesia (Java), Filipinas, Singapur, Taiwán.
África	Kenia, Mozambique, Sudáfrica, Uganda, Zambia, Zimbabue.
América	EE.UU. (Florida), Argentina, Brasil (Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Sao Paulo).
Europa	Federación Rusa
Oceanía	Australia (New South Wales, Queensland, Victoria), Nueva Zelanda, Vanuatu

Créditos: CABI, 2011.

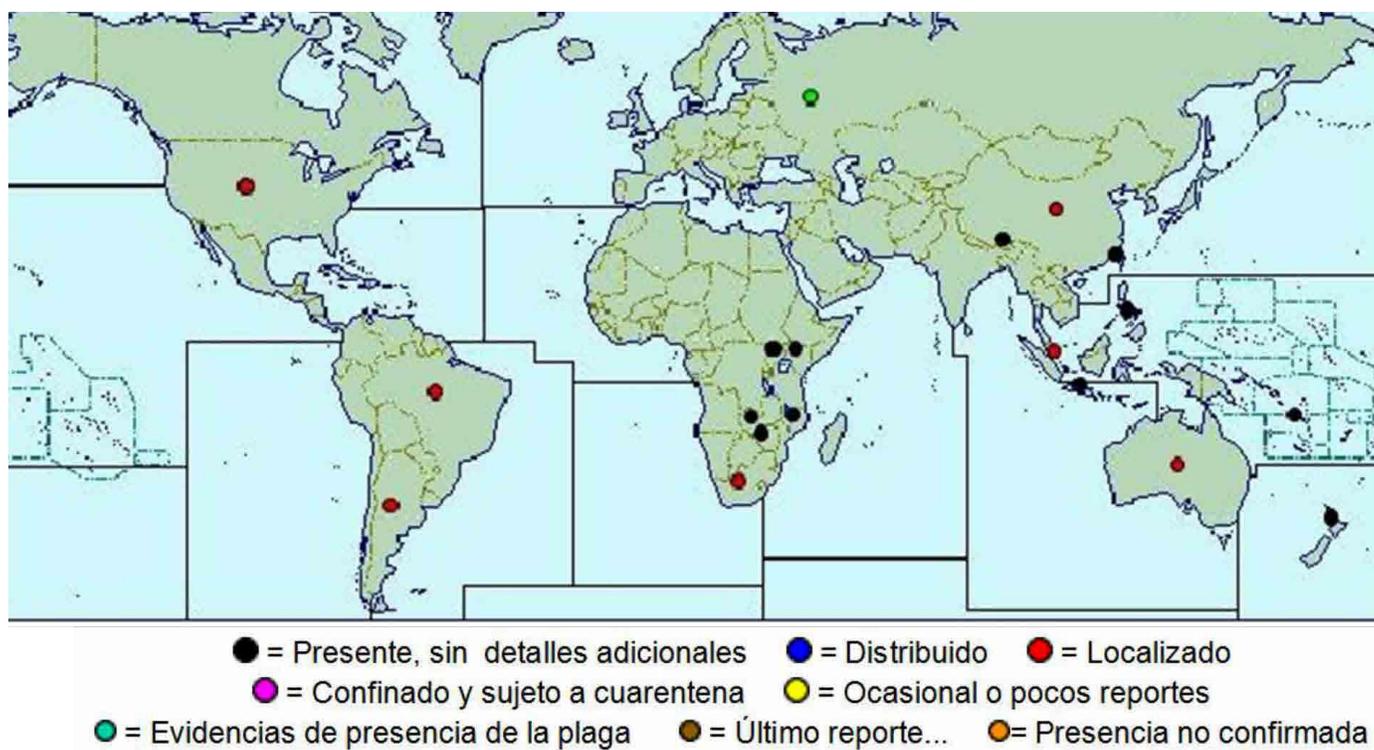


Figura 1. Distribución geográfica de la mancha negra de los cítricos (*G. citricarpa*). Créditos: CABI, 2011.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Durante varios años el hongo endófito *G. mangiferae* A. J. Roy (Anamorfo: *Phyllosticta capitalensis*) fue confundido con *Gignardia citricarpa*. Baayen *et al.*, (2002), probaron que ambas especies se encuentran coexistiendo; sin embargo, *G. mangiferae* es un microorganismo endófito que posee un amplio rango de hospedantes, mientras que *G. citricarpa* se aísla principalmente en cítricos. Las especies de estos hongos difieren en la habilidad que tienen para causar la enfermedad, poseen características culturales diferentes (Lee, 1969) y secuencia de nucleótidos en la región ITS (Meyer *et al.*, 2001). Las técnicas moleculares desarrolladas en la actualidad permiten discriminar ambas especies con facilidad (Bonants *et al.*, 2003; Van Gent-Pelzer *et al.*, 2007).

Distribución nacional de hospedantes

La naranja (*Citrus sinensis*) y el limón real (*Citrus limonum*) se cultivan ampliamente en México. Otras especies de cítricos también se cultivan en los 24 estados del país (Figura 2). En el año 2012 se reportó una superficie de 554,511.50 ha, una producción superior a los 6.6 millones de toneladas y un valor de producción de 12,403 millones pesos, los principales cítricos son: naranja, limón, mandarina, tangerina, toronja y lima (SIAP, 2014)

ASPECTOS BIOLÓGICOS

Ciclo de vida

El patógeno manifiesta dos estados biológicos, uno de tipo sexual representado por las ascosporas de *G. citricarpa* y un estado asexual representado por las picnidiosporas de *Phyllosticta citricarpa*. Las ascosporas son producidas en los residuos de hojas infectadas a partir de los pseudotecios que se desarrollan entre los 40-180 días después de la infección (Figura 3) (CABI, 2002).

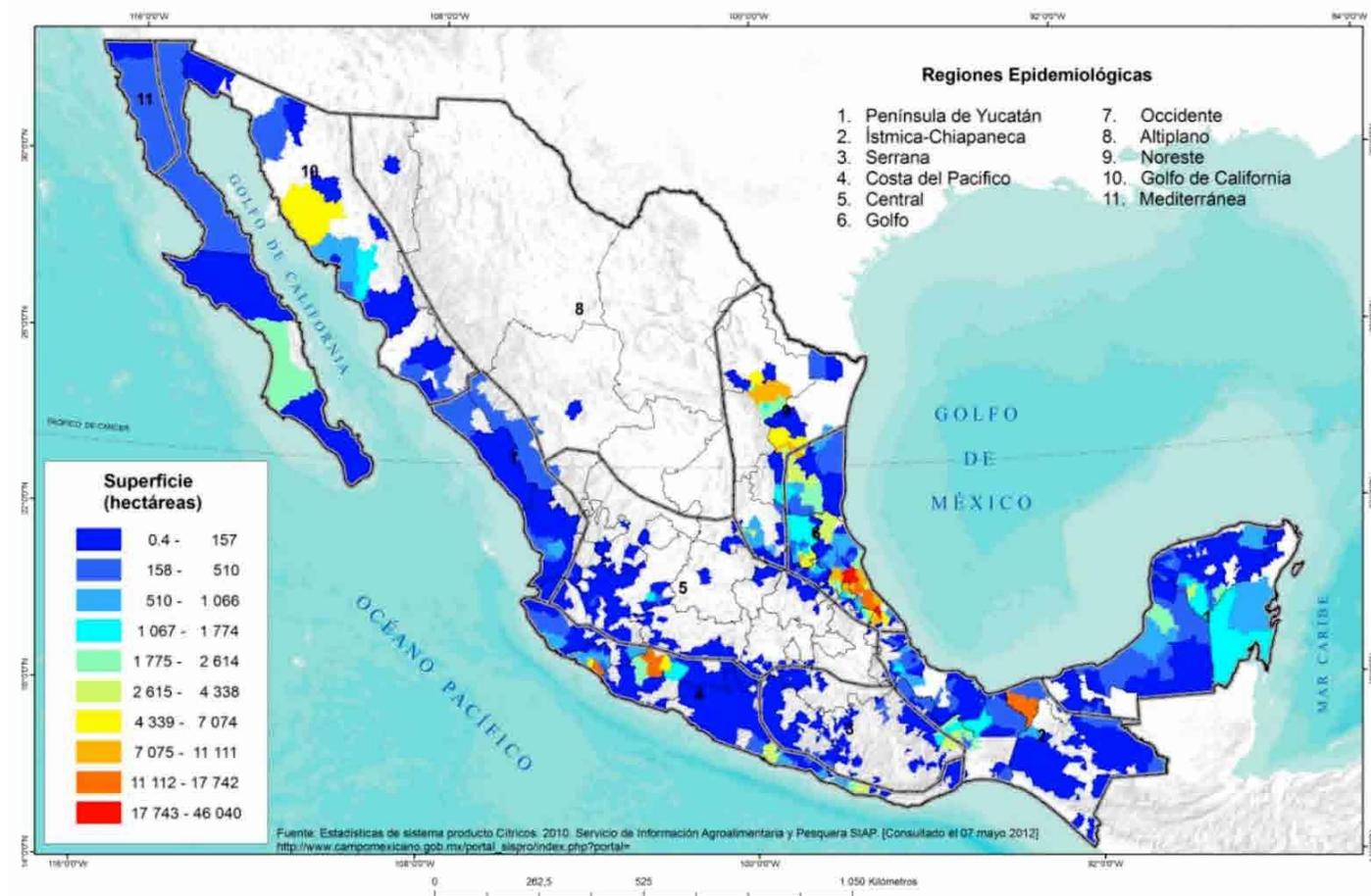
Descripción morfológica

La información referente a la morfología de *G. citricarpa* varía por la confusión que existe para diferenciar los aislamientos patogénicos de los no patogénicos. Los siguientes datos corresponden a la revisión y modificaciones realizadas por Baayen *et al.*, 2002.

Ascocarpos: los pseudotecios forman exclusivamente en hojas muertas. Son solitarios o agregados, globosos a piriformes, inmersos, de color café oscuro a negro, de 125-360 μm de diámetro, pared conformada de 6 capas de células de grosor; las células exteriores están esclerotizadas y las internas son parenquimatosas de pared delgada, ostiolo papilado circular de 10 a 17.5 μm de diámetro, parafisos y perifisos ausentes.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

SUPERFICIE SEMBRADA CÍTRICOS 2010



LABORATORIO NACIONAL DE GEOPROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN FITOSANITARIA
COORDINACIÓN PARA LA INOVACIÓN Y LA APLICACIÓN DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Figura 2. Principales zonas productoras de cítricos en México. Créditos: SINAVEF- LaNGIF, 2012.

Ascas: Clavadas, cilíndricas, bitunicadas, de pared delgada, ligeramente estipitadas, con 8 ascosporas de 40-65 x 12-15 µm (Figuras 4 c y d).

Ascosporas: sin septos, hialinas, multigutuladas, cilíndricas y engrosadas en el centro, extremos obtusos lo cuales poseen un apéndice hialino de 12.5-16 x 4.5- 6.5 µm (Figuras 4 g y h; Figuras 5 a y b).

Picnidios: se forman de las lesiones en frutos y hojas (vivas y muertas); son solitarios, y en ocasiones agregados, globosos, inmersos, de color café claro a oscuro, 70-130 µm de diámetro, pared conformada por cuatro capas de células: las externas esclerosadas y las internas parenquimatosas; ostiolo más oscuro ligeramente papilado, circular de 10-15 µm de diámetro.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Conidios: obovados a elípticos, hialinos, sin septos, multigutulados, ápices ligeramente aplanados con un apéndice incoloro, de base truncada, de 9.4-12.7 x 5.0-8.5 μm , rodeada de una cubierta gelatinosa ligeramente visible

(<1.5 μm de grosor). Los conidios son blastosporas que se originan a partir de un conidióforo, hialino, unicelular, cilíndrico de 9 μm de longitud (Figuras 4 a y b).

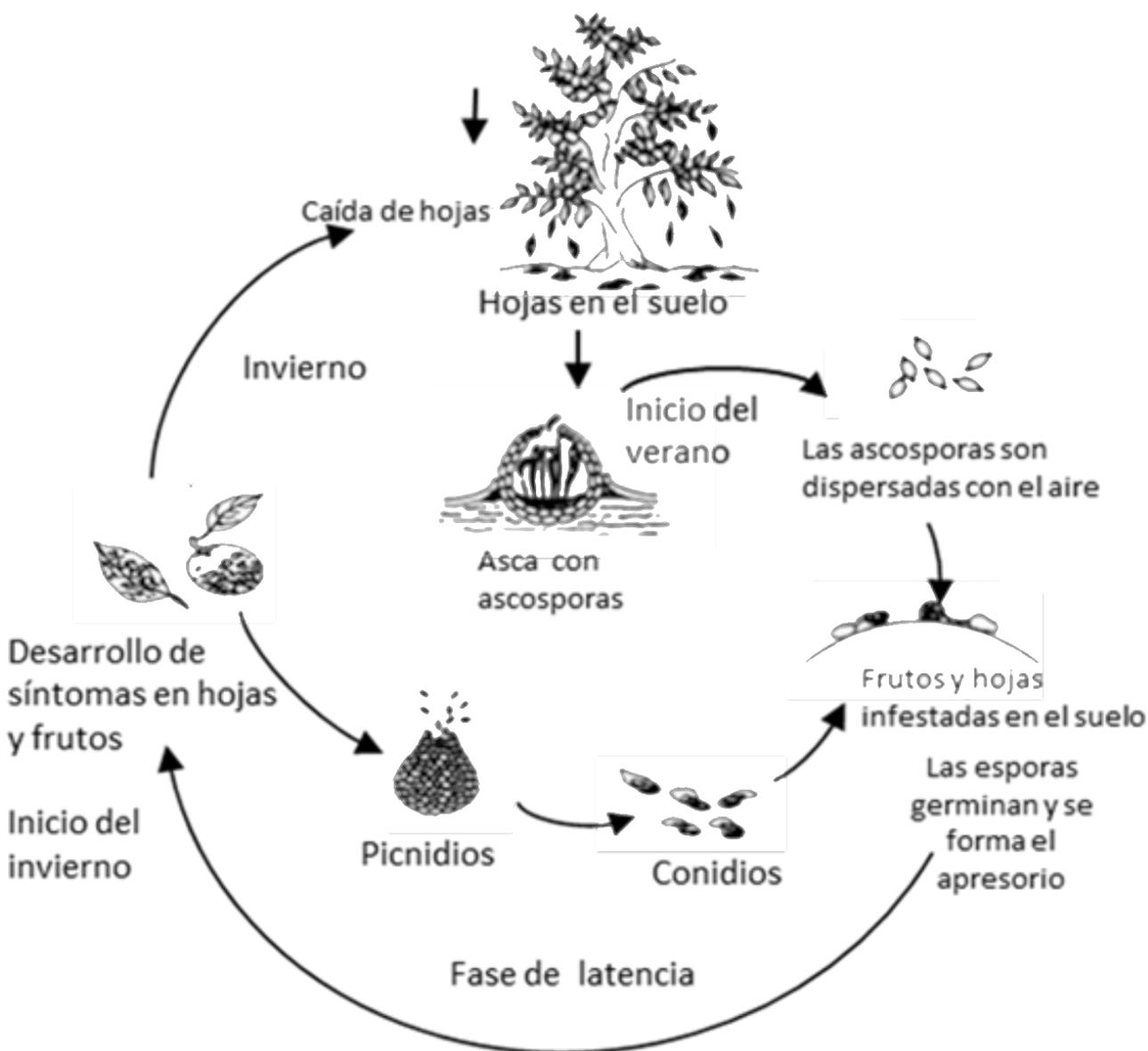


Figura 3. Ciclo de vida de *G. citricarpa*. Créditos: University of Florida. Traducción: Liliana Ramírez CNRF.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

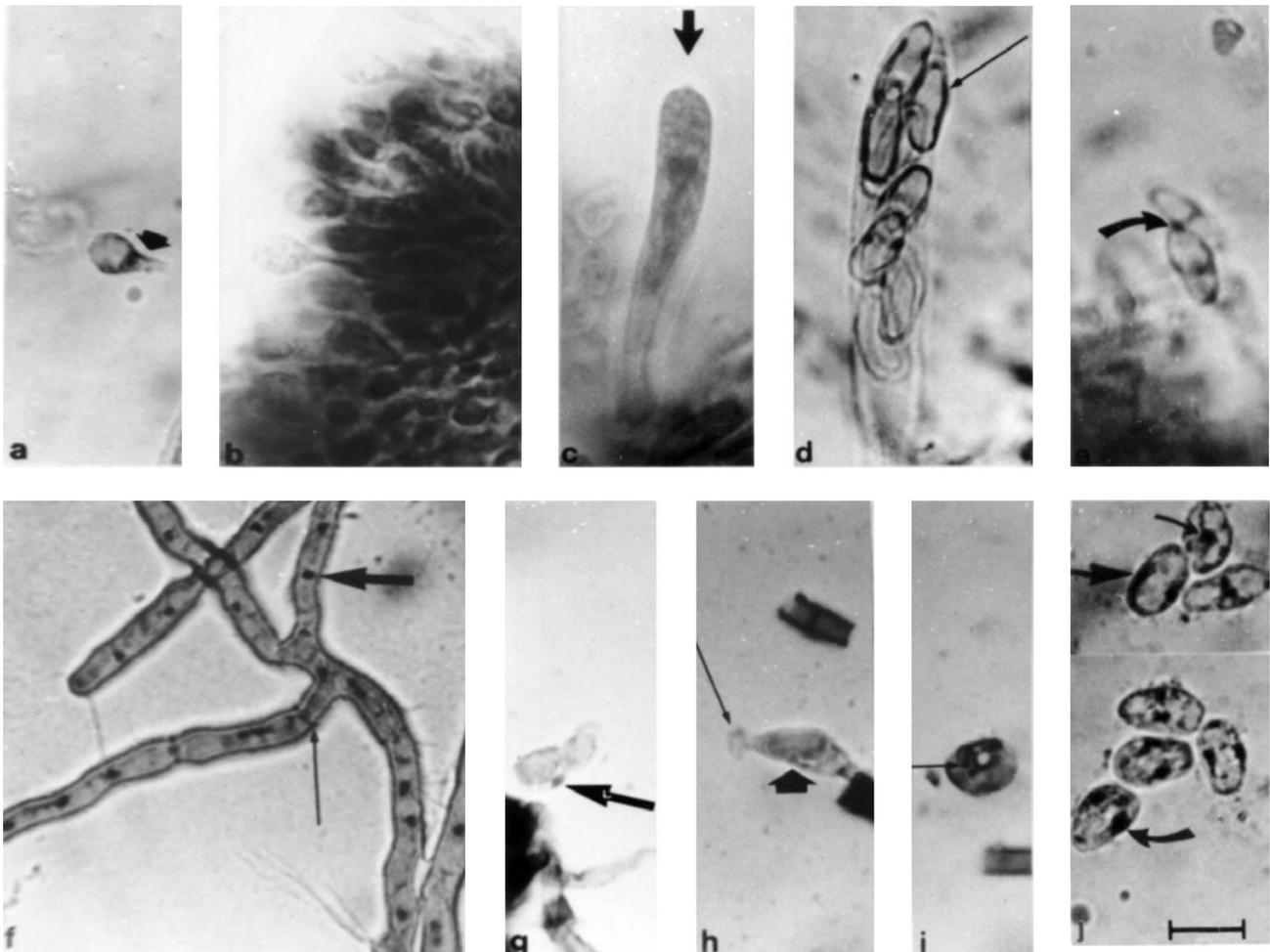


Figura 4. *G. citricarpa*. a) picniosporas con apéndice; b) conidióforo; c) asca joven y cubierta mucilaginosa; d) ascas con 8 ascosporas; e) ascospora y cubierta mucilaginosa apical; f) septa e hifa multinucleada; g) ascospora uninucleada; h) ascospora binucleada (núcleo y capuchón); i) picnidiospora multinucleada; j) picnidiosporas uninucleadas y multinucleadas (Glienke-Blanco *et al.*, 2002).

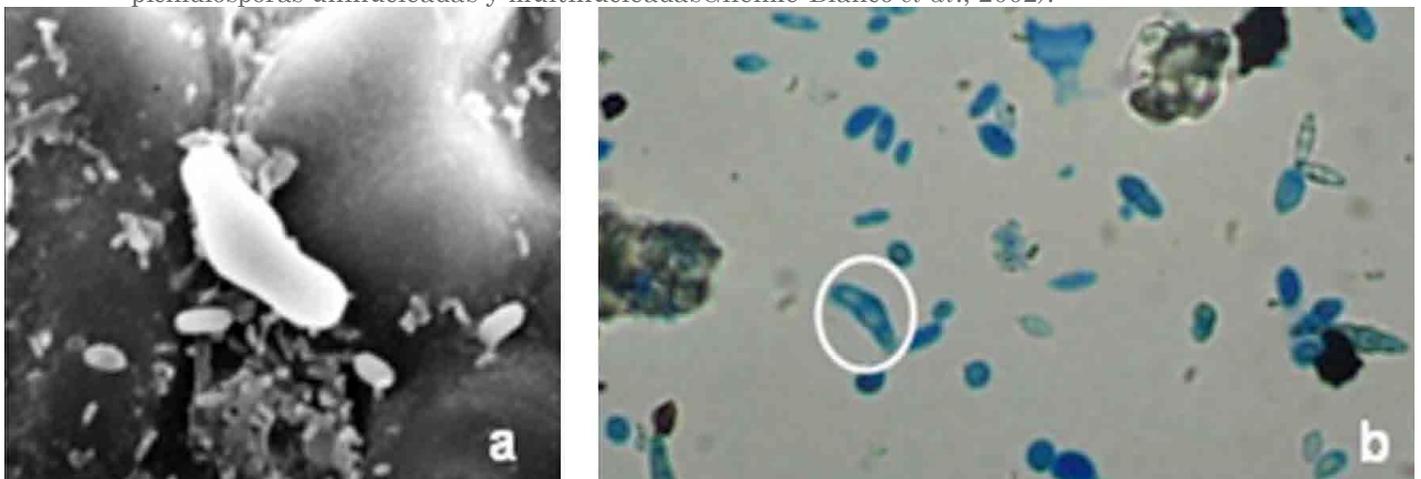


Figura 5. Ascosporas de la mancha negra de los cítricos (*G. citricarpa*). Créditos: Pazoti *et al.*, 2005.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Síntomas

Los síntomas característicos causados por *G. citricarpa* fueron descritos por primera vez en 1895 en naranja “valencia”, cultivada en zonas citrícolas próximas a Sídney, Australia (Kiely, 1969). La enfermedad afecta los diferentes órganos que componen la planta (Kotzé, 2000; CABI, 2002), en las hojas las lesiones son circulares, de 2 mm de diámetro, de color café y en el centro de las lesiones se forman los cuerpos fructíferos del hongo (picnidios); los síntomas en follaje son más comunes en limoneros que en naranjos. Todas las variedades son susceptibles a la enfermedad con excepción del naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) y los híbridos del mismo. Los limones (*Citrus limon*) son particularmente más susceptibles (Kotzé, 1981) (Figura 6).



Figura 6. *G. citricarpa* en hojas de limón cv. Eureka. Créditos: T. Regnier, University of Pretoria (Halueendo, 2008).

Sobre los frutos los síntomas inician como manchas duras o lesiones conocidas como “tiro de munición”, con tamaño de 1-2 mm

de diámetro, de color café rojizo y en frutos verdes las lesiones presentan un halo amarillo. Los síntomas son más frecuentes en las zonas más soleadas del árbol. Las lesiones con el tiempo adquieren una coloración más oscura o negra, y pueden coalescer aumentando el área afectada e inclusive cubrir todo el fruto. Las manchas suelen presentar márgenes de color café rojizo y en el centro hundirse, y adquieren una coloración café claro; los bordes se oscurecen y los picnidios se forman en el tejido hundido que puede profundizar la cáscara hasta 1-2 mm, sin afectar la parte comestible. Cuando el fruto pierde clorofila aparecen las manchas como pecas. En ocasiones los síntomas se confunden con los causados por *Diaporthe citri*, *Septoria citri* y *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (COSAVE, 2012).

Los frutos muestran diferentes tipos de síntomas, dependiendo las condiciones de temperatura y el estado de madurez del fruto (Kotzé, 1963). Los síntomas en frutos se clasifican en cuatro: mancha dura o negra, mancha pecosa, mancha virulenta y falsa melanosis (COSAVE, 2012).

Punto duro: son lesiones que se desarrollan durante el crecimiento del fruto y se caracterizan por ser circulares, hundidas y generalmente presentan picnidios en el interior (Figura 7) (Kiely, 1948; Kotzé, 2000).

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria



Figura 7. Punto duro en frutos de naranja dulce (*Citrus sinensis*). Créditos: Reeder *et al.*, 2008.

Mancha pecosa: son lesiones redondeadas de color café claro a rojizo y hundidas. Las lesiones pueden contener picnidios (Figura 8) (Kotzé, 1963; Kotzé, 2000).



Figura 8. Mancha pecosa o “pecas” en frutos de naranja (*Citrus sinensis* cv. Washington Navel) causados por *G. citricola*. Créditos: EPPO, 2012.

Mancha virulenta: son lesiones que se forman en frutos próximos a la madurez y frutos maduros. Las lesiones son de forma irregular y pueden contener numerosos picnidios, dependiendo de las condiciones ambientales predominantes (humedad relativa alta) (Kiely, 1948; Kotzé, 1963; Kotzé 2000). El daño puede profundizarse hasta alcanzar el flavedo del exocarpio. Algunas veces llega a cubrir toda la cascara y causar importantes pérdidas en postcosecha (Figura 9) (Kotzé, 1988).



Figura 9. Mancha virulenta en frutos de naranja (*Citrus sinensis*). Créditos: University of Florida, 2012.

Falsa melanosis: son lesiones que miden aproximadamente 1 mm de diámetro, protuberantes y de color castaño oscuro a negro, y pueden coalescer. Se desarrollan típicamente en frutos verdes. En estos síntomas no se forman picnidios y el manchado sobre el

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

fruto llega a generar patrones característicos (Figura 10) (Kiely, 1948; Kotzé, 1963; Kotzé, 2000).



Figura 10. Síntomas de la falsa melanosis en la cáscara del fruto. Créditos: UF, 2011.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Epidemiología de la plaga

La epidemiología de la mancha negra de los cítricos es influenciada por la disponibilidad de inóculo, condiciones climáticas óptimas para que ocurra la infección, estado fenológico del cultivo y edad de los frutos (Kiely, 1950); y puede estar influenciada por los patrones de floración y fructificación de las diferentes especies de cítricos (McOnie, 1965).

Las lluvias alternadas con períodos secos favorecen el desarrollo de la enfermedad y formación de los ascocarpos (Kiely, 1948; Kotzé, 1981). La lluvia favorece el establecimiento de nuevas infecciones

durante los períodos susceptibles del hospedante, pero tiene una correlación negativa cuando las infecciones ya han ocurrido después de la antesis, durante la floración. La lluvia y aplicación de riegos pesados estimulan la liberación de las ascosporas maduras (Kiely, 1950; Kotzé, 1963). La lluvia excesiva interrumpe la esporulación (Kotzé, 1981), debido a que propicia la rápida descomposición de los residuos vegetales, causando la eliminación del patógeno, y esto inhibe la formación de los pseudotecios por la actividad de microorganismos saprófitos competidores (Lee y Huang, 1973; CABI, 2002).

Durante la época de lluvias las ascosporas se liberan hasta alturas de 1 cm y son transportadas por el viento y la lluvia (Kiely, 1948; Kotzé, 1963; Whiteside, 1965). El viento transporta las ascosporas a distancias cortas (Whiteside, 1965). Cuando las ascosporas se sobreponen a la superficie de las hojas o frutos susceptibles, éstas germinan y forman un apresorio que emite una hifa infectiva y penetra la cutícula de la epidermis del fruto, formando una masa de micelio que se desarrolla entre la cutícula y paredes de las células epidermales. De esta manera se conforma una infección quiescente (Kotzé, 2000).

Es común que las infecciones en hojas permanecen latentes sin causar síntomas, y la formación de los

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

ascocarpos ocurre hasta que estas mueren y caen; sin embargo, en algunas ocasiones se forman manchas en las hojas viejas que permanecen adheridas al árbol (Kiely, 1948; Whiteside, 1965). Las hojas muertas pueden producir ascosporas por varios meses, inclusive cuando ya están en estado avanzado de descomposición (Kiely, 1948).

En frutos, las infecciones permanecen en estado quiescente, hasta que los frutos maduran. Durante el proceso de maduración la infección se desarrolla, formando manchas en las que se producen de manera continua los picnidios y las picnidiosporas (Kiely, 1948). Nunca se ha observado la formación de ascósporas en frutos aun adheridos al árbol (Kiely, 1948; Kotzé, 1981).

Para que ocurra la infección deben existir las condiciones óptimas de humedad, temperatura y presencia del inóculo (Huang y Chang, 1972; Kotzé, 1981; Lee y Huang, 1973). El desarrollo de las lesiones está correlacionado con el incremento en la temperatura (Kotzé, 1981). La temperatura óptima para la formación de ascomas es de 21-28 °C y los pseudotecios no se forman a temperaturas inferiores a 7 °C o por encima de 35 °C (Huang y Lee, 1973). Sin embargo, a los 4 o 5 meses posteriores a la antesis, los frutos se vuelven resistentes, independientemente de la humedad,

temperatura y disponibilidad de inóculo (Kotzé, 1963; Kotzé, 2000).

Dispersión

G. citricarpa se dispersa a cortas distancias, y los principales medios de dispersión son a través de árboles de vivero que presentan infecciones latentes, las yemas vegetativas y varetas también son fuente de inóculo (Wager, 1952; Whiteside *et al.*, 1988). Las picnidiosporas no son transportadas por viento y el riesgo de dispersión es relativamente bajo (Whiteside *et al.*, 1988; Magarey y Brochert, 2003).

Métodos de diagnóstico

Los aislamientos del hongo son obtenidos a partir de muestras de tejido de hojas y ramas. Las siembras se realizan en medios de cultivo selectivos, y se caracterizan con base en la velocidad de crecimiento, coloración, tamaño y forma de los conidios. Para la identificación de *G. citricarpa* por cultivo *in vitro* se requiere de 7-14 días para generar los picnidios y poder realizar la identificación. En medio cereza-agar [0.8 L extracto de cerezas (1 kg/L), 20 gr agar, pH 4.5, 15 min 121 °C] el hongo crece lentamente y en medio avena-agar [1 L extracto de avena (30 gr/L), 20 gr agar, 15 min 121 °C] produce pigmentos amarillos (Figura 11a) (OEPP/EPPO, 2003).

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Las colonias crecen lentamente en medio cereza-agar (16-33 mm a 22 °C en 7 días). El micelio que coloniza el medio de cultivo es de color oscuro y forma una capa plectenquimatosa. Los estromas se desarrollan a los 8 días como masas negras, con una o más cavidades conidiales o espermáticas en la región superior. Los picnidios maduros generalmente se forman entre los 10 y 14 días. En medio avena-agar el hongo produce un pigmento de color amarillo que se difunde alrededor de la colonia (Figura 11b). En otros medios de cultivo el pigmento se produce en baja cantidad.

Es posible realizar preparaciones directas, de los síntomas en frutos que presentan picnidios, y se procede a observar las estructuras reproductivas en el microscopio. Es común encontrarse otros hongos asociados, como *Colletotrichum gloeosporioides* o *C.*

acutatum y es importante saber diferenciar las estructuras de dichos hongos. Es posible encontrar hifas de *G. mangiferae*; sin embargo, este hongo se considera como un organismo endófito, que no produce picnidios en las lesiones (OEPP/EPPO, 2003).

Cuando no hay presencia de picnidios se corta la sección del tejido sintomático y se coloca en cámara húmeda bajo condiciones de luz continua a 27 °C durante 5 días (Brodrick y Rabie, 1970). Si no hay producción de picnidios, la muestra se puede considerar libre del patógeno. Este método no genera falsos positivos, pero la eficiencia no es mayor al 50 %. Otra alternativa es realizar PCR directo de las lesiones, utilizando iniciadores específicos a *G. citricarpa*; este método toma dos días y tiene una confiabilidad del 99% (OEPP/ EPPO, 2003).

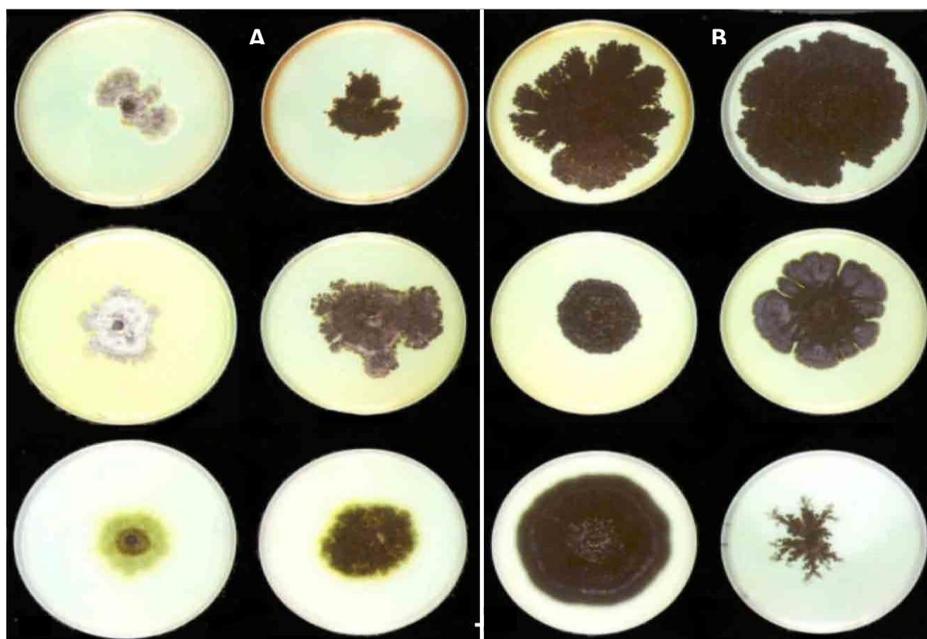


Figura 11.

A) Colonias de *G. citricarpa* creciendo en avena-agar (izquierda), Malta-agar (centro) y extracto de cereza-agar (derecha).

B) Colonias de *G. mangiferae* creciendo rápidamente y sin producir pigmentos amarillos. Créditos: Baayen *et al.*, 2002.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Análisis por PCR

Los iniciadores que se utilizan son los GCF3-GCR7, fueron desarrollados para la detección de *G. citricarpa* por PCR (OEPP/EPPO, 2003). Esta prueba puede discriminar a *G. citricarpa* del endófito *G. mangiferae* y otras especies de *Gignardia* spp., *Phyllosticta* spp. y otros hongos que son comunes en cítricos. El protocolo se ha validado, por medio del uso de una colección de aislamientos procedentes de diversas partes del mundo. Puede realizarse directamente de las lesiones en los órganos infectados. Las secuencias de los iniciadores son:

GCF3:

5'-AAAAAGCCGCCCGACCTACCT-3'

y

GCR7: 5'- TGTCCGGCGGCCAG-3'.

Las condiciones del termociclador son: 1 ciclo de 2 min a 94 °C, seguido de 30 ciclos a 94 °C por 30 s, 65 °C x 30 s y 72 °C por 60 s y un ciclo de terminación a 72 °C por 10 min. Los productos de PCR son analizados (10 µL de reacción) por electroforesis en gel de agarosa al 1 % en buffer TBE 0.5X.

MEDIDAS FITOSANITARIAS

Esquema de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria

Con el fin de detectar de manera oportuna a mancha negra de los

cítricos, la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), a través del Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (PVEF), realiza las acciones de áreas de exploración, rutas de vigilancia y parcela centinela para la detección temprana de esta plaga, establecidas estratégicamente con base en la distribución y superficie sembrada de hospedantes, etapas fenológicas inductivas, condiciones climáticas inductivas, biología de la plaga, rutas de comercialización y vías de comunicación (DGSV-CNRF, 2014).

La descripción de las estrategias fitosanitarias para la Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria se pueden consultar en el link <http://www.senasica.gob.mx/?id=5956>

Alerta fitosanitaria

En adición a las acciones del Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria para la detección oportuna de focos, la DGSV ha puesto a disposición la comunicación pública mediante el teléfono (01)-800-98-79-879 y el correo electrónico alerta.fitosanitaria@senasica.gob.mx

Protección

Control cultural

La combinación de tratamientos en pre y postcosecha pueden reducir el riesgo de dispersión del patógeno. En Sudáfrica, la enfermedad está presente, y ninguna

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

medida ha permitido prevenir o eliminarla por completo la plaga. En Brasil realizan la aplicación de nutrientes para fortalecer plantas débiles y vulnerables a dicha enfermedad, y la eliminación de frutos y residuos vegetales infectados (FUNDECITRUS, 2008).

Control legal

La NOM-079-FITO-2002, menciona los requisitos fitosanitarios para la producción y movilización de material propagativo libre de virus tristeza y otros patógenos asociados a cítricos, misma que aplica para *G. citricarpa*. El Certificado Fitosanitario Internacional de plantas o material propagativo de *Citrus* spp., procedentes de países o áreas donde existe esta enfermedad, debe indicar que el material se encuentra libre de la enfermedad y en el punto de ingreso debe ser cuidadosamente inspeccionado, buscando la presencia de síntomas de la enfermedad, sobre todo en el caso de limón (DOF, 2002).

Control químico

En Brasil para mitigar los efectos de esta enfermedad el control químico incluye el uso de fungicidas a base de cobre (sulfato de cobre, hidróxido de cobre, oxicloruro de cobre y óxido de cobre) y ditiocarbamatos (Mancozeb y propined). Los fungicidas sistémicos utilizados son benzimidazoles (carbendazin, tiofanatometil) y

estrobirulinas (piraclostrobina, azoxistrubina, tryfloxistrubin). Sin embargo, una vez que la enfermedad se establece en una nueva área, la erradicación es imposible (FUNDECITRUS, 2008).

BIBLIOGRAFÍA

- Baayen** RP, Bonants PJ, Verkley G, Carroll GC. 2002. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitan endophyte of woody plants, *G. mangiferae* (*Phyllosticta capitalensis*). *Phytopathology* 92:464-477.
- Bonants** PJM, Carroll GC, De Weerd M, Van Brouwershaven IR. 2003. Development and validation of a fast PCR based detection method for pathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 503-513.
- Brodrick**, HT and Rabie, CJ. 1970. Light and temperature effects on symptom development and sporulation of *Guignardia citricarpa* Kiely on *Citrus sinensis* (Linn) Osbeck. *Phytophylactica*, 2: 157-164.
- CABI**. 2002. Crop Protection Compendium, 3rd ed. Commonwealth Agricultural

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

- Bureau International.
Wallingford, United Kingdom.
- CABI.** 2011. Crop Protection Compendium. Consultado en línea marzo del 2012: <http://www.cabi.org/cpc/>
- CIPF.** 2006. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. NIMF no 8. Determinación de la situación de una plaga en un área. FAO, Roma.
- COSAVE.** 2012. Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur. Hojas de datos sobre organismos cuarentenarios para los países miembros del COSAVE. Consultado en línea marzo de 2012: http://www.cosave.org/admin/files/bc499d5254121f5_4.pdf.
- DGSV-SENASICA.** Dirección General de Sanidad Vegetal–Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Consultado en línea el 24 de mayo de 2012: <http://www.senasica.gob.mx/?id=661>
- DOF.** 2002. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-079-FITO-2002. Por la que se establecen los requisitos fitosanitarios para la producción y movilización de material propagativo libre de virus tristeza y otros patógenos asociados a cítricos. Diario Oficial de la Federación. 17p.
- EPPO.** 2012. European and Mediterranean Plant Protection Organization Reporting Service. Paris, France: EPPO. Consultado en línea marzo del 2012: http://archives.eppo.org/EPPOReporting/Reporting_Archives.Htm
- Fawcett, HS.** 1936. Citrus diseases and their control, 656 pp. McGraw-Hill Publishing Company, London, UK.
- FUNDECITRUS.** 2008. Fundo de defesa da citricultura. Pinta Preta. Manual técnico. Brasil. 12p
- Glienke-Blanco, C, Aguilar-Vildoso, CI, Carneiro-Vieira, ML, Vianna-Barroso, PA, and Lúcio-Azevedo, J.** 2002. Genetic variability in the endophytic fungus *Guignardia citricarpa* isolated from citrus plants. *Genetics and Molecular Biology*, 25:251-255.
- Halueendo, KLME.** 2008. Impact assessment of citrus black spot, *Guignardia citricarpa* Kiely, in Southern Africa and alternative approach in management strategies. University of Pretoria. South Africa.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

- Huang**, CS, Chang SL. 1972. Leaf infection with citrus black spot and perithecial development in relation to ascospore discharge of *Guignardia citricarpa* Kiely. Journal of Taiwan Agricultural Research, 2:256-263.
- Huang**, CS, Lee, YS. 1973. Effects of climatic conditions on the development and discharge of ascospores of the citrus black spot fungus. Journal of *Taiwan Agricultural Research*. 22:135-144
- IPPC**. 1998. NIMF no 8 Determinación de la situación de una plaga en un área. International Plant Protection Convention. FAO, 2006.
- Kiely** TB. 1948. Preliminary studies on *Guignardia citricarpa* sp., the acigerous stage of *Phoma citricarpa* McAlp., and its relation to blackspot of citrus. Proceedings of the Linnaean Society of New South Wales, 73:249-92.
- Kiely**, TB. 1950. Control and epiphytology of black spot of citrus on the central coast of New South Wales. Science Bulletin No. 71. New South Wales Department of Agriculture:1-88.
- Kiely**, TB. 1969. Black spot of citrus. Agricultural Gazette of New South Wales 80(12):658-662.
- Kotzé**, JM. 1963. Studies on the black spot disease of citrus caused by *Guignardia citricarpa* Kiely with particular reference to its epiphytology and control at Lebata. Doctoral Thesis, University of Pretoria, Pretoria, South Africa. January, 1963.
- Kotzé**, JM. 1981. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. Plant Disease. 65:945-950.
- Kotzé**, JM. 1988. Black Spot, In: Compendium of Citrus Diseases. Whiteside, J.O., Garnsey, S.M & Timmer, L.W. (eds). APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 80 pp
- Kotzé**, JM. 2000. Black spot. Pages 23-25 in J. O. Whiteside, S. M. Garnsey, and L. W. Timmer, (eds.). *Compendium of Citrus Diseases*. American Phytopathological Society, St Paul, MN, USA.
- Lee**, YS. 1969. Pathogenicity of different isolates of *Guignardia citricarpa* Kiely from various sources of Ponkan fruit. *J. Taiwan Agric. Res.* 18: 45-50.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

- Magarey, R, Borchert, D.** 2003 Risk Assessment: *Guignardia citricarpa*, (citrus black spot). USDA APHIS PPQ CPHST Plant Epidemiology and Risk Analysis Laboratory and North Carolina State University, Raleigh, NC, USA 5p.
- McOnie, KC.** 1965. Source of infection for black spot of citrus. The South African Citrus Journal. 378:5-9
- Meyer L, Slippers B, Korsten L, Kotzé JM, et al.,** (2001). Two distinct *Guignardia* species associated with citrus in South Africa. S. Afr. J. Sci. 97: 191-194.
- OEPP/EPPO.** 2003. Diagnostic protocols for regulated pests. EPPO Standards. Bulletin 33:245-247.
- Pazoti, MA, Garcia, RE, Cruz, PJD, Martinez, BO.** 2005. Comparison of shape analysis methods for *Guignardia citricarpa* ascospore characterization. Electronic Journal of Biotechnology. 8:265-276.
- Reeder, R, Kelly, PL Harling, R.** 2008. First confirmed report of citrus black spot caused by *Guignardia citricarpa* on sweet oranges (*Citrus sinensis*) in Uganda. New Disease Reports 17: 33
- SIAP.** 2014. Anuario estadístico de la producción agrícola 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado el 30 de junio de 2014 en <http://www.siap.gob.mx>
- SINAVEF-LaNGIF.** 2011. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria – Laboratorio Nacional de Geoprocusamiento de Información Fitosanitaria. Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Consultado en línea: <http://langif.uaslp.mx/>
- UF.** 2011. Citrus Diseases. University of Florida. Consultado en línea en marzo del 2012: <http://idtools.org/id/citrus/diseases/factsheet.php?name=Citrus%20Black%20Spot>
- Wager, VA.** 1952. The black spot disease of citrus in South Africa. Science Bulletin, Department of Agriculture, Union of South Africa No. 303, 1-52.
- Whiteside, JO.** 1965. Black spot disease in Rhodesia: A review of current information. Rhodesia Agricultural Journal. 63: 87-91

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Whiteside, JO, Garnsey, SM, Timmer, LW. 1988. Compendium of citrus diseases. APS Press, St Paul, Minnesota, USA.

Van Gent-Pelzer MPE, Van Brouwershaven IR, Kox LFF and Bonants PJM. 2007. A TaqMan PCR method for routine diagnosis of the quarantine fungus *Guignardia citricarpa* on citrus fruit. *J. Phytopathol.* 155: 357-363.

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria

Forma recomendada de citar:

SENASICA. 2013. Mancha negra de los cítricos (*Guignardia citricarpa*) Kiely. Dirección General de Sanidad Vegetal - Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México, D.F. Ficha Técnica No. 36. 24 p.

Coordinación:

M.C. José Abel López Buenfil
Director del CNRF
Ing. Rigoberto González Gómez
Coordinador Operativo del SINAVEF
Dr. Gustavo Mora Aguilera
Coordinador de LANREF

Con la colaboración:

**Laboratorio Nacional de Referencia
Epidemiológica Fitosanitaria
(LANREF)**

Colegio de Postgraduados (CP)

M.C. Jorge Luis Flores Sánchez
M.C. Santiago Domínguez Monge
Ing. Gerardo Acevedo Sánchez

Revisión técnica:

M.C. Claudio Chavarín Palacio
CNRF

Corrección de estilo:

Dr. Edmundo Martínez Ríos
Departamento de Idiomas CP
Rogelio Dromundo Salazar
Departamento de Difusión CM - CP

Diseño editorial:

D.C.V. Laura Xochitl Arriaga Betanzos
Departamento de Difusión CM - CP