

NUEVOS ENFOQUES EPIDEMIOLÓGICOS EN EL MANEJO PREVENTIVO Y ERRADICATIVO DE PROBLEMAS FITOSANITARIOS DE INTERÉS REGULATORIO EN CÍTRICOS

Gustavo Mora-Aguilera¹, Patricia Rivas-Valencia², Emiliano Loeza-Kuk³, Daniel Ochoa-Martínez¹, M. Alejandra Gutiérrez-Espinosa⁴, Pedro Robles⁵

¹Programa de Fitopatología, CP, ²Campo Experimental Valle de México, INIFAP, ³Campo Experimental Mocochoá, INIFAP, ⁴Programa de Fruticultura, CP, ⁵. DGSV-SENASICA. E-mail: morag@colpos.mx rivas.patricia@inifap.gob.mx

Introducción

En el contexto regulatorio, la problemática fitosanitaria actual se caracteriza por un aparente incremento en la dispersión continental y regional de organismos los cuales pueden adquirir niveles epidémicos y por tanto representan un riesgo para aquellos países o regiones que carecen de dichas plagas. El intenso flujo comercial, innovaciones tecnológicas con fines de productividad y competitividad, y cambios climáticos con efectos continentales y/o transcontinentales constituyen las causas principales. En México, y en general a nivel mundial la estrategia generalizada es la de regular los organismos que representan un riesgo fitosanitarios. Dependiendo del país la regulación puede incluir el desarrollo de métodos de detección, análisis de riesgo, sistemas de vigilancia y monitoreo. Sin embargo, el énfasis en todos los sistemas regulatorios es el organismo. Esto en parte está determinado por la propia regulación internacional. La cual es congruente con el paradigma clásico etiológico o de la causalidad. Esta orientación al patógeno o a la plaga no ha mostrado su éxito. Por las siguientes razones: fragmenta el proceso biológico, operativamente es costoso, el manejo del riesgo es costoso y carece de continuidad.

La necesidad de un modelo epidemiológico

En trabajos previos se ha enfatizado la importancia de un modelo epidemiológico para el estudio de enfermedades de interés regulatorio. Este nuevo modelo o enfoque epidemiológico considera al cultivo como el centro y los demás factores estrechamente interrelacionados p.e. el clima, suelo, enfermedades endémicas, vectores, subpoblaciones de patógenos, enfermedades de interés cuarentenario, en un espacio y tiempo determinados.

Principios en el manejo de enfermedades

El principio de **exclusión** constituye la primera opción de manejo fitosanitario cuando un patógeno o plaga en general representa un **riesgo** de ingreso y establecimiento en una área determinada. En esta caso, la epidemia es potencial y tiene un nivel de intensidad epidémica $IE=0$ (Figura 1). En esta condición, la *subpoblación sana*, n_s , representa la totalidad del universo (N) de plantas

específicas al cultivo potencialmente susceptible en el espacio (región) que interesa preservar con respecto a la sanidad. Consecuentemente la *subpoblación enferma*, $n_e=0$. La epidemiología tradicionalmente se ha enfocado a aplicar y desarrollar metodologías para procesos epidémicos con $IE > 0$, por lo que se enfatiza el principio de **protección**. Sin embargo, la prevención es congruente con la idea más racional y sustentable de preservar la salud de los cultivos. La *protección* por definición implica operar estrategias de manejo, simples o combinadas con el fin de recuperar o restituir un equilibrio productivo implícitamente perdido con la ocurrencia de una epidemia.

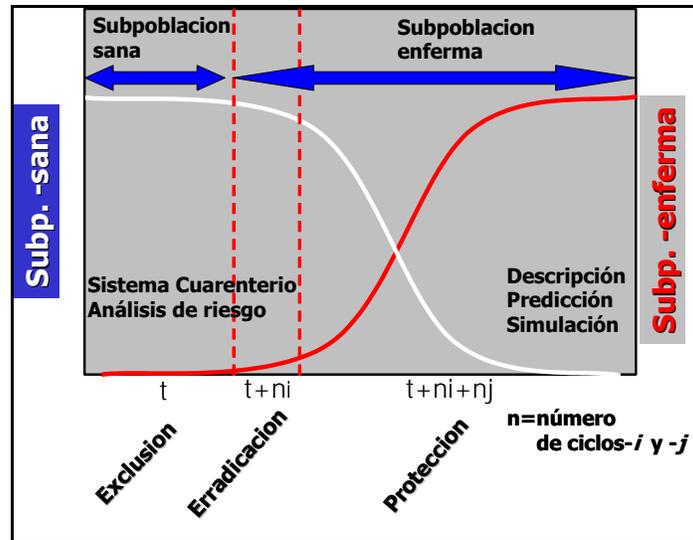


Figura 1. La base poblacional y epidemiológica en los principios del manejo de enfermedades.

Bajo el *principio de exclusión* se intenta evitar el proceso de **contagio** 'excluyendo' una región de interés del ingreso de *inóculo de exclusión*. Por lo tanto los procesos biológicos, base para el entendimiento de estos procesos epidemiológicos, son la *dispersión* y *sobrevivencia*. El lector debe notar que bajo este principio no existe estructuralmente una epidemia en la región de interés. En este existe un proceso epidémico potencial por lo que la capacidad inductiva debe ser estimada. Es decir, determinar el nivel de riesgo de inductividad epidémica. Si bien en la **región de exclusión** no existe una epidemia en progreso, esta si ocurre con cierta IE en otra **región fuente**, próxima o distante, generadora de la fuente del inóculo. La perfecta delimitación de la *región de exclusión* y la *región fuente* es importante par definir el nivel de integración espacial en el cual se debe aplicar el sistema epidemiológico, base racional del los estudios epidemiológicos respectivos.

Es evidente que la aplicación del *principio de exclusión* requiere trascender la parcela como la unidad de manejo sanitario. Las acciones se planean a nivel de región de ahí que las metodologías epidemiológicas con enfoques regionales adquieren una relevancia generalmente no reconocida en la epidemiología clásica fuertemente enfocada a estudios en unidades parcelarias. También bajo este principio, el interés en la *dispersión* y *sobrevivencia* trasciende la parcela o **autoinfección** *sensu* Robinson (1976), y se pone atención en la dispersión y sobrevivencia del inóculo a relativamente grandes distancias capaz de causar una **aloinfección**, *sensu* Robinson (1976). Podría ser de interés entonces, cuantificar y parametrizar la dirección y

velocidad de la dispersión del inóculo y su respectiva tasa de sobrevivencia. Conceptualmente es necesario precisar lo siguiente. El concepto de *sobrevivencia* es generalmente acotado a un proceso epidémico de tipo endémico. Es decir ya recurrente en una región. Similarmente, como se recordará de tópicos previos, el concepto de *inóculo primario* se propuso para un proceso endémico en referencia al inóculo inicial responsable del inicio epidémico Y_0 . Si bien mantenemos el concepto de *sobrevivencia* proponemos el concepto de *inóculo de exclusión* para enfatizar la naturaleza exótica de este tipo de inóculo. También se recordará que el término de *aloinfección* (y su contraparte la *autoinfección*) se propuso originalmente para definir fuentes de inóculo interparcela (e intraparcelsa en su contraparte). Es decir tuvieron una connotación para la epidemiología con un enfoque parcelario. La extensión aplicativa de la *aloinfección* para referirse a un *inóculo de exclusión* es pertinente en el contexto del principio de exclusión. Un área de la epidemiología que requiere desarrollo conceptual y metodológico.

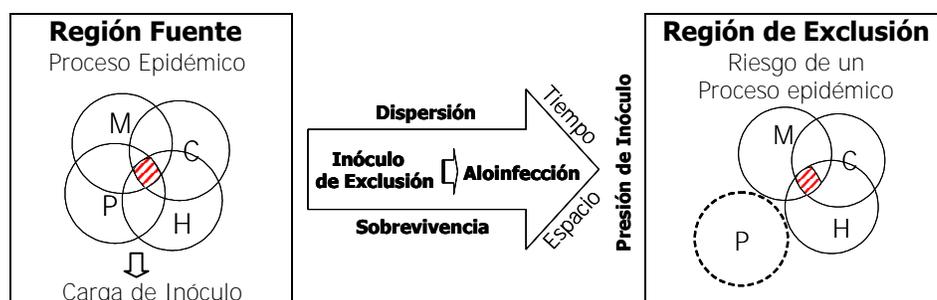


Figura 2. Procesos biológicos asociados al principio de exclusión a través de la interacción de una región fuente y región de exclusión.

Como se ilustra en la Figura 2 en la *región fuente*, existe un PE mientras que en la *región de exclusión* existe el **riesgo** de proceso epidémico. En consecuencia es intuitivo que se debe estudiar y/o comprender: **a)** la probabilidad de *dispersión* y *sobrevivencia* del inóculo de exclusión, y **b)** la probabilidad de un proceso de *aloinfección*. Sin embargo, con el fin de estimar estas probabilidades con suficientes bases biológicas, se debe estudiar los *procesos epidémicos inductivos* en la *región fuente* ya que la IE determina la *carga de inóculo* la cual a su vez determina la *presión del inóculo* sobre la *región de exclusión*. Similarmente, el riesgo de inductividad epidémica se debe estudiar en la región de exclusión para determinar la probabilidad de ingreso, establecimiento y posterior dispersión del organismo plaga. En la práctica ocurre, tomemos por ejemplo, las epidemias de alta intensidad de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*). Estas fueron casi simultáneas en Brasil y Argentina en la década de los 30's con repercusiones posteriores en otros países como Venezuela. Recientemente, la roya de soja o soja, *Phakopsora pachyrhizi*, se desplazó desde Paraguay en marzo del 2001 hasta EUA en el 2006, afectando en su desplazamiento a grandes países productores como Argentina y Brasil. Las pérdidas en este último se estimaron en 10 billones de dólares del 2001 al 2008. Tan solo en la zafra 2007-2008 estas ascendieron a 1.97 billones dólares. Como en varios patógenos exóticos, en este caso, las estrategias preventivas diseñadas fundamentalmente para la detección y muestreo en la región de exclusión, fueron insuficientes y poco oportunas. EUA realizó algunos estudios de trayectoria de inóculo pudiendo predecir con cierta certidumbre la región productora, dentro de su territorio, con mayor riesgo (X.B. Yang. 2002. Comunicación Personal). Sin embargo, tampoco se previno el ingreso del patógeno comprometiéndose la salud del cultivo.

¿Porque? Aunque ya hemos insistido en el uso limitado del paradigma fundamental fitopatológico para el manejo fitosanitario por su enfoque fuertemente etiológico, aquí remarcaremos que el énfasis en el patógeno ha propiciado que los estudios epidemiológicos se enfoquen principalmente a entender los mecanismos de dispersión y sobrevivencia del inóculo. Como se muestra en la Figura 2, estos mecanismos son parte del proceso epidémico integral pero no el único. Los estudios inductivos en la *región fuente* y en la *región de exclusión* han quedado fuera de estos esquemas y por lo tanto se excluye factores directamente relacionados al patógeno, como carga de inóculo y presión de inóculo, y otros relacionados a los subsistemas epidemiológicos. Un proceso epidémico no depende solo del patógeno, su cabal comprensión requiere la aplicación del sistema epidemiológico como base racional. Como se ha argumentado, la epidemiología no estudia únicamente epidemias, estudia los procesos epidémicos y las interrelaciones entre los subsistemas epidémicos. Y dentro de estas interrelaciones están las relativas a todas aquellas aun en ausencia al patógeno como en la región de exclusión. Conviene enfatizar nuevamente que prevenir epidemias es tan importante como manejarlas. Aplicando la epidemiología a los principios de exclusión y erradicación se enfatiza la prevención. Sin embargo la epidemiología en estos campos aun tiene mucho por aportar.

La importancia del componente vector bajo distintos escenarios en la dispersión del *Citrus tristeza virus* (CTV)

La dispersión en campo del virus tristeza en plantaciones establecidas es ocasionada principalmente por los vectores. Estos vectores tienen ciertas características que determinan su importancia como vectores del virus. Dentro de estas características están su habilidad para transmitir el virus y su biología. Estas dos características se han empleado ampliamente para caracterizar la dinámica temporal y espacial de la dispersión del virus tristeza. En México, se han observado los siguientes escenarios:

Los áfidos vectores de baja eficiencia de transmisión que se localizan en Tamaulipas son:

Aphis spiraeicola, *Toxoptera aurantii* y *Aphis gossypii*.

Escenario 1. Clima templado (Municipios del centro de Tamaulipas).

Se han observado tasas de dispersión máxima de 0.61 % anual de nuevas infecciones. El 82 % de estas nuevas infecciones ocurrió en árboles vecinos al foco de infección. La dispersión del virus fue mayor entre los árboles (del orden de tres árboles) que entre hileras (del orden una hilera) y árbol vecino en la diagonal, esta situación coincide además con las labores de manejo (riego, desmalezado, cosecha) del cultivo.

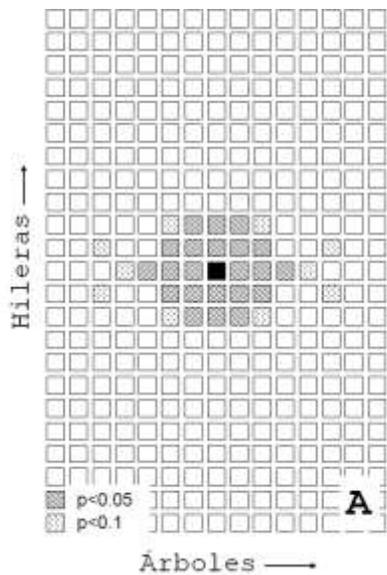


Figura 3. Mapa de dependencia espacial en zona de clima templado en Tamaulipas.

Escenario 2. Clima cálido (Municipios del sur de Tamaulipas y posiblemente del norte de Veracruz).

El comportamiento de la dispersión es diferente, se registraron tasas de dispersión de hasta 1.9 % anual. El 89 % de esta dispersión estuvo concentrada en los árboles vecinos al foco de infección: una hilera, dos árboles y dos árboles en la diagonal. En este escenario, la dispersión fue más simétrica, y la mayor dispersión en la diagonal fue coincidente con los vientos dominantes en la región.

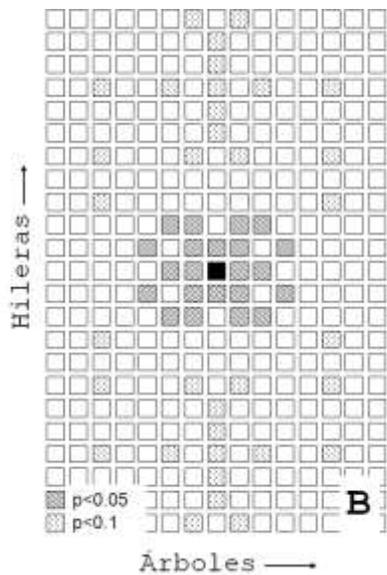


Figura 4. Mapa de dependencia espacial en zona de clima cálido en Tamaulipas.

Los áfidos vectores de baja y alta eficiencia de transmisión:

Aphis spiraecola, *Toxoptera aurantii*, *Aphis gossypii* y *Toxoptera citricida*

Escenario 3. Clima cálido (Yucatán)

La dispersión en este escenario fue de hasta el 11.6 % anual. El 100 % de esta dispersión ocurrió en un área de tres árboles, dos hileras y dos árboles en dirección diagonal. La dispersión se dio en agregados bien definidos, muy probablemente debido a la presencia de otros árboles frutales intercalados en esta región. La dispersión fue prácticamente simétrica y con mayor agregación que en los otros escenarios.

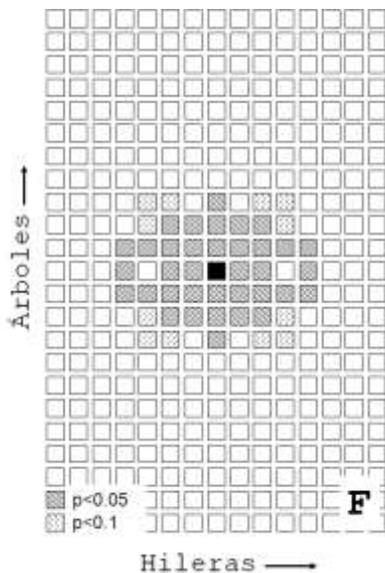


Figura 5. Mapa de dependencia espacial en Yucatán.

El vector y su implicación en la erradicación

Sin lugar a dudas el efecto de los vectores en la tasa dispersión y en la erradicación de los árboles positivos cobra una gran importancia, debido a que si la erradicación de árboles positivos se realiza de forma inmediata, se puede tener éxito en la eliminación del virus en la huerta, siempre y cuando se cumpla con la característica de una incidencia inicial menor a 1% (escenario 1)

En las huertas donde esto no sucedió, el tiempo transcurrido desde la detección hasta la erradicación fue mayor de un año, lo que permitió que los áfidos vectores presentes continuaran con la transmisión de la enfermedad.

Por el contrario, en las huertas con mayores tasas de nuevas infecciones, la eliminación de los focos de infección no suprimió al virus de la huerta.

Efecto de los vectores en la agregación de árboles positivos y su implicación en la erradicación

Además de la importancia de la incidencia inicial y la tasa de dispersión ya mencionadas en la sección anterior, también agregación de las plantas positivas tienen un papel fundamental en el éxito de la erradicación. En las huertas con alta incidencia (escenario 2), el 30 % de las nuevas infecciones fueron árboles vecinos inmediatos del foco de dispersión erradicado.

Por el contrario, en el escenario 3, el 92 % de las nuevas infecciones fueron árboles vecinos inmediatos del foco de dispersión erradicado. La implicación inmediata del comportamiento anterior es que una vez erradicados los árboles positivos, se deben diagnosticar los árboles vecinos

inmediatos al foco de dispersión erradicado de forma expedita, para asegurarse de que ésta práctica de manejo sea efectiva en el manejo del virus de la tristeza.

Métodos de detección para el diagnóstico del virus en un esquema de muestreo extensivo para estudios epidemiológicos

Como se mencionó anteriormente, la identificación oportuna de las plantas positivas al virus tristeza es un componente fundamental en los esquemas de manejo de la enfermedad. Debido a que este virus en México es asintomático, se ha recurrido a diversos métodos de diagnóstico: desde los métodos de basados en plantas indicadores hasta los moleculares. Sin embargo, en los programas de manejo en campo de la enfermedad, se ha optado por los métodos serológicos para los diagnósticos en muestreos extensivos, debido a su balance favorable entre economía, precisión y oportunidad en el diagnóstico. Son dos los métodos más empleados DAS-ELISA indirecto: una técnica emplea placas de poliestireno y la otra membrana de nitrocelulosa para capturar las partículas virales. La primera técnica se conoce como DAS-ELISA y la segunda como inmunopresión-ELISA.

Una buena técnica de diagnóstico depende del objetivo que se persiga, en el caso de estudios epidemiológicos extensivos, ésta debe identificar a los árboles positivos de manera rápida y económica como sea posible.

Sensibilidad. La capacidad de discriminar correctamente las muestras positivas de aquellas que no lo son se llama sensibilidad. En la campaña contra el virus tristeza, donde se tienen plantaciones de incidencia desconocida, el método serológico de inmunopresión-ELISA detecta el 97.8 % de los árboles positivos y DAS-ELISA el 91.8 % de los árboles positivos. Cuando las plantaciones se realizan con material proveniente de viveros certificados se tendría un escenario de infecciones nuevas, en este caso inmunopresión-ELISA detectaría el 100 % de las nuevas infecciones y DAS-ELISA el 92.9 %. La identificación de los árboles positivos es de vital importancia en el manejo de la enfermedad, sin embargo, también lo son los falsos negativos, árboles que a pesar de que son positivos no son identificados como tales y permanecen en la huerta, estos árboles son focos de infección. En un escenario de incidencia desconocida, el 2.2 % de los árboles diagnosticados con inmunopresión-ELISA serían falsos negativos, mientras que con DAS-ELISA el 8.2 %. En un escenario de infecciones nuevas, con inmunopresión-ELISA no se tendrían falsos negativos, y con DAS-ELISA los falsos negativos serían 7.2 % de árboles diagnosticados. El mejor desempeño de inmunopresión-ELISA con respecto a DAS-ELISA puede deberse a que en infecciones iniciales se tienen pocos brotes positivos dispuestos en forma agregada en el dosel periférico de los árboles muestreados, y la toma de las muestras para ambas técnicas es de forma regular, por lo cual se toman pocos brotes positivos en la muestra, que al mezclar todos los brotes se diluye la concentración viral, con lo cual no se alcanza la titulación suficiente para ser considerado positivo.

Este problema no ocurre con inmunopresión-ELISA ya que el virus se captura directamente de la savia del peciolo. Además de la sensibilidad en el diagnóstico, se encuentran los criterios de oportunidad y economía. Inmunopresión-ELISA fue 59.9 % más económico que

DAS-ELISA en condiciones de la campaña contra el virus tristeza que opera en Tamaulipas y los diagnósticos se realizaron en una quinta parte del tiempo requerido por DAS-ELISA.

Implicaciones de árboles falsos negativos en erradicación

Existe un nivel de incertidumbre en la detección de árboles positivos y ésta corresponde a aquellos árboles que no se logran detectar, los falsos negativos, éstos árboles representan una fuente importante de inóculo o reservorio del virus que impide la erradicación del virus de una huerta. Para ilustrar lo anterior, consideremos una huerta en Mante, Tamaulipas. En diciembre de 2002 se realizó el muestro de la huerta, en enero de 2003 se erradicaron los árboles positivos y en febrero del mismo año se volvió diagnosticar todos los árboles de la huerta, encontrando un 1.6 % de nuevas infecciones, lo cual nos da una idea de un periodo de incubación de al menos un mes. Esto se observó en otras huertas de Llera, Padilla y Güemez, Tamaulipas, con menores tasas de nuevas infecciones. En Yucatán se observó 3 % de nuevas infecciones después de la erradicación.

Economía y oportunidad en el diagnóstico

Además de los trámites legales que deben realizarse para poder erradicar las plantas positivas, estas fueron eliminadas dos meses después de su diagnóstico en una huerta de Llera y un mes en Mante. Esto nos hace suponer que, si la hipótesis de los falsos negativos no es correcta y que las nuevas infecciones se dieron entre el tiempo transcurrido entre el diagnóstico y la erradicación, entonces la erradicación no es oportuna. Para mejorar la oportunidad de la erradicación, es necesario realizar los diagnósticos con mayor rapidez e incluir además las plantas vecinas inmediatas a los árboles positivos ya identificados, esto es posible porque los diagnósticos son más rápidos y económicos empleando inmunopresión-ELISA .

Detección y caracterización de la estructura poblacional del *Citrus tristeza virus* y su importancia dentro de un sistema de monitoreo y vigilancia epidemiológica

Sin lugar a dudas el cultivo de cítricos es uno de los más importantes en México ya que representa en términos generales una extensión de 520 mil hectáreas cultivadas en 23 estados, de esta actividad dependen 90,000 familias. El volumen de producción promedio es de 6.8 millones de toneladas, con un valor por \$8 mil 50 millones de pesos (SIAP, 2006).

Debido a la explotación intensiva del cultivo, podemos decir que éste se encuentra en un riesgo constante por el probable ingreso de enfermedades cuarentenadas como son el Huanglongbing (HLB), clorosis variegada (CVC), cancro bacteriano, leprosis, muerte súbita (CSD) etc., por diversas vías que pueden ser desde la importación de materiales propagativos infectados, hasta la llegada de vectores potenciales infectivos de las enfermedades antes mencionadas.

El factor climático juega un papel trascendental, como se ha evidenciado en el caso de *Toxoptera citricida*, que en el año 2000, ingresó por la Península de Yucatán (Michaud y Álvarez, 2000), colonizando las zonas cítricas por su paso y actualmente se localiza en Veracruz, Oaxaca y Puebla (SENASICA, 2008). Este vector ha incrementado el riesgo de generar epidemias del *Citrus*

tristeza virus (CTV) con atributos de tipo severo, la experiencia en otros países así lo ha confirmado, sin embargo, aún y cuando el CTV se encuentra distribuido en todas las regiones cítricas del país, no se han presentado epidemias con sintomatología severa.

En los últimos años se han estudiado las características de las poblaciones del CTV en planta y vector así como su dispersión (Ruiz-García *et al.*, 2009; Loeza-Kuk *et al.*, 2008; Rivas-Valencia *et al.*, 2008), que ha permitido conocer la prevalencia de los aislamientos del virus de tipo moderado, tanto en Yucatán (Figura 6) como en Tamaulipas (Figura 7), así como la diversidad presente (3 haplotipos para Yucatán y 7 para Tamaulipas) y la trazabilidad o movimiento de los aislamientos en presencia de *T. citricida* (Figura 8). Lo anterior nos ha dado las bases sobre el comportamiento epidémico de las poblaciones del CTV en las condiciones presentes en México, que en un contexto mayor nos permitiría predecir el movimiento de estos entre huertas, regiones y entidades federativas, y a su vez determinar zonas con diferentes niveles de riesgo, monitoreando cambios en la prevalencia de los haplotipos identificados y caracterizados, de moderados a severos (Figura 9).

Con este conocimiento, se pueden definir las actividades de control y manejo de la enfermedad. Por lo cual es importante continuar con la detección, caracterización y vigilancia en cambios de la estructura poblacional (colección de variantes génicas o haplotipos dominada por una secuencia principal, García-Arenal *et al.*, 2001) del CTV, que permita la toma de decisión inmediata para la prevención, control y manejo de la enfermedad. En consecuencia, es indispensable contar con esquemas de muestreo eficaces y métodos de detección rápidos y exactos que sean la base de un sistema de vigilancia, que se ocupe no solo del CTV, sino que sea extensivo para otras enfermedades de importancia cuarentenaria y económica en el cultivo de los cítricos. La enseñanza histórica en áreas afectadas por enfermedades de cítricos de mayor potencial dañino es la necesidad de emprender acciones regionales, por lo tanto, los estudios también deberán ser de esta magnitud para mejorar las probabilidades de impactar en la enfermedad al considerar el inóculo externo (Bergamin-Filho *et al.*, 2008).

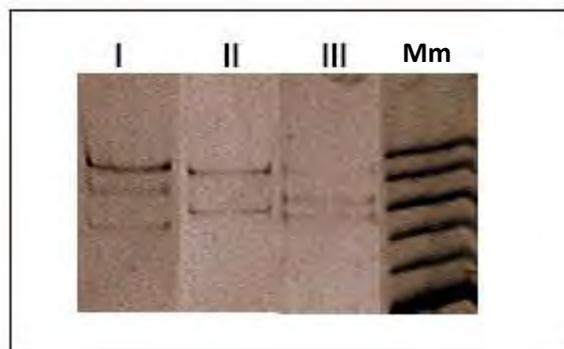


Figura 6. Haplotipos obtenidos por SSCP de una porción de la capa proteica (p25) que conforman la estructura poblacional de aislamientos del *Citrus tristeza virus* (CTV) originarios de Yucatán. I= Patrón con tres bandas, II= Patrón con dos bandas y III= Patrón con tres bandas (con diferente migración a I).

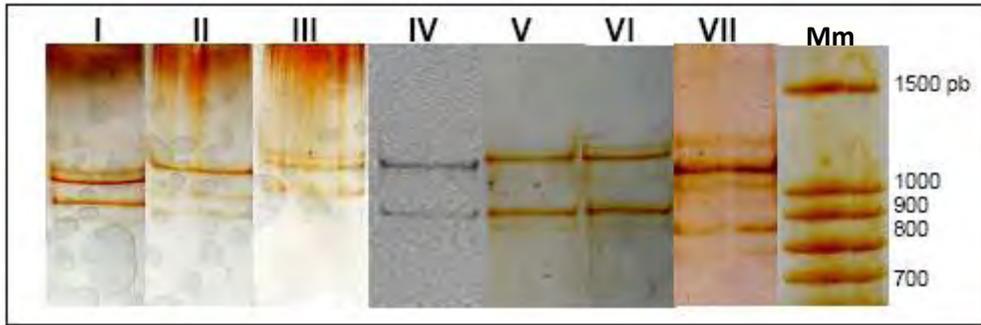


Figura 7. Haplotipos obtenidos por SSCP de una porción de la capa proteica (p25) que conforman la estructura poblacional de aislamientos del *Citrus tristeza virus* (CTV) originarios de Tamaulipas. I= Patrón con cuatro bandas, II= Patrón con tres bandas y III= Patrón con tres bandas, IV= Patrón con dos bandas, V= Patrón con tres bandas, VI= Patrón con cuatro bandas y VII= Patrón con cinco bandas.

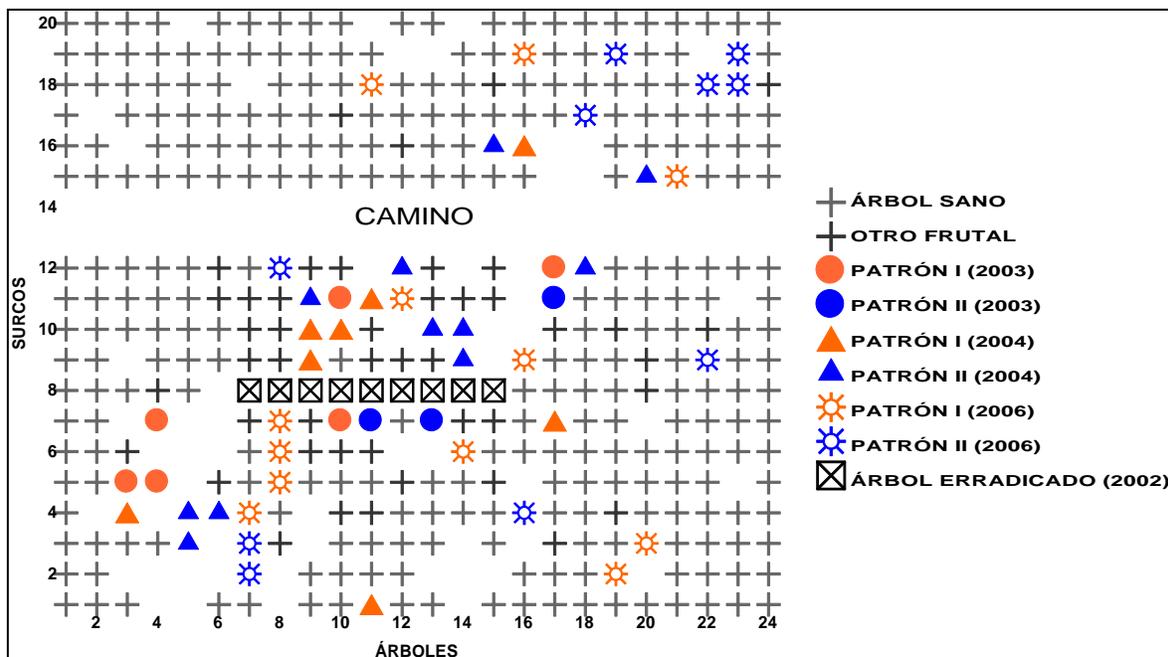


Figura 8. Mapa de dispersión de aislamientos de CTV en una huerta comercial de Yucatán, México (2003-2006). *Los espacios en blanco, son árboles positivos a CTV cuyos aislamientos no fueron caracterizados molecularmente.

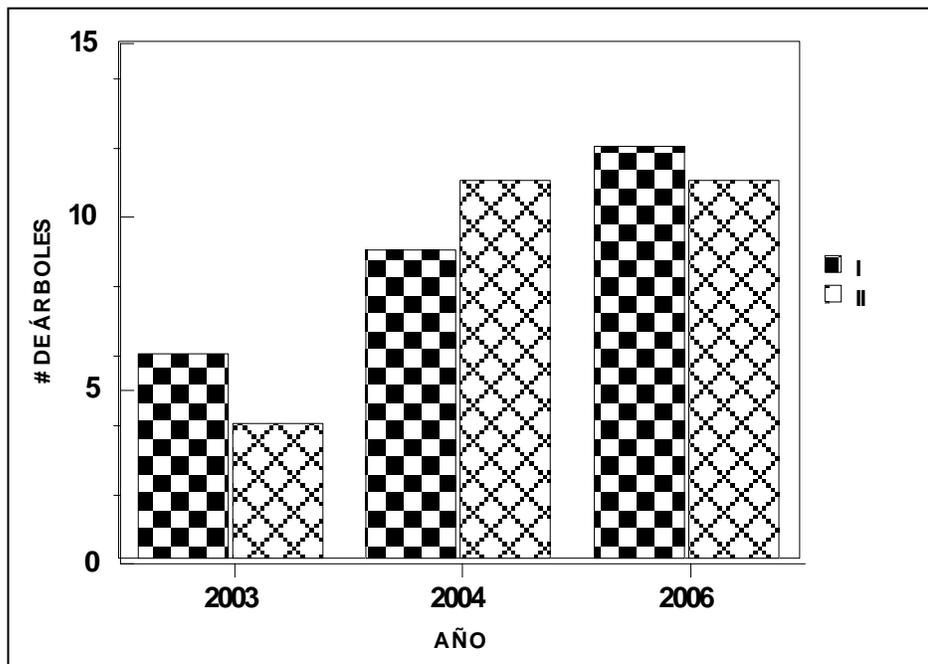


Figura 9. Distribución de frecuencias de patrones electroforéticos presentes en los árboles durante tres años en una huerta comercial cítrica de Yucatán, México. I= Patrón con tres bandas, II= Patrón con dos bandas.

El estudio del vector representa una herramienta para conocer las relaciones existentes en uno de los componentes del sistema epidemiológico, y así predecir los escenarios probables resultantes en la población de hospedantes. Con este enfoque se ha planteado detectar la presencia de *Candidatus Liberibacter* spp. en *Diaphorina citri*, como una forma de superar el periodo de espera en la aparición de plantas sintomáticas. Sin embargo, es necesario considerar algunas características inherentes al subsistema (SENASICA, 2009). Entre ellas se pueden mencionar: una concentración menor del patógeno en el vector, de la población del patógeno presente en el vector puede no ser representativo de la variabilidad del patógeno (Figura 10) y subestimar algunas poblaciones de importancia epidemiológica, sobre todo si la distribución en el hospedante no es uniforme espacial o temporalmente (Brlansky *et al.*, 2003).

Patrón	Árbol	H	V	Árbol	H	V	H	V	H
1	3-21(L2)			4-9					
2	2-17			1-17					
	8-4			8-3			6-11		
	2-11			17-10			6-13		

Figura 10. Adquisición y presencia de variantes de secuencia de CTV por *T. citricida* detectado por SSCP de CPK en muestras de campo de Yucatán. 3-21, 17-10, 2-11 (2004) y 4-9 (2006) son nuevos positivos. H: Árbol; V: Áfido.

Por lo tanto, el tamaño de las subpoblaciones del vector deberá definirse en función al objetivo del estudio. Con esas consideraciones, se pudo determinar la importancia probable en la dispersión de una nueva enfermedad de dos especies de áfidos en (Macherroni *et al.*, 2005), sin concluir los estudios etiológicos. El estudio del vector es de alta complejidad y dinamismo, pues en él, el efecto de los factores ambientales y biológicos es mayor y los análisis realizados retratan una realidad de corta duración. Esa es la razón por la intervalos amplios entre observaciones puede no captar las interacciones en el subsistema.

Literatura citada

- Bergamin Filho, A., Gasparoto, M. C. G., Bassanezi, R. B. and Amorim, L. 2008. Relationship between insecticide sprays and Huanglongbing progress in a citrus orchard in São Paulo, Brazil. *In: Proc of Int. Res. Conf. on Huanglongbing*. Florida. Pp. 244.
- Brlansky, R. H., V. D. Damsteegt, D. S. Howd, and A. Roy. 2003. Molecular analyses of *Citrus tristeza virus* subsolates separated by aphid transmission. *Plant Disease* 87:397-401.
- García-Arenal F., A. Fraile and J.M. Malpica. 2001. Variability and Genetic structure of plants virus populations. *Annual Review of Phytopathology* 39:157-186.
- Loeza-Kuk E., Ochoa-Martínez D.L., Mora-Aguilera G., Rivas-Valencia P., Gutiérrez-Espinosa M.A., Cintra de Jesús Junior W., Villegas-Monter A., Arno Wulff N and E. Pérez-Molphe-Balch. 2008. Acquisition of CSDAV and haplotypes of Citrus Tristeza Virus by *Toxoptera citricida* and *Aphis spiraeicola* and the implication on citrus sudden death. *Agrociencia* 42:669-678.
- Michaud J. P. and R. Alvarez-Ramos. R. 2000. First collection of Brown Citrus Aphid, *Toxoptera citricida* (Homoptera: Aphididae) in Quintana Roo, Mexico, *Florida Entomologist* 83:357-358.
- Rivas-Valencia P., Loeza-Kuk E., Mora-Aguilera G., Febres V., Ochoa-Martínez D., Gutiérrez-Espinosa M.A., Cintra de Jesús-Junior W., Correia-Malvas C. y Arno-Wulff N. 2008. Estructura poblacional de aislamientos del Citrus Tristeza Virus y su asociación con la muerte súbita de los cítricos en Brasil. *Agrociencia* 42:85-93.

- Ruíz-García N., Mora-Aguilera G., Rivas-Valencia P., Góngora-Canúl C., Loeza-Kuk E., Ochoa-Martínez D., Ramírez-Valverde G., Gutiérrez-Espinosa A., Álvarez-Ramos R. 2009. Sensibilidad de inmunoimpresión-ELISA y DAS-ELISA en el diagnóstico y muestreo del virus de la tristeza de los cítricos en huertos comerciales de Tamaulipas, México. *Revista Chapingo serie Horticultura* 15(1):41-47.
- Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2008. URL: <http://mail2.senasica.gob.mx/default.asp?id=1010>
- Sistema Integral de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP)-SAGARPA. Anuario Estadístico Agropecuario. URL: http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comanuar.html
- Macherroni, W., M. C. Alegria, C. C. Greggio, J. P. Piazza, R. F. Kamla, P. R. A. Zacharias, M. Bar-Joseph, E. W. Kitajima, L. C. Assumpsao, G. Camarote, J. Cardozo, E. C. Casagrande, F. Ferrari, S. F. Franco, P. F. Giacheto, A. Girasol, H. Jr. Jordao, V. H. A. Silva, L. C. A. Souza, C. I. Aguilar-Vildoso, A. S. Zanca, P. Arruda, J. P. Kitajima, F. C. Reinach, J. A. Ferro, and A. C. R. da Silva. 2005. Identification and genomic characterization of a new virus (*Tymoviridae* Family) associated with citrus sudden death disease. *Journal of Virology* 79:3028–3037.