

DINAMICA DE LA ACTIVIDAD AMILASA EN EL CRECIMIENTO DE ARBOLES DE LIMON MEXICANO AFECTADOS POR HUANGLONGBING EN COLIMA MEXICO



Alejandra Pérez-Molina², Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar¹, Anna Iliina², José Luis Martínez-Hernández², Gabriel Rincón-Enríquez^{1*}

¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.

Correspondencia: *grincon@ciatej.net.mx.



1. INTRODUCCIÓN

El Huanglongbing (HLB) es una enfermedad destructiva de los cítricos, que representa una gran amenaza para la citricultura mundial. En México se detectó en Yucatán en 2009 y actualmente está presente en otras zonas cítricas incluyendo al limón mexicano en Colima. El agente causal del HLB es una bacteria Gram-negativa no cultivable restringida al floema. Perteneciente al género *Candidatus Liberibacter* de la que se conocen actualmente tres especies, asiaticus, africanus y americanus (Bové, 2006). El HLB se transmite por injerto o por infección del vector *Diaphorina citri*. La detección de la enfermedad se lleva mediante PCR punto final (Texeira y col. 2005). Los síntomas del HLB son un moteado difuso en las hojas, una acumulación excesiva de almidón lo que provoca un desbalance nutricional en el árbol, sin embargo es desconocido como se produce este desbalance, por lo cual, el objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento de la actividad amilasa en un periodo de crecimiento de árboles sanos y enfermos con HLB durante la época cálida a fría del año.

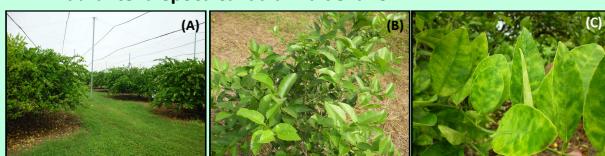


Figura 1. Vista general del huerto de limón mexicano bajo custodia de INIFAP (A) ubicado en Tecmán Colima. Árboles de limón sin (B) y con Presencia del HLB (C). Nótese la distribución heterogénea de la clorosis en C, síntoma característico del HLB.



Figura 2. Hojas de limón mexicano sanas (A) y enfermas por HLB (B). Nótese el síntoma característico provocado por *C. Liberibacter* spp, una clorosis heterogénea.

2. METODOLOGÍA



Se muestrearon 17 árboles (2 sanos y 15 enfermos) de limón mexicano en un huerto bajo custodia de INIFAP en Tecmán Colima



Se realizaron cuatro muestreos mensuales de septiembre a diciembre de 2012



En hojas con síntomas de cada muestreo fueron evaluadas la actividad de amilasas (α y β), humedad, contenido de almidón, proteasas y fosforilasas, y presencia de *Candidatus Liberibacter asiaticus* mediante PCR punto final

Las variables de respuestas evaluadas se analizaron mediante un análisis multivariable de FACTORES con el fin de detectar variables latentes entre árboles sano y enfermos de HLB.

5. REFERENCIAS

- Bové J.M. (2006). Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, 88:1 7-37.
- Etcheberria E., Gonzalez P., Achor D., Albrigo G. (2009). Anatomical distribution of abnormally high levels of starch in HLB-affected Valencia orange trees. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 74: 76-83.
- Texeira D. C., Danet J.L., Eveillard S., Martins E. C., Cintra W., Yamamoto P. T., Lopes S. A., Bassanezi R. B., Ayres A. J., Saillard C., Bové J. M. (2005). Citrus huanglongbing in Sao Paulo State, Brazil: PCR detection of the *Candidatus Liberibacter* species associated with the disease. *Molecular and Cellular Probes*. 19: 173-179.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Se detecto la presencia de *Ca. Liberibacter asiaticus* (Clas) como el agente causal del HLB en limón mexicano en Tecmán Colima.

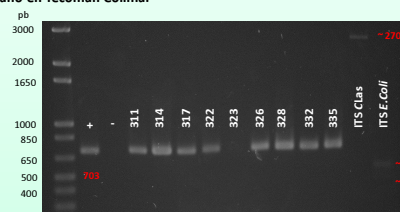


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa 2% de productos de PCR de árboles de limón mexicano muestreados en Tecmán Colima durante Octubre de 2012 para determinar la presencia o ausencia de *Ca. Liberibacter asiaticus* (CLAS). Control positivo (+ de un tamaño de 703 pb) y negativo (-) a CLAS. ITS Clas control de la calidad de ADN de CLAS e ITS E coli control interno de la reacción de PCR. Las muestras con número iniciando por 3, solo 323 fue de un árbol sano, el resto provienen de árboles con presencia de síntomas típicos de HLB.

La temperatura tiene una influencia sobre la actividad enzimática de los árboles de limón mexicano del estado de Colima.

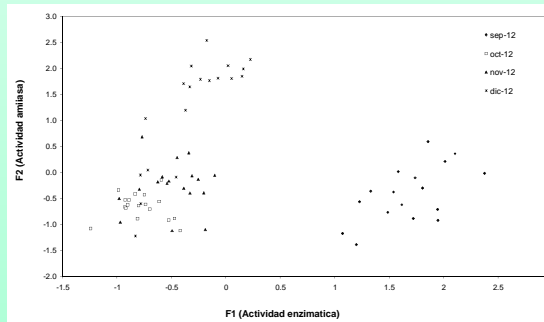


Figura 4. Comportamiento de los árboles de limón mexicano a través de las cuatro épocas de muestreo de acuerdo a un análisis de Factores para las siete variables de respuesta originales. De acuerdo al análisis se detectaron dos variables latentes, para el factor 1 (F1) se concluyó que las variables originales se relacionan con la actividad enzimática general del árbol, mientras que el factor 2 (F2) sugirió a la actividad amilasa como la variable latente.

Los árboles sanos de limón mexicano muestra menor actividad enzimática (amilasa) respecto a los árboles enfermos por HLB conforme disminuye la temperatura.

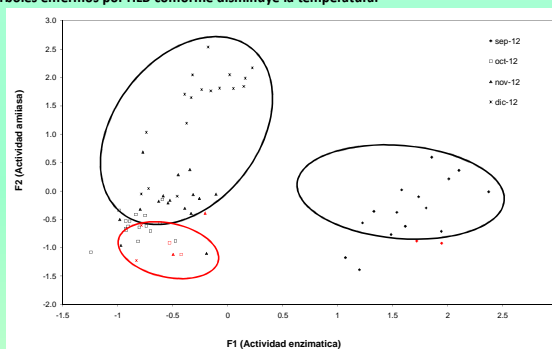


Figura 5. Comportamiento de los árboles de limón mexicano sanos (figura en rojo) y enfermos con HLB (figuras en negro) a través de las cuatro épocas de muestreo de acuerdo a un análisis de Factores para las siete variables de respuesta originales. Nótese como la actividad amilasa se incrementa conforme disminuye la temperatura (hacia el invierno -dic-12- círculos negros) en árboles con HLB respecto a los sanos (círculo rojo); se presento una acumulación de almidón en hojas de árboles enfermos con HLB.

4. CONCLUSIONES

La temperatura influye considerablemente en el metabolismo de árboles enfermos de HLB ya que afecta la β -amilasa, principal enzima que hidroliza el almidón en plantas. Se podría decir que los árboles enfermos intentan metabolizar el almidón acumulado a causa de la enfermedad, lo cual provoca un desbalance general de la fisiología del árbol.