

Mecanismos involucrados en la patogénesis de *Candidatus Liberibacter asiaticus* y bases moleculares de la tolerancia en cítricos

Luis A. Pérez-Zarate, Juan A. Villanueva-Jiménez, Francisco Osorio-Acosta, Eliseo García-Pérez, Laboratorio de Entomología-Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz. Km. 88.5 Carretera Fed. Xalapa-Veracruz. Manlio F. Altamirano. Veracruz, C. P. 91690, México; Felipe Roberto Flores-de la Rosa, Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Ixtacuaco. Km. 4.5 carretera Federal Martínez de la Torre-Tlapacoyan, Tlapacoyan, Veracruz, CP. 93650, México; Aida Martínez-Hernández*, Laboratorio de Agrogenómica y Fenotipificación, Colegio de Postgraduados, Campus Campeche, Carretera Haltún-Edzná km 17.5, Sihochac, Champotón, Campeche, CP.24450, México.

*Autor para correspondencia: aida.martinez@colpos.mx

Recibido: Agosto 28, 2022.

Aceptado: Octubre 25, 2022.

Pérez-Zarate LA, Villanueva-Jiménez JA, Osorio-Acosta F, García-Pérez E, Flores-de la Rosa FR y Martínez-Hernández A. 2022. Mecanismos involucrados en la patogénesis de *Candidatus Liberibacter asiaticus* y bases moleculares de la tolerancia en cítricos. Revista Mexicana de Fitopatología 40(4).

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2022-8>

Resumen. El Huanglongbing (HLB) es una enfermedad considerada como la más destructiva para los cítricos en el mundo, es causada por *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) y diseminada por el vector *Diaphorina citri*. El HLB ha generado cuantiosas pérdidas económicas en la citricultura mundial. Todas las variedades comerciales de cítricos son susceptibles a esta enfermedad. La naturaleza de CLAs como parásito intra celular estricto limitado al floema dificulta el estudio fitopatológico de la enfermedad. Las herramientas “ómicas”, que permiten aplicar análisis comparativos con enfoque

masivos, han resultado útiles para describir la interacción entre el agente patógeno y diferentes especies de cítricos, generando conocimiento sobre las bases moleculares de la patogenicidad de CLAs y de las respuestas de los hospederos ante la infección. Sin embargo, muchos procesos inmersos en la compleja interacción CLAs-cítricos aún no son del todo comprendidos. En la presente revisión se resumen algunos de los principales hallazgos en la última década relacionados con los posibles mecanismos de patogenicidad de CLAs a nivel molecular, así como de las respuestas transcripcionales y metabólicas inducidas en cítricos tolerantes o susceptibles, ante la infección. Este conocimiento es necesario para el diseño e implementación de nuevas estrategias para el manejo sustentable de la enfermedad.

Palabras clave: Huanglongbing, respuesta inmune, ómicas, fitohormonas, susceptibilidad, tolerancia.

Los cítricos (género: *Citrus*, familia: *Rutaceae*, subfamilia: *Aurantoideae*) son cultivos frutales de importancia económica en el mundo; su desarrollo óptimo se da entre los 35 y 40° de latitud norte y sur, es decir, en áreas tropicales y subtropicales (Gottwald, 2010; Liu *et al.*, 2012; Nehela *et al.*, 2018). La producción de cítricos es afectada por la incidencia de una gran variedad de plagas y enfermedades, de las cuales destaca el Huanglongbing (HLB), enverdecimiento o dragón amarillo de los cítricos, catalogada como la enfermedad más destructiva de estos cultivos a nivel global ya que causa anualmente pérdidas por billones de dólares a nivel mundial (Timmer *et al.*, 2000; Singerman y Rogers, 2020).

Las plantas que contraen esta enfermedad desarrollan una serie de síntomas característicos: brotes amarillos en sectores del dosel, adelgazamiento de las ramas afectadas, pocos frutos, moteado asimétrico con islas amarillas y acumulación de almidón en hojas las cuales tienden a ser más gruesas, corchosas, agrandadas, coriáceas y con venas amarillas, síntoma similar a deficiencias nutricionales como carencia de zinc. Los frutos presentan coloración desigual y reducción de tamaño, maduración inversa iniciando en el tallo, deformación, caída prematura y aborto de semillas. La cobertura del sistema radicular también se afecta, disminuyendo las raíces secundarias, lo que limita la toma de minerales del suelo (Esquivel-Chávez *et al.*, 2012; Robles-González *et al.*, 2013; da Graça *et al.*, 2016; Nehela y Killiny, 2020b).

El HLB afecta las plantaciones comerciales al incrementar la tasa de mortalidad de árboles, reducir el rendimiento y calidad de frutos, e incrementar los costos de producción (Farnsworth *et al.*, 2014). El rendimiento puede reducirse desde un 30% hasta pérdida total, según el nivel de intensidad de la enfermedad; los frutos son pequeños, ácidos y el jugo es bajo en contenido de grados brix, lo que dificulta

colocarlos en el mercado (Bassanezi *et al.*, 2009). En Florida se reportó un 23% de reducción en la producción de cítricos del año 2006 al 2011, con más de 1.7 mil millones de dólares y 8000 empleos directos e indirectos perdidos (Hodges y Spreen, 2012). El número de citricultores en Florida disminuyó de 7389 en el año 2002 a 2775 en 2017; además, las plantas procesadoras de jugo se redujeron de 41 a 14 y las empacadoras de 79 a 26 en el mismo periodo de tiempo (Singerman y Rogers, 2020).

En México son pocos los reportes del impacto del HLB. El estado de Colima ha sido de los más afectados por HLB, donde se han replantado casi 5000 ha dañadas, particularmente de limón Mexicano, con una reducción de más de 84 mil t de producción y una pérdida económica neta mayor a 300 millones de pesos (Granados-Ramírez y Hernández-Hernández, 2018). En Yucatán, Flores-Sánchez *et al.* (2015) señalan que árboles enfermos sintomáticos mostraron una reducción en el peso de fruto del 17.3% y de volumen de jugo del 18.6%, con lo cual se estimó una pérdida de 2.4 t ha⁻¹. Salcedo *et al.* (2011) y Hernández-Hernández *et al.* (2019) sugieren que, ante un escenario de alto impacto del HLB, se podrían perder más de 19 millones de empleos en todo el país y la pérdida en la producción de naranja llegaría a 1.8 millones de t.

Entre las estrategias para el manejo del HLB, se encuentran desde los esfuerzos iniciales para frenar el avance de la enfermedad en las plantaciones mediante la eliminación de plantas enfermas (Martini *et al.*, 2015) y el uso de planta certificada (Bové, 2012), así como aplicaciones foliares de insecticidas (Boina y Bloomquist, 2015) o el control biológico del vector (Álvarez *et al.*, 2016); hasta tecnologías en desarrollo como la termoterapia (Hoffman *et al.*, 2013) o la generación de plantas transgénicas resistentes (Dutt *et al.*, 2015; Ventura-Medina *et al.*, 2019; Soares *et al.*, 2020). Ante el panorama de que la enfermedad ya se encuentra

establecida en la mayoría de las plantaciones comerciales en el mundo, actualmente se evalúan estrategias que permitan prolongar la vida productiva de los árboles infectados que incluyen manejo agronómico como programas de fertilización complementarios (Xia *et al.*, 2011; Uthman *et al.*, 2020; Atta *et al.*, 2021; Hernández-Morales *et al.*, 2021), el uso de inductores de resistencia (Hu *et al.*, 2018; Trinidad-Cruz *et al.*, 2019; Flores-de la Rosa *et al.*, 2021), péptidos antimicrobianos (SAMPs) (Huang *et al.*, 2021), antibióticos (Killiny *et al.*, 2020) o fitohormonas (Tang *et al.*, 2021; Ma *et al.*, 2022). También se considera que tecnologías de frontera como la edición genética mediante CRISPR puede ser una alternativa viable en el manejo del HLB (Song *et al.*, 2017).

Sin embargo, el desarrollo de estrategias efectivas y sustentables que disminuyan el impacto del HLB requiere comprender a fondo los mecanismos involucrados en la interacción CLas-cítricos, identificar los factores genéticos y moleculares que participan en el proceso de patogénesis de CLas y en las respuestas de defensa de las plantas, así como de los determinantes de tolerancia en cítricos. Con el uso de las denominadas herramientas ómicas, en la última década se han identificado posibles factores de virulencia de CLas y algunas de las bases moleculares potencialmente involucradas en el proceso de infección y patogénesis (Dalio *et al.*, 2017; Coyle *et al.*, 2018). También se han descrito respuestas transcriptómicas, proteómicas y metabólicas expresadas diferencialmente en plantas infectadas de variedades tolerantes y susceptibles, con el fin de identificar mecanismos involucrados en la tolerancia (da Graça *et al.*, 2016; Dalio *et al.*, 2017; Coyle *et al.*, 2018; Curtolo *et al.*, 2020a; Yao *et al.*, 2020).

En el presente trabajo se revisa el estado del arte sobre los mecanismos moleculares y procesos metabólicos asociados a la interacción CLas-cítricos;

en particular con la variante asiática debido a que es la especie predominante en México y el mundo; haciendo énfasis en elementos sobre los cuáles podrán desarrollarse futuras estrategias para el manejo sustentable de la enfermedad como: el reconocimiento molecular planta-patógeno, la diferencia en la respuestas transcriptómicas/proteómicas/metabólicas entre variedades susceptibles y tolerantes, la modulación de las respuestas de defensa mediante hormonas, así como la relación entre los cambios metabólicos/fisiológicos en las plantas y el desarrollo de síntomas en variedades susceptibles. El acceso a esta información de forma comprensible no solo para la comunidad científica, sino también para funcionarios de las dependencias de gobierno, técnicos, productores y sociedad en general, es necesario para que las novedosas tecnologías en desarrollo sean adoptadas en campo.

Al agente causal de HLB y su transmisión. El HLB es causado por bacterias gram-negativas del género *Liberibacter*, patógenos obligados que colonizan células del floema de las plantas infectadas y no pueden ser aisladas en medios artificiales con técnicas microbiológicas tradicionales, por lo que permanece con el estatus de “*Candidatus*” (Fleites *et al.*, 2014; Merfa *et al.*, 2019). Sin embargo, se ha logrado obtener cultivos axénicos mediante el uso de biorreactores (Ha *et al.*, 2019). Con base en la distribución geográfica y en características de la secuencia del gen 16S del rADN (ADN ribosomal), se han propuesto cuatro especies asociadas a la enfermedad del HLB: *Candidatus* *Liberibacter* asiaticus (CLas), *Ca. L. americanus* (CLam), *Ca. L. africanus* (CLaf) y *Ca. L. caribbeanus* (CLca) (Jagoueix *et al.*, 1994; Thapa *et al.*, 2020). La transmisión de la enfermedad ocurre por el uso de injertos infectados y, en mayor medida, por insectos vectores como *Trioza erytreae* (Del Guercio; Hemíptera: Triozidae) en el continente africano, *Diaphorina*

citri (Hemiptera: Liviidae) en los continentes asiático y americano (Bové, 2006), y *Cacopsylla citrisuga* en China (Cen *et al.*, 2012).

El proceso de transmisión del HLB por *D. citri* inicia cuando el vector adquiere la bacteria CLas al alimentarse de la savia de un árbol enfermo; las células bacterianas pasan del intestino a la hemolinfa, luego a las glándulas salivales donde permanece en estado de latencia dentro del vector (3-20 días) y se reproduce antes de transmitirse a nuevas plantas (Ammar *et al.*, 2016). Las células bacterianas se propagan a la mayoría de los órganos del insecto, multiplicándose en vacuolas asociadas al retículo endoplasmático (Ghanim *et al.*, 2017). Los insectos pasan la bacteria de árboles enfermos a sanos en alimentaciones posteriores (Hall *et al.*, 2013). Pelz-Stelinski y Killiny (2016) indican que la transmisión de CLas a una planta sana puede ocurrir incluso después de 30 min de haberse alimentado de un árbol enfermo. Cuando la bacteria es transmitida a nueva planta a través del estilete del insecto hacia el floema de brotes tiernos, se distribuye por el tejido vascular hacia toda la planta de forma heterogénea, incluyendo hojas, tallos, raíces, tejidos florales, frutos y semillas; aunque no hay reportes de transmisión vertical de semilla a plántulas (Tatineni *et al.*, 2008; Bagio *et al.*, 2020). Sin embargo, la colonización de CLas está limitada al floema. La aparición de síntomas es un proceso lento, se requieren entre 6 y 9 meses entre la inoculación experimental mediante injerto o infección inducida mediante vectores y la aparición de los primeros síntomas (Folimonova *et al.*, 2010).

El desarrollo del HLB en una planta y su epidemiología, dependen de la convergencia espacio temporal de un hospedero susceptible, el patógeno virulento, el vector y condiciones ambientales favorables (Francl, 2001). La densidad del hospedero, la densidad del vector y la dominancia del viento son fundamentales para la dispersión del inóculo

primario; pero también lo son las actividades antropogénicas (Flores-Sánchez *et al.*, 2017). Por ello consideramos que en el tetraedro de la enfermedad descrito por Dik y Albajes (1999), se debe incluir al productor o controlador del agroecosistema (Figura 1), ya que es el responsable del uso oportuno de las estrategias técnicas disponibles para evitar la dispersión y reducir el impacto de la enfermedad (Pérez-Zarate *et al.*, 2016; Pérez-Zarate *et al.*, 2020).

Aún no se conocen los mecanismos de patogénesis de CLas es decir, cómo el patógeno causa los daños observados en las plantas susceptibles. Una visión general de algunos de los posibles eventos bioquímicos y moleculares subsecuentes a la transmisión de CLas, se esquematizan en la Figura 1: Las plantas reconocen la presencia de la bacteria detectando moléculas secretadas por el patógeno (PAMPs y/o efectores), las cuales son reconocidas por las plantas mediante receptores transmembranales (PRRs) y/o citoplásmicos (NLRs). La percepción de las bacterias por la planta conduce a la activación de cascadas de señalización interna en las que pueden participar segundos mensajeros como el calcio (Ca^{2+}), flujo electrolítico a través de la membrana plasmática, la producción de especies reactivas a oxígeno (ROS) y óxido nítrico, conduciendo a la activación de proteínas cinasa activadas por mitógenos (MAPKs) (Coyle *et al.*, 2018). Las cascadas de señalización hacen blanco sobre factores transcripcionales (TFs) que modulan la expresión de múltiples genes, entre ellos los que participan en los procesos de defensa e inmunidad, local y sistémica. Los cambios transcripcionales se manifiestan también en cambios metabólicos y fisiológicos que incluyen la participación de fitohormonas y que, eventualmente, derivan en el desarrollo de los síntomas característicos de la enfermedad.

La inmunidad innata en plantas: PTI, ETI y SAR.

Para comprender mejor los eventos moleculares y

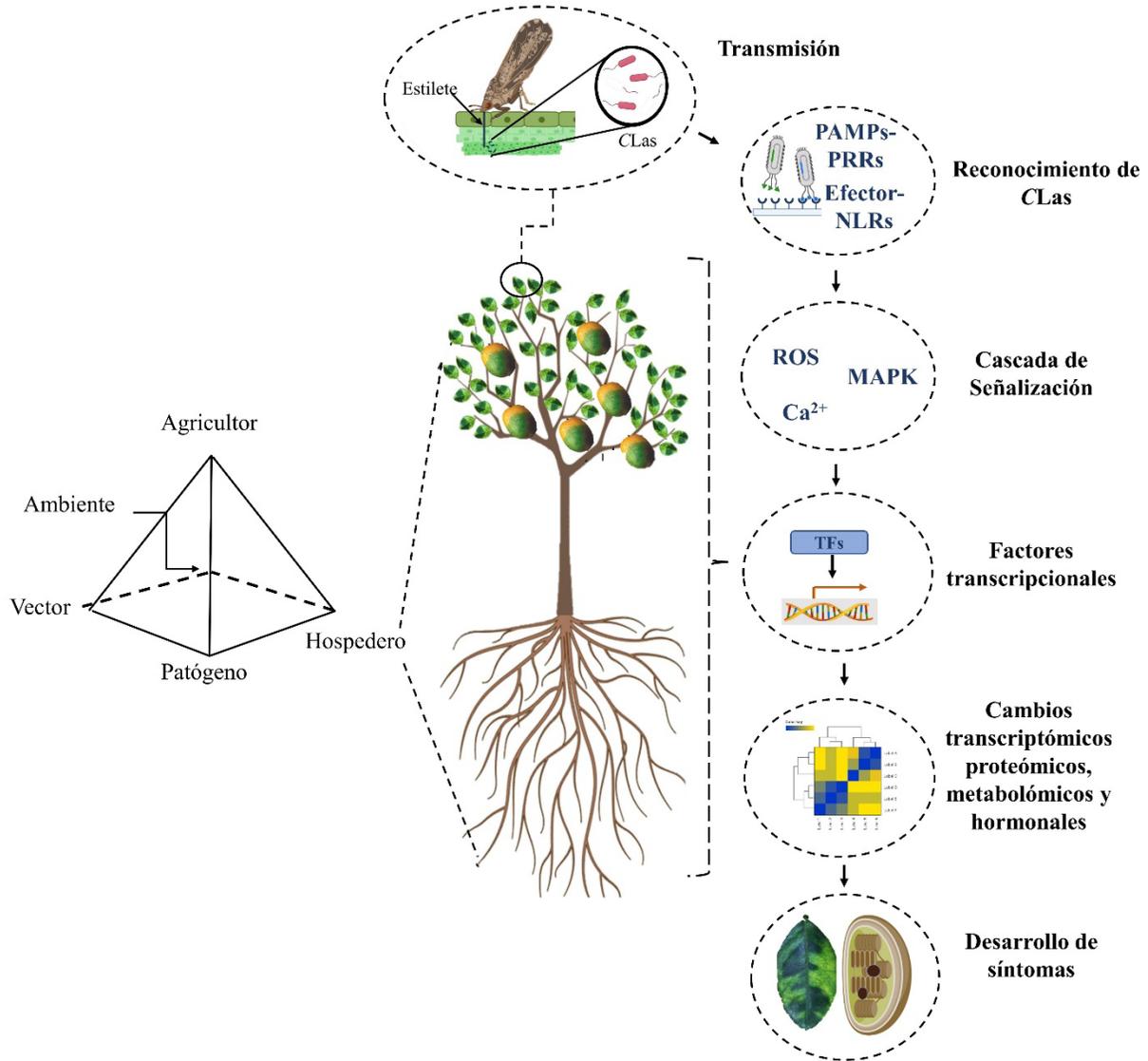


Figura 1. Componentes del tetraedro de la enfermedad del HLB, así como eventos consecutivos desde la transmisión y percepción de la enfermedad, hasta procesos intracelulares de señalización, respuesta génica y desarrollo eventual de síntomas. PAMPs: Patrones moleculares asociados a patógenos, posibles eventos. PRRs: Receptores de reconocimiento de PAMPs, NLRs: Receptores con dominio de unión a nucleótidos con repetidos ricos en leucina, ROS: Especies reactivas a oxígeno, MAPK: Proteínas cinasa activadas por mitógenos, Ca²⁺: Iones de calcio, TFs: Factores transcripcionales. El significado de más abreviaciones se encuentra en el Cuadro 2.

metabólicos que se han propuesto como posiblemente implicados en la interacción CLAs-cítricos, resumimos primero generalidades de las respuestas de defensa descritas en relaciones planta-patógeno modelo. La Figura 2 muestra que el sistema inmune

innato de las plantas actúa de dos formas: a) inicia con el reconocimiento de los patógenos a través de *receptores de reconocimiento de patrones* de patógenos o PRRs (*Pattern Recognition Receptors*) localizados en la superficie de la membrana celular,

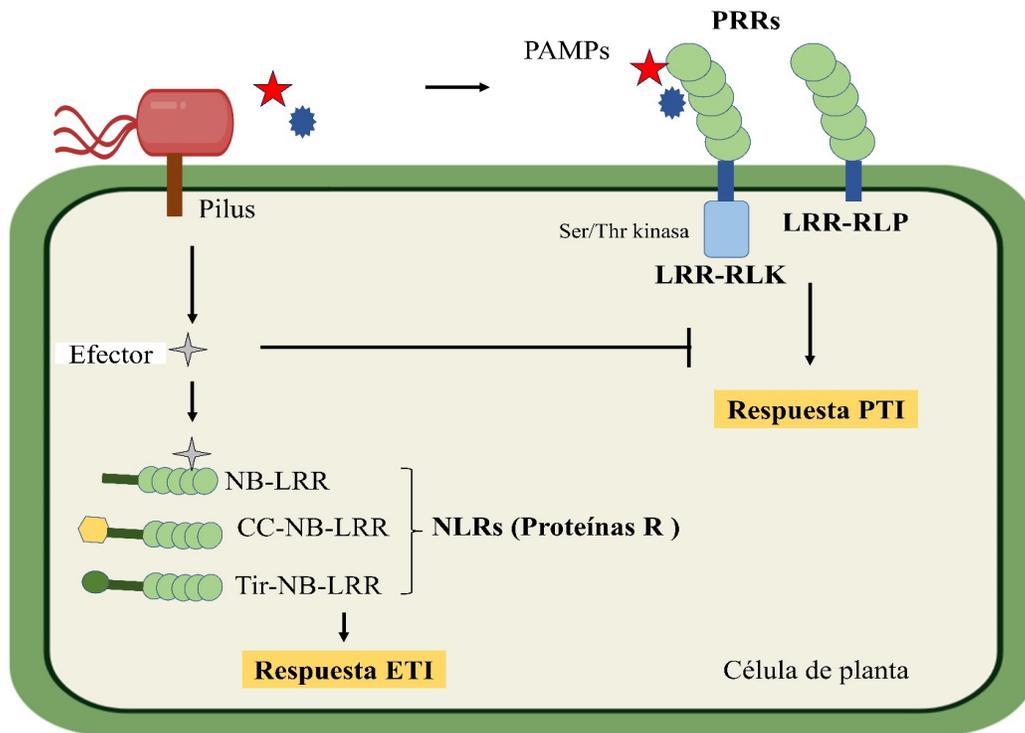


Figura 2. Vías de activación del sistema inmune de plantas ante el ataque de patógenos, estructura de los receptores transmembranales para el reconocimiento de patógenos y receptores intracelulares para el reconocimiento de efectores en cítricos. Adaptado de Dodds y Rathjen (2010) y Dalio *et al.* (2017). ETI: Inmunidad mediada por efectores, NLRs: Receptores con dominio de unión a nucleótidos con repetidos ricos en leucina, Tir: Dominio homólogo a receptores de Toll o interleucina-1, CC: Hélice superenrollada, LRR: Repeticiones ricas en leucina, NB: Sitio de unión a nucleótido, PAMPs: Patrones moleculares asociados a patógenos, PRRs: Receptores de reconocimiento de patrones, PTI: Inmunidad desencadenada por PAMPs, RLK: Cinasa tipo Receptor, RLP: Proteína tipo Receptor, Ser/Thr kinasa: Serina/Treonina cinasa.

los cuales detectan moléculas producidas por los microorganismos, conocidos como *patrones moleculares* asociados a microorganismos o a *patógenos* (MAMPs o PAMPs de *microbe- or pathogen-associated molecular patterns*). Los PRRs, al percibir al patógeno, disparan la denominada *Inmunidad Provocada por Efectores* o ETI (*Effector-Triggered Immunity*); o b) los receptores intracelulares denominados *Receptores con dominio de unión a Nucleótidos mediante el dominio con repetidos ricos en Leucina* o NLRs (*Nucleotide-binding domain Leucine-rich repeat containing Receptors*), detectan moléculas del patógeno denominadas *efectores*,

que han penetrado en la célula. Estos factores de virulencia o efectores modifican de forma directa o indirecta los procesos de la planta para mejorar sus probabilidades de supervivencia. La detección de efectores por los NLRs dispara la denominada *Inmunidad Provocada por Efectores* o ETI (*Effector-Triggered Immunity*).

En 2006, Jones y Dangl propusieron un modelo de 4 fases secuenciales en “zig-zag” en el cuál: 1) la respuesta innata inicial PTI, inducida por PAMPs, se manifiesta por cascadas de señalización, inducción transcripcional de genes en respuesta a patógenos, producción ROS y reforzamiento de la

pared celular en los sitios de infección, todo lo cual es parte de la primera barrera de inmunidad y frena la colonización de nuevos tejidos. 2) Para romper la PTI y colonizar al hospedero, los patógenos virulentos exitosos utilizan efectores de patogenicidad que pueden interferir con la PTI, impidiendo su activación o inhibiendo sus mecanismos, dando lugar a una *Susceptibilidad Provocada por Efectores* o ETS (*Effector Triggered Susceptibility*), lo que lleva al desarrollo de la enfermedad en la planta. Sin embargo, 3) si algún receptor intracelular de la planta tipo NLR reconoce y neutraliza algún efector del patógeno, se dispara la ETI a través de la reactivación de cascadas de señalización y la eventual expresión de genes de defensa, por ello se denomina al receptor como proteína de resistencia (R). La ETI es una respuesta inmune similar a la PTI, pero más rápida e intensa, que conduce a la resistencia a la enfermedad y, usualmente, a la respuesta de hipersensibilidad (HR) con muerte celular en el sitio de infección (Jones y Dangl, 2006). Esta interacción específica en la cual un gen de resistencia de la planta reconoce de manera específica a un gen complementario de virulencia del patógeno (Durrant y Dong, 2004; Kaloshian, 2004) disparando mecanismos de apoptosis (antes denominada hipótesis gen x gen) deriva eventualmente en una fase 4) en la que el patógeno, por selección natural, elimina o diversifica el efector reconocido y/o adquiere factores de virulencia adicionales que le permiten nuevamente evadir la respuesta inmune de la planta, la cual eventualmente coevoluciona mediante la selección de nuevas proteínas R, las cuáles no siempre son receptores y que nuevamente disparan la ETI.

La hipótesis de la resistencia gen por gen (Flor, 1971), actualmente incluida en la ETI, plantea que las plantas hospederas contienen genes de resistencia (R) dominantes, muy conservados en el reino vegetal, codificantes de proteínas que reconocen

específicamente, directa o indirectamente, productos complementarios de genes de patógenos denominados de avirulencia (avr). Esta interacción conduce localmente a la HR y posteriormente a la activación de vías de señalización que culminan con la inducción de una resistencia sistémica adquirida SAR (*Systemic acquired resistance*). La SAR es una respuesta de inmunidad innata que protege a la distancia a partes de la planta no infectadas, es duradera en el tiempo y efectiva contra una amplia diversidad de patógenos después de una infección local inicial dada por algún patógeno (Thilmony *et al.*, 1995; Fu y Dong, 2013). Las plantas con SAR están preparadas para dar una respuesta de defensa más rápida y efectiva si un patógeno ataca por segunda vez. Esta respuesta inmune depende de señales sistémicas móviles, de naturaleza posiblemente lipídica, que transmiten a la distancia el mensaje de que la planta está siendo invadida por un posible patógeno (Durrant y Dong, 2004). La ISR (*Induced systemic resistance*) es una respuesta similar a la SAR, pero inducida por microorganismos no patógenos que forman parte de la microbiota asociada a las plantas. La PTI y la ETI inducen SAR, por lo que se considera una respuesta secundaria de resistencia inducida después de la necrosis asociada a una respuesta de hipersensibilidad. La resistencia sistémica puede ser elicitada por sustancias que mimeticen la presencia de los microorganismos inductores o a la señal móvil. La SAR se caracteriza por la acumulación de ácido salicílico (SA), su derivado metilado MeSA, así como de genes codificantes de proteínas PR relacionadas a patogénesis (*pathogenesis-related proteins*), las cuales tienen actividad antimicrobiana, como quitinasas o glucanasas. La expresión de PRs es regulada por NPR1 o no-expresor de proteínas PR (nonexpresser of pathogenesis-related protein), el cuál es un factor clave que pasa a su forma activa por interacción con SA en el citoplasma. El NPR1 activo entra al

núcleo para interactuar con factores transcripcionales que activan la transcripción de genes PR (Pietterse *et al.*, 2014).

Los PAMPs son moléculas altamente conservadas entre los microorganismos, indispensables para sus funciones, que son secretadas al espacio extracelular y cuyos epítomos son detectados por las plantas como moléculas ajenas a ellas. Ejemplos de PAMPs son los lipopolisacáridos (LPS) (He *et al.*, 2007) como el lípido A de bacterias; oligosacáridos de base estructural antigénicas o los peptidoglicanos de bacterias Gram positivas (Schwessinger y Zipfel, 2008). El PAMP mejor caracterizado que dispara PTI es la flagelina, proteína flagelar encargada de la motilidad cuyo epítomo de 22 aminoácidos en el dominio N-terminal (flg22) es altamente conservado (Schwessinger y Zipfel, 2008).

Respecto a los efectores o factores de virulencia de los patógenos exitosos que suprimen la PTI, mimetizando o inhibiendo las funciones celulares, se incluyen las fitotoxinas, polisacáridos extracelulares y diversas proteínas secretadas mediante el sistema de secreción tipo III TTSS o T3SS (*type III secretion system*) (Jones y Dangl, 2006; He *et al.*, 2007).

Por otra parte, las células vegetales tienen receptores para percibir diversas señales ambientales, incluidas las de plagas y patógenos. Las proteínas receptoras PRR localizadas en la superficie de la membrana citoplásmica detectan a los PAMPs (Figura 2) (Jones y Dangl, 2006). Albert *et al.* (2020) clasifican a los PRR como receptores cinasas (RLKs) o proteínas receptoras (RLPs), ambas contienen ectodominios con capacidad de unión a ligandos (Figura 3). Los ectodominios son dominios extracelulares ubicados fuera de la célula para entrar en contacto con patógenos o efectores de ellos, lo cual conduce a la transducción de señales hacia el interior celular (Restrepo-Montoya *et al.*, 2020). La estructura de los RLKs comprende un dominio extracelular N-terminal, con una región transmem-

branal y un dominio intracelular C-terminal con actividad de cinasa (Shiu y Bleecker, 2001; Dalio *et al.*, 2017). Los RLPs tienen un dominio transmembranal y un dominio extracelular N-terminal, pero carecen del dominio cinasa intracelular (Shiu y Bleecker, 2001).

En cuanto a los receptores NLR que detectan efectores del patógeno, estos contienen un dominio N terminal variable, un sitio de unión a nucleótidos (NBS) y un dominio con repetidos ricos en leucina (LRR) variable en el número de repeticiones y composición (Figura 2). El extremo N terminal se encarga de la interacción con complejos de señalización, el dominio NBS funciona como ATPasa y regula la oligomerización, mientras que el dominio LRR participa en la interacción proteína-proteína y el reconocimiento de efectores (Alder *et al.*, 2005). El N-terminal de los NLRs puede como alternativas presentar el dominio Toll/interleucina-1 (TIR) o el CC (*Coiled-coil*).

La respuesta inmune en cítricos ante HLB. En plantas de variedades susceptibles como *Citrus sinensis* (naranja dulce) se ha descrito que, ante la infección con CLAs, hay sobreexpresión de genes de defensa como la calosa sintasa (*CscalS*), lo cual conduce a la deposición de calosa y a la muerte celular programada en el sitio de la infección, por efecto del daño oxidativo ocasionado por las ROS (Pitino *et al.*, 2017). Se presume que la muerte celular programada tiene el objetivo de impedir la dispersión generalizada de la bacteria hacia todo el árbol. Sin embargo, el taponamiento de los tubos del floema posiblemente contribuye a la acumulación de almidón en hojas, conduciendo al desarrollo de síntomas a nivel foliar debido a cambios anatómicos e histoquímicos en mesófilo y floema como el engrosamiento de la pared celular de células del floema, el incremento de la división celular (hiperplasia) del parénquima del floema, aumento del área total del sistema vascular (xilema y floe-

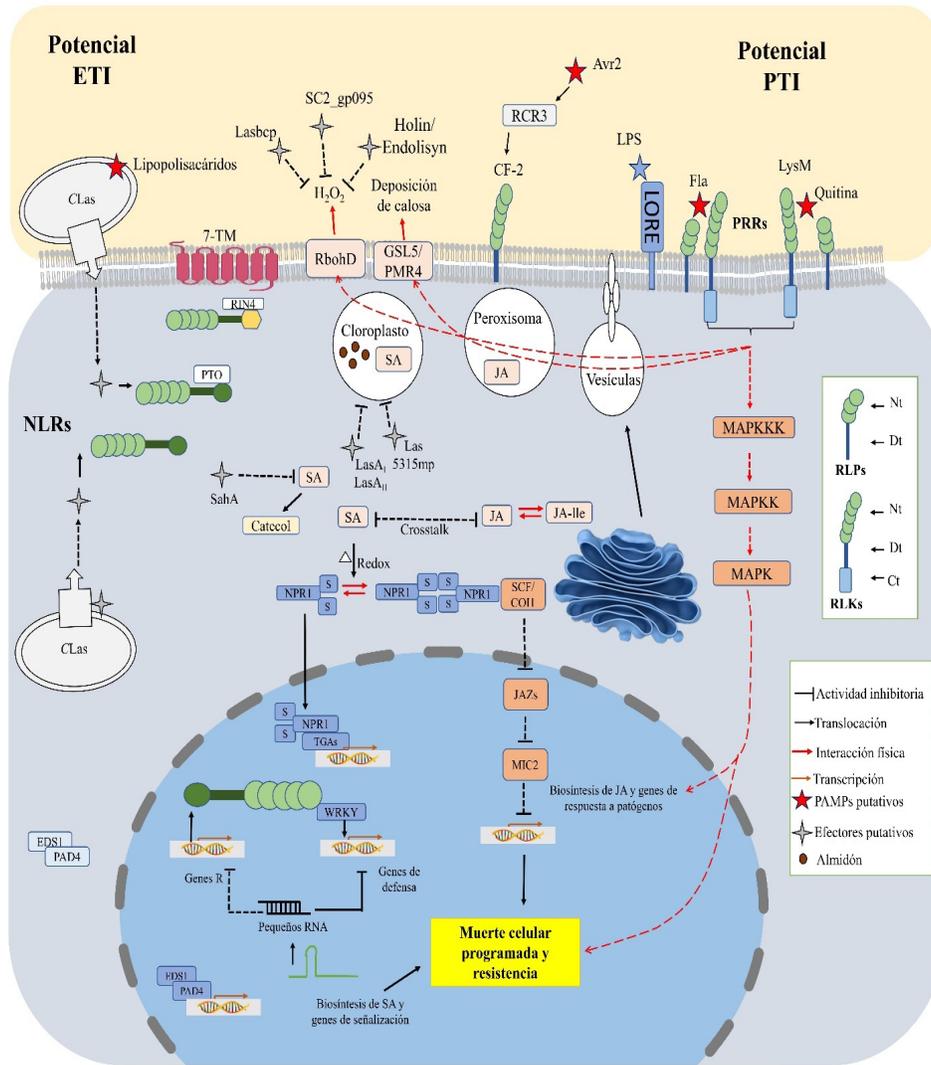


Figura 3. Modelo de la respuesta de inmunidad en cítricos y la participación de los posibles efectores de *CLas*. Dado que los efectores son propuestas aún no demostradas, se observan en color gris como en el diagrama original. Adaptado de Panstruga *et al.* (2009) y da Graça *et al.* (2016). AVR2: Efectore de avirulencia 2, CF-2: Receptor de tomate homólogo al gen de resistencia de *Cladosporium fulvum*, Ct: Extremo C terminal, Dt: Dominio transmembranal, EDS1/PAD4: Dímero de la proteína que incrementa la susceptibilidad a enfermedad y su coregulador deficiente a fitoalexina, ETI: Inmunidad mediada por efectores, Fla: Flagelina, GSL5/PMR4: Glucano sintasa like 5 (calosa sintasa)/resistente al moho polvoriento 4, H₂O₂: Peróxido de hidrógeno, JA: Ácido jasmónico, JA-Ile: Jasmonil-isoleucina, JAZs: Dominio ZIM de jasmonato, LPS: Lipopolisacáridos, LysM: Motivos de lisina, MAPK: Proteínas cinasa activadas por mitógenos, MIC2: Factor transcripcional tipo bHLH, NLRs: Receptores con dominio de unión a nucleótidos con repetidos ricos en leucina, NPR: Gen supresor de patogénesis, Nt: Extremo N terminal, PRRs: Receptores de reconocimiento de patógenos, PTI: Inmunidad desencadenada por PAMPs, PTO: Serina/treonina cinasa que confiera resistencia a *Pseudomonas syringae* pv. tomato, RbohD: Proteína D homóloga a oxidasa del burst respiratorio, RCR3: Cisteína-proteasa extracelular de tomate homóloga a las Cys-proteasas similares a papaína, RIN4: Proteína que interactúa con RPM1, RLK: Receptor similar a cinasa, SA: Ácido salicílico, SahA: Efectore salicilato hidroxilasa, SCF/COI1: SCF/COI1 ubiquitin ligasa, TGAs: Factores transcripcionales tipo bZIP, WRKY: Factores transcripcionales tipo WRKY, 7-TM: Receptores con 7 dominios transmembranales.

ma) y del contenido de proteínas del floema como PP1 y PP2, las cuales participan en el bloqueo del floema durante la infección (Albrecht y Bowman, 2012; Esquivel-Chávez *et al.*, 2012; Koh *et al.*, 2012; Granato *et al.*, 2019).

La interacción entre CLas y plantas de cítricos susceptibles, dando lugar a los síntomas de HLB, se ha intentado explicar ajustándose al modelo en zigzag de Jones y Dang (2006). Según Curtolo *et al.* (2020a) la interacción de PAMPs de CLas disparan una PTI efectiva durante el estado asintomático, asociado a la producción de giberelinas (GA) y SA. Posteriormente los efectores de CLas interfieren con la PTI o facultan al patógeno para su nutrición y dispersión por la planta, dando lugar a la ETS y eventual expresión de síntomas. La activación de la ETI en la planta se asocia con la activación de genes responsables de la acumulación de calosa y de proteínas 2 del floema o PP2 (Phloem protein 2), lo cual trae como consecuencia alteraciones anatómicas y taponamiento de los tubos del floema que podría disparar la muerte celular por HR para evitar la propagación generalizada de CLas en la planta (Jain *et al.*, 2019; Achor *et al.*, 2020). Sin embargo, esto también causa disfunción del floema y evita el flujo y la distribución de fotoasimilados a lo largo del sistema vascular, provocando la acumulación de almidón en los cloroplastos del mesófilo, sacarosa y glucosa en células foliares (Koh *et al.*, 2012; Manzanilla-Ramírez *et al.*, 2019), ruptura de las membranas tilacoideas y degradación de clorofila; todo ello, junto con un desbalance fitohormonal y el estrés oxidativo, contribuyen al desarrollo de los tardíos síntomas característicos de HLB en cítricos susceptibles (da Graça *et al.*, 2016).

Con este mismo enfoque, se han identificado algunos putativos PAMPs en el genoma de CLas y, mediante estudios transcripcionales, se ha encontrado evidencia de que ante la infección, se induce la expresión de receptores cinasas (RLKs)

localizadas en la superficie celular; lo que sugiere la capacidad de las células de los cítricos para reconocer a los PAMPs de CLas e iniciar una cascada de señalización que derive en una PTI (Zou *et al.*, 2012; Hao *et al.*, 2013; Aritua *et al.*, 2013; Mafra *et al.*, 2013; Wei *et al.*, 2021). Además, la identificación de numerosas moléculas homólogas a elicitores de la inmunidad innata, así como a componentes de la respuesta de defensa y de señalización en cítricos, ha conducido a proponer una “potencial ETI” como parte de la respuesta inmune ante la infección de CLas (da Graça *et al.*, 2016).

Posibles PAMPs y Efectores identificados en CLas. A la fecha no se han establecido mecanismos concluyentes de patogenicidad de CLas en cítricos, principalmente debido a la dificultad de cultivarla en laboratorio para realizar pruebas de patología. La alternativa ha sido utilizar parientes cercanos como *Liberibacter crescens*, *Agrobacterium* sp. y *Sinorizobium* sp. para expresar heterológamente efectores o genes homólogos de CLas (Dalio *et al.*, 2017; Jain *et al.*, 2019; Andrade *et al.*, 2020).

La secuenciación del genoma completo de CLas por Duan *et al.* (2009) reveló que, entre los genes potencialmente involucrados en la patogenicidad, CLas contiene 57 genes involucrados en la biogénesis de la envoltura celular y de lipopolisacáridos, que podrían funcionar como PAMPs; además de 30 genes de biosíntesis de flagelos. Zou *et al.* (2012) demostraron que la proteína homóloga a flagelina de 452 aminoácidos contiene el dominio flg22 y funciona como PAMP (Figura 3). Además, flg22 es capaz de desencadenar la respuesta de defensa de los cítricos de forma diferenciada entre cítricos resistentes y susceptibles (Shi *et al.*, 2017). Sin embargo, Andrade *et al.* (2020) reportan que estos genes no se expresan en plantas. Además, muchos PAMPs presentes en otros patógenos están ausentes en el genoma de CLas, por lo que se ha suge-

rido que posiblemente CLas ha evolucionado para reducir la elicitación de PTI (Duan *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2017). Esta hipótesis considera que, siendo la vía de inoculación por el vector *D. citri* intracelular y directamente al floema, tejido al cual se limita la infección por CLas, éste patógeno podría evitar la defensa inicial de la planta por PTI debido a que los receptores PRR perciben PAMPs hacia el exterior de la célula.

De acuerdo al modelo, en segundo término y una vez que CLas ha ingresado a la planta, utiliza efectores para modular algunas funciones celulares del hospedero para multiplicarse y colonizar exitosamente las células del floema. Los efectores son fundamentales en la patogenicidad ya que restringen la acción del sistema inmune de las plantas o interfieren en el proceso de desarrollo del hospedero (Iqbal *et al.*, 2020). La secuenciación del genoma de CLas reveló la presencia de proteínas derivadas de un sistema de secreción tipo I (T1SS) y de un sistema general de secreción (Sec), que se consideran importantes en la virulencia de CLas. Aunque los autores resaltan que genes de secreción comúnmente encontrados en otras bacterias patógenas no se encontraron en CLas. También se encontró un gen potencialmente codificante de la proteína serralisina, la cual está asociada al T1SS y potencialmente actúa como un factor de virulencia, participando en la degradación de proteínas (Cong *et al.*, 2012). Diferentes herramientas computacionales están disponibles para la identificación de posibles efectores de patogenicidad, por ejemplo http://prodata.swmed.edu/liberibacter_asiatiscus/curated/, un website público donde se pueden consultar los resultados más relevantes de un análisis bioinformático que identifica posibles factores de virulencia de CLas (Cong *et al.*, 2012). En los últimos años se logró un avance importante en la evaluación funcional de los factores de patogenicidad de CLas y su papel en el proceso de infección en

cítricos. Posibles factores de patogénesis de CLas hasta ahora identificados, así como las respuestas de defensa inducidas en las plantas, están esquematizadas en la Figura 3. La caracterización de algunos de los diversos efectores estudiados se describen a continuación.

Liu *et al.* (2019) señalan que CLas secreta proteínas con funciones aún desconocidas, y que la proteína CLIBASIA_00460 podría estar relacionada con su patogenicidad, ya que su sobreexpresión en hojas de tabaco provocó muerte celular programada. Además, sus evaluaciones en cítricos mostraron que CLIBASIA_00460 se expresó en niveles significativamente más altos que en psíidos positivos. Estos hallazgos, junto con reportes previos (Pitino *et al.*, 2016), los llevaron a concluir que esta proteína podría actuar como un factor de virulencia de CLas. Por otra parte, Hao *et al.* (2013) reportó que las proteínas hipotéticas LasA_I y LasA_{II} comparten características estructurales con familias de transportadores y se han detectado en mitocondrias cuando se expresan heterológamente en plantas; además, se observaron cambios morfológicos en mitocondrias y cloroplastos de las plantas sobreexpresantes, por lo que se hipotetiza que LasA_I y LasA_{II} podrían manipular la producción de energía en la planta durante la infección. Clark *et al.* (2018) señalan que el efector Sec1 de CLas inhibe la actividad de proteasas cisteínicas tipo papaína (PLCPs), producidas como defensa por las plantas de cítricos, asociadas con la SAR. También, se ha reportado que CLIBASIA_RS00445 codifica la proteína bacterioferritina (LasBCP), la cual pertenece a la familia de las 1-Cys peroxiredoxina y es esencial en la supervivencia y colonización de CLas en plantas. LasBCP degrada peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y tiene especificidad por peróxidos orgánicos (Singh *et al.*, 2017; Jain *et al.*, 2018), por lo que potencialmente afecta la señalización y la acción de las ROS como defensa. Jain *et al.*

(2019) observaron que la expresión LasBCP en hojas de cítricos se relacionó con una disminución transcripcional de la biosíntesis de oxilipina; por lo tanto, reprime la peroxidación de lípidos inducida por ROS. Además, reportaron que LasBCP atenúa la señalización de defensa de la planta mediada por ácido jasmónico (AJ) y ácido salicílico (AS). Pitino *et al.* (2016) expresaron de forma transitoria el efector Las5315 en cloroplastos de *Nicotiana benthamiana*, lo cual produjo fuertes deposiciones de calosa y muerte celular tres días después de la inoculación. Así mismo, Pitino *et al.* (2017) observaron mayores niveles de H₂O₂ y adenosín trifosfato (ATP) en hojas enfermas respecto a sanas. Posteriormente, Pitino *et al.* (2018) demostraron que la infección de CLas causaba una acumulación de almidón en hojas de *N. benthamiana*, de forma similar a lo que se observa en cítricos enfermos con HLB; y que el efector Las5315 expresado de forma transitoria incrementó de 6 a 8 veces la acumulación de almidón, lo que se asoció con una baja expresión de enzimas vegetales degradadoras de almidón, como la alfa glucosidasa, la alfa amilasa y la glicosil hidrolasa. Jain *et al.* (2015) reportaron que la proteína SC2_gp095 de CLas se asoció con una regulación transcripcional negativa de proteínas RBOHB (Proteína B homóloga a oxidasa del *burst* respiratorio) de plantas, las cuales son esenciales en la señalización de defensa mediada por H₂O₂. Ying *et al.* (2019) reportan la presencia de la proteína CLIBASIA_00470, se asocia con la alteración del perfil proteico del hospedero a través de la degradación de proteínas de defensa mediadas por ubiquitina. Por otra parte, Wang y Trivedi (2013) y Li *et al.* (2017) reportaron la presencia de la enzima salicilato hidroxilasa funcional (SahA) en el genoma de CLas, la cual convierte el SA producido por las plantas infectadas en catecol, el cual inactiva la señalización que induce la resistencia sistémica. Otros posibles factores de virulencia del

genoma de CLas están presentes en dos profagos, uno de escisión (SC1) y otro insertado a nivel cromosómico. Ambos profagos codifican dos proteínas con actividad de peroxidasas (SC1_gp035 y SC1_gp110), similares a la endolisina y la holina, respectivamente. Estas proteínas podrían proteger a la bacteria de las ROS producidas por la planta durante la infección (Fleites *et al.*, 2014). Vahling *et al.* (2010) reportaron la presencia del gen *nttA* (proteína transportadora de nucleótidos) que codifica una ADP/ATP translocasa que altera los niveles de ATP intracelular, lo que sugiere que CLas importa ATP de su entorno. Por otra parte, CLas tiene genes relacionados con el sistema de transporte de Zn, Mn y Fe (Znu #1, Znu #2), transportadores ABC (ZnuA1, ZnuB1, ZnuC1) y otros transportadores periplasmáticos (ZnuA2, ZnuB2, ZnuB2-2, Znu-C2), lo que sugiere que CLas podría importar nutrientes de su entorno inmediato (Vahling-Armstrong *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2015, 2016).

En resumen, no hay claridad respecto a la existencia de PAMPs en CLas, pero sí una amplia diversidad de posibles efectores con evidencia de disparar respuestas de defensa en los cítricos.

Putativos receptores PRR y NLR en cítricos. A pesar de la importancia económica del cultivo de cítricos y su coexistencia con una gran variedad de patógenos, ningún PRR de cítricos ha sido funcionalmente bien caracterizado; sin embargo, algunos RLKs y RLPs parecen tener un papel en la percepción de patógenos y en disparar la inmunidad innata (Dalio *et al.*, 2017). Magalhães *et al.* (2016) identificaron mediante bioinformática, un total de 300 y 297 proteínas de *C. clementina* y *C. sinensis* respectivamente, homólogas a receptores PRRs de la subfamilia LRR-RLKs. Por otra parte, Aritua *et al.* (2013) realizaron análisis de microarreglos y reportaron que ante la infección de CLas, las plantas de *C. sinensis* sobre expresaron 12 genes ho-

mólogos de receptores presentes en arroz (*Xa21*) y tomate (*Hcr2-5D* y *Cf-2.2*), un gen que codifica al receptor SR160, además de homólogos a receptores cinasa FERONIA (FER), cinasas asociadas a la pared celular (WAK) y genes de la familia WLKs (similares a los genes WAKs). También, reportan una regulación negativa de homólogos a receptores cinasa como ERECTA y el receptor similar a proteína cinasa 1, descritos en Arabidopsis y cultivos como maíz y arroz, donde participan en la comunicación entre la pared celular y la membrana plasmática, mediando la transducción de señales hacia el compartimiento intracelular al activarse sus dominios extracelulares (Hurni *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2017a). Por otra parte, Fu *et al.*, 2016 realizaron un perfil transcriptómico en *C. sinensis* y reportaron un gran número de transcritos que se expresaron de forma diferenciada ante la inoculación de CLas (RLP6, RLP9, RLP13, RLP14, RLP15 y RLP45), además de RLKs similares a LRR-K, WAKs y proteínas con dominio de función desconocida 26 (DUF26). Respecto al reconocimiento de los efectores por parte de los cítricos con receptores tipo NLRs, se ha reportado la presencia de posibles genes de resistencia (R) homólogos a estos receptores en los genomas secuenciados de *Citrus cinensis* y *C. clementina* (Wang *et al.*, 2015). Mafra *et al.* (2013) evaluaron la respuesta de *C. sinensis* a la infección de CLam mediante microarreglos y reportaron, además de la presencia de transcritos que codifican proteínas similares a PRRs (RLP12), la expresión diferencial de genes de reconocimiento tipo NBS-LRR, y receptores cinasa con motivos de lisina (CERK1). Por otra parte, el análisis transcriptómico de secuencias expresadas de cítricos en respuesta a patógenos (CitEST) de diferentes especies bajo diferentes condiciones de crecimiento, mostró la presencia de un gran número (137) de putativos genes R con estructura similar a NBS-LRR, CC-NBS-LRR, TIR-NBS-LRR, así como proteínas de resistencia de la familia transmembranal 7 (7-TM)

(Guidetti-Gonzalez y Carrer, 2007; Dalio *et al.*, 2017). Además, en estudios donde se comparan los perfiles transcripcionales de plantas sanas y enfermas con HLB, se ha mostrado la expresión diferencial de múltiples genes NBS-LRR potencialmente involucrados en la percepción de los efectores de CLas (Kim *et al.*, 2009; Aritua *et al.*, 2013; Mafra *et al.*, 2013; Nwugo *et al.*, 2013). La sobreexpresión del gen *CsSAMT1* en plantas transgénicas de *C. cinensis* se relacionó con la inducción de la expresión de receptores cinasa, particularmente de receptores similares a TIR-NBS-LRR (Zou *et al.*, 2021), además de una mayor expresión de genes de defensa y resistencia ante la enfermedad del HLB. *CsSAMT1* codifica el ácido salicílico metiltransferasa (SAMT), la cual cataliza la formación de ácido metilsalicílico (MeSA) a partir del ácido salicílico. El MeSA es fundamental en la señalización de la respuesta sistémica adquirida (SAR) mediada por SA ante el ataque de patógenos. A pesar de la correlación de los perfiles de expresión de putativos NLRs con el proceso de infección en HLB, el papel de estos receptores interactuando funcionalmente con los efectores de CLas y promoviendo la defensa en plantas resistentes aún no ha sido comprobado.

Lo resumido hasta ahora, ilustrado en la figura 3, significa un avance significativo en el entendimiento de cuáles son los posibles PAMPs y factores de virulencia o efectores de CLas, así como de sus mecanismos para elicitar o bloquear la inmunidad en los cítricos. Sin embargo, se requiere más investigación dirigida a caracterizar funcionalmente los posibles receptores PRR y proteínas R de cítricos antagónicas a los efectores de CLas, para comprender de mejor manera las vías de activación de la PTI y la ETI que se propone son inducidas en cítricos con HLB.

HLB como enfermedad mediada por la inmunidad, una visión alternativa. Aunque se considera que la protección de las plantas ante el ataque de la

mayoría de patógenos depende del sistema inmune innato que da lugar a la PTI, ETI o ambas; así como de las señales sistémicas que emanan del sitio de infección dando lugar a la SAR (da Graça *et al.*, 2016); la clasificación diferencial entre la PTI y la ETI basada en interacciones planta-patógeno modelo no siempre se ajusta a la gran diversidad de interacciones planta-patógeno existentes, hay poca claridad en la diferenciación química o funcional entre PAMPs y efectores, y convergencia o solapamiento en las respuestas de las plantas involucradas en la PTI y la ETI (Bart *et al.*, 2011). Bajo esta consideración, la diferenciación entre PAMPs/Efectores, tipo de receptores y tipos de inmunidad, puede ser solo conceptual.

Así mismo, se asume que las enfermedades de las plantas son resultado directo del impacto de los factores de patogenicidad de los agentes causales o efectores, como toxinas, enzimas que degradan la pared celular, biopelículas de patógenos que obstruyen los flujos de los productos fotosintéticos, y otros. Sin embargo, en el caso de HLB, no son claros los mecanismos a través de los cuáles CLas daña a las plantas infectadas y no se han confirmado factores de patogenicidad directamente responsables de los síntomas. Por el contrario, Ma *et al.* (2022) recientemente han propuesto que HLB es una enfermedad que es mediada por el sistema inmune y que los síntomas son ocasionados por las propias respuestas de inmunidad de la planta, crónicas y sistémicas, indirectamente provocadas por el patógeno (*pathogen-triggered immune disease*) al inducir la sobreproducción crónica y excesiva de ROS que provocan la muerte celular en el floema. Lo anterior se fundamenta en a) evidencia genómica y experimental de que CLas no tiene factores de patogenicidad que causen de forma directa los síntomas de HLB; b) la presencia de CLas en hojas nuevas de árboles de *C. sinensis* infectados dispara la respuesta inmune y muerte celular en el

tejido del floema; incluyendo el incremento en la producción de ROS (H_2O_2), deposición de calosa, acumulación de almidón previo a la aparición del amarillamiento, así como la expresión de proteínas PR como marcadores de inmunidad; c) la muerte celular de células acompañantes y tubos cribosos del floema, mediada por HLB, parece ser disparada por los altos niveles de ROS producidas tanto en hojas jóvenes con infección en estadios tempranos, como en hojas maduras y tallos; en congruencia con que el estrés oxidativo involucrado en HLB ha sido sugerido por muchos estudios; d) la infección por CLas altera de forma significativa la expresión de rutas relacionadas con el estrés oxidativo, incluyendo tanto la regulación negativa de homólogos de enzimas antioxidantes como la sobreexpresión de posibles NADPH-oxidasas membranales o RBOHs (*Respiratory burst oxidative homolog*) implicados en otras plantas en la generación de ROS después del reconocimiento de PAMPs; conforme análisis de los perfiles de expresión reportados en estudios transcriptómicos de *C. sinensis*; e) hay cambios de expresión en homólogos de genes asociados con la respuesta inmune, incluyendo inducción de decenas de NLRs; revelados por el mismo análisis de múltiples estudios transcriptómicos. Las respuestas inmunes disparadas por CLas han sido ampliamente descritas (Zou *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2017; Clark *et al.*, 2018) y esta hipótesis sugiere que dichas respuestas son las directamente responsables de causar los daños asociados a HLB, de forma similar a las enfermedades inmunes de humanos.

Respuestas transcriptómicas, proteómicas y metabolómicas en cítricos tolerantes o susceptibles ante la infección con CLas. Todo lo anteriormente descrito se ha propuesto con base en las respuestas y síntomas observados en cítricos susceptibles a HLB; sin embargo, aunque todos los cítricos son afectados en mayor o menor grado, se ha reportado

que algunas especies o variedades exhiben tolerancia diferenciada a la enfermedad (Folimonova *et al.*, 2009). Naranjas, mandarinas y tangelos son altamente susceptibles, pero toronja, limón y naranjo agrio muestran cierto grado de tolerancia con una expresión de síntomas más lenta y continuando con su desarrollo aún con la enfermedad (Folimonova *et al.*, 2009; Albrecht y Bowman, 2012). A la fecha no se han reportado variedades o combinaciones de vástago-portainjerto comerciales resistentes a HLB, ni se han identificado genes de resistencia específicos a CLas; posiblemente porque en términos evolutivos es una enfermedad reciente (100 años) y los cítricos aún no han desarrollado dicha resistencia (Bové, 2006; Gottwald, 2010). Aunque recientemente se ha publicado la selección de híbridos descritos como resistentes (cruzas entre *Citrus sunki* ex Tan y *Poncirus trifoliata* Raf. cv Rubidoux) y se ha propuesto a un gen de quitinasa como posible gen de resistencia (Curtolo *et al.*, 2020a; b), no se cuenta con mayor información respecto a su comportamiento y productividad en campo.

La identificación de los mecanismos de defensa desplegados ante esta enfermedad en las variedades tolerantes e híbridos posiblemente resistentes, permitirá proponer mejores alternativas de manejo del HLB, incluso para los cítricos susceptibles; así como abrir la posibilidad de generar variedades genéticamente mejoradas. Diversos trabajos en los que se realizaron mapeos de datos en cítricos infectados con CLas, evaluando la expresión de loci de rasgos cuantitativos (eQTL) respaldan la hipótesis de que la tolerancia de algunas variedades al HLB es poligénica (Huang *et al.*, 2018; Soratto *et al.*, 2020; Curtolo *et al.*, 2020b; Hu *et al.*, 2021).

Especies, variedades, híbridos y combinaciones vástago/portainjerto con diferente grado de tolerancia o susceptibilidad han sido utilizadas de forma individual o comparativa para conocer sus respuestas transcriptómicas, proteómicas y metabólicas ante

la infección con CLas; con el objetivo de identificar moléculas acumuladas diferencialmente, presuntamente asociadas a su diferente nivel de tolerancia ante la infección (Cuadro 1). El análisis global de estos estudios, sugiere que cítricos con diferente nivel de tolerancia a HLB, infectados con CLas, despliegan cambios en la expresión de genes y en la acumulación de proteínas y metabolitos de forma diferencial entre los genotipos evaluados, incluyendo homólogos a receptores, proteínas de resistencia, factores transcripcionales, enzimas antioxidantes, así como el metabolismo de carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, fitohormonas, pared celular y otras rutas metabólicas. Así, la susceptibilidad o tolerancia de un particular genotipo se podría asociar con la sub o sobre expresión de un conjunto de genes y ciertas rutas metabólicas. A continuación, describimos patrones de respuesta que se afectan de forma diferencial en cítricos ante la infección con CLas, dependiendo del nivel de tolerancia de la variedad; agrupados según la posible función de las moléculas durante el proceso de inmunidad.

Receptores: Para el caso de variedades susceptibles, se han reportado cambios en la expresión de posibles receptores de reconocimiento PRRs, como la regulación negativa de algunos receptores transmembranales homólogos a RLKs cinasas ricas en cisteína, cinasa similar a FERONIA, receptores similares a serina/treonina/cinasa y cinasas con repetidos ricos en leucina (Curtolo; *et al.*, 2020a), con lo cual sugieren un posible reconocimiento tardío de CLas. Sin embargo, los mismos autores y Hu *et al.* (2017b) reportaron una regulación positiva de otros receptores cinasa posiblemente relacionados con la respuesta a estrés biótico, como el receptor LRR-serina/treonina/cinasa GSO1, ERL2 y un RLP similar a la proteína 12, los cuales podrían reconocer PAMPs y desencadenar PTI. En variedades tolerantes infectadas con CLas se reporta au-

Cuadro 1. Estudios transcriptómicos, metabólicos y/o proteómicos de cítricos con diferente nivel de tolerancia ante la infección con CLas.

Variedad	Tipo de estudio y Referencia	Ejemplos de transcritos, proteínas o metabolitos diferencialmente expresados potencialmente relacionados con la tolerancia o susceptibilidad
Limón Lisboa (<i>C. limon</i>) ^{MT} vs Naranja Navel (<i>C. sinensis</i>) ^S . Porta injerto: Carrizo citrange (<i>X Citroncirus webberi</i>) ^T .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación de expresión transcriptómica, metabólica y proteómica. -Comparación entre hojas de plantas sanas y enfermas de limón vs Naranja. (Chin <i>et al.</i> , 2021)	-CLas indujo la disrupción del metabolismo de cítricos tanto en la variedad tolerante como en la susceptible a nivel de transcritos, proteínas, metabolitos y micronutrientes: -Mayor acumulación de micronutrientes (Cu ²⁺ y K ⁺) en hojas de plantas de limón y menor concentración de Mg ²⁺ , Cu ²⁺ , Fe ²⁺ y Ca ²⁺ en hojas de naranja infectadas con CLas. -Expresión diferenciada de proteínas relacionadas con fotosíntesis, respuesta de defensa, inhibidores de tripsina tipo Kunitz, degradación de quitina y glucólisis en hojas positivas a CLas, respecto a plantas sanas. -Mayor cantidad de Azúcares, aminoácidos y otros compuestos en hojas enfermas de naranjas respecto a limón. -Mayor expresión de transcritos de degradación de quitina en hojas de limón infectadas respecto a hojas infectadas de naranja. -En un estado pre-sintomático, la fotosíntesis fue afectada en menor grado en limón respecto a naranja. -Transcritos de inhibidores de proteasas (PI) se expresaron en mayor medida en hojas de limón respecto a naranja. -Mayores cambios metabólicos en naranja respecto a limón.
Mandarina Sugar belle ^T (<i>C. reticulata</i> x <i>Minneola tangelo</i>) ^T vs Mandarina Murcott (<i>C. reticulata</i> Blanco) ^S . Porta injerto: Naranja agrio (<i>Citrus aurantium</i> L.) ^{MT} .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación metabólica. -Comparación entre hojas de plantas sanas y enfermas de Sugar belle vs Murcott. (Suh <i>et al.</i> , 2021)	-Algunas vías metabólicas (síntesis de aspartato, glutamato, purinas y biosíntesis de fitohormonas como auxinas y citoquininas) se incrementaron en el grupo tolerante tanto en plantas sanas como enfermas, pero no metabolitos relacionados con ácido salicílico (ácido salicílico, ácido salicílico β-D-glucosido y ácido 2, 3-dihidroxibenzoico). -Las vías catabólicas asociadas al metabolismo productor de energía se incrementaron en el grupo tolerante. -Los autores sugieren que en la variedad tolerante el patrón asociado a la tolerancia está asociado con el crecimiento continuo y regeneración del floema; por el contrario, en la variedad susceptible se expresó una respuesta de defensa directa. -Las variedades susceptibles mostraron la expresión diferencial de un gran número de genes respecto a variedades tolerantes. Respecto a los híbridos, todos los grupos mostraron expresión diferenciada de genes, sin embargo, el grupo tolerante mostró la mayor expresión de genes, respecto a los grupos resistente y susceptible. Muchos de los genes diferencialmente expresados fueron regulados negativamente en plantas enfermas respecto a plantas sanas. -En <i>P. trifoliata</i> y el grupo resistente se observó una mayor expresión de receptores de reconocimiento como: <i>receptor cinasa rico en cisteína</i> , <i>proteína cinasa serina/traonina</i> , <i>cinasa transmembranal-LRR</i> y <i>LRR-RLK</i> , respecto a las variedades susceptibles. -En genotipos tolerantes y resistentes, CLas indujo la expresión de genes relacionados con la degradación de giberelinas, en comparación con genotipos susceptibles. -La expresión de factores transcripcionales WRKY se relacionó con los mecanismos de defensa genética en <i>P. trifoliata</i> . -Respecto a los genes de defensa, el gen <i>endoquitinasa B</i> se expresó en mayor medida en el grupo resistente. -En <i>P. trifoliata</i> se expresaron genes relacionados con lignina y fenilpropanoides como ácido <i>cafeico O-metiltransferasa</i> , <i>chalcona sintasa</i> y <i>feruloil orto-hidroxilasa 1</i> entre otros. -En <i>P. trifoliata</i> se observó una modulación génica a nivel de floema como respuesta a CLas, sin la deposición de calosa que ocurre en variedades susceptibles. -En variedades tolerantes no se observó inducción de genes relacionados con la síntesis de almidón.
<i>C. sinensis</i> ^S , <i>C. sunki</i> ^S , <i>P. trifoliata</i> ^T , 21 híbridos (tres grupos ^{S,T,R}) obtenidos de la cruce de <i>C. sunki</i> x <i>Poncirus Trifoliata</i> . Porta injerto: Lima Rangpur (<i>C. limonia</i>) ^{MT} .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación transcriptómica. -Comparación entre hojas de plantas sanas y enfermas de variedades susceptibles (<i>C. sinensis</i> , <i>C. sunki</i> y grupo susceptible), tolerantes (<i>P. trifoliata</i> y grupo tolerante) y resistente (grupo resistente). (Curtolo <i>et al.</i> , 2020a)	

Cuadro 1. Continúa...

Variedad	Tipo de estudio y Referencia	Ejemplos de transcritos, proteínas o metabolitos diferencialmente expresados potencialmente relacionados con la tolerancia o susceptibilidad
Naranja dulce (<i>C. sinensis</i>) ^S . Porta injerto: Carrijo citrange (<i>C. sinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>) ^{MT} . Plantas sanas vs enfermas.	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación transcriptómica en raíz de plantas sanas y enfermas. -Tratamientos de fertilización a base de macro y micro nutrientes. -Cuatro tratamientos de fertilización: 1) árboles sanos con fertilización (HLY-F), 2) árboles enfermos con fertilización (HLB-F), 3) árboles sanos sin fertilización (HLY-NF) y 4) árboles enfermos sin fertilización (HLB-NF). (Shahzad <i>et al.</i> , 2020)	-Ante la condición de deficiencia nutricional nueve genes codificantes de: transferencia de fosfoglicéridos, proteínas de la familia HPP, proteínas similares a dedos de zinc (Ran BP2/NZF), HVA22 homólogo C, dominio barrel A/B sensible al estrés, peroxidasas, transportadores de zinc y receptores LRR se expresaron de forma diferenciada en raíces de plantas inoculadas con HLB. -Ante la fertilización (una semana después) genes relacionados con transporte de iones, crecimiento y desarrollo de raíz, cambios anatómicos, muerte celular y apoptosis, se expresaron de manera diferenciada en raíces de plantas enfermas vs sanas. -Las plantas enfermas mostraron mayor eficiencia en la toma de nutrientes, sin embargo, el volumen de raíz fue menor que en plantas sanas, lo que limita la toma de nutrientes. -Los macronutrientes secundarios y micronutrientes son metabolizados en una tasa mayor en plantas enfermas. -Los autores sugieren que un suministro constante de fertilización con dosis ligeramente superiores a las recomendadas de macro nutrientes secundarios y micronutrientes sería beneficioso para el manejo de árboles enfermos con HLB.
Naranja Valencia (<i>C. sinensis</i>) ^S . Porta injertos: Swingle (<i>Citrus paradisi</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>) ^S y 46x20-04-48 (<i>C. grandis</i> x <i>C. reticulata</i>) ^T .	-Plantas cultivadas en una parcela. -Inoculación mediante <i>D. citri</i> . -Evaluación proteómica en pulpa de frutos sintomáticos y asintomáticos (ambos HLB+). Comparación: porta injerto tolerante vs susceptible vs fruto sintomático vs fruto asintomático. Grupo de sanas vs enfermas. (Yao <i>et al.</i> , 2020)	-La naranja valencia mostró diferencias en las características del fruto y el perfil de expresión de proteínas ante la infección de CLas, tanto en el portainjerto susceptible como el tolerante: 525 proteínas tuvieron una regulación negativa en frutos del portainjerto Swingle y 257 en 46x20-04-48, respecto a los testigos sanos. -En Swingle se encontró una regulación negativa de proteínas asociadas a la biosíntesis de aleno óxido sintasa y a la señalización de jasmonatos como SKP1 (proteína cinasa asociada a fase S), ASK2 (similar a SKP1), RUB1 (similar a ubiquitina), proteínas de choque térmico HSP70T-2 y HSP90.1, subunidades del proteosoma como RPN8A y RPT2a y receptores para tráfico vesicular (SNAREs). -Se propone que las proteínas reguladas negativamente relacionadas a la vía de señalización de jasmonato y tráfico vesicular, podrían relacionarse con la sensibilidad de Swingle.
Naranja Valencia (<i>C. sinensis</i>) ^S .	-Plantas en invernadero. -Plantas sanas vs plantas inoculadas mediante injerto vs plantas infestadas con <i>D. citri</i> . -Evaluación metabólica en hojas. -Aplicación de melatonina exógena. (Nehela y Killiny, 2020a)	-La infección con CLas y la infestación con <i>D. citri</i> incrementó los niveles endógenos de melatonina y reguló positivamente sus genes de biosíntesis como <i>TDC</i> (tirosina decarboxilasa), <i>T5H</i> (triptamina-5-hidroxilasa), <i>SNAT</i> (serotonina N-acetiltransferasa), <i>ASMT</i> (N-Acetilserotonina O-metiltransferasa) y <i>COMT</i> (ácido cafeico O-metiltransferasa) en hojas de naranja Valencia. -El incremento en los niveles endógenos de melatonina se correlacionó positivamente con el contenido de ácido salicílico. -La aplicación exógena de melatonina potenció el contenido de fitohormonas asociadas a estrés (salicilatos, auxinas, ácido <i>trans</i> -jasmónico y ácido abscísico), así como la transcripción de los genes de sus biosíntesis. -La aplicación de melatonina disminuyó significativamente los títulos de CLas en hojas sintomáticas de <i>C. sinensis</i> . -Se propone a la melatonina como mediador de la respuesta de defensa de cítricos contra HLB mediante la modulación vías de señalización de fitohormonas.
14 variedades de cítricos clasificadas en cuatro grupos de acuerdo con su grado de tolerancia a CLas ^F .	-Plantas en invernadero. -Plantas sanas. -Evaluación metabólica de savia del floema de brotes colectados en tres alturas del dosel. -Tolerantes vs susceptibles. (Killiny, 2017)	-La variedad tolerante <i>Citrus latipes</i> tuvo niveles altos de γ -ABA, ácido L-aspartico, L-asparagina, L-Treonina, L-Valina, ácido fumárico, maltosa y fructosa. -La galactosa, β -L-arabinopiranosas, arabinosa, sorbosa y los ácidos orgánicos, se correlacionaron negativamente con la tolerancia. -El ácido fumárico, α -D-galactopiranosas, α -D-manopiranosas, maltosa, manosa y disacáridos se correlacionaron positivamente con la tolerancia de los cítricos a CLas.

Cuadro 1. Continúa...

Variedad	Tipo de estudio y Referencia	Ejemplos de transcritos, proteínas o metabolitos diferencialmente expresados potencialmente relacionados con la tolerancia o susceptibilidad
US-812 ^T , US-897 ^T , US-942 ^T , <i>C. sinensis</i> ^S , <i>C. Paradisi</i> (Duncan) ^S , <i>C. paradisi</i> (Ruby Red) ^S .	-Plantas sanas en invernadero vs plantas enfermas cultivadas en parcela. -Inoculación natural mediante <i>D. citri</i> . -Evaluación transcriptómica en hojas. -Tolerantes vs susceptibles. (Rawat <i>et al.</i> , 2017)	Mayor actividad de los genes PtCDR2 y PtCDR8, relacionados con la activación constitutiva de respuesta de defensa en <i>P. trifoliata</i> infectadas con CLas, respecto a variedad es susceptibles.
Mandarina Sun Chu Sha ^T vs Pomelo Duncan ^S	-Plantas en invernadero. -Evaluación transcriptómica en hojas. -Aplicación exógena del péptido Flg22 en hojas. -Tolerante vs susceptible. (Shi <i>et al.</i> , 2017)	-La aplicación de Flg22 indujo la expresión de 86 genes en el genotipo de mandarina tolerante, de los que destacan citocromo P450, glicoproteínas ricas en hidroxiprolina y proteínas de resistencia a enfermedades. -24 horas después del tratamiento se encontró una mayor expresión de genes <i>EDR1</i> , <i>EDS1</i> , <i>NDR1</i> , <i>PBS1</i> , <i>RARI</i> y <i>SGT1</i> , biosíntesis de fenilpropanoides (<i>PAL1</i>), reguladores transcripcionales de PRs (<i>NPR2</i> y <i>NPR3</i>), inductores de SAR (<i>AZII</i>) y genes de patogenicidad (<i>RdRp1</i>) en el genotipo tolerante. Por otro lado, en el genotipo susceptible solo se indujo la expresión de un gen PR (<i>PR1</i>).
Varetas tolerantes de lima Kaffir (<i>C. hystrix</i>) ^T vs naranja dulce 'pineapple' (<i>C. sinensis</i>) ^S . Porta injerto: Carrizo citrange (<i>C. sinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>) ^T . Inoculo: Pomelo Guanximiyou (<i>C. grandis</i>) ^{NR} .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación transcriptómica en hojas. -Tolerante vs susceptible. (Hu <i>et al.</i> , 2017b)	-Se encontró una respuesta diferenciada en el metabolismo de carbohidratos, procesos fotosintéticos, metabolismo de la pared celular, metabolismo secundario, procesos de oxido-reducción en <i>C. hystrix</i> respecto a <i>C. sinensis</i> . -Los autores no encontraron cambios en la síntesis de almidón y procesos fotosintéticos en <i>C. hystrix</i> , por el contrario, éstas vías fueron reguladas positivamente en <i>C. sinensis</i> . -Familias de proteínas similares a celulosa sintasa que participan en la síntesis de la pared celular se expresaron en mayor medida en <i>C. hystrix</i> , respecto a <i>C. sinensis</i> . -Genes involucrados en rutas del metabolismo secundario se expresaron en <i>C. hystrix</i> y reprimidos en <i>C. sinensis</i> . -La expresión de peroxidasas (Cu/Zn-SOD y POD4) se asociaron con la tolerancia de <i>C. hystrix</i> a CLas, probablemente por su actividad como proteínas de detoxificación de ROS.
Limón Mexicano (<i>C. aurantifolia</i>) ^{MT} vs lima Persa (<i>C. latifolia</i>) ^{MT} vs naranja dulce (<i>C. sinensis</i>) ^S .	-Plantas en parcela bajo condiciones de temporal. -Infección natural con <i>D. citri</i> . -Evaluación proteómica de hojas de árboles infectados con HLB. -Árboles sintomáticos vs a sintomáticos. (Torres <i>et al.</i> , 2017)	-Mayor expresión de proteínas totales en limón Mexicano infectado con CLas. -Mayor actividad enzimática de fenilalanina amonio liasa (PAL) en naranja dulce infectada con CLas. -La actividad α -amilasa fue mayor en limón persa.
13 variedades de cítricos clasificadas en cuatro grupos de acuerdo con su grado de tolerancia a CLas ^F .	-Plantas en invernadero. -Plantas sanas. -Evaluación metabólica en hojas. -Tolerantes vs susceptibles. (Killiny e Hijaz, 2016)	-La mayoría de los aminoácidos encontrados en la savia del floema como fenilalanina, tirosina, triptófano, valina, leucina, histidina, lisina, cisteína, metionina, serina y glutamato se relacionaron positivamente con la tolerancia de cítricos a CLas. -Los ácidos orgánicos se correlacionaron negativamente con la tolerancia y los ácidos grasos no mostraron correlación.

Cuadro 1. Continúa...

Variedad	Tipo de estudio y Referencia	Ejemplos de transcritos, proteínas o metabolitos diferencialmente expresados potencialmente relacionados con la tolerancia o susceptibilidad
<i>C. volkameriana</i> ^{MT} , <i>C. sinensis</i> (Nabel) ^S , patrón <i>C. sinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i> ^T . Inoculo: <i>C. limon</i> .	-Plantas en invernadero -Inoculación mediante injerto. -Análisis proteómico de nervaduras y peciolos. -Tolerante vs susceptible. (Martinelli <i>et al.</i> , 2016)	-En el genotipo susceptible, la enfermedad del HLB inhibió la fotosíntesis, la ruta de isoflavonas, síntesis de tetrapirrol, metabolismo de galactosa. Disminuyó la biosíntesis de ácidos grasos y metabolismo de nitrógeno, además, se incrementó la degradación de aminoácidos, metabolismo de lípidos, jasmonatos, proteínas PR y metabolismo de ácido linoleico. -En el genotipo tolerante disminuyó la actividad de isoprenoides, unión de ARN y activación de aminoácidos. Además, incremento en el metabolismo de galactosa, modificaciones en la pared celular y proteínas de choque, también, se activaron tres proteínas involucradas en la transducción de señalización de auxinas y cuatro glutatión S-transferasas. -En ambos cultivares se expresaron receptores cinasa tipo LRR ante la infección de CLas.
Tres híbridos de Toronja Jackson (R20T17, R20T18 y R19T17) ^T vs tres híbridos de Toronja Marsh (R19T23, R19T24 y R20T24) ^S .	-Plantas cultivadas en campo. -Infección natural con <i>D. citri</i> . -Análisis transcriptómico en brotes jóvenes. -Tolerantes vs susceptibles. (Wang <i>et al.</i> , 2016)	-Sobre expresión de genes SAUR y NPR1 relacionados con la resistencia sistémica en los híbridos tolerantes, respecto a susceptibles. -Expresión diferenciada de genes asociados a la pared celular, tetrapirrol y metabolismo secundario entre los híbridos tolerantes y susceptibles. -Mayor expresión de genes de patogénesis (PR) en la variedad tolerante. -La expresión de genes asociados a la pared celular como celulosa sintasa y transferasa, celulasa, expansinas y pectín esterases se relacionaron con el desarrollo de síntomas en la variedad susceptible. -La mayor expresión de genes asociados a receptores RLK se presentó en la variedad tolerante. -Los mayores cambios encontrados a nivel de sobre expresión de factores transcripcionales se observaron en la variedad susceptible. -Se encontró una baja expresión de genes relacionados a la biosíntesis de brasinoesteroides en la variedad tolerante.
I: Mandarina Cleopatra (<i>C. reticulata</i>) ^S , vs híbrido US-897 (<i>C. reticulata</i> 'Cleopatra' x <i>P. trifoliata</i> 'Dragón volador') ^T . II: Mandarina Cleopatra (<i>C. reticulata</i>) ^S vs Carrizo citrange (<i>C. sinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>) ^T , US-802 (<i>C. grandis</i> 'Siamese pummelo' x <i>P. trifoliata</i> 'Gotha Road') ^T , US-812 (<i>C. reticulata</i> 'Sunki' x <i>P. trifoliata</i> 'Benecke') ^T , US-897, US-942 (<i>C. reticulata</i> 'Sunki' x <i>P. trifoliata</i> 'Flying Dragon') ^T .	-Estudio en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación metabólica en hojas. -Cinco híbridos tolerantes vs un cultivar susceptible. -Plantas sanas vs enfermas. -Dos experimentos independientes. (Albrecht <i>et al.</i> , 2016)	-I: Ante la infección de CLas el híbrido tolerante US-897 mostró altos niveles de palatinosa, carbohidratos, (glucosa, fructosa y rafinosa), ácido hidroxicinámico, ácido láurico y algunos otros compuestos desconocidos. Además, la mandarina cleopatra mostró mayores niveles de arginina, sinefrina, ornitina citrulina y prolina, además, ácidos orgánicos (ácido sacárico, ácido pirrol-2-carboxílico y ácido maleico) y aminoácidos (lisina, tirosina y glicina), así como, compuestos desconocidos. Los metabolitos se expresaron de forma diferenciada en plantas infectadas respecto a sanas y fue mayor en Cleopatra respecto a US-897. -II: Los metabolitos que se expresaron en mayor cantidad en el cultivar susceptible fueron inulobiose, trans-4-Hidroxi prolina y prolina, además, también se encontró una menor expresión de treitol, rafinosa, ácido isotreónico, salicina, ácido α -cetoglutárico, galactinol, glucosa y fructosa. El único metabolito encontrado en altas concentraciones en cuatro de los seis cultivares (Cleopatra, Carrizo, US-802, US-812) fue la prolina, además, en los mismos cultivares el ácido 2-hidroxi glutárico, ácido α -cetoglutárico, salicina, además, de metabolitos de estructura desconocida se expresaron en menor cantidad. -Los autores señalan que la tolerancia a la enfermedad del HLB no parece estar asociada con la acumulación de altas cantidades de metabolitos como respuesta la infección.
Naranja Valencia y Hamling (<i>C. sinensis</i>) ^S .	-Plantas cultivadas en campo. -Infección natural con <i>D. citri</i> . -Evaluación metabólica en frutos. -Plantas sanas, plantas sintomáticas y asintomáticas (ambas HLB+). (Chin <i>et al.</i> , 2014)	-Diferencias en la concentración de metabolitos como fenilalanina, histidina, limonina y sinefrina se encontraron frutos provenientes de árboles sanos y asintomáticos respecto a frutos de árboles sintomáticos. -La concentración de fructosa, glucosa, sacarosa y prolina fue menor en comparación con testigos sanos. -Los autores señalan que los estudios metabólicos podrían ser útiles para detectar árboles enfermos en estados iniciales de la enfermedad.

Cuadro 1. Continúa...

Variedad	Tipo de estudio y Referencia	Ejemplos de transcritos, proteínas o metabolitos diferencialmente expresados potencialmente relacionados con la tolerancia o susceptibilidad
Naranja Valencia (<i>C. sinensis</i>) ^S .	-Plantas cultivadas en campo. -Infección natural con <i>D. citri</i> . -Expresión transcriptómica en hojas maduras, hojas inmaduras y cáscara de frutos inmaduros. -Sintomáticas vs asintomáticas vs sanas. (Martinelli <i>et al.</i> , 2013)	-La infección de CLas afectó la expresión de factores transcripcionales (TFs) como AP2-EREBP, factores de dominio MYB, dedos de zinc tipo C2H2 y WRKY en hojas inmaduras, sin embargo, ante la aparición de síntomas los TFs CAL1, AGL14, LBD37, ERF23 y ERF26 fueron menos abundantes. -En hojas maduras la infección afectó la transcripción de genes de las familias AP2-EREBP, MYB, bZIP, AS2, ABI3/VP1, y WRKY. -En frutos sintomáticos se sobre expresaron genes asociados a la fotosíntesis, metabolismo de sacarosa y rafinosa, además, de regulación negativa de genes de biosíntesis de almidón. -Los genes asociados con la respuesta de defensa sistémica fueron mayormente afectados en hojas inmaduras.
Limón (<i>C. lemon</i>) ^{MT} . Porta injerto: Pomelo Duncan (<i>C. paradisi</i>) ^S .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación proteómica en hojas. -Plantas enfermas vs sanas. (Nwugo <i>et al.</i> , 2013)	-En plantas de limón infectadas se mostró la acumulación diferencial de 27 proteínas, incluyendo incremento de almidón sintasa y una disminución en proteínas asociadas con fotosíntesis. -La infección de CLas afectó negativamente la expresión de proteínas de respuesta a estrés como chaperonas, homeostasis celular y proteínas de respuesta a patógenos, lectina, quitinasa I y miraculina. Además, regulación negativa de proteínas asociadas con procesos fotosintéticos como RuBisCO y fotosistema I entre otras.
Híbrido US-897 (<i>C. reticulata</i> x <i>P. trifoliata</i>) ^T vs Mandarina Cleopatra (<i>C. reticulata</i>) ^S . Inoculo: <i>C. sinensis</i> ^S .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación transcriptómica en hojas. -Resistente vs susceptible. -Enfermas vs sanas. (Albrecht y Bowman, 2012)	-Sobreexpresión de 326 genes en el genotipo susceptible respecto al híbrido tolerante US-897. -Mayor expresión de reguladores transcripcionales (TF) Myb tipo HH, mayor acumulación de almidón y carencia de expresión de proteínas de la familia Thioredoxina en Cleopatra respecto al híbrido US-897. -En el híbrido US-897 se observó mayor expresión de genes que codifican enzimas relacionadas con la biosíntesis de metabolitos secundarios como 2-oxoglutarato dioxigenasa dependiente de Fe(II), respecto a la mandarina Cleopatra y a los testigos sanos.
Naranja Madam Vinous (<i>C. sinensis</i>) ^S , Pomelo Duncan (<i>C. paradisi</i>) ^S , Carrizo citrange (x <i>Citroncirus webberi</i>) ^T y <i>Poncirus trifoliata</i> ^T .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación metabólica en hojas. -Tolerantes vs susceptibles. (Cevallos-Cevallos <i>et al.</i> , 2012)	-Las variedades susceptibles mostraron mayores niveles de aminoácidos como: L-prolina, L-serina y L-ácido aspártico y de ácidos orgánicos como butanodiólico y tetradecanólico y acumulación de galactosa. -En Pomelo Duncan se encontraron altos niveles de galactosa con respecto a Carrizo y <i>P. trifoliata</i> . -Las variedades tolerantes mostraron mayores niveles de L-glicina y manosa respecto a variedades susceptibles. En pomelo Duncan se observaron cambios significativos en mioinositol en brotes maduros y L-prolina y xilosa en brotes tiernos.
Limón rugoso (<i>Citrus jambhiri</i>) ^T vs Naranja Madam Vinous (<i>C. sinensis</i>) ^S . Infección con: Carrizo citrange (<i>C. sinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>) ^T .	-Plantas en invernadero. -Inoculación mediante injerto. -Evaluación transcriptómica en hojas. Tolerante vs susceptible. (Fan <i>et al.</i> , 2012)	-Expresión diferenciada de genes relacionados con funciones de la pared celular y un grupo de genes codificantes de β -1, 3-Glucanasa en la variedad tolerante. -Mayor expresión de genes en limón rugoso que en naranja en una etapa inicial de infección y menor en una etapa avanzada de infección. -El limón rugoso mostró menores afectaciones al floema que la naranja.

^FClasificación de Folimonova *et al.*, 2009: ^IInconsistente, ^{MT}Moderadamente tolerante, ^{NR}No reportado, ^RResistente, ^SSusceptible, ^TTolerante, ^VVariable.

mento en la expresión de homólogos a PRRs como los receptores de flagelina CiFLS2-1 y CiFL2-2, los cuales se han relacionado con la activación de PTI y la resistencia a bacterias en cítricos (Shi *et al.*, 2017). Otros posibles receptores sobreexpresados en variedades tolerantes incluyen homólogos a RLK como el receptor-S de lectina tipo G, receptor cinasa rico en cisteína, proteína serina/treonina/cinasa y cinasa transmembranal con repetidos ricos en leucina (Hu *et al.*, 2017a; Curtolo *et al.*, 2020a). La expresión de estos genes podría asociarse con el reconocimiento, señalización y activación de genes de respuesta contra CLAs; sin embargo, su papel como receptores queda por ser demostrado de manera experimental.

Homeostasis de estado REDOX: A pesar de la relevancia de las ROS en la defensa y señalización durante los procesos de patogénesis, y de HLB en particular; en variedades susceptibles se observó disminución de compuestos reductores como thio redoxina y de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (Cu/Zn-SOD) y peroxidasas (POD4), componentes fundamentales para disminuir el daño oxidativo provocado por ROS (Hu *et al.*, 2017a); por lo que éstas variedades estarían expuestas al estrés oxidativo disparado por las defensas de la planta ante la infección de CLAs, conduciendo hacia una ETS. En cambio, en variedades tolerantes se ha reportado una mayor expresión de glutatión S-transferasa (Wang *et al.*, 2016), genes de glutarredoxina como GRXC6, GRXC9 y GRXS9 y de peroxidasas (Cu/Zn-SOD y POD4) (Hu *et al.*, 2017a). Además, hay inducción de genes de biosíntesis de 2-oxoglutarato dioxigenasa dependiente de Fe(II); las cuales catalizan numerosas reacciones oxidativas en las células y participan en la biosíntesis (GA y Etileno) y catabolismo (Aux y SA) de fitohormonas así como biosíntesis de metabolitos secundarios; así como de tiorredoxina, proteína del sistema antioxidante Trx (Albrecht y

Bowman, 2012); por lo que estas variedades podrían estar más protegidas contra el daño por estrés oxidativo, así como por el daño que provoca el sistema inmune inducido por las vías de señalización de las ROS.

Genes y Proteínas de resistencia: En genotipos susceptibles los genes homólogos a genes de patogénesis (PR) no muestran grandes cambios ante la presencia de la bacteria. Shi *et al.* (2017) señalan que en toronja Duncan solo se indujo la expresión del homólogo al gen PR1, mientras que tres PR1 se observan inducidos en la toronja Jackson tolerante (Wang *et al.*, 2016). Además, en mandarina Sun Chu Sha, variedad tolerante tratada con Flg22, se observó mayor expresión de NPR2 y NPR3, reguladores de la expresión de PRs (Shi *et al.*, 2017). Los genes de resistencia constitutiva (CDR1) se expresaron en menor medida en las variedades susceptibles de mandarina Cleopatra, con respecto al híbrido US-897 (Albrecht y Bowman, 2012) y *C. sinensis* (Rawat *et al.*, 2017). Por el contrario, en variedades e híbridos tolerantes de *Poncirus*, CDR1, CDR2 y CDR8 mostraron altos niveles de expresión (Rawat *et al.*, 2017; Curtolo *et al.*, 2020a). Además, Shi *et al.* (2017) reportaron que ante el tratamiento con Flg22, plantas de mandarina tolerante mostraron una mayor expresión de los genes asociados a resistencia respecto al Pomelo susceptible, como *EDRI* (incremento de resistencia a enfermedades), *EDSI* (incremento de la susceptibilidad a enfermedades), *NDR1* (resistencia a enfermedades no específica a raza), *PBS1* (cinasa que detecta al efector avrPphB), *RARI* (requerido para resistencia a Mla12), *SGTI* (supresor del alelo G2 de *skp* que promueve la HR).

Factores de transcripción: Las familias WRKY y MYB se han considerado como reguladores fundamentales de la respuesta de defensa de plantas contra patógenos. En variedades susceptibles como *C. sinensis* y *C. reticulata* múltiples TFs de

Cuadro 2. Significado de abreviaciones comúnmente utilizadas en la literatura y en esta revisión.

Abreviación	Significado	Descripción y/o función molecular, bioquímica y/o fisiológica
ABI3/VP1	Factor transcripcional Insensible al ABA 3 (<i>abscisic acid insensitive3</i>) / Viviparous1.	Participa en la regulación transcripcional durante el crecimiento, desarrollo y respuestas al estrés abiótico mediando respuestas al ABA.
AGL14	Factores transcripcionales (<i>Agamous-like</i>).	AGL Genes homeóticos florales tipo MADS-box.
AP2-EREBP	Factores transcripcionales tipo APETALA 2 / proteínas que unen elementos de respuesta al etileno (<i>ethylene-responsive element binding proteins</i>).	Factores transcripcionales de genes que participan diversos procesos en plantas como crecimiento, desarrollo y en la respuesta a estrés.
AS2	Factor transcripcional AS2 (hojas asimétricas).	Participa en la formación de un complejo represores de transcripción de genes KNOX.
Avr2	Efectores de avirulencia 2.	Factor de virulencia que puede inhibir varias Cys proteasas requeridas para la defensa basal de las plantas, incluyendo RCR3. Juega un papel como factor de avirulencia disparando respuestas de inmunidad en plantas que contienen el gen de resistencia I-2.
bZIP	Factor transcripcional con dominio tipo cierre de leucinas (<i>basic leucine zipper</i>).	Participa en la regulación de transcripción de genes de desarrollo, crecimiento, estrés biótico y abiótico en plantas.
C2H2	Proteínas con dedos de zinc C2H2 (2 Cisteínas y 2 histidinas).	Participan en diversos procesos en plantas, incluyendo la regulación transcripcional de genes de resistencia a estrés.
Ca ²⁺	Iones de calcio.	Segundo mensajero en la respuesta inmune de las plantas.
CAL1	Factores transcripcionales (CAULIFLOWER) tipo MADS-box.	CAL Participan en la regulación de la transcripción de genes que se expresan en procesos fisiológicos como la floración.
CC	Hélice superenrollada (<i>Coiled coil</i>).	Dominios de proteínas formados por 2-7 α hélices enroscadas como hilos de una cuerda.
CCAAT-HAP2	Factor de unión CCAAT/ subunidad HAP2.	Factores transcripcionales que participan en diversos procesos durante el desarrollo de las plantas, incluyendo senescencia y respuestas a estrés.
Cf-2	Receptor de tomate homólogo al gen de resistencia de <i>Cladosporium fulvum</i> .	Participa en el reconocimiento de PAMPs e inicia la transducción de señales intracelulares.
CLas	<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> .	Patógeno causal de la enfermedad del HLB, cepa asiática.
Ct	Extremo C terminal.	En los PRRs es un dominio intracelular que participa en la señalización de la percepción de PAMPs hacia el interior de la célula.
Dt	Dominio transmembranal.	Parte de del PRRs que atraviesa la bicapa de la membrana.
EDS1/PAD4	Dímero de la proteína que incrementa la susceptibilidad a enfermedad y su coregulador deficiente a fitoalexina (<i>Enhanced Disease Susceptibility1/ Phytoalexin Deficient 4</i>).	Proteínas tipo lipasa que coadyuvan con receptores LRR activando cascadas de señalización y confieren inmunidad a patógenos.
ERF23, 26	Factor de respuesta a etileno (<i>Ethylene response factors</i>)	Factores transcripcionales que regulan la expresión de genes en respuesta a etileno, incluyendo respuestas al ataque de patógenos.

Cuadro 2. Continúa...

Abreviación	Significado	Descripción y/o función molecular, bioquímica y/o fisiológica
ETI	Inmunidad mediada por efectores (<i>effector-triggered immunity</i>).	Se activa ante la interacción y reconocimiento específico entre productos de genes de avirulencia de patógenos y los correspondientes genes de resistencia de las plantas
Fla	Flagelina.	Proteína principal del flagelo de bacterias, que actúa como PAMP y al ser reconocida por PRRs elicit la respuesta de defensa de las plantas.
GSL5/PMR4	Glucano sintasa <i>like 5</i> (calosa sintasa) / resistente al moho polvoriento 4.	Participa en la síntesis y deposición de calosa.
HLB	Huanglongbing.	Enfermedad de los cítricos causada por bacterias del género <i>Candidatus Liberibacter</i> .
JA	Ácido jasmónico.	Fitohormona que participa en la respuesta de defensa ante insectos como <i>D. citri</i>
JA-Ile	Jasmonil-isoleucina	Conjugado de JA y el aminoácido isoleucina que participa en la vía de señalización de defensa mediada por SA/JA.
JAZ	Dominio ZIM de jasmonato (<i>Jasmonate ZIM-domain</i>).	Dominio de proteínas involucradas diversos procesos de plantas, incluida la respuesta de defensa participando en la señalización de JA.
LBD37	Dominio de proteínas límite de órganos laterales LOB (<i>protein Lateral Organ boundaries</i>).	Familia de factores transcripcionales específicos de plantas que participan en la regulación de genes de desarrollo, respuesta a patógenos y metabolismo de nitrógeno y antocianinas.
LORE	Elicitación reducida específica para lipopolisacáridos. (<i>lipooligosaccharide-specific reduced elicitation</i>).	PRR tipo receptor cinasa de lectina G, que reconoce lipopolisacáridos o PAMPs tipo ácidos grasos 3-OH de cadena mediana de bacterias dando lugar a una respuesta inmune.
LPS	Lipopolisacáridos.	Componente de la membrana de bacterias que participa como factor de virulencia que interactúa con los receptores LORE de la superficie celular.
LRR	Repeticiones ricas en leucina (<i>leucine-rich repeats</i>).	Dominios proteicos con repeticiones ricas en el aminoácido leucina, participan en la interacción proteína-proteína.
LysM-RLK	Receptor tipo RLK con motivos de lisina.	Receptores cinasa con motivos extracelulares que interactúan con MAMPs activando respuestas en plantas que conducen a simbiosis o defensa contra patógenos.
MAMPs/ PAMPs	Patrones moleculares asociados a microorganismos/patógenos (<i>microbe- or pathogen-associated molecular patterns</i>).	Moléculas señal provenientes de bacterias como lipopolisacáridos, flagelina o lipoproteínas detectados por los receptores.
MAPK	Proteínas cinasa activadas por mitógenos (<i>Mitogen-activated protein kinase</i>).	Participan en la transducción de señales en la respuesta inmune de las plantas.
MIC2	Factor transcripcional.	Factor transcripcional bHLH (basic helix-loop-helix) que regula la transcripción de genes que responden a la señal de JA.
MYB	Factores transcripcionales tipo MYB.	En plantas participan en numerosos procesos, incluyendo la regulación de las respuestas a hormonas y a estrés.
NBS	Sitio de unión a nucleótido (<i>Nucleotide-binding site</i>).	El dominio NBS en genes R (NBS-LRR) es responsable de la unión e hidrólisis de ATP para la señalización al detectar patógenos.
NPR1	Gen supresor de patogénesis (<i>Non-expressor of pathogenesis-related genes 1</i>).	Cofactor transcripcional que actúa como regulador maestro de la resistencia sistémica adquirida (SAR) mediada por SA.
Nt	Extremo N terminal.	En los PRRs el Nt es un dominio extracelular que participa en el reconocimiento de PAMPs para iniciar la señalización.

Cuadro 2. Continúa...

Abreviación	Significado	Descripción y/o función molecular, bioquímica y/o fisiológica
PRRs	Receptores de reconocimiento de patógenos (<i>Pattern Recognition Receptors</i>).	Receptores celulares que perciben a moléculas asociadas a patógenos.
PTI	Inmunidad desencadenada por PAMPs (<i>PAMP-triggered immunity</i>).	Activación de genes de defensa ante el reconocimiento de PAMPs y posterior señalización.
PTO	Serina/treonina cinasa que confiere resistencia a <i>Pseudomonas syringae</i> pv tomato.	Gen de resistencia que participa en el reconocimiento de proteínas Avr, transducción de señalización y activación de respuesta de defensa.
RbohD	Proteína D homóloga a oxidasa del <i>burst</i> respiratorio (<i>respiratory burst oxidase homolog protein</i>).	Proteína transmembranal que ante la percepción de PAMPs por los receptores, se fosforila y participa en la producción de ROS.
RRC3	Cisteína-proteasa extracelular de tomate homóloga a las Cys-proteasas similares a papaína.	Proteasa extracelular que actúa como correceptor formando un complejo con el PAMP Avr2 para unirse al receptor Cf-2 y disparar la respuesta de hipersensibilidad HR.
RIN4	Proteína que interactúa con RPM1 (<i>RPM1-interacting protein 4</i>).	Proteína de membrana que interactúa con efectores de patogenicidad y se une a proteínas de resistencia como RPM1 lo que activa la respuesta inmune.
RLK	Receptor similar a cinasa (<i>receptor-like kinases</i>).	Proteínas transmembranales con extremo C-terminal intracelular. Participan en el reconocimiento de PAMPs e inician la transducción de señales fosforilando otras moléculas.
RLP	Receptor similar a proteínas (<i>Receptor-like proteins</i>).	Proteínas transmembranales que carecen de extremo C-terminal intracelular. Participan en el reconocimiento de PAMPs e inician la transducción de señales.
ROS	Especies reactivas a oxígeno (<i>Reactive oxygen species</i>).	Moléculas derivadas del oxígeno molecular altamente oxidantes que participan en la vía de señalización y respuesta inmune.
SA	Ácido salicílico.	Fitohormona que participa en la respuesta de defensa de cítricos ante CLas.
SCF/COI1	SCF/COI1 ubiquitin ligasa.	Complejo mediador de la degradación de JAZ.
7-TM	Receptores transmembranales 7.	Proteínas receptoras con 7 dominios transmembranales que atraviesan la bicapa de la membrana celular y responden a estímulos extracelulares.
Ser/Thr kinasa	Serina/Treonina cinasa.	Enzima que fosforila el hidroxilo (-OH) de la Serina o Treonina. En los receptores RLK es un dominio intracelular con participación en la transducción de señales para la respuesta de defensa de las plantas.
TGAs	Factores transcripcionales tipo bZIP (<i>basic leucine zipper</i>).	Forma un complejo transcripcional con NPR1 para inducir la transcripción de genes de defensa PR1.
TIR	Dominio homólogo a receptores de Toll o interleucina-1 (<i>Toll/Interleukin-1 receptor</i>).	Dominio N-terminal de receptores NBS-LRR, con repeticiones de leucina que interactúan con los efectores de patógenos.
WRKY	Factores transcripcionales tipo WRKY.	Factores transcripcionales que activan o reprimen la transcripción de genes de muchos procesos en plantas, incluidas las respuestas de defensa.

la familia WRKY fueron regulados positivamente ante la infección con CLas, respecto al híbrido US-897 (Albrecht y Bowman, 2012; Fu *et al.*, 2016). Por su parte Curtolo *et al.* (2020a) reportan que alrededor de dos centenas de factores de transcripción son menor o mayormente expresados en variedades susceptibles de cítricos infectados con CLas mientras que, con notoria diferencia, solo cinco o dos son diferencialmente expresados en la tolerante *P. trifoliata* o el híbrido resistente, respectivamente. Esta enorme diferencia en el número de factores transcripcionales afectados sugiere que los procesos metabólicos y de desarrollo están solo siendo afectados en las variedades susceptibles y no en las tolerantes. Además, Curtolo *et al.* (2020a) encontraron que, en las variedades susceptibles, la mayoría de los WRKY que identificaron con cambios fueron reprimidos ante la infección de CLas, aunque son distintos a los reportados por Fu *et al.*, (2016). Mientras que en los híbridos tolerantes de *P. trifoliata*, algunos WRKY fueron inducidos, entre ellos los relacionados con la respuesta de defensa mediada por MAPK. Además, otros TFs fueron reprimidos, particularmente aquellos con dominio SCL (Scarecrow). Los autores sugieren que algunos WRKY podrían estar asociados con los mecanismos de resistencia genética en *P. trifoliata*; sin embargo, su participación en la inducción de las respuestas inmunes y/o en los mecanismos de tolerancia, aún no ha sido demostrada.

Genes de defensa expresados en floema potencialmente asociados a los síntomas de HLB: En la mayoría de los estudios realizados, las variedades susceptibles mostraron obstrucción por calosa asociado al incremento en la expresión de genes relacionados con la síntesis de calosa, así como de proteínas de floema como PP2-B15, las cuales se propone participan junto a la calosa como barrera física que evita la dispersión de CLas, pero también causan alteraciones en el flujo del floema. Así

mismo se indujeron genes codificantes de proteínas cristaloides del floema que participan en la obstrucción de los tubos del tamiz, como *SEOc* y *SEOd* (Curtolo *et al.* 2020a). Además, el metabolismo de carbohidratos es ampliamente afectado en variedades susceptibles con HLB, sobre expresándose genes de la biosíntesis de almidón como los de almidón sintasa (glgA) y enzima ramificante del almidón II, y suprimiéndose genes de enzimas que degradan el almidón como las α - y β -amilasas (Martinelli *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2017b; Curtolo *et al.*, 2020a). Por el contrario, en genotipos tolerantes no se observa bloqueo en el floema inducido por la calosa y los genes de calosa sintasa no se observan sobre expresados en el híbrido de *P. trifoliata* reportado como resistente (Curtolo *et al.* 2020a); aunque sí hay modulación de genes de proteínas de floema. Además, el metabolismo de carbohidratos se altera en menor grado en *P. trifoliata* según Curtolo *et al.* (2020a) y Hu *et al.* (2017b) reportan la expresión de un gen de α amilasa (*AAM*), asociado con la degradación de almidón en la variedad tolerante *C. hystrix*. Los perfiles diferenciales de los genes que afectan el flujo del floema, entre los genotipos susceptibles y tolerantes, sugiere que las variedades tolerantes tienen la capacidad de suprimir la respuesta de defensa ante la infección de CLas, evitando en consecuencia el bloqueo del floema y la acumulación de almidón en cloroplastos, lo que contribuye a que estas variedades no expresen los síntomas foliares.

Fotosíntesis: En plantas susceptibles, y acorde con los síntomas de amarillamiento a nivel foliar, se observa disminución de la expresión de proteínas involucradas en reacciones fotosintéticas como proteína de unión a clorofila a/b del complejo cosechador de luz II, proteína del fotosistema II que contiene el dominio psbP y subunidad O del fotosistema I; mientras que en tolerantes como *H. hystrix* los genes que codifican estas proteínas no fueron

afectados ante la infección de CLas (Albrecht y Bowman, 2012; Hu *et al.*, 2017a; Curtolo; *et al.*, 2020a).

Pared celular: El reforzamiento de la pared celular es una de las respuestas iniciales de defensa de las plantas ante el ataque de patógenos. En variedades susceptibles infectadas con CLas, se observa una regulación negativa de genes relacionados con funciones de la pared celular como los de la biosíntesis de lignina (Curtolo; *et al.*, 2020a), fundamental para la rigidez de la pared celular. Además, se ha reportado una mayor expresión de genes asociados al metabolismo y disrupción pared celular como celulosa sintasa, celulasa, expansinas, pectín esterases y pectin-metiltransferasas (Martinelli *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016; Curtolo *et al.*, 2020a). Estos cambios sugieren que la colonización de CLas podría ser más rápida en variedades susceptibles debido a una pared celular menos rígida. Por el contrario, en variedades tolerantes la ruta de la biosíntesis de lignina y sus precursores es una de la más sobreexpresada, incluyendo genes como la O-metiltransferasa del ácido cafeico, la feruloil orto-hidroxilasa, la hidroxicinamoil transferasa, y el precursor de lacasa (Curtolo *et al.*, 2020a), el cual está involucrado en la degradación de lignina y fue altamente inducido en *P. trifoliata*, mientras que un gen involucrado en la degradación de pectina mostró expresión disminuida. También se reportó una mayor expresión una β -1,3-Glucanasa (Chin *et al.*, 2021) y de proteínas similares a celulosa sintasa (CSLA2 y CSLA9) (Hu *et al.*, 2017a). Con todo ello, se sugiere que los cambios asociados a la estructura de la pared celular en variedades tolerantes podrían contribuir al reforzamiento de barreras físicas para restringir la invasión de CLas (Hu *et al.*, 2017a). Otros genes y metabolitos de defensa: En híbridos considerados como resistentes a CLas por Curtolo *et al.* (2020a), se expresó diferencialmente el gen de la endoquitinasa B. Las endoquitinasas

desempeñan un papel importante como bactericidas y algunas tienen la habilidad de romper cadenas de peptidoglicano, conduciendo a la lisis de células bacterianas (De Medeiros *et al.*, 2018). Este híbrido muestra muy pocos cambios transcriptómicos al ser infectado con CLas, comparativamente con la variedad parental y otros híbridos tolerantes. Los autores proponen que el gen de la endoquitinasa juega el papel de gen de resistencia en este genotipo. Además, en el parental tolerante *P. trifoliata* la transcripción de muchos genes involucrados en la ruta de biosíntesis de fenilpropanoides se mostraron afectados, a diferencia de lo observado en las variedades susceptibles (Curtolo *et al.*, 2020a). La fenilamina amonio liasa (PAL) participa en la biosíntesis de moléculas importantes para la defensa de las plantas como los fenilpropanoides, la lignina y el SA, por lo que se ha propuesto que participa en la resistencia a enfermedades mediante la producción de compuestos antimicrobianos y moléculas de señalización. Sin embargo, en la variedad susceptible *C. sinensis* infectada con CLas los niveles de PAL también se incrementaron, por encima de los niveles detectados en variedades medianamente tolerantes como *C. aurantifolia* y *C. latifolia* (Torres *et al.*, 2017). Además, en variedades e híbridos susceptibles Curtolo *et al.* (2020a) observaron la inducción de homólogos a proteínas transportadoras de lípidos, las cuáles podrían inhibir el crecimiento de patógenos. El timol es un metabolito reconocido por sus propiedades antimicrobianas (Kachur y Suntres, 2020). Killiny *et al.* (2017) reportaron que la Mandarina tolerante Sugar belle mostró una mayor concentración de timol y sus precursores γ -terpineno y p-cimeno, comparado con variedades susceptibles como toronja Duncan, tanjerina Dancy, tangelo Minneola y mandarina Clementina. Las proteínas de choque térmico (*Heat shock protein* HSP) participan en la respuesta de defensa de las plantas a estrés biótico y abiótico protegiendo

a otras proteínas de desnaturalización y regulando su plegamiento, localización, aglomeración y degradación bajo condiciones de estrés (Balfagón *et al.*, 2018). En el híbrido tolerante US-897 se ha reportado una expresión diferenciada de HSP70 y HSP20 respecto a la mandarina Cleopatra susceptible, aunque con valores de expresión similares entre plantas sanas y enfermas de cada cultivar (Albrecht y Bowman, 2012).

Fitohormonas: En cítricos susceptibles infectados con CLas se ha reportado que en hojas se incrementan los niveles endógenos de fitohormonas cuya participación como señales de defensa es bien conocida, como salicilatos (SAs) y jasmonatos (JAs), además de ácido abscísico (ABA) y auxinas (AUX), así como sus genes de biosíntesis; mientras que en frutos enfermos se han observado niveles más bajos de etileno (ET) respecto a frutos sanos (Rosales y Burns, 2011; Nehela *et al.*, 2018). La señalización disparada por las fitohormonas durante procesos de defensa puede activar o reprimir factores transcripcionales que regulan la transcripción de genes de inmunidad.

Respecto a SAs, Nehela *et al.* (2018) reportaron abundancia de ácido benzoico, ácido trans-cinámico y ácido salicílico en cítricos susceptibles, sin embargo, no existen otros reportes sobre la expresión de SAs en cítricos tolerantes con HLB. Además, se ha observado la regulación negativa de la salicilato-carboxil metiltransferasa (SAMT) que produce el Me-SA (Zou *et al.*, 2012) y de UDP-Glicosiltransferasa que modula los niveles y distribución de moléculas de señalización endógenas (Albrecht y Bowman, 2012). En plantas tolerantes como la mandarina Sun Chu Sha, Shi *et al.* (2017) reportaron que la infección con CLas induce genes relacionados con el metabolismo de SA como PAL1 y AZI1 (metabolito móvil requerido para la SAR, inducido por ácido azelaico y asociado a la acumulación de SA ante infecciones). Sin embargo,

Curtolo *et al.* (2020a) no encontraron cambios importantes en la transcripción de genes relacionados con la biosíntesis de SA en genotipos tolerantes. Suh *et al.* (2021) reportaron que las vías metabólicas de biosíntesis de hormonas se incrementaron, excepto el SA que fue regulado negativamente en plantas tolerantes. Los autores sugieren que la reducción de SA podría estar asociada con la estrategia de defensa en estos cultivares, evitando la respuesta inmune que genera síntomas.

Respecto a jasmonatos, Yao *et al.* (2020) encontraron una regulación negativa de genes de biosíntesis y señalización de ácido jasmónico JA en frutos sintomáticos de naranja Valencia, como la aleno-óxido ciclasa 3 y 4 (AOC3 y AOC4). En hojas infectadas de variedades susceptibles Curtolo *et al.* (2020a) no encontraron grandes cambios en transcritos relacionados con jasmonatos.

Respecto a las GAs, en genotipos susceptibles Curtolo *et al.* (2020a) reportan inducción de genes de biosíntesis y disminución de transcripción de proteínas que participan en su degradación. Lo opuesto se observó en el genotipo tolerante *P. trifoliata*, donde disminuyen los genes de biosíntesis y se sobre expresan genes clave para la degradación de GAs. El gen *inducido por giberelinas* es uno de los más afectados negativamente. Las GAs son consideradas moduladores de la señalización del SA durante la respuesta a patógenos. Los autores proponen que las GAs juegan un papel relevante en la interacción CLas-cítricos afectando la fisiología de las plantas y el desarrollo de los síntomas. Sin embargo, estos resultados transcripcionales difieren de la propuesta de Ma *et al.* (2022) sobre tratar árboles enfermos susceptibles con GAs para aliviar el daño oxidativo por ROS, así como para manipular la floración y caída prematura de fruta (Tang *et al.*, 2021), por lo que se requieren pruebas en campo respecto a la participación y efecto de las GAs sobre el desarrollo de los síntomas.

La infección por CLas provoca alteraciones en la señalización mediada por AUX en variedades susceptibles, como la regulación negativa de los genes SAUR72 (ARN pequeño regulado positivamente por auxina) y IAA1 (proteína responsiva a ácido indolacético que reprime la función de ARFs, factores transcripcionales que responden a AUX), así como de reguladores negativos de la síntesis de auxinas, lo cual podría ocasionar mayor expresión de expansina y rupturas de la pared celular (Hu *et al.*, 2017b). Curtolo *et al.* (2020a) reportan que muchos genes relacionados a auxinas y etileno fueron diferencialmente expresados en cítricos susceptibles; incluida la sobreexpresión de genes inducidos por auxinas y la disminución de factores responsivos a auxinas; mientras que ambas vías no se afectan en la tolerante *P. trifoliata*. Sin embargo, Wang *et al.* (2016) reportaron una regulación negativa de genes similares a *DMR6* (gen de resistencia al mildew 6) en la tolerante toronja Jackson, el cual participa en la biosíntesis de etileno y ha sido catalogado como supresor de inmunidad en *Arabidopsis*; además de mayor expresión de genes de respuesta a auxinas (SAUR), lo que podría contribuir a una menor expresión de expansina. También, se observó la regulación positiva del factor transcripcional de respuesta a etileno y proteína 1 de la caja F con unión a EIN3 (Wang *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2017b).

La melatonina (MEL) también puede tener un papel importante como mediadora de la respuesta de defensa ante la infección de CLas, mediante la modulación de la biosíntesis de otras fitohormonas. Se ha reportado una mayor concentración de MEL en variedades tolerantes (Nehela y Killiny, 2020a). Adicionalmente, la aplicación exógena de MEL mejoró el contenido endógeno de las fitohormonas asociadas con la respuesta al estrés (salicilatos, auxinas, ácido trans-jasmónico y ácido abscísico), por lo que concluyeron que la MEL es mediadora de la respuesta defensiva de plantas contra el HLB (Nehela y Killiny, 2020a).

Carbohidratos simples, aminoácidos y ácidos orgánicos: El metabolismo de carbohidratos es afectado en mayor medida en variedades susceptibles a CLas, principalmente en estados iniciales de infección. Hu *et al.* (2017b) reportaron que en *C. sinensis* se induce la transcripción de genes biosintéticos de almidón como glicógeno sintasa (*glgA*), y disminuye la expresión de genes involucrados en su degradación. Por el contrario, estos genes no sufrieron cambios significativos ante la infección de CLas en *C. hystrix*, genotipo tolerante. Killiny (2017) reportó que las variedades tolerantes mostraron mayor concentración de α -D-galactopiranosas, α -D-manopiranosas, maltosa y disacáridos, mientras que los ácidos orgánicos se encontraron en mayor medida en variedades susceptibles. Albrecht *et al.* (2016) reportaron incremento de ácido sacárico, ácido pirrol-2-carboxílico y ácido maleico en variedades susceptibles; mientras que Cevallos-Cevallos *et al.* (2012) observaron incremento en los niveles del ácido butanodioico o succínico. Por otra parte, en variedades susceptibles infectadas con CLas se reportó incremento en la concentración de aminoácidos como lisina, tirosina y glicina en mandarina Cleopatra (Albrecht *et al.*, 2016); o prolina, serina y ácido aspártico en naranja Madam Vinous (Cevallos-Cevallos *et al.*, 2012). Las variedades tolerantes también expresaron mayor cantidad de aminoácidos como fenilamina, tirosina, triptófano, valina, leucina, histidina, lisina, cisteína, metionina, serina y glutamato (Killiny e Hijaz, 2016), glicina y manosa (Cevallos-Cevallos *et al.*, 2012); mientras que Suh *et al.* (2021) reportaron que las vías del metabolismo de glutamato y aspartato se regularon positivamente.

Transportadores: Según Curtolo *et al.*, (2020a), los genes relacionados al transporte de carbohidratos, aminoácidos e iones es una de las funciones biológicas más afectadas por CLas en variedades susceptibles, respecto a las tolerantes; entre ellos, los genes de transportadores de zinc.

En resumen, la observación general a partir de la comparación de resultados reportados en los diversos trabajos ómicos, es que relativamente pocas rutas y funciones cambian su expresión en las plantas tolerantes, mientras que muchas son afectadas en plantas susceptibles; tanto a nivel transcriptómico, como proteómico y metabolómico. En algunas variedades tolerantes de cítricos, podría existir un sistema de reconocimiento específico de CLas y de detoxificación más eficiente, que evite el daño por ROS y la inducción del sistema inmune ante la infección. Además, parecen incrementar el metabolismo productor de energía, favoreciendo el crecimiento continuo y la regeneración de floema (Deng *et al.*, 2019). La señalización vía fitohormonas parece ser distinta a lo que ocurre en las variedades susceptibles, podría estar mediada por jasmonatos y por la supresión de la señalización de auxinas y degradación de giberelinas, conduciendo a una respuesta de defensa rápida y eficiente a través de la síntesis de fenilpropanoides, endoquitinasas y el fortalecimiento de la pared celular; además de prevenir los eventos que conducen a la disfunción del floema y síntomas derivados (Curto *et al.* (2020a). Alternativamente, las variedades tolerantes podrían no responder a la presencia de CLas; o bien, suprimir la respuesta inmune; estableciendo una convivencia con la bacteria en la que la planta no reprograma su expresión génica ni altera sus perfiles proteómicos y metabólicos evitando dañarse a sí misma durante el proceso de defensa, lo que estaría acorde con la propuesta de Ma *et al.* (2022) respecto a que HLB es una enfermedad ocasionada por el sistema inmune de la planta. En ese sentido, da Graça *et al.* (2016) propuso que en las variedades e híbridos tolerantes la respuesta inmune elicitada por los posibles factores de virulencia de CLas es una “potencial ETI”, ya que que no existe suficiente evidencia de que estas variedades desplieguen una ETI.

Relación de los cambios metabólicos y hormonales con los síntomas de HLB. Ante la infección por CLas, los árboles infectados de las especies susceptibles responden con un amplio rango de procesos fisiológicos, lo que resulta en la aparición de síntomas característicos asociados al aumento de la concentración bacteriana. En la Figura 4 se resume cómo el desequilibrio y señalización de las fitohormonas, la alteración de metabolitos como carbohidratos, pigmentos, poliaminas o moléculas de señalización como el ácido gama aminobutírico (GABA) y ROS (H_2O_2), podrían estar relacionados con el desarrollo de los síntomas fisiológicos o de desarrollo asociados al HLB, como la floración temprana, deformidades de hojas y frutos, o el aborto de semillas (Kim *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2013). Lo anterior coincide con Rosales y Burns (2011), quienes reportaron que la presencia de ABA fue cuatro veces más alta en cáscara de frutos de *C. sinensis* con HLB, y el contenido de ácido indolacético (IAA) fue significativamente mayor en las zonas deformes de la cáscara.

La caída prematura de frutos es también un síntoma comúnmente asociado al HLB. Zhao *et al.* (2019) encontraron que está relacionado con la señalización hormonal, la respuesta de defensa y el metabolismo secundario. Reportan la expresión de genes relacionados con la síntesis y señalización de etileno, así como de ácido jasmónico; además, los niveles de etileno y ácido jasmónico fueron significativamente más altos, mientras que el ácido abscísico fue significativamente más bajo en frutos caídos provenientes de árboles enfermos respecto a frutos provenientes de árboles sanos. Al respecto, Nehela y Killiny (2020b) señalan que la caída prematura de fruta podría estar relacionada con una alteración en la homeostasis del metabolismo en las zonas de abscisión (AZ) del fruto, lo que se relaciona con una limitada disponibilidad de carbohidratos y con la regulación de los procesos de división celular (Figura 4).

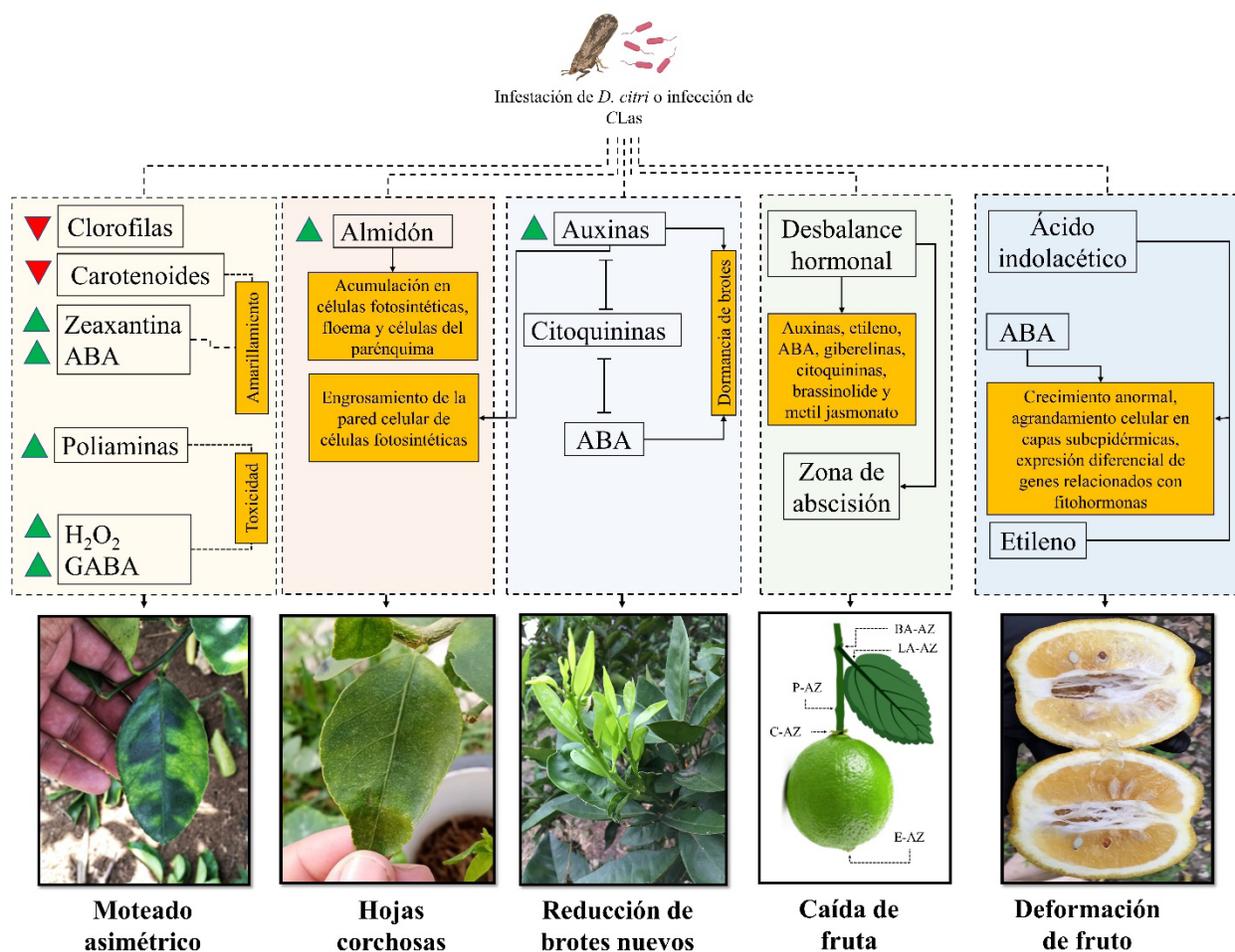


Figura 4. Desbalances metabólicos y de fitohormonas en cítricos ante la infección con CLas o infestación con *D. citri* y su posible relación con los síntomas característicos, como moteado asimétrico, hojas corchosas, reducción de brotes, caída prematura y deformación de fruto. Adaptado de Nehela y Killiny (2020a). BA-AZ= Zona de abscisión basal, LA-AZ= Zona abscisión laminar, P-AZ= Zona abscisión del pedúnculo, C-AZ= Zona abscisión del cáliz, E-AZ= Zona abscisión del estilo, ABA= ácido abscísico, H_2O_2 = Peróxido de hidrógeno, GABA= Ácido gama aminobutírico.

La reducción de brotes en estados avanzados de la enfermedad también se ha asociado a un desbalance hormonal, particularmente de la relación auxinas/citoquininas, así como a un incremento en los niveles de ácido abscísico. El moteado asimétrico está asociado con un incremento en la acumulación de zeaxantina y una disminución de pigmentos como clorofila a y carotenoides (Killiny y Nehela, 2017b). Además, ante la infección con CLas se induce la producción de poliaminas, lo cual se rela-

ciona con la acumulación de H_2O_2 y ácido abscísico en hojas. CLas logra sobrevivir a la toxicidad del H_2O_2 , sin embargo, la acumulación de altas cantidades de H_2O_2 resulta eventualmente tóxico para el tejido de hojas y ocasiona el moteado asimétrico (Pitino *et al.*, 2017; Killiny y Nehela, 2020).

Por otra parte, la acumulación de almidón en células fotosintéticas, tubos cribosos del floema y células del parénquima en hojas del peciolo se relaciona con el síntoma de hojas corchosas (Whitaker

et al., 2014). Nehela y Killiny (2020b) revisaron la participación de diversos metabolitos de cítricos en el desarrollo de los síntomas del HLB. Los autores señalan que los metabolitos juegan un papel vital en el desarrollo de síntomas del HLB en cítricos mediante la modulación del metabolismo de carbohidratos, homeostasis de fitohormonas, vías antioxidantes o interacción con otras vías metabólicas donde participan aminoácidos, pigmentos de hojas y poliaminas (Figura 4).

Con todo lo anterior, se evidencia que la aplicación exógena de hormonas en campo podría ser una alternativa viable para corregir los desequilibrios fitohormonales y metabólicos de las plantas enfermas, además de potenciar las vías de defensa sistémica (Nehela y Killiny, 2020a; Tang *et al.*, 2021; Ma *et al.*, 2022). Para ello, es necesario realizar ensayos bajo condiciones controladas, con las diversas variedades, que permitan comprender a fondo la participación de las fitohormonas y determinar el manejo apropiado para la contención del desarrollo de la enfermedad.

Perspectivas futuras. El estudio de la interacción entre CLas y las diferentes especies de cítricos con mayor o menor grado de susceptibilidad al HLB a través de herramientas ómicas, han permitido comprender algunos de los recursos genéticos y bioquímicos que utilizan, por un lado el patógeno para mejorar su aptitud en la colonización de las plantas, y por el otro lado las plantas infectadas para mantener la homeostasis celular. En la relación CLas-cítricos se establece una compleja red de señalización inducidas por potenciales efectores de la bacteria, que provocan cambios cuantiosos como respuestas de defensa en las plantas, incluyendo desbalances metabólicos de aminoácidos, ácidos orgánicos, fitohormonas, poliaminas y metabolitos secundarios; así como la participación de factores transcripcionales, proteínas regulatorias y

de defensa; los cuáles, en conjunto, determinan la capacidad de tolerancia o susceptibilidad de los cítricos ante la infección.

Comprender a fondo la etiología de la enfermedad y los mecanismos de susceptibilidad *versus* tolerancia, clarifica opciones para el diseño de estrategias de manejo del HLB en campo con aplicación de micronutrientes, antioxidantes, fitohormonas, elicitores y reguladores de la respuesta inmune o promotores de crecimiento que prolonguen la vida productiva de los árboles infectados; así como para desarrollar variedades genéticamente mejoradas por vía convencional, molecular o por edición génica, que sobre expresen receptores u otros genes de resistencia para confieran respuesta sistémica que prevenga la infección, genes que modulen la respuesta inmune de las plantas, que mitiguen el efecto de las ROS, o controlen al patógeno como péptidos antimicrobianos. Las diversas estrategias a implementar deberán ser adaptadas a las diferentes especies y variedades de cítricos, así como a las diversas regiones citrícolas.

Aunque se ha progresado en la comprensión de la compleja relación patógeno-hospedero del patosistema HLB, la capacidad destructiva de la enfermedad maximiza la necesidad de investigación aplicada a la comprensión no solo de los factores moleculares, metabólicos y genéticos asociados a la enfermedad del Huanglongbing, sino también del impacto de la asociación con otras enfermedades como el VTC, y el efecto del ambiente y de aspectos socioculturales en el manejo del HLB; ya que la percepción de los productores sobre la enfermedad y las estrategias de manejo, así como su conocimiento sobre la plaga o del buen uso y manejo de plaguicidas, influye en la efectividad de los agentes utilizados para el control de *D. citri* (Pérez-Zarate *et al.*, 2016; Hernández-Landa *et al.*, 2017; Pérez-Zarate *et al.*, 2020). Así, el desarrollo y la adopción de alternativas de manejo en el campo

Mexicano, incluyendo tecnologías novedosas y manejos sustentables, requiere que el conocimiento de frontera sea transferido de forma eficiente, rápida y accesible a productores y técnicos de las dependencias de gobierno especializadas, para reforzar la primera línea de batalla en el manejo del Huanglongbing en México y generar políticas que permitan la adopción de las tecnologías venideras.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONA-CyT) por la beca de doctorado otorgada al primer autor.

LITERATURA CITADA

- Albert I, Hua C, Nürnberger T, Pruitt RN and Zhang L. 2020. Surface sensor systems in plant immunity. *Plant Physiology* 182: 1582-1596. <https://doi.org/10.1104/pp.19.0Albrecht>
- Albrecht U and Bowman KD. 2012. Transcriptional response of susceptible and tolerant citrus to infection with *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Plant Science* 185-186: 118-130. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.09.008>
- Albrecht U, Fiehn O and Bowman KD. 2016. Metabolic variations in different citrus rootstock cultivars associated with different responses to Huanglongbing. *Plant Physiology and Biochemistry* 107: 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.030>
- Alder MN, Rogozin IB, Iyer LM, Glazko GV, Cooper MD and Pancer Z. 2005. Diversity and Function of Adaptive Immune Receptors in a Jawless Vertebrate. *Science* 310, 1970-1973. <https://doi.org/10.1126/science.1119420>
- Álvarez S, Rohrig E, Solís D and Thomas MH. 2016. Citrus greening disease (Huanglongbing) in Florida: economic impact, management and the potential for biological control. *Agricultural Research* 5: 109-118. <https://link.springer.com/article/10.1007/s40003-016-0204-z>
- Ammar ED, Ramos EJ, Hall GD, Dawson OW and Shatters RG, Jr. 2016. Acquisition, replication and inoculation of *Candidatus Liberibacter asiaticus* following various acquisition periods on huanglongbing-infected citrus by nymphs and adults of the asian citrus psyllid. *PLOS ONE* 11: e0159594. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159594>
- Achor DS, Welker S, Ben-Mahmoud S, Wang C, Folimonova SY, Dutt M, Gowda S and Levy A. 2020. Dynamics of *Candidatus Liberibacter asiaticus* movement and sieve-pore plugging in citrus sink cells. *Plant Physiology* 182(2): 882-891. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01391>
- Andrade OM, Pang Z, Achor SD, Wang H, Yao T, Singer HB and Wang N. 2020. The flagella of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' and its movement in planta. *Molecular Plant Pathology* 21: 109-123. <https://doi.org/10.1111/mpp.12884>
- Aritua V, Achor D, Gmitter GF, Albrigo G and Wang N. 2013. Transcriptional and microscopic analyses of citrus stem and root responses to *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection. *PLOS ONE* 8: e73742. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073742>
- Atta AA, Morgan KT, Kadyampakeni DM and Mahmoud KA. 2021. The effect of foliar and ground-applied essential nutrients on huanglongbing-affected mature citrus trees. *Plants* 10: 925. <https://doi.org/10.3390/plants10050925>
- Balfagón D, Zandalinas SI, Balño P, Muriach M and Gómez-Cadenas A. 2018. Involvement of ascorbate peroxidase and heat shock proteins on citrus tolerance to combined conditions of drought and high temperatures. *Plant Physiology and Biochemistry* 127: 194-199. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.03.029>
- Bagio TZ, Canteri MG and Leite-Júnior RP. 2020. Revisiting seed transmission of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in different citrus species and hybrids. *Tropical Plant Pathology* 45: 334-341. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00348-7>
- Bart PHJT, Nürnberger T and Matthieu HAJJ. 2011. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. *The Plant Cell* 23(1): 4-15. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.082602>
- Bassanezi RB, Montesino LH and Stuchi ES. 2009. Effects of huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 125:565. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9506-3>
- Boina DR and Bloomquist JR. 2015. Chemical control of the asian citrus psyllid and of huanglongbing disease in citrus. *Pest Management Science* 71: 808-823. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25491482/>
- Bové JM. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88: 7-37. <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v88i1.828>
- Bové JM. 2012. Huanglongbing and the future of citrus in Sao Paulo, State, Brazil. *Journal of Plant Pathology* 94: 465-467. <http://www.sipav.org/main/jpp/index.php/jpp/article/view/2629/1305>
- Cen Y, Zhang L, Xia Y, Guo J, Deng X, Zhou W, Sequeira R, Gao J, Wang Z, Yue J and Gao Y. 2012. Detection of '*Candidatus Liberibacter Asiaticus*' in *Cacopsylla (Psylla) citrisuga* (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomologist* 95: 304-311. <https://doi.org/10.1653/024.095.0210>
- Cevallos-Cevallos JM, Futch DB, Shilts T, Folimonova SY and Reyes-De-Corcuera JI. 2012. GC-MS metabolomic differentiation of selected citrus varieties with different sensitivity to citrus huanglongbing. *Plant Physiology and Biochemistry* 53: 69-76. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.01.010>
- Chin EL, Mishchuk DO, Breksa AP and Slupsky CM. 2014. Metabolite signature of *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection in two citrus varieties. *Journal of agricultural and food chemistry* 62: 6585-6591. <https://doi.org/10.1021/jf5017434>
- Chin EL, Ramsey J, Saha S, Mishchuk D, Chavez J, Howe K, Zhong X, Flores-Gonzalez M, Mitrovic E, Polek M, Go-

- dfrey K, Mueller LA, Bruce J, Heck M and Slupsky CM. 2021. Multi-omics comparison reveals landscape of *Citrus limon* and *Citrus sinensis* response to ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*.’ *PhytoFrontiers*™ 1: 76–84. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-09-20-0018-R>
- Clark K, Franco JY, Schwizer S, Pang Z, Hawara E, Liebrand TWH, Pagliaccia D, Zeng L, Gurung FB, Wang P, Shi J, Wang Y, Ancona V, van der Hoorn RAL, Wang N, Coaker G and Ma W. 2018. An effector from the Huanglongbing-associated pathogen targets citrus proteases. *Nature Communications* 9: 1718. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04140-9>
- Cong Q, Kinch LN, Kim B-H and Grishin NV. 2012. Predictive sequence analysis of the *Candidatus Liberibacter asiaticus* proteome. *Plos One* 7: e41071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041071>
- Coyle JF, Lorca GL and Gonzalez CF. 2018. Understanding the physiology of *Liberibacter asiaticus*: an overview of the demonstrated molecular mechanisms. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 28: 116-127. <https://doi.org/10.1159/000492386>
- Curtolo M, de Souza Pacheco I, Boava LP, Takita, MA, Granato LM, Galdeano DM, de Souza AA, Cristofani-Yaly M and Machado MA. 2020a. Wide-ranging transcriptomic analysis of *Poncirus trifoliata*, *Citrus sunki*, *Citrus sinensis* and contrasting hybrids reveals HLB tolerance mechanisms. *Scientific Reports* 10: 20865. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77840-2>
- Curtolo M, Granato LM, Soratto TAT, Curtolo M, Gazaffi R, Takita MA, Cristofani-Yaly M and Machado MA. 2020b. Expression quantitative trait loci (eQTL) mapping for callose synthases in intergeneric hybrids of *Citrus* challenged with the bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Genetics and Molecular Biology* 43: e201990133 <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0133>
- da Graça JV, Douhan GW, Halbert SE, Keremane ML, Lee RF, Vidalakis G and Zhao H. 2016. Huanglongbing: an overview of a complex pathosystem ravaging the world’s citrus. *Journal of Integrative Plant Biology* 58: 373-387. <https://doi.org/10.1111/jipb.12437>
- Dalio RJD, Magalhães DM, Rodrigues CM, Arena GD, Oliveira TS, Souza-Neto RR, Picchi SC, Martins PMM, Santos PJC, Maximo HJ, Pacheco IS, De Souza AA and Machado MA. 2017. PAMPs, PRRs, effectors and R-genes associated with citrus–pathogen interactions. *Annals of Botany* 119: 749-774. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw238>
- De Medeiros SC, Oteiro-Júnior JE, Passos Sales GW, rangeiro TB and Pinto Nogueira NA. 2018. Chitinases as Antibacterial Proteins: A Systematic Review. *Journal of Young Pharmacists* 10: 144–148. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.33>
- Deng H, Achor D, Exteberria E, Yu Q, Du D, Stanton D, Liang G and Gmitter FG. 2019. Phloem regeneration is a mechanism for Huanglongbing-tolerance of “Bearss” Lemon and “LB8-9” Sugar Belle® Mandarin. *Frontiers in Plant Science* 10: 1-13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00277>
- Dik AJ and Albajes R. 1999. Principles of epidemiology, population biology, damage relationships and integrated control of diseases and pests. Pp: 69-81. *In*: Albajes R, Lodovica-Gullino M, van Lenteren JC and Elad Y (Eds.). *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops, Developments in Plant Pathology*. Springer Netherlands, Dordrecht. 545p. https://doi.org/10.1007/0-306-47585-5_6
- Dodds PN and Rathjen, JP. 2010. Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* 11: 539–548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>
- Duan Y, Zhou L, Hall DG, Li W, Doddapaneni H, Lin H, Liu L, Vahling CM, Gabriel DW, Williams KP, Dickerman A, Sun Y and Gottwald T. 2009. Complete genome sequence of citrus Huanglongbing bacterium, ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ obtained through metagenomics. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22: 1011-1020. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-8-1011>
- Durrant WE and Dong X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42: 185–209. [10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421](https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421)
- Dutt M, Barthe G, Irely M and Grosser J. 2015. Transgenic citrus expressing an *Arabidopsis* NPR1 gene exhibit enhanced resistance against Huanglongbing (HLB; citrus greening). *PLoS ONE* 10: e0137134. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137134>
- Esquivel-Chávez F, Valdovinos-Ponce G, Mora-Aguilera G, Gómez-Jaimes R, Velázquez-Monreal JJ, Manzanilla-Ramírez MÁ, Flores-Sánchez JL y López-Arroyo JI. 2012. Análisis histológico foliar de cítricos agrios y naranja dulce con síntomas ocasionados por *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Agrociencia* 46: 769–782. <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/992/992>
- Fan J, Chen C, Yu Q, Khalaf A, Achor DS, Brlansky RH, Moore GA, Li Z-G and Gmitter FG. 2012. Comparative transcriptional and anatomical analyses of tolerant rough lemon and susceptible sweet orange in response to “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25:1396-1407. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-12-0150-R>
- Farnsworth D, Grogan KA, van Bruggen AHC and Moss CB. 2014. The potential economic cost and response to greening in Florida citrus. *Choices: The Magazine of Food, Farm, and Resource Issues* 29. https://www.choicesmagazine.org/UserFiles/file/cmsarticle_393.pdf (consulta, febrero 2022)
- Fleites LA, Jain M, Zhang S and Gabriel DW. 2014. “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” prophage late genes may limit host range and culturability. *Applied and Environmental Microbiology* 80: 6023-6030. <https://doi.org/10.1128/AEM.01958-14>
- Flor HH. 1971. Current Status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9: 275-296. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.001423>

- Flores-de la Rosa FR, Santillán-Mendoza R, Rodríguez-Quibrera CG, Martínez-Ruiz A, Adame-García J and Luna-Rodríguez M. 2021. Antioxidant gene expression, chlorophyll, and starch content in Persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka Ex Q. Jiménez) trees with HLB by application of elicitors of plant resistance. Mexican Journal of Biotechnology 6: 86–102. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2021.6.2.86>
- Flores-Sánchez JL, Mora-Aguilera G, Loeza-Kuk E, López-Arroyo JI, Domínguez-Monge S, Acevedo-Sánchez G and Robles-García P. 2015. Pérdidas en producción inducidas por *Candidatus* Liberibacter asiaticus en limón persa, en Yucatán México. Revista Mexicana de Fitopatología 33: 195-210. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61242145005>
- Flores-Sánchez JL, Mora-Aguilera G, Loeza-Kuk E, López-Arroyo JI, Gutiérrez-Espinosa MA, Velázquez-Monreal JJ, Domínguez-Monge S, Bassanezi RB, Acevedo-Sánchez G and Robles-García P. 2017. Diffusion model for describing the regional spread of Huanglongbing from first-reported outbreaks and basing an area wide disease management strategy. Plant Disease 101: 1119–1127. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-16-0418-RE>
- Folimonova SY and Achor DS. 2010. Early events of citrus greening (Huanglongbing) disease development at the ultrastructural level. Phytopathology 100: 949–958. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-9-0949>
- Folimonova SY, Robertson CJ, Garnsey SM, Gowda S and Dawson WO. 2009. Examination of the responses of different genotypes of citrus to huanglongbing (citrus greening) under different conditions. Phytopathology 99: 1346-1354. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-12-1346>
- Francl LJ. 2001. The Disease Triangle: A plant pathological paradigm revisited. Plant Heal. Instr. DOI: 10.1094/PHIT-2001-0517-01
- Fu S, Shao J, Zhou C and Hartung JS. 2016. Transcriptome analysis of sweet orange trees infected with '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' and two strains of Citrus tristeza virus. BMC Genomics 17: 349. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2663-9>
- Fu ZQ and Dong X. 2013. Systemic acquired resistance: Turning local infection into global defense. Annual Review of Plant Biology 64: 839–863. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606>
- Ghanim M, Achor D, Ghosh S, Kontsedalov S, Lebedev G and Levy A. 2017. *Candidatus* Liberibacter asiaticus accumulates inside endoplasmic reticulum associated vacuoles in the gut cells of *Diaphorina citri*. Scientific Reports 7: 16945. [10.1038/s41598-017-16095-w](https://doi.org/10.1038/s41598-017-16095-w)
- Gottwald TR. 2010. Current epidemiological understanding of citrus huanglongbing. Annual Review of Phytopathology 48:119-139. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114418>
- Granados-Ramírez RG and Hernández-Hernández R. 2018. Reconversión de cultivos como resultado de la presencia del huanglongbing en Colima, México. Revista Geográfica de América Central 3: 413-431. <https://doi.org/10.15359/rgac.61-3.21>
- Granato LM, Galdeano DM, D'Alessandre NDR, Breton MC and Machado MA. 2019. Callose synthase family genes plays an important role in the *Citrus* defense response to *Candidatus* Liberibacter asiaticus. European Journal of Plant Pathology 155: 25–38. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01747-6>
- Guidetti-Gonzalez S and Carrer H. 2007. Putative resistance genes in the CitEST database. Genetics and Molecular Biology 30: 931–942. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000500021>
- Ha PT, He R, Killiny N, Brown JK, Omsland A, Gang DR and Beyenal H. 2019. Host-free biofilm culture of "*Candidatus* Liberibacter asiaticus," the bacterium associated with huanglongbing. Biofilm 1: 100005. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2019.100005>
- Hall DG, Richardson ML, Ammar E-D and Halbert SE. 2013. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus Huanglongbing disease. Entomologia Experimentalis et Applicata 146: 207–223. <https://doi.org/10.1111/eea.12025>
- Hao G, Boyle M, Zhou L and Duan Y. 2013. The intracellular citrus huanglongbing bacterium, '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' encodes two novel autotransporters. Plos One 8: e68921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068921>
- He P, Shan L and Sheen J. 2007. Elicitation and suppression of microbe-associated molecular pattern-triggered immunity in plant–microbe interactions. Cellular Microbiology 9: 1385–1396. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.00944.x>
- Hernández-Hernández R, Granados-Ramírez RG, Mora-Aguilera G, Aguirre-Gómez R and León-García I. 2019. Reconversión de cultivos como resultado de la presencia de Huanglongbing en Colima, México. Acta Universitaria 29: e1921. <http://doi.org/10.15174.au.2019.1921>
- Hernández-Landa L, López-Collado J, Nava-Tablada ME, García-García CG and Osorio-Acosta F. 2017. Percepción de la problemática del Huanglongbing por agentes relevantes en zonas urbanas. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 8: 993–1000. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i4.23>
- Hernández-Morales LM, García-Pérez E, Cortés-Flores JI, Villegas-Monter Á and Mora-Aguilera JA. 2021. Fertilización integral en árboles de naranjo 'Marrs' en producción con síntomas de virus de la tristeza de los cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB). Revista Fitotecnia Mexicana 44: 59-66. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.1.59>
- Hodges AW and Spreen TH. 2012. Economic impacts of citrus greening (HLB) in Florida, 2006/07-2010/11. Electronic Data Information Source FE903. https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/23_Hodges_11.pdf
- Hoffman MT, Doud MS, Williams L, Zhang M-Q, Ding F, Stover E, Hall D, Zhang S, Jones L, Gooch M, Fleites L, Dixon W, Gabriel D and Duan Y-P. 2013. Heat treatment eliminates *Candidatus* Liberibacter asiaticus from infec-

- ted citrus trees under controlled conditions. *Phytopathology* 103:15–22. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-12-0138-R>
- Hu B, Rao MJ, Deng X, Pandey SS, Hendrich C, Ding F, Wang N and Xu Q. 2021. Molecular signatures between citrus and *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Plos Pathogens* 17: e1010071. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010071>
- Hu J, Jiang J and Wang N. 2018. Control of citrus Huanglongbing via trunk injection of plant defense activators and antibiotics. *Phytopathology* 108:186-195. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-17-0175-R>
- Hu K, Cao J, Zhang J, Xia F, Ke Y, Zhang H, Xie W, Liu H, Cui Y, Cao Y, Sun X, Xiao J, Li X, Zhang Q and Wang S. 2017a. Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nature Plants* 3: 1–9. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017>
- Hu Y, Zhong X, Liu X, Lou B, Zhou C, Wang X. 2017b. Comparative transcriptome analysis unveils the tolerance mechanisms of *Citrus hystrix* in response to ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ infection. *PLOS ONE* 12: e0189229. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189229>
- Huang C-Y, Araujo K, Sánchez JN, Kund G, Trumble J, Roper C, Godfrey KE and Jin H. 2021. A stable antimicrobial peptide with dual functions of treating and preventing citrus Huanglongbing. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 118: e2019628118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2019628118>
- Huang M, Roose ML, Yu Q, Du D, Zhang Y, Deng Z, Irey M, Stover E and Gmitter FG Jr. 2018. Construction of high-density genetic maps and detection of QTLs associated with Huanglongbing infection in citrus. *Frontiers in Plant Science* 9: 1694. <https://doi.org/10.1101/330753>
- Hurni S, Scheuermann D, Krattinger SG, Kessel B, Wicker T, Herren G, Fitze MN, Breen J, Prestler T, Ouzunova M and Keller B. 2015. The maize disease resistance gene *Htn1* against northern corn leaf blight encodes a wall-associated receptor-like kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 112: 8780–8785. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502522112>
- Iqbal S, Mahmood S, Mubeen I, Khalid Z and Ayaz M. 2020. Molecular interaction between *Candidatus Liberibacter asiaticus* and citrus: a review. *International Journal of Science and Nature* 11: 17-23. [http://scienceandnature.org/IJSN/IJSN_Vol11\(2\)2020/IJSN-Vol11\(2\)20-1.pdf](http://scienceandnature.org/IJSN/IJSN_Vol11(2)2020/IJSN-Vol11(2)20-1.pdf) (Consulta, marzo 2022).
- Jagoueix S, Bove J-M and Garnier M. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the Proteobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology* 44: 379-386. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-3-379>
- Jain M, Fleites LA and Gabriel DW. 2015. Prophage-encoded peroxidase in ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ is a secreted effector that suppresses plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 28: 1330-1337. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-15-0145-R>
- Jain M, Munoz-Bodnar A and Gabriel DW. 2019. *Candidatus Liberibacter asiaticus* peroxiredoxin (LasBCP) suppresses oxylipin-mediated defense signaling in citrus. *Journal of Plant Physiology* 236: 61-65. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.03.001>
- Jain M, Munoz-Bodnar A, Zhang S and Gabriel DW. 2018. A Secreted ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ peroxiredoxin simultaneously suppresses both localized and systemic innate immune responses in planta. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 31: 1312-1322. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0068-R>
- Jones JDG and Dangl JL. 2006. The plant immune system. *Nature* 444: 323-329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Kachur K and Suntres Z. 2020. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60: 3042–3053. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675585>
- Kaloshian I. 2004. Gene-for-gene disease resistance: bridging insect pest and pathogen defense. *Journal of Chemical Ecology* 30: 2419–2438. <https://doi.org/10.1007/s10886-004-7943-1>
- Killiny N and Hijaz F. 2016. Amino acids implicated in plant defense are higher in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-tolerant citrus varieties. *Plant Signaling & Behavior* 11: e1171449. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1171449>
- Killiny N and Nehela Y. 2017b. One target, two mechanisms: the impact of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ and its vector, *Diaphorina citri*, on citrus leaf pigments. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 30: 543–556. <https://doi.org/10.1094/MPMI-02-17-0045-R>
- Killiny N and Nehela Y. 2020. Citrus polyamines: structure, biosynthesis, and physiological functions. *Plants* 9: 426. <https://doi.org/10.3390/plants9040426>
- Killiny N. 2017. Metabolite signature of the phloem sap of fourteen citrus varieties with different degrees of tolerance to *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 97: 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2016.11.004>
- Killiny N, Valim MF, Jones SE, Omar AA, Hijaz F, Gmitter FG and Grosser JW. 2017. Metabolically speaking: Possible reasons behind the tolerance of ‘Sugar Belle’ mandarin hybrid to Huanglongbing. *Plant Physiology and Biochemistry* 116: 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.05.001>
- Killiny N, Hijaz F, Gonzalez-Blanco P, Jones SE, Pierre MO and Vincent CI. 2020. Effect of adjuvants on oxytetracycline uptake upon foliar application in citrus. *Antibiotics* 9: 677. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100677>
- Kim J-S, Sagaram US, Burns JK, 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. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-1-0050>
- Koh E-J, Zhou L, Williams DS, Park J, Ding N, Duan Y-P and Kang B-H. 2012. Callose deposition in the phloem plasmodesmata and inhibition of phloem transport in ci-

- trus leaves infected with *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Protoplasma* 249: 687-697. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0312-3>
- Li J, Pang Z, Trivedi P, Zhou X, Ying X, Jia H and Wang N. 2017. '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' encodes a functional salicylic acid (SA) hydroxylase that degrades SA to suppress plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 30: 620-630. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-16-0257-R>
- Liu YQ, Heying E and Tanumihardjo SA. 2012. History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11: 530-545. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x>
- Liu X, Fan Y, Zhang C, Dai M, Wang X and Li W. 2019. Nuclear import of a secreted "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" protein is temperature dependent and contributes to pathogenicity in *Nicotiana benthamiana*. *Frontiers in Microbiology* 10: 1684. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01684>
- Ma W, Pang Z, Huang X, Xu J, Pandey SS, Li J, Achor DS, Vasconcelos FNC, Hendrich C, Huang Y, Wang W, Lee D, Stanton D and Wang N. 2022. Citrus Huanglongbing is a pathogen-triggered immune disease that can be mitigated with antioxidants and gibberellin. *Nature Communications* 13: 529. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28189-9>
- Mafra V, Martins PK, Francisco CS, Ribeiro-Alves M, Freitas-Astúa J and Machado MA. 2013. *Candidatus Liberibacter americanus* induces significant reprogramming of the transcriptome of the susceptible citrus genotype. *BMC Genomics* 14: 247. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-247>
- Magalhães DM, Scholte LLS, Silva NV, Oliveira GC, Zipfel C, Takita MA and De Souza AA. 2016. LRR-RLK family from two citrus species: genome-wide identification and evolutionary aspects. *BMC Genomics* 17: 623. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2930-9>
- Manzanilla-Ramírez MÁ, Villegas-Monter Á, Velázquez-Monreal JJ, Zavaleta-Mancera HA, Sandoval-Villa M y Muñoz-Orozco A. 2019. Cambios fisiológicos en árboles de limón mexicano en producción infectados con HLB. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10: 1603-1614. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i7.1957>
- Martinelli F, Reagan RL, Uratsu SL, Phu ML, Albrecht U, Zhao W, Davis CE, Bowman KD and Dandekar AM. 2013. Gene regulatory networks elucidating huanglongbing disease mechanisms. *Plos One* 8: e74256. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074256>
- Martinelli F, Reagan RL, Dolan D, Fileccia V and Dandekar AM. 2016. Proteomic analysis highlights the role of detoxification pathways in increased tolerance to huanglongbing disease. *BMC Plant Biology* 16: 167. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0858-5>
- Martini X, Pelz-Stelinski KS and Stelinski LL. 2015. Absence of windbreaks and replanting citrus in solid sets increase density of Asian citrus psyllid populations. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 212:168-174. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.06.027>
- Merfa MV, Pérez-López E, Naranjo E, Jain M, Gabriel DW and De La Fuente L. 2019. Progress and obstacles in culturing *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the bacterium associated with huanglongbing. *Phytopathology* 109: 1092-1101. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-19-0051-RVW>
- Nehela Y, Hijaz F, Elzaawely AA, El-Zahaby HM and Killiny, N. 2018. Citrus phytohormonal response to *Candidatus Liberibacter asiaticus* and its vector *Diaphorina citri*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 102: 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.11.004>
- Nehela Y and Killiny N. 2020a. Melatonin is involved in citrus response to the pathogen Huanglongbing via modulation of phytohormonal biosynthesis. *Plant Physiology* 184: 2216-2239. doi: 10.1104/pp.20.00393
- Nehela Y and Killiny N. 2020b. Revisiting the complex pathosystem of huanglongbing: deciphering the role of citrus metabolites in symptom development. *Metabolites* 10: 409. <https://doi.org/10.3390/metabo10100409>
- Nwugo CC, Duan Y and Lin H. 2013. Study on citrus response to huanglongbing highlights a down-regulation of defense-related proteins in lemon plants upon *Ca. Liberibacter asiaticus* infection. *Plos One* 8: e67442. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067442>
- Panstruga R, Parker JE and Schulze-Lefert P. 2009. SnapShot: plant immune response pathways. *Cell* 136: 978.e1-978.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.02.020>
- Pelz-Stelinski KS and Killiny N. 2016. Better together: association with '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' increases the reproductive fitness of its insect vector, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Annals of Entomological Society of America* 109: 371-376. <https://doi.org/10.1093/aesa/saw007>
- Pérez-Zarate LA, Osorio-Acosta F, Villanueva-Jiménez JA, Ortega-Arenas LD and Chiquito-Contreras RG. 2016. Factores que inciden en el control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en Áreas Regionales de Control. *Southwestern Entomologist* 41:1037-1050. <https://doi.org/10.3958/059.041.0404>
- Pérez-Zarate LA, Villanueva-Jiménez JA, Osorio-Acosta F, Ortega-Arenas LD and Bustillo-García LC. 2020. Small farmers' perception of factors influencing regional chemical control of *Diaphorina citri*. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo* 52: 106-120. <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/RFCA/article/view/3028>
- Pieterse CMJ, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Wees SCMV and Bakker PAHM. 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology* 52: 347375. 10.1146/annurev-phyto-082712-102340
- Pitino M, Armstrong CM, Cano LM and Duan Y. 2016. Transient expression of *Candidatus Liberibacter Asiaticus* effector induces cell death in *Nicotiana benthamiana*. *Frontiers in Plant Science* 7: 982. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00982>
- Pitino M, Allen V and Duan Y. 2018. LasΔ5315 Effector induces extreme starch accumulation and chlorosis as *Ca. Liberibacter asiaticus* infection in *Nicotiana benthamiana*.

- Frontiers in Plant Science 9: 113. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00113>
- Pitino M, Armstrong CM and Duan Y. 2017. Molecular mechanisms behind the accumulation of ATP and H₂O₂ in citrus plants in response to ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ infection. Horticulture Research 4: 1-8. <https://doi.org/10.1038/hortres.2017.40>
- Rawat N, Kumar B, Albrecht U, Du D, Huang M, Yu Q, Zhang Y, Duan Y-P, Bowman KD, Gmitter, FG and Deng ZJr. 2017. Genome resequencing and transcriptome profiling reveal structural diversity and expression patterns of constitutive disease resistance genes in huanglongbing-tolerant *Poncirus trifoliata* and its hybrids. Horticulture Research 4: 1-8. <https://doi.org/10.1038/hortres.2017.64>
- Restrepo-Montoya D, Brueggeman R, McClean PE and Osorno JM. 2020. Computational identification of receptor-like kinases “RLK” and receptor-like proteins “RLP” in legumes. BMC Genomics 21: 459. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06844-z>
- Robles-González MM, Velázquez-Monreal JJ, Manzanilla-Ramírez MÁ, Orozco-Santos M, Medina-Urrutia VM, López-Arroyo JI and Flores-Virgen R. 2013. Síntomas del Huanglongbing (HLB) en árboles de limón mexicano *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle y su dispersión en el estado de Colima, México. Revista Chapingo Serie horticultura 19, 15–31. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.01.005>
- Rosales R and Burns JK. 2011. Phytohormone changes and carbohydrate status in sweet orange fruit from Huanglongbing-infected trees. Journal of Plant Growth Regulation 30: 312-321. <https://doi.org/10.1007/s00344-011-9193-0>
- Salcedo D, Mora G, Covarrubias I, Cíntora C, Hinojosa R, DePaolis F and Mora S. 2011. Evaluación del impacto económico de la enfermedad de los cítricos huanglongbing (HLB) en la cadena citrícola mexicana. COMUNIICA 144: 40-47. <http://repiica.ica.int/docs/b2146e/b2146e.pdf>. (Consulta, febrero 2022).
- Shahzad F, Chun C, Schumann A and Vashisth T. 2020. Nutrient uptake in Huanglongbing-affected sweet orange: transcriptomic and physiological analysis. Journal of the American Society for Horticultural Science 145: 349–362. <https://doi.org/10.21273/JASHS04929-20>
- Sharma N, Selvakumar P, Bhose S, Ghosh DK, Kumar P and Sharma AK. 2015. Crystal structure of a periplasmic solute binding protein in metal-free, intermediate and metal-bound states from *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Journal of Structural Biology 189: 184–194. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2015.01.012>
- Sharma N, Selvakumar P, Saini G, Warghane A, Ghosh DK and Sharma AK. 2016. Crystal structure analysis in Zn²⁺ bound state and biophysical characterization of CLas-ZnuA2. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Proteins and Proteomics 1864: 1649–1657. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.08.016>
- Shen W, Cevallos-Cevallos JM, Nunes da Rocha U, Arevalo HA, Stansly PA, Roberts PD and van Bruggen AHC. 2013. Relation between plant nutrition, hormones, insecticide applications, bacterial endophytes, and *Candidatus Liberibacter Ct* values in citrus trees infected with huanglongbing. European Journal of Plant Pathology 137: 727-742. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0283-7>
- Shi Q, Febres VJ, Zhang S, Yu F, McCollum G, Hall DG, Moore GA and Stover E. 2017. Identification of gene candidates associated with huanglongbing tolerance, using *Candidatus Liberibacter asiaticus* flagellin 22 as a proxy to challenge citrus. Molecular Plant-Microbe Interactions 31: 200-211. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-17-0084-R>
- Shiu S-H and Bleeker AB. 2001. Plant receptor-like kinase gene family: diversity, function, and signaling. Science Signaling 2001: re22. <https://doi.org/10.1126/stke.2001.113.re22>
- Schwessinger B and Zipfel C. 2008. News from the frontline: recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. Current Opinion in Plant Biology, Biotic Interactions 11, 389–395. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.06.001>
- Singerman A and Rogers ME. 2020. The economic challenges of dealing with citrus greening: the case of Florida. Journal of Integrated Pest Management 11: 1-7. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmz037>
- Singh A, Kumar N, Tomar PPS, Bhose S, Ghosh DK, Roy P and Sharma AK. 2017. Characterization of a bacterioferritin comigratory protein family 1-Cys peroxiredoxin from *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Protoplasma 254: 1675-1691. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-1062-z>
- Soares JM, Tanwir SE, Grosser JW and Dutt, M. 2020. Development of genetically modified citrus plants for the control of citrus canker and Huanglongbing. Tropical Plant Pathology 45: 237–250. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00362-9>
- Song X, Bhattarai K, Lv D, Gao F and Ying X. 2017. Can CRISPR win the battle against Huanglongbing? Journal of Plant Pathology & Microbiology 8: 422. doi:10.4172/2157-7471.1000422
- Soratto TAT, Curtolo M, Marengo S, Dezotti AL, Lima RPM, Gazaffi R, Machado MA and Cristofani-Yaly M. 2020. QTL and eQTL mapping associated with host response to *Candidatus Liberibacter asiaticus* in citrandarins. Tropical Plant Pathology 45: 626–645. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00372-7>
- Suh JH, Tang X, Zhang Y, Gmitter FG and Wang Y. 2021. Metabolomic analysis provides new insight into tolerance of Huanglongbing in citrus. Frontiers in Plant Science 12: 710598. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.710598>
- Tang L, Singh G, Dewdney M and Vashisth T. 2021. Effects of exogenous gibberellic acid in Huanglongbing-affected sweet orange trees under Florida conditions–I. Flower bud emergence and flower formation. Horts Science 56: 1531–1541. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16080-21>
- Tatineni S, Sagaram US, Gowda S, Robertson CJ, Dawson WO, Iwanami T and Wang N. 2008. In planta distribution of *Candidatus Liberibacter asiaticus* as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and real-time PCR. Phytopathology 98: 592-599. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-5-0592>
- Thapa SP, De Francesco A, Trinh J, Gurung FB, Pang Z, Vidalakis G, Wang N, Ancona V, Ma W and Coaker G. 2020. Genome-wide analyses of *Liberibacter* species provides insights into evolution, phylogenetic relationships, and virulence factors. Molecular Plant Pathology 21: 716–731. <https://doi.org/10.1111/mpp.12925>

- Thilmony RL, Chen Z, Bressan RA and Martin GB. 1995. Expression of the tomato Pto gene in tobacco enhances resistance to *Pseudomonas syringae* pv tabaci expressing avrPto. *The Plant Cell* 7: 1529-1536. <https://doi.org/10.1105/tpc.7.10.1529>
- Timmer LW, Garnsey SM and Graham JH. 2000. Compendium of citrus diseases. APS Press. <http://books.google.com/books?id=fdAnAQAAMAAJ> (Consulta, diciembre 2021).
- Torres LMF, Olivas AF, Fuentes YMO, Arroyo JIL, Portugal VO, Mendoza AB, Morales SG and Villa VMZ. 2017. Comparison of enzymes and phenolic compounds in three citrus species infected with *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Mexican Journal of Phytopathology* 35: 314-325. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1608-2>
- Trinidad-Cruz JR, Rincón-Enríquez G, Quiñones-Aguilar EE, Arce-Leal AP y Leyva-López NE. 2019. Inductores de resistencia vegetal en el control de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en árboles de limón (*Citrus aurantifolia*) mexicano. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37: 304-317. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1901-1>
- Uthman QO, Kadyampakeni DM, Nkedi-Kizza P, Barla, NT, Atta AA and Morgan KT. 2020. Comparative response of Huanglongbing-affected sweet orange trees to nitrogen and zinc fertilization under microsprinkler irrigation. *Agriculture* 10: 489. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100489>
- Vahling CM, Duan Y and Lin H. 2010. Characterization of an ATP translocase identified in the destructive plant pathogen "*Candidatus Liberibacter asiaticus*". *Journal of Bacteriology* 192: 834-840. <https://doi.org/10.1128/JB.01279-09>
- Vahling-Armstrong CM, Zhou H, Benyon L, Morgan JK and Duan Y. 2012. Two plant bacteria, *S. meliloti* and *Ca. Liberibacter asiaticus*, share functional znuABC homologues that encode for a high affinity zinc uptake system. *Plos One* 7:e37340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037340>
- Ventura-Medina PI, Gutiérrez-Espinosa MA, Febres V, Mora-Aguilera G and Robledo-Paz A. 2019. Identificación y clonación de tres genes endógenos que pueden conferir resistencia a patógenos en cítricos incluyendo CLas y CTV. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37: 1-22. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1906-6>
- Wang N and Trivedi P. 2013. Citrus huanglongbing: A newly relevant disease presents unprecedented challenges. *Phytopathology* 103: 652-665. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-12-0331-RVW>
- Wang Y, Zhou L, Li D, Dai L, Lawton-Rauh A, Srimani PK, Duan Y and Luo F. 2015. Genome-wide comparative analysis reveals similar types of NBS genes in hybrid *Citrus sinensis* genome and original *Citrus clementine* genome and provides new insights into non-TIR NBS genes. *Plos One* 10: e0121893. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121893>
- 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. *Frontiers in Plant Science* 7: 933. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00933>
- Wei X, Mira A, Yu Q and Gmitter FG Jr. 2021. The mechanism of citrus host defense response repression at early stages of infection by feeding of *Diaphorina citri* transmitting *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Frontiers in Plant Science* 12: 635153. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.635153>
- Whitaker DC, Giurcanu MC, Young LJ, Gonzalez P, Etxeberria E, Roberts P, Hendricks K and Roman F. 2014. Starch content of citrus leaves permits diagnosis of huanglongbing in the warm season but not cool season. *HortScience* 49: 757-762. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.49.6.757>
- Xia Y, Ouyang G, Sequeira RA, Takeuchi Y, Baez I and Chen J. 2011. A review of huanglongbing (citrus greening) management in citrus using nutritional approaches in China. *Plant Health Progress* 12: 24. <https://doi.org/10.1094/PHP-2010-1003-01-RV>
- Yao L, Yu Q, Huang M, Song Z, Grosser J, Chen S, Wang Y, Gmitter FG Jr. 2020. Comparative iTRAQ proteomic profiling of sweet orange fruit on sensitive and tolerant rootstocks infected by '*Candidatus Liberibacter asiaticus*.' *PLOS ONE* 15: e0228876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228876>
- Ying X, Wan M, Hu L, Zhang J, Li H and Lv D. 2019. Identification of the virulence factors of *Candidatus Liberibacter asiaticus* via heterologous expression in *Nicotiana benthamiana* using tobacco mosaic virus. *International Journal of Molecular Sciences* 20: 5575. <https://doi.org/10.3390/ijms20225575>
- Zhao W, Baldwin EA, Bai J, Plotto A and Irely M. 2019. Comparative analysis of the transcriptomes of the calyx abscission zone of sweet orange insights into the huanglongbing-associated fruit abscission. *Horticulture Research* 6: 71. <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0152-4>
- Zou H, Gowda S, Zhou L, Hajeri S, Chen G and Duan Y. 2012. The destructive citrus pathogen, *Candidatus Liberibacter asiaticus* encodes a functional flagellin characteristic of a pathogen-associated molecular pattern. *Plos One* 7: e46447. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046447>