e-ISSN: 2007-4034 / ISSN print: 1027-152X

Scientific article https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2025.10.016

qPCR-based detection of *Candidatus* Liberibacter asiaticus in symptomatic citrus plants from Veracruz, Mexico

Detección de *Candidatus* Liberibacter asiaticus mediante qPCR en plantas de cítricos sintomáticas de Veracruz, México

Rosalba Contreras-Maya; Hector Luis-Chincoya; Angel Villegas-Monter*

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, 56264, México.

*Corresponding author: villema53@hotmail.com, tel. 55 5804 5900, ext. 1564.

Abstract

Veracruz, one of Mexico's main citrus-producing regions, faces a major phytosanitary threat from huanglongbing (HLB) because of its rapid spread and atypical symptom expression. Symptom variability limits the reliability of field diagnosis and highlights the need to correlate visible symptoms with molecular detection of *Candidatus* Liberibacter asiaticus (*C*Las). This study aimed to evaluate the qPCR positivity rate for *C*Las in symptomatic citrus samples collected from seven citrus-producing municipalities in Veracruz. Branch dieback was the most frequent symptom (67.5 %), followed by generalized yellowing (20.4 %). The qPCR positivity rate in symptomatic *C*Las samples ranged from 94 % in Chicontepec to 98.7 % in Ixhuatlán de Madero and Castillo de Teayo. Fruit ripening, asymmetric fruit development, and irregular spots on orange leaves cannot be considered classic symptoms of HLB in northern Veracruz because they do not occur recurrently. Logistic regression analysis (odds ratios [OR]) showed no significant association between qPCR positivity and municipality, cultivar, or rootstock. In contrast, generalized yellowing was significantly associated with higher odds of *C*Las qPCR positivity (OR = 2.29, p = 0.001) (an OR > 1 indicates a higher risk). These results indicate that generalized yellowing is the most strongly associated symptom with *C*Las infection in citrus trees in northern Veracruz.

Keywords: citrus yellowing, quarantine diseases, orange tree.

Resumen

Veracruz, una de las principales regiones productoras de cítricos de México, enfrenta una grave amenaza fitosanitaria por el huanglongbing (HLB) debido a su rápida propagación y a la expresión atípica de los síntomas. La variabilidad de los síntomas limita la fiabilidad del diagnóstico en campo y hace necesario correlacionar los síntomas visibles con la detección molecular de *Candidatus* Liberibacter asiaticus (*C*Las). El objetivo de este estudio fue evaluar el número de muestras positivas a *C*Las mediante qPCR de plantas de cítricos con síntomas recolectadas en siete municipios productores de Veracruz. La muerte regresiva de las ramas fue el síntoma más frecuente (67.5 %), seguido del amarilleamiento generalizado (20.4 %). El número de muestras positivas a *C*Las osciló entre 94 % en Chicontepec y 98.7 % en Ixhuatlán de Madero y Castillo de Teayo. La maduración precoz de los frutos, el desarrollo asimétrico de los mismos y las manchas irregulares en las hojas de los naranjos no se consideran síntomas clásicos del HLB en el norte de Veracruz, ya que no se presentan de forma recurrente. El análisis de regresión logística (razón de probabilidad [OR]) no evidenció ninguna asociación significativa entre el porcentaje de muestras positivas, el municipio, el cultivar o el portainjerto. Por el contrario, el amarilleamiento generalizado se asoció significativamente con una mayor probabilidad de dar positivo en la qPCR para *C*Las (OR = 2.29; p = 0.001) (OR > 1 indica mayor riesgo). Estos resultados indican que el amarillamiento generalizado es el síntoma más fuertemente asociado a la infección por *C*Las en cítricos del norte de Veracruz.

Palabras clave: amarilleamiento de los cítricos, enfermedades de cuarentena, naranjo.

Please cite this article as follows (APA 7): Contreras-Maya, R., Luis-Chincoya, H., & Villegas-Monter, A. (2026). qPCR-based detection of *Candidatus* Liberibacter asiaticus in symptomatic citrus plants from Veracruz, Mexico. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *32*, e25016. https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2025.10.016

Revista Chapingo Serie Horticultura

Received: October 3, 2025 | **Accepted:** July 27, 2026 | **Published online:** November 6, 2026

https://revistas.chapingo.mx/horticultura/

Introduction

Citrus production is affected by viruses (*Closterovirus tristezae* [CTV, tristeza], *Citrus psorosis virus* [CPsV, psorosis], *Citrus leprosis virus* [CiLV, leprosis], *Citrus variegation virus* [CVV]), bacteria (*Candidatus* Liberibacter asiaticus [*C*Las, huanglongbing, HLB, yellow dragon], *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* [Xfp, CVC, citrus variegated chlorosis], *Xanthomonas citri* subsp. *citri* [XccA, citrus canker]), viroids (*Hop stunt viroid* [HSVd, cachexia, xyloporosis], *Citrus exocortis viroid* [CEVd, exocortis], *Citrus viroid* I, II, III, IV, V), fungi (*Plenodomus tracheiphilus*, *Colletotrichum* spp., *Lasiodiplodia* spp., *Alternaria alternate*, *Septoria* spp., *Penicillium* spp.), and oomycetes (*Phytophthora* spp.) (Falaki, 2022; Gabriel et al., 2020; Rovetto et al., 2024; Yao et al., 2023). Among these, HLB is considered the most destructive disease worldwide because of its severe economic impact and the difficulty of managing infected orchards.

*C*Las was first detected in Mexico in June 2009 in Tizimin, Yucatán, and later that year in Jalisco and Nayarit; it has since spread to all citrus-producing states in the country (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2010; Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [SENASICA], 2016). HLB is caused by a Gram-negative, non-culturable bacterium that is limited to the phloem. The pathogen spreads through infected propagative material and insect vectors, making eradication and containment particularly challenging (Yao et al., 2023).

Several authors point out that HLB is the most devastating disease in citrus (Huang et al., 2022). In America, *C*Las was first reported in Brazil (2004), followed by Florida (USA, 2005), Cuba (2006), Mexico (2009), and California and Texas (USA, 2012) (Coletta-Filho et al., 2004; da Graça et al., 2015; Kumagai et al., 2013; Luis et al., 2009). Typical HLB symptoms include irregular spots on leaves (resembling zinc deficiency), yellow shoots, and premature fruit ripening (Bové, 2006; Manzanilla-Ramírez et al., 2019). However, these symptoms are not specific to HLB and may be confused with nutrient deficiencies or other citrus diseases, which limits the reliability of field diagnosis (Wang et al., 2016).

In northern Veracruz, México, a marked increase in the incidence of yellow shoots and citrus plant death has been recorded since 2022 (Huang et al., 2022; Villar-Luna et al., 2024). Nevertheless, the symptom pattern observed in this region does not always coincide with the classical description of HLB, raising uncertainty about the association between visual symptoms and *C*Las infection. Therefore, this study aimed to evaluate the real-time PCR (qPCR)-positive rate for *C*Las in

Introducción

La producción de cítricos se ve afectada por virus (*Closterovirus tristezae* [CTV, tristeza], *Citrus psorosis virus* [CPsV, psorosis], *Citrus leprosis virus* [CiLV, leprosis], *Citrus variegation virus* [CVV]), bacterias (*Candidatus* Liberibacter asiaticus [*C*Las, huanglongbing, HLB, dragón amarillo], *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* [Xfp, CVC, clorosis variegada de los cítricos], *Xanthomonas citri* subsp. *citri* [XccA, cancro de los cítricos]), viroides (*Hop stunt viroid* [HSVd, caquexia, xiloporosis], *Citrus exocortis viroid* [CEVd, exocortis], *Citrus viroid* I, II, III, IV, V), hongos (*Plenodomus tracheiphilus*, *Colletotrichum* spp., *Lasiodiplodia* spp., *Alternaria alternate*, *Septoria* spp., *Penicillium* spp.) y oomicetos (*Phytophthora* spp.) (Falaki, 2022; Gabriel et al., 2020; Rovetto et al., 2024; Yao et al., 2023). Entre estos patógenos, el HLB se considera la enfermedad más destructiva a nivel mundial debido a su impacto económico y a la dificultad para manejar los huertos infectados.

El *C*Las se detectó por primera vez en Tizimín, Yucatán, México, en junio de 2009, y posteriormente, ese mismo año, en Jalisco y Nayarit; desde entonces se ha extendido a todos los estados productores de cítricos del país (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2010; Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [SENASICA], 2016). El HLB es causado por una bacteria gramnegativa no cultivable que se limita al floema. El patógeno se propaga a través de material vegetal infectado e insectos vectores, lo que dificulta su erradicación y contención (Yao et al., 2023).

Varios autores señalan que el HLB es la enfermedad más devastadora que afecta a los cítricos (Huang et al., 2022). En América, el *C*Las se detectó por primera vez en Brasil (2004), seguido de Florida (EUA, 2005), Cuba (2006), México (2009), California y Texas (EUA, 2012) (Coletta-Filho et al., 2004; da Graça et al., 2015; Kumagai et al., 2013; Luis et al., 2009). Entre los síntomas típicos del HLB se encuentran manchas irregulares en las hojas (semejantes a las de la carencia de zinc), brotes amarillos y maduración prematura de los frutos (Bové, 2006; Manzanilla-Ramírez et al., 2019). Sin embargo, estos síntomas no son específicos del HLB y se pueden confundir con deficiencias nutricionales u otras enfermedades de los cítricos, lo que limita la confiabilidad del diagnóstico en campo (Wang et al., 2016).

En el norte de Veracruz, México, se ha registrado un notable incremento en la incidencia de amarilleamiento en brotes y de muerte de plantas de cítricos desde 2022 (Huang et al., 2022; Villar-Luna et al., 2024). No obstante, el patrón de síntomas observado en esta región no siempre coincide con la descripción clásica del HLB, lo que genera incertidumbre sobre la relación entre los síntomas visuales y la infección por *C*Las. Por

symptomatic citrus trees from seven citrus-producing municipalities in northern Veracruz, Mexico.

Materials and methods

A total of 800 leaf samples were collected from four citrus species: orange (*Citrus sinensis* L., n = 720), Persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka, n = 32), mandarin (*Citrus reticulata* Blanco, n = 30), and grapefruit (*Citrus paradisi* Macfad, n = 18), belonging to 292 producers. Sampled trees ranged from 1 to 100 years old, located in 90 communities of seven municipalities in northern Veracruz, Mexico: Álamo (n = 152), Castillo de Teayo (n = 76), Cazones de Herrera (n = 116), Chicontepec (n = 100), Ixhuatlán (n = 78), Papantla (n = 182), and Tihuatlán (n = 96). Sampling was restricted to trees showing one or more HLB-like symptoms, including dry branches, yellow shoots, small fruit, small leaves, and generalized yellowing (Figure 1). Symptoms were recorded independently because individual trees could exhibit multiple symptoms simultaneously. The study was conducted from May to November 2022.

For each tree, 10-12 leaves were collected from four actively growing shoots showing the described symptoms, one from each cardinal direction. Although HLB is a systemic disease, *C*Las is detected more frequently in symptomatic leaves than in asymptomatic leaves (Fang et al., 2021). Samples were placed in labeled plastic bags, transported in a cooler with frozen water bottles, and processed at the Biotechnology and Plant Physiology Laboratory, *Colegio de Postgraduados*.

DNA extraction and qPCR detection of *Candidatus* Liberibacter asiaticus

Total DNA was extracted following the protocol described by Villegas-Monter et al. (2024). DNA concentration and purity (A260/A280 and A260/A230 ratios) were determined using a NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA) with 1 µL of each DNA sample.

The qPCR was performed to detect *C*Las by amplifying a partial region of the 16S ribosomal DNA (16S rDNA) using the specific primers HLB-P and HLB-as, along with the respective probe (HLB, 150 nM) (Li et al., 2006). The final reaction volume was 10 µL, containing 5 µL of SsoAdvanced master mix (Bio-Rad, USA), 300 nM (0.6 µL) of each primer, 150 nM (0.3 µL) of probe, 2 µL of DNA (150 ng·µL^{-1}), and 1.5 µL of nuclease-free water. Amplifications were performed in a C1000 Touch™ Thermal Cycler with a Real-Time System (CFX96™, Bio-Rad, USA). The program consisted of an initial denaturation at 95 °C for 3 min, followed by 40 cycles of 95 °C for 10 s and 59 °C for 30 s. Each run included a previously confirmed positive control and two no-

ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el número de muestras positivas a *C*Las mediante PCR en tiempo real (qPCR, por sus siglas en inglés) de árboles de cítricos con síntomas procedentes de siete municipios productores del norte de Veracruz, México.

Materiales y métodos

Se recolectaron 800 muestras de hojas de cuatro especies de cítricos: naranjo (*Citrus sinensis* L., n = 720), lima persa (*Citrus latifolia* Tanaka, n = 32), mandarino (*Citrus reticulata* Blanco, n = 30) y pomelo (*Citrus paradisi* Macfad, n = 18), pertenecientes a 292 productores. Los árboles muestreados tenían entre 1 y 100 años, y se encontraban en 90 comunidades de siete municipios del norte de Veracruz, México: Álamo (n = 152), Castillo de Teayo (n = 76), Cazones de Herrera (n = 116), Chicontepec (n = 100), Ixhuatlán (n = 78), Papantla (n = 182) y Tihuatlán (n = 96). El muestreo se limitó a los árboles que presentaban uno o más síntomas similares a los del HLB, como ramas secas, brotes amarillos, frutos pequeños, hojas pequeñas y amarilleamiento generalizado (Figura 1). Los síntomas se registraron de forma independiente, ya que cada árbol podía presentar varios a la vez. El estudio se llevó a cabo entre mayo y noviembre de 2022.

De cada árbol se recolectaron entre 10 y 12 hojas de cuatro brotes en fase de crecimiento activo que presentaban los síntomas descritos, uno de cada punto cardinal. Aunque el HLB es una enfermedad sistémica, *C*Las se detecta con mayor frecuencia en hojas sintomáticas que en asintomáticas (Fang et al., 2021). Las muestras se colocaron en bolsas de plástico etiquetadas, se transportaron en una hielera portátil con botellas de agua congeladas y se procesaron en el Laboratorio de Biotecnología y Fisiología Vegetal del Colegio de Postgraduados.

Extracción de ADN y detección de *Candidatus* Liberibacter asiaticus mediante qPCR

El ADN total se extrajo de acuerdo con la metodología descrita por Villegas-Monter et al. (2024). La concentración y pureza del ADN (relaciones A260/A280 y A260/A230) se determinaron en un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, EUA) con 1 µL de cada muestra de ADN.

Se llevó a cabo una qPCR para detectar *C*Las mediante la amplificación de una región parcial del ADN ribosomal 16S (ADNr 16S) con los cebadores específicos HLB-P y HLB-as, junto con la sonda correspondiente (HLB, 150 nM) (Li et al., 2006). El volumen final de la reacción fue de 10 µL, que contenía 5 µL de mezcla maestra SsoAdvanced (Bio-Rad, EUA), 300 nM (0.6 µL) de cada cebador, 150 nM (0.3 µL) de sonda, 2 µL de ADN (150 ng·µL^{-1}) y 1.5 µL de agua libre de nucleasas. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador C1000 Touch™ con sistema en

template controls (NTCs) to verify the absence of contamination or dimers in the reaction.

Statistical analysis

For the data analysis, the percentage of plants with symptoms in each community and municipality was considered. The qPCR result (positive or negative for *C*Las) was used as the binary response variable. Associations between qPCR positivity and municipality, cultivar, rootstock, and field-observed symptoms were evaluated using binomial logistic regression. Odds ratios (ORs) and their corresponding significance levels were estimated with the PROC LOGISTIC procedure in SAS® version 9.4 (SAS Institute Inc., USA). Statistical significance was set at $\alpha = 0.05$.

Results and discussion

Among the symptoms recorded during sampling, dry branches were the most frequent (67.5 %) (Figures 1A and 1B), occurring in trees with both yellow and green shoots. Yellow shoots were detected in 42.5 % of the sampled trees (Figures 1C and 1D), whereas generalized yellowing was recorded in 20.4 % (Figure 1I). Growers report the latter symptom as the most frequent, as they are unable to distinguish between them.

Symptom expression varied among cultivars, rootstocks, tree age, and management, supporting the need for molecular confirmation. The high frequency of yellowing symptoms was not consistently associated with *C*Las infection, indicating that visual diagnosis alone is unreliable under northern Veracruz conditions. For example, as infection progresses, new flush leaves may become unusually small (Figures 1G-H) and develop chlorosis patterns resembling zinc or manganese deficiencies (Fang et al., 2021; Zhang et al., 2011).

Binomial logistic regression showed no significant association between qPCR positivity and municipality, cultivar, or rootstock (Table 1). In contrast, generalized yellowing was significantly associated with increased odds of *C*Las detection by qPCR (OR = 2.29, $p < 0.001$), whereas small leaves showed a weaker but significant association (OR = 1.69, $p = 0.041$) (Table 1). These results indicate that generalized yellowing was the symptom most strongly associated with molecular detection of *C*Las in the sampled orchards.

Das et al. (2021) described yellow shoots, mottled leaves, inverted ripening, small yellow leaves resembling zinc deficiency, and greening of the stylar end in oranges as common HLB symptoms in India. Chlorotic patterns and yellow shoots in HLB-affected leaves have been linked to chloroplast disruption and starch accumulation in leaf

tiempo real (CFX96™, Bio-Rad, EUA). El programa consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 min, seguida de 40 ciclos de 95 °C durante 10 s y 59 °C durante 30 s. Cada ensayo incluía un control positivo previamente confirmado y dos controles sin molde (NTC) para verificar la ausencia de contaminación o de dímeros en la reacción.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos, se consideró el porcentaje de plantas con síntomas en cada comunidad y municipio. El resultado de la qPCR (positivo o negativo para *C*Las) se utilizó como variable de respuesta binaria. Se evaluaron las asociaciones entre el número de muestras positivas, el municipio, el cultivar, el portainjerto y los síntomas observados en campo mediante una regresión logística binomial. Las razones de probabilidades (OR) y sus correspondientes niveles de significancia se calcularon mediante el procedimiento PROC LOGISTIC en SAS® versión 9.4 (SAS Institute Inc., EUA). El nivel de significancia estadística se fijó en $\alpha = 0.05$.

Resultados y discusión

Entre los síntomas observados durante el muestreo, las ramas secas fueron las más frecuentes (67.5 %) (Figuras 1A y 1B), y se observaron tanto en árboles con brotes amarillos como verdes. Los brotes amarillos se detectaron en 42.5 % de los árboles muestreados (Figuras 1C y 1D), mientras que el amarilleamiento generalizado se registró en 20.4 % (Figura 1I). Este último síntoma es el que los productores reportan como el más frecuente, ya que no son capaces de diferenciarlos entre ellos.

La manifestación de los síntomas varió según el cultivar, el portainjerto, la edad del árbol y el manejo, lo que respalda la necesidad de la confirmación molecular. La elevada frecuencia de los síntomas de amarilleamiento no se asoció de forma sistemática con la infección por *C*Las, lo que indica que el diagnóstico visual por sí solo no es confiable en las condiciones del norte de Veracruz. Por ejemplo, a medida que avanza la infección, las hojas nuevas pueden volverse inusualmente pequeñas (Figuras 1G-H) y presentar patrones de clorosis similares a los de las carencias de zinc o manganeso (Fang et al., 2021; Zhang et al., 2011).

La regresión logística binomial no mostró una asociación significativa entre el número de muestras positivas mediante qPCR, el municipio, el cultivar o el portainjerto (Cuadro 1). Por el contrario, el amarilleamiento generalizado se asoció de forma significativa con el aumento de la probabilidad de detección de *C*Las mediante qPCR (OR = 2.29; $p < 0.001$), mientras que las hojas pequeñas mostraron asociación más débil, aunque

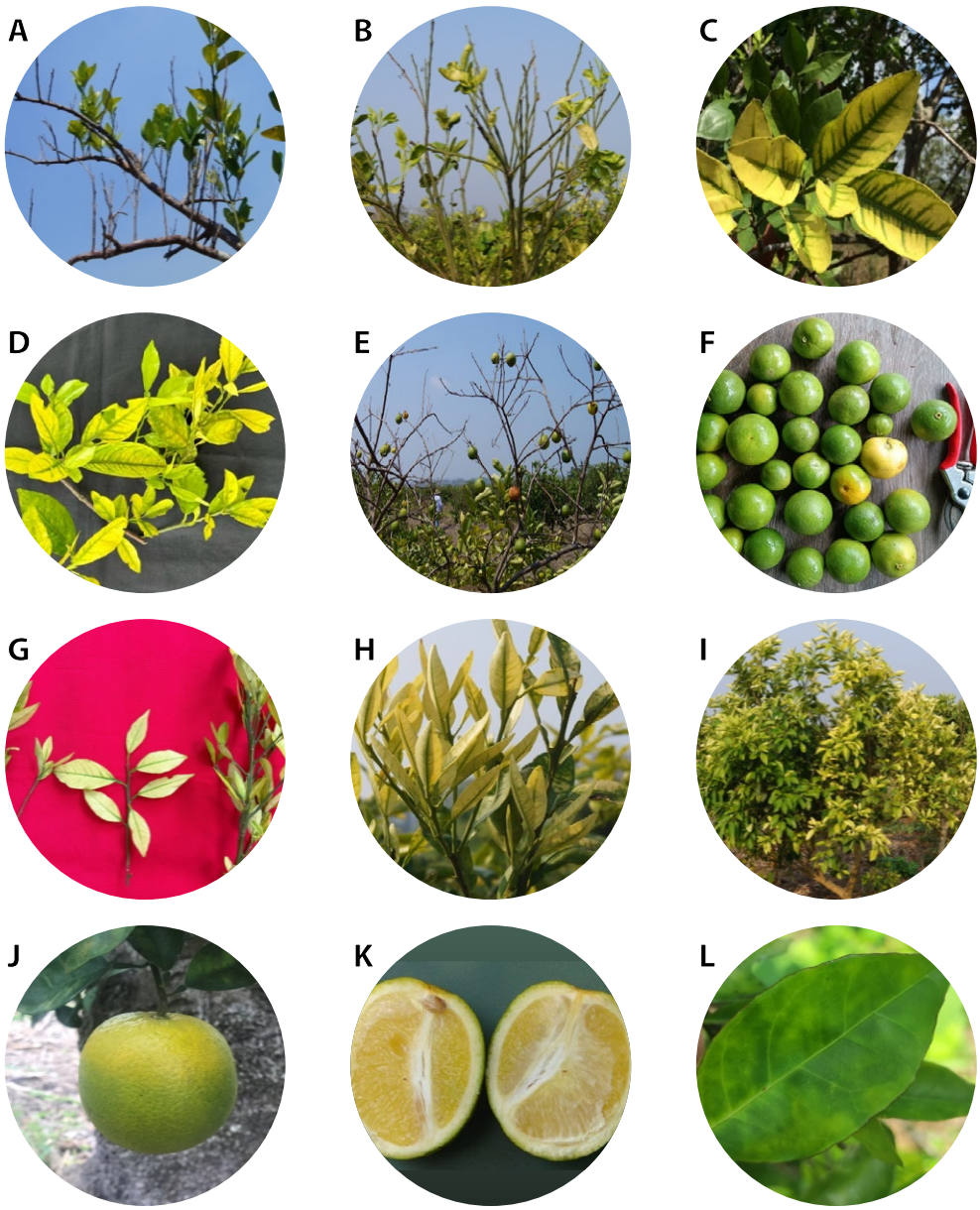


Figure 1. Symptoms observed in citrus orchards in northern Veracruz during field studies conducted in May, June, September, and November 2022: A) and B) dry branches, C) and D) yellow shoots, E) and F) small fruits, G) and H) small and yellow leaves, I) generalized yellowing, J) inverted ripening, K) asymmetric fruit split in half, and L) leaf with irregular mottling.

Figura 1. Síntomas observados en huertos de cítricos del norte de Veracruz durante los estudios de campo realizados en mayo, junio, septiembre y noviembre de 2022: A) y B) ramas secas, C) y D) brotes amarillos, E) y F) frutos pequeños, G) y H) hojas pequeñas y amarillas, I) amarilleamiento generalizado, J) maduración invertida, K) fruto asimétrico partido por la mitad y L) hoja con manchas irregulares.

tissues (Thakuria et al., 2023; Vashisth & Kadyampakeni, 2020), which is consistent with the symptoms observed in the present study.

Classical HLB symptoms reported in the literature include asymmetric leaf mottling (Figure 1L), off-season flowering, small (Figures 1E and 1F) and asymmetric fruits with aborted seeds (Figure 1K), inverted ripening (Figure 1J), and premature fruit drop (Bové, 2006;

significativa (OR = 1.69; p = 0.041) (Cuadro 1). Estos resultados indican que el amarilleamiento generalizado fue el síntoma más estrechamente relacionado con la detección molecular de *C*Las en los huertos analizados.

Das et al. (2021) describieron brotes amarillos, hojas moteadas, maduración invertida, hojas pequeñas y amarillas semejantes a los síntomas de la carencia de zinc, y enverdecimiento del extremo estilar en

Table 1. Odds ratios (OR) from the binomial logistic regression model for the association of municipality, cultivar, rootstock, and field-observed symptoms with *Candidatus* Liberibacter asiaticus qPCR positivity.

Cuadro 1. Razones de probabilidades (OR) obtenidas del modelo de regresión logística binomial para la asociación entre municipio, cultivar, portainjerto y síntomas observados en campo con el número de muestras positivas a *Candidatus* Liberibacter asiaticus mediante qPCR.

Variable	Estimated / Estimado	SE / EE	Chi-square / Chi-cuadrado	*p* > chi-square / *p* > chi-cuadrado	OR	95 % confidence limits / Límites de confianza de 95 %	
Municipality / Municipio							
Castillo de Teayo	1.42	6.86	0.98	0.32	6.78	2.11	12.90
Cazones	6.92	0.47	0.00	1.00	6.18	0.98	7.93
Chicontepec	-1.07	0.41	4.16	0.04	0.83*	0.02	1.67
Ixhuatán	0.92	0.56	3.35	0.07	1.02	0.05	2.25
Papantla	0.28	0.47	3.96	0.05	0.94	0.01	1.93
Tihuatlán	0.42	0.40	0.46	0.50	0.27	0.10	0.54
Cultivar							
Persian lime / Lima persa	27.62	159.50	0.01	0.92	16.89	20.17	
Mandarin / Mandarino	27.20	159.50	0.01	0.91	18.34	15.02	30.73
Sweet orange / Naranjo	29.12	159.50	0.01	0.90	19.49	16.04	40.93
Grapefruit / Pomelo	35.51	160.30	0.02	0.88	24.76	20.08	35.81
Rootstock / Portainjerto							
Citrange C-35 (*C. sinensis* × *Poncirus trifoliata*)	0.37	12.59	0.00	0.96	0.65	0.03	NE
Citrange Carrizo (*C. sinensis* × *P. trifoliata*)	-7.97	6.60	1.45	0.23	7.96	3.04	NE
Sour orange (*C. aurantium*)	-7.14	6.58	0.88	0.35	6.17	1.52	NE
Volkameriano (*C. volkameriana*)	6.09	13.89	0.72	0.92	1.70	4.02	NE
Symptoms / Síntomas							
Generalized yellowing / Amarilleamiento generalizado	0.96	0.28	11.50	0.001	**2.29****	1.27	4.07
Yellow shoots / Brotes amarillos	-0.91	0.27	11.49	0.001	0.41*	0.22	0.73
Dry branches / Ramas secas	-0.77	0.29	7.11	0.001	0.68*	0.39	1.24
Small leaves / Hojas pequeñas	0.54	0.26	4.15	0.041	**1.69****	1.00	2.89

SE: standard error of the estimate; NE: not estimable (insufficient frequencies); *: significant ($\alpha \leq 0.05$); **: highly significant ($\alpha \leq 0.01$).

EE: error estándar del estimado; NE: no estimado (frecuencias insuficientes); *: significativo ($\alpha \leq 0.05$); **: altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$).

Cimó et al., 2013; da Graça et al., 2015; Whitaker et al., 2014). However, these symptoms have not been as frequent in orange trees in northern Veracruz over the last eight years. Fang et al. (2021) mention that HLB symptoms depend on cultivar, tree age, season, and stage of infection, and that they can be expressed in one or more tissues. Therefore, to avoid confusion among producers, students, and researchers, *C*Las infection must be verified using specific tests rather than assuming the plant is infected.

Regarding 'Shatangju' mandarin fruits, inverted ripening was observed: the fruits turn from green to yellow at the calyx end, rather than at the style end (Zhang et al., 2011). However, this symptom was uncommon in sweet orange and was not observed in Persian lime during the present survey. These findings

naranjos como síntomas comunes del HLB en India. Los patrones cloróticos y los brotes amarillos en las hojas afectadas por HLB se han relacionado con la alteración de los cloroplastos y la acumulación de almidón en los tejidos foliares (Thakuria et al., 2023; Vashisth & Kadyampakeni, 2020), lo cual concuerda con los síntomas observados en el presente estudio.

Entre los síntomas clásicos del HLB descritos en la literatura se incluyen el moteado asimétrico de las hojas (Figura 1L), floración fuera de temporada, frutos pequeños (Figuras 1E y 1F) y asimétricos con semillas abortadas (Figura 1K), maduración invertida (Figura 1J) y caída prematura de los frutos (Bové, 2006; Cimó et al., 2013; da Graça et al., 2015; Whitaker et al., 2014). Sin embargo, estos síntomas no fueron tan frecuentes en naranjos del norte de Veracruz en los últimos ocho

indicate that several symptoms traditionally considered diagnostic for HLB are not consistently expressed under Veracruz field conditions and therefore should not be used as the sole criterion for disease diagnosis.

The qPCR detected *C*Las in 777 of the 800 symptomatic samples analyzed: 97.6 % in orange, 95.0 % in grapefruit, 93.5 % in Persian lime, and 90.3 % in mandarin, while across communities it ranged from 94 % in Chicontepec to 98.7 % in Ixhuatlan de Madero and Castillo de Teayo (Figure 2). These values are considerably higher than those reported by Contreras-Maya et al. (2019) in five municipalities: Castillo de Teayo (0 %), Papantla (0 %), Tihuatlán (6 %), Álamo (20 %), and Cazones (24 %), suggesting an increase in the proportion of symptomatic trees carrying *C*Las.

The discrepancy between classical HLB symptom descriptions and the symptom pattern observed in northern Veracruz may be related to differences between controlled experimental studies and commercial orchard conditions. Experimental characterization studies are commonly conducted on young (from six to 18 months old) and healthy plants maintained under controlled temperature, humidity, irrigation, and nutritional conditions until typical symptoms develop (Bové, 2006; Cimó et al., 2013; da Graça et al., 2015; Whitaker et al., 2014). In contrast, commercial orchards in Veracruz contain trees of different ages, cultivars, and rootstocks growing under diverse edaphoclimatic and management conditions.

años. Fang et al. (2021) señalan que los síntomas del HLB dependen del cultivar, edad del árbol, estación del año y fase de infección, y que se pueden manifestar en uno o varios tejidos. Por lo tanto, para evitar confusiones entre productores, estudiantes e investigadores, la infección por *C*Las se debe verificar mediante pruebas específicas, en lugar de asegurar que la planta está infectada.

En cuanto a los frutos de mandarina 'Shatangju', se observó maduración invertida: los frutos pasaron de verde a amarillo en el extremo del cáliz, en lugar del extremo del estilo (Zhang et al., 2011). Sin embargo, este síntoma fue poco frecuente en naranja y no se observó en lima persa durante el presente estudio. Estos resultados indican que varios síntomas considerados característicos del HLB no se manifiestan de forma sistemática en las condiciones de campo en Veracruz y, por lo tanto, no se deberían utilizar como único criterio para el diagnóstico de la enfermedad.

La qPCR detectó *C*Las en 777 de las 800 muestras con síntomas analizadas: 97.6 % en naranjo, 95.0 % en pomelo, 93.5 % en lima persa y 90.3 % en mandarino, mientras que en las comunidades varió de 94 % en Chicontepec a 98.7 % en Ixhuatlán de Madero y Castillo de Teayo (Figura 2). Estos valores son considerablemente superiores a los reportados por Contreras-Maya et al. (2019) en cinco municipios: Castillo de Teayo (0 %), Papantla (0 %), Tihuatlán (6 %), Álamo (20 %) y Cazones (24 %), lo que sugiere un aumento de la proporción de árboles con síntomas portadores de *C*Las.

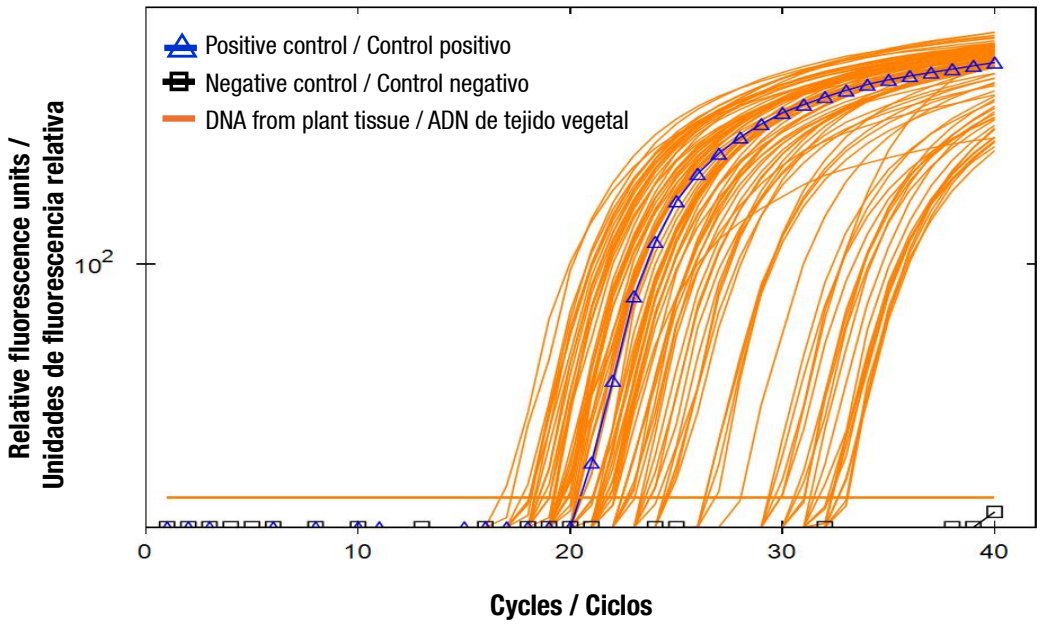


Figure 2. Real-time PCR amplification curves for the detection of *Candidatus* Liberibacter asiaticus in symptomatic citrus tissue samples.

Figura 2. Curvas de amplificación por PCR en tiempo real para la detección de *Candidatus* Liberibacter asiaticus en muestras de tejido de cítricos con síntomas.

In addition, other citrus pathogens, including CTV, CPsV, CEVd, and CVd-II, have been reported in Veracruz orchards (Contreras-Maya et al., 2018; Contreras-Maya & Villegas-Monter, 2023; Villegas-Monter et al., 2024), which may contribute to symptom overlap and complicate field diagnosis.

Based on field observations, two contrasting scenarios emerge. Official reports such as the *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria - Dirección General de Sanidad Vegetal* (SADER-SENASICA-DGSV, 2024, 2025) suggest that pests in Mexican citriculture have been under control since 2009, following the implementation of the Mexican Official Emergency Standard NOM-EM-047-FITO-2009 (SAGARPA, 2009), which established a certification program and a national campaign for the monitoring and control of *Diaphorina citri*, the primary vector of *C*Las. This standard requires eliminating areas under phytosanitary control, removing infected material, and strictly prohibiting the movement of infected vegetative material as key measures to mitigate the risk of introducing and spreading HLB. According to Pérez-Zarate et al. (2024), in Mexico, HLB management involves controlling the insect vector, using certified plants, and removing diseased plants.

However, in northern Veracruz, the mortality rate of citrus trees has increased significantly in recent years. This situation has reduced production and affected producers, harvesters, transportation services, and the juice-processing industry. Mexican citriculture is particularly vulnerable to HLB, as most citrus producers are smallholders located in highly marginalized municipalities, with limited financial resources and restricted access to technical information, factors that significantly hinder investment in crop health management (Villar-Luna et al., 2024). Consequently, immediate actions are required, including the rigorous enforcement of the existing standard (NOM-EM-047-FITO-2009 [SAGARPA, 2009]), a comprehensive revision of the certification and citrus plant production schemes, strengthened producer training programs, and the implementation of integrated management practices such as balanced fertilization, vector control, irrigation, and pruning.

Field observations indicated widespread use of non-certified nursery plants in several surveyed communities. In Álamo, for example, four non-certified roadside nurseries were located within approximately 5 km of one another, and each contained more than 40 000 plants. More than 30 nurseries of this type were identified across the municipality, which, according to reports, local growers use as planting material. Because some of these nurseries were located near commercial orchards with confirmed *C*Las infections, they may have served as sources of pathogen dissemination.

La discrepancia entre las descripciones clásicas de los síntomas del HLB y el patrón observado en el norte de Veracruz podría estar relacionada con las diferencias entre los estudios experimentales controlados y las condiciones de los huertos comerciales. Los estudios de caracterización experimental se suelen realizar con plantas jóvenes (de entre seis y 18 meses de edad) y sanas, en condiciones controladas de temperatura, humedad, riego y nutrición hasta que aparecen los síntomas típicos (Bové, 2006; Cimó et al., 2013; da Graça et al., 2015; Whitaker et al., 2014). Por el contrario, los huertos comerciales de Veracruz cuentan con árboles de diferentes edades, cultivares y portainjertos que crecen en diversas condiciones edafoclimáticas y de manejo. Además, se han detectado otros patógenos de los cítricos, como CTV, CPsV, CEVd y CVd-II, en los huertos de Veracruz (Contreras-Maya et al., 2018; Contreras-Maya & Villegas-Monter, 2023; Villegas-Monter et al., 2024), lo que puede contribuir a la superposición de síntomas y complicar el diagnóstico en campo.

A partir de las observaciones en campo, se perfilan dos escenarios opuestos. Informes oficiales como los de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria - Dirección General de Sanidad Vegetal (SADER-SENASICA-DGSV, 2024, 2025) indican que las plagas en la citricultura mexicana están controladas desde 2009, después de la implementación de la Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-047-FITO-2009 (SAGARPA, 2009), que estableció un programa de certificación y una campaña nacional para el seguimiento y el control de *Diaphorina citri*, el principal vector de *C*Las. Esta norma exige la eliminación de material vegetal infectado y la prohibición estricta del traslado de material vegetativo infectado como medidas clave para mitigar el riesgo de introducción y propagación del HLB. De acuerdo con Pérez-Zarate et al. (2024), en México, el manejo del HLB consiste en controlar al insecto vector, utilizar plantas certificadas y eliminar las plantas enfermas.

No obstante, en el norte de Veracruz, la mortalidad de árboles de cítricos ha aumentado considerablemente en los últimos años. Esta situación ha reducido la producción y ha afectado a productores, recolectores, servicios de transporte y a la industria procesadora de jugos. La citricultura mexicana es especialmente vulnerable al HLB, ya que la mayoría de los productores son pequeños agricultores ubicados en municipios muy marginados, con recursos económicos limitados y acceso restringido a la información técnica, factores que dificultan la inversión en el manejo de la sanidad de los cultivos (Villar-Luna et al., 2024). Por consiguiente, es necesario adoptar medidas inmediatas, como la aplicación de la norma vigente (NOM-EM-047-FITO-2009 [SAGARPA, 2009]), la revisión exhaustiva de los sistemas de certificación

Among the samples collected in Álamo, 48 originated from trees between one and five years old, of which 47 were positive for *C*Las by qPCR. The high positivity rate among relatively young symptomatic trees raises the possibility that some plants may have acquired the pathogen before establishment in the field. These findings indicate a high prevalence of *C*Las among symptomatic trees in the surveyed communities and emphasize the need for preventive measures targeting both the production and distribution of planting material and the management of infected trees.

Some affected communities have already removed citrus plantations or are in the process of doing so. In contrast, orchards showing less severe symptoms have maintained production through management practices that include pruning, nutritional management, and pest control. Although these practices may help maintain tree productivity and vigor, their capacity to delay disease progression should be evaluated systematically. The contrasting situations observed among communities underscore the importance of timely disease management and the implementation of integrated strategies to reduce the spread and impact of HLB in northern Veracruz.

HLB infection disrupts plant metabolism through nutrient depletion and interference with nutrient transport, affecting plant growth, productivity, and fruit development (Bové, 2006; Robles-González et al., 2017). As the duration of infection increases, nutrient deficiencies and carbohydrate imbalances become more pronounced in leaves and roots (Rosales & Burns, 2011). These physiological alterations may contribute to impaired plant development, shoot and branch dieback, and premature leaf abscission (Cimó et al., 2013).

It is essential to conduct studies with each species (orange, mandarin, grapefruit, Persian lime, and Mexican lime) grafted onto different rootstocks to understand the response to the graft-rootstock interaction. Field observations suggest differences in symptom severity among citrus species. Persian lime showed less evident symptoms, whereas mandarin exhibited more pronounced symptom expression. These observations should be interpreted cautiously because symptom severity can also be influenced by tree age, infection stage, environmental conditions, nutritional status, and management practices.

Tree decline and mortality cannot be attributed exclusively to *C*Las based on field observations because trees may be infected by other pathogens or exhibit nutritional disorders. Nevertheless, *C*Las infection can reduce plant vigor and increase susceptibility to secondary biotic and abiotic stress. Therefore, understanding HLB progression in northern Veracruz requires an integrated approach that considers

y de producción de plantas, el refuerzo de los programas de formación de productores y la implementación de prácticas de manejo integrado como fertilización, control de vectores, riego, poda, entre otras.

Las observaciones en campo evidenciaron el uso generalizado de plantas no certificadas en varias de las comunidades estudiadas. En Álamo, por ejemplo, se localizaron cuatro viveros de carretera sin certificar situados a unos 5 km de distancia entre sí, y cada uno de ellos contaba con más de 40 000 plantas. Se identificaron más de 30 viveros de este tipo en todo el municipio, que los productores locales utilizan como material de plantación. Debido a que algunos de estos viveros se encontraban cerca de huertos comerciales con casos confirmados de infección por *C*Las, es posible que hayan servido como fuente de propagación del patógeno.

De las muestras recolectadas en Álamo, 48 procedían de árboles de entre uno y cinco años, de los cuales 47 dieron positivo a *C*Las mediante qPCR. El elevado número de muestras positivas entre árboles relativamente jóvenes con síntomas sugiere que algunas plantas contrajeron el patógeno antes de ser establecidas en campo. Estos resultados indican elevada prevalencia de *C*Las entre los árboles con síntomas de las comunidades estudiadas y exponen la necesidad de adoptar medidas preventivas dirigidas tanto a la producción y distribución del material de plantación como al manejo de árboles infectados.

Algunas comunidades afectadas ya han eliminado las plantaciones de cítricos o están en proceso de hacerlo. Por el contrario, los huertos con síntomas menos graves han mantenido su producción debido a prácticas como la poda, el manejo nutricional y el control de plagas. Aunque estas prácticas pueden contribuir a mantener la productividad y el vigor de los árboles, es necesario evaluar su capacidad para retrasar la evolución de la enfermedad. Las situaciones contrastantes entre las comunidades evidencian la importancia de un manejo oportuno de la enfermedad y de la aplicación de estrategias integradas para reducir la propagación y el impacto del HLB en el norte de Veracruz.

La infección por HLB altera el metabolismo de las plantas mediante el agotamiento de nutrientes y la interferencia en su transporte, lo que afecta el crecimiento de las plantas, su productividad y el desarrollo de los frutos (Bové, 2006; Robles-González et al., 2017). A medida que aumenta la infección, las carencias nutricionales y los desequilibrios de hidratos de carbono se hacen más evidentes en las hojas y las raíces (Rosales & Burns, 2011). Estas alteraciones fisiológicas pueden ocasionar desarrollo deficiente de la planta, muerte regresiva de brotes y ramas, así como caída prematura de hojas (Cimó et al., 2013).

interactions among *C*Las, other citrus pathogens, host genotype, and environmental conditions.

Conclusions

In northern Veracruz, inverted ripening, asymmetric fruit development, and irregular blotchy mottling on orange leaves were not reliable indicators of HLB because these symptoms were observed infrequently under the environmental and management conditions of the surveyed orchards. In contrast, generalized leaf chlorosis and reduced leaf size were significantly associated with *C*Las qPCR positivity. The logistic regression model identified generalized yellowing and small leaves as predictors of a positive qPCR result.

The potential coexistence of *C*Las with other pathogens and the influence of environmental and management factors should be considered when interpreting symptom expression and assessing tree decline.

Conflict of interest statement

The authors declare that we have no known economic conflicts of interest or personal relationships that may have influenced the work presented in this article.

Artificial intelligence (AI) use statement

The authors declare that they have not used generative AI or AI-assisted technologies in developing this contribution.

End of English version

References / Referencias

Bové, J. M. (2006). Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, *88(1)*, 7–37. https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00000806.pdf

Cimó, G., Bianco, R. L., Gonzalez, P., Bandaranayake, W., Etxeberria, E., & Syvertsen, J. P. (2013). Carbohydrate and nutritional responses to stem girdling and drought stress with respect to understanding symptoms of huanglongbing in citrus. *HortScience*, *48(7)*, 920–928. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.7.920

Coletta-Filho, H. D., Targon, M. L. P. N., Takita, M. A., De Negri, J. D., Pompeu, J., Machado, M. A., do Amaral, A. M., & Muller, G. W. (2004). First report of the causal agent of huanglongbing ("*Candidatus* Liberibacter asiaticus") in Brazil. *Plant Disease, 88(12)*, 1382. https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.12.1382C

Es fundamental realizar estudios con cada una de las especies (naranja, mandarina, pomelo, lima persa y lima ácida mexicana) injertadas en diferentes portainjertos para comprender la respuesta de la interacción injerto/portainjerto. Las observaciones de campo muestran diferencias en la intensidad de los síntomas entre especies. La lima persa presentó síntomas menos evidentes, mientras que la mandarina mostró síntomas más exacerbados. Estas observaciones se deben interpretar con cuidado, ya que los síntomas también pueden estar relacionados con la edad del árbol, la fase de la infección, las condiciones ambientales, el estado nutricional y las prácticas de manejo.

El deterioro y mortalidad de los árboles no se pueden atribuir exclusivamente al *C*Las basándose en observaciones de campo, ya que los árboles pueden estar infectados por otros patógenos o presentar trastornos nutricionales. Sin embargo, la infección por *C*Las puede disminuir el vigor de las plantas y aumentar la susceptibilidad al estrés biótico y abiótico secundario. Por lo tanto, para comprender el progreso del HLB en el norte de Veracruz es necesario adoptar un enfoque integrado que considere las interacciones entre *C*Las, otros patógenos de los cítricos, genotipo del huésped y condiciones ambientales.

Conclusiones

En el norte de Veracruz, la maduración invertida, el desarrollo asimétrico de los frutos y las manchas irregulares en las hojas de los naranjos no resultaron ser indicadores fiables del HLB, ya que estos síntomas se observaron con poca frecuencia en las condiciones ambientales y de manejo de los huertos estudiados. Por el contrario, la clorosis generalizada de las hojas y el tamaño reducido de estas se asociaron de forma significativa con el porcentaje de muestras positivas a *C*Las mediante qPCR. El modelo de regresión logística identificó el amarilleamiento generalizado y hojas pequeñas como factores predictivos de un resultado positivo en la qPCR.

Al interpretar los síntomas y evaluar el deterioro de los árboles, se debe considerar la posible coexistencia de *C*Las con otros patógenos, así como la influencia de factores ambientales y de manejo.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de intereses económicos ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

Contreras-Maya, R., Nava-Diaz, C., Villegas-Monter, A., Mora Aguilera, J. A., & Ochoa-Martinez, D. L. (2018). First report of citrus psorosis virus (CPsV) in persian lime in Veracruz, Mexico. *Journal of Plant Pathology*, *100*, 115. https://doi.org/10.1007/s42161-018-0011-4

Contreras-Maya, R., Ovando-Barroso, E., & Villegas-Monter, A. (2019). Presencia de *Citrus tristeza virus* tipo VT en la región centro-norte de Veracruz, México. In S. A. Curti-Díaz (Ed.), *Avances en investigación agrícola, pecuaria, forestal, acuícola, pesquería, desarrollo rural, transferencia de tecnología, biotecnología, ambiente, recursos naturales y cambio climático* (pp. 2296–2312). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Contreras-Maya, R., & Villegas-Monter, A. (2023). Psorosis, exocortis y cachexia, enfermedades ignoradas en la citricultura mexicana. *Agro-Divulgación*, *3(4)*, 53–56 https://doi.org/10.54767/ad.v3i4.235

da Graça, J. V., Kunta, M., Sétamou, M., Rascoe, J., Nakhla, M. K., Salas, B., & Bartels, D. W. (2015). Huanglongbing in Texas: Report on the first detections in commercial citrus. *Journal of Citrus Pathology*, *2*(1), 1–6. https://doi.org/10.5070/C421027939

Das, A. K., Chichghare, S. A., Sharma, S. K., Kumar, J. P. T., Singh, S., Baranwal, V. K., Kumar, A., & Nerkar, S. (2021). Genetic diversity and population structure of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' associated with citrus Huanglongbing in India based on the prophage types. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *37(6)*, 95. https://doi.org/10.1007/s11274-021-03057-8

Falaki, F. (2022). Citrus virus and viroid diseases. In M. P. Gonzato, & J. S. Santos (Eds.), *Citrus research*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.108578

Fang, F., Guo, H., Zhao, A., Li, T., Liao, H., Deng, X., Xu, M., & Zheng, Z. (2021). A significantly high abundance of "*Candidatus* Liberibacter asiaticus" in citrus fruit pith: in planta transcriptome and anatomical analyses. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 681251. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.681251

Gabriel, D., Gottwald, T. R., Lopes, S. A., & Wulff, N. A. (2020). Bacterial pathogens of citrus: citrus canker, citrus variegated chlorosis and Huanglongbing. In M. Talon, M. Caruso, & F. G. Gmitter (Eds.), *The genus citrus* (pp. 371–390). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812163-4.00018-8

Huang, J., Alanís-Martínez, I., Kumagai, L., Dai, Z., Zheng, Z., Perez-de Leon, A. A., Chen, J., & Deng, X. (2022). Machine learning and analysis of genomic diversity of "*Candidatus* Liberibacter asiaticus" strains from 20 citrus production states in Mexico. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1052680. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1052680

Kumagai, L. B., LeVesque, C. S., Blomquist, C. L., Madishetty, K., Guo, Y., Woods, P. W., Rooney-Latham, S., Rascoe, J., Gallindo, T., & Polek, M. (2013). First report of "*Candidatus* Liberibacter asiaticus" associated with citrus huanglongbing in California. *Plant Disease*, *97*(2), 282–283. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-12-0845-PDN

Li, W. B., Hartung, J. S., & Levy, L. (2006). Quantitative real-time PCR for detection and identification of Candidatus Liberibacter species associated with citrus huanglongbing. *Journal of Microbiological Methods*, *66*(1), 104–115. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.10.018

Luis, M., Collazo, C., Llauger, R., Blanco, E., Peña, I., López, D., González, C., Casín, J. C., Batista, L., Kitajima, E., Tanaka, F. A. O., Salaroli, R. B., Teixeira, D. C., Martins, E. C., & Bové, J. M. (2009). Occurrence of citrus huanglongbing in Cuba and association of the disease with *Candidatus* Liberibacter asiaticus. *Journal of Plant Pathology*, *91*(3), 709–712. https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00002057.pdf

Manzanilla-Ramírez, M. A., Villegas-Monter, A., Velázquez-Monreal, J. J., Zavaleta-Mancera, H. A., Sandoval-Villa, M., & Muñoz-Orozco, A. (2019). Physiological changes in Mexican lemon trees in production infected with HLB. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *10*(7), 1603–1614. https://doi.org/10.29312/remexca.v10i7.1957

Pérez-Zarate, L. A., Osorio-Acosta, F., Ortega-Arenas, L. D., Martínez-Hernández, A., & Villanueva-Jiménez, J. A. (2024). Huanglongbing (HLB) de los cítricos: impacto económico y variabilidad genética del patógeno en México. *Agro-Divulgación*, *4*(2), 71–82. https://doi.org/10.54767/ad.v4i2.301

Robles-González, M. M., Orozco-Santos, M., Manzanilla-Ramírez, M. A., Velázquez-Monreal, J. J., & Carrillo-Medrano, S. H. (2017). Efecto del HLB sobre el rendimiento de limón mexicano en Colima, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *8*(5), 101–111. https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.111

Rosales, R., & Burns, J. K. (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

Rovetto, E., La Spada, F., Aloi, F., Riolo, M., Pane, A., Garbelotto, M., & Cacciola, S. O. (2024). Green solutions and new technologies for sustainable management of fungus and oomycete diseases in the citrus fruit supply chain. *Journal of Plant Pathology*, 106, 411–437. https://doi.org/10.1007/s42161-023-01543-6

SAS Institute, Inc. (2014). *User's guide (ver. 9.4)* [software]. SAS Institute, Inc. https://www.sas.com/es_mx/home.html

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2009). *Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-047-FITO-2009, por la que se establecen las acciones fitosanitarias para mitigar el riesgo de introducción y dispersión del Huanglongbing (HLB) de los cítricos (Candidatus Liberibacter spp.) en el territorio nacional*. https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5097925

Declaración del uso de inteligencia artificial (IA)

Los autores declaramos no haber utilizado IA generativa o tecnologías asistidas por IA para el desarrollo del presente manuscrito.

Fin de la versión en español

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2010). *Acuerdo por el que se dan a conocer las medidas fitosanitarias que deberán aplicarse para el control del Huanglongbing (Candidatus Liberibacter spp.) y su vector*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5155459&fecha=16/08/2010

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria - Dirección General de Sanidad Vegetal (SADER-SENASICA-DGSV). (2024). *Segundo informe mensual: Campaña de protección fitosanitaria para plagas de los cítricos*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/906991/01_Febrero_Plagas_de_los_c_tricos_2024.pdf

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria - Dirección General de Sanidad Vegetal (SADER-SENASICA-DGSV). (2025). Segundo informe mensual: Campaña de protección fitosanitaria plagas de los cítricos. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/990168/2._Segundo_Informe_Mensual_CITRICOS_2025.pdf

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2016). *Huanglongbing HLB, una plaga que afecta la producción de cítricos*. https://www.gob.mx/senasica/articulos/huanglongbing-hlb-una-plaga-que-afecta-la-produccion-de-citricos

Thakuria, D., Chaliha, C., Dutta, P., Sinha, S., Uzir, P., Singhc, S. B., Hazarika, S., Sahoo, L., Kharbikar, L. L., & Singh, D. (2023). Citrus huanglongbing (HLB): Diagnostic and management options. *Physiological and Molecular Plant Pathology, 125*, 102016. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102016

Vashisth, T., & Kadyampakeni, D. (2020). Diagnosis and management of nutrient constraints in citrus. In A. K. Srivastava & C. Hu (Eds.), *Fruit Crops* (pp. 723–737). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732-6.00049-6

Villar-Luna, H., Santos-Cervantes, M. E., Rodríguez-Negrete, E. A., Méndez-Lozano, J., & Leyva-López, N. E. (2024). Economic and social impact of huanglongbing on the Mexico citrus industry: A review and future perspectives. *Horticulturae*, *10(5)*, 481. https://doi.org/10.3390/horticulturae10050481

Villegas-Monter, A., Alarcon-Zuniga, B., & Contreras-Maya, R. (2024). Diagnosis and distribution of *Citrus tristeza virus* in northern Veracruz, Mexico. *Agro Productividad*, *17*(5), 153–163. https://doi.org/10.32854/agrop.v17i5.2706

Wang, Y., Zhou, L., Yu, X., Stover, E., Luo, F., & 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

Whitaker, D. C., Giurcanu, M. C., Young, L. J., Gonzalez, P., Etxeberria, E., Roberts, P., Hendricks, K., & Roman, F. (2014). Starch content of citrus leaves permits diagnosis of huanglongbing in the warm season but not cool season. *HortScience*, *49*(6), 757–762. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.49.6.757

Yao, S. M., Wu, M. L., & Hung, T. H. (2023). Development of multiplex RT-PCR assay for the simultaneous detection of four systemic diseases infecting citrus. *Agriculture*, *13(6)*, 1227. https://doi.org/10.3390/agriculture13061227

Zhang, P., Guan, L., Liu, R., Pu, X., & Deng, X. (2011). Relationship between the "red nose" fruit of Shatangju tangerine with "*Candidatus* Liberibacter asiaticus". *Chinese Journal of Tropical Crop*, *32*(4), 738–742. https://www.rdzwxb.com/EN/Y2011/V32/I4/738