



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**CICADÉLIDOS (HEMIPTERA: CICADELLIDAE)
ASOCIADOS CON *Xylella fastidiosa* (Wells) EN
ARÁNDANO Y ZARZAMORA DE EXPORTACIÓN EN
MICHOACÁN, MÉXICO**

JUAN ANDRÉS LARA GARCÍA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **Cicadélidos (Hemiptera: Cicadellidae) asociados con *Xylella fastidiosa* (Wells) en arándano y zarzamora de exportación en Michoacán, México** realizada por el alumno: **Juan Andrés Lara García** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

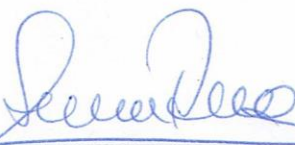
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA



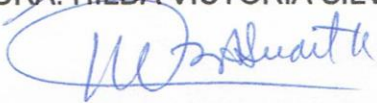
DRA. LAURA DELIA ORTEGA ARENAS

ASESORA



DRA. HILDA VICTORIA SILVA ROJAS

ASESORA



M.C. ALFONSINA JUDITH HERNANDEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, octubre de 2021

CICADÉLIDOS (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) ASOCIADOS CON *Xylella fastidiosa* (Wells) EN ARÁNDANO Y ZARZAMORA DE EXPORTACIÓN EN MICHOACÁN, MÉXICO

Juan Andrés Lara García, M.C.
Colegio de Postgraduados

RESUMEN

Los cicadélidos se encuentran entre las plagas más peligrosas de las berries debido a los daños directos que causan al alimentarse y a su capacidad para transmitir patógenos como la bacteria *Xylella fastidiosa*, agente causal de enfermedades de gran riesgo en la producción de varios cultivos. El objetivo de este estudio fue determinar las especies y abundancia estacional de los cicadélidos asociados a plantaciones comerciales de zarzamora y arándano, en Michoacán, México y detectar la posible presencia de *X. fastidiosa* en cicadélidos capturados en el área de estudio. Los cicadélidos fueron colectados con trampas amarillas, aspirado y redeo, cada mes, en el periodo de junio a diciembre de 2020. Se obtuvieron 7,512 especímenes que representan a seis subfamilias, 18 tribus, 35 géneros, y 45 especies de Cicadellidae. En las subfamilias Cicadellinae y Deltocephalinae, se concentró el mayor número de especies. *Graphocephala rufimargo* (68%), *Scaphytopius nitridus* (5.07%), *Empoasca* sp. 1 (3.86%), *Empoasca* sp. 2 (3.37%), *Graminella cognita* (3.18%), *G. sonora* (3.15%), *Agallia quadripunctata* (2.76%) y *Dalbulus maidis* (2.53%) fueron las especies más abundantes. La mayor abundancia en zarzamora orgánica y convencional se registró en los meses de noviembre a diciembre, mientras que, en arándano de septiembre a diciembre, dinámica que coincidió con los periodos de fructificación y menor precipitación y temperatura. La inspección de *X. fastidiosa* se realizó en 28 plantas de zarzamora colectadas al azar y en 26 especies representativas de cicadélidos mediante la técnica de PCR punto final con los iniciadores RST31 y RST33. Los resultados obtenidos fueron negativos para todas las muestras analizadas, indicando la ausencia de la bacteria en cicadélidos y en las plantaciones estudiadas.

Palabras clave: Bacteria, zarzamora, arándano, PCR, plagas, vector

LEAFHOPPERS (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) ASSOCIATED WITH *Xylella fastidiosa* (Wells) ON BLUEBERRY AND BLACKBERRY EXPORT IN MICHOACAN, MEXICO

**Juan Andrés Lara García, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2021**

ABSTRACT

Leafhoppers are among the most threatening pests of berries due to their ability to cause direct feeding damage and to transmit pathogens such as *Xylella fastidiosa*, the causal agent of high-risk diseases in several crops. This study aimed to determine the species and seasonal abundance of leafhoppers associated with commercial blackberry and blueberry plantations in Michoacan, Mexico, and to detect the possible presence of *X. fastidiosa* in leafhoppers captured in the study area. The leafhoppers were collected monthly with yellow traps, vacuum, and netting from June to December 2020. A total of 7,512 specimens representing six subfamilies, 18 tribes, 35 genera, and 45 species of leafhoppers were identified. The largest number of species was concentrated in the subfamilies Cicadellinae and Deltocephalinae. *Graphocephala rufimargo* (68%), *Scaphytopius nitridus* (5.07%), *Empoasca* sp. 1 (3.86%), *Empoasca* sp. 2 (3.37%), *Graminella cognita* (3.18%), *G. sonora* (3.15%), *Agallia quadripunctata* (2.76%), and *Dalbulus maidis* (2.53%) were the most abundant species. The highest presence in organic and conventional blackberries was recorded from November to December, whereas in blueberry, it was recorded from September to December. This marked a dynamic that coincided with fruiting periods and lower precipitation and temperature. The detection of *X. fastidiosa* was performed on 28 randomly collected blackberry plants and 26 representative species of leafhoppers using the end-point PCR technique with primers RST31 and RST33. The results were negative for all the samples analysed, indicating the absence of the bacterium in the leafhoppers and the blackberry and blueberry plantations studied.

Key Words: Bacteria, blackberry, blueberry, PCR, pests, vector

DEDICATORIA

A mis padres, quienes me han apoyado en cada etapa de mi vida, por haberme proporcionado lo mejor que pudo estar en sus manos y las mejores lecciones de vida, además de enseñarme que en esta vida todo debe realizarse con inteligencia, esfuerzo, paciencia y dedicación.

A mi hermano, persona quien me ha apoyado y alentado a continuar aun cuando las cosas parezcan más difíciles.

A Berenice Nicolás, quien considero como mi familia y me alentó para seguir adelante y que de una forma u otra me dio sustento para culminar este proyecto.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por facilitarme los recursos para la realización de la Maestría en Ciencias.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por la oportunidad de poder realizar mis estudios de Maestría en Ciencias en el Posgrado de Fitosanidad en el departamento de Entomología y Acarología.

A mi Consejo Particular, conformado por la Dra. Laura Delia Ortega Arenas, Dra. Hilda Victoria Silva Rojas, M.C. Alfonsina Judith Hernández y M.C. Jorge Manuel Valdez Carrasco, por el apoyo, tiempo, esfuerzo y dedicación para llevar a cabo este proyecto de investigación.

Al LADIFIT y al laboratorio de Biotecnología y Patología de Semillas, por permitirme realizar los diagnósticos moleculares necesarios en la presente investigación.

A la M.C. Edith Blanco Rodríguez, por su ayuda en la corroboración de las especies de cicadélidos.

Al I. B. José Eduardo Godínez Alemán, por el apoyo técnico para llevar a cabo los diagnósticos moleculares.

Al Ing. Filiberto Guerrero Manzo por el apoyo logístico y facilidades para la realización del estudio en las plantaciones de su propiedad.

A mis amigos: Selene, Azael, Miguel, Ricardo, Oscar, Jairo, Laura, Sayde, Leonor y Franuel, quienes me han ayudado en algún momento importante en mi vida.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS	vi
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Producción de berries y su importancia en México	3
2.2. Condición fitosanitaria del cultivo de berries	4
2.3. Cicadélidos vectores de <i>Xylella fastidiosa</i>	6
2.4. Generalidades de <i>Xylella fastidiosa</i> Wells <i>et al.</i> , 1987	8
2.5. Transmisión de <i>Xylella fastidiosa</i> por cicadélidos	12
2.6 Métodos de inspección, diagnóstico y detección de <i>Xylella fastidiosa</i>	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Área de estudio	17
3.2. Muestreo de adultos	18
3.3. Determinación de especies.....	20
3.4. Importancia relativa.....	20
3.5. Análisis estadístico	21
3.6. Detección molecular de <i>Xylella fastidiosa</i> en plantas e insectos	21
3.7. Extracción de ADN de plantas e insectos	22
3.8. Detección de <i>X. fastidiosa</i> en plantas e insectos	23
IV. RESULTADOS.....	24
4.1. Determinación de especies e importancia relativa	24
4.2. Abundancia estacional	34
4.3. Detección molecular de <i>X. fastidiosa</i> en plantas.....	34
4.4. Detección molecular de <i>X. fastidiosa</i> en insectos	36
V. DISCUSIÓN	39

VI. CONCLUSIONES	42
VII. LITERATURA CITADA	43

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Especies de cicadélidos reportados como vectores de <i>Xylella fastidiosa</i> en el continente americano (Redak <i>et al.</i> , 2004; EFSA, 2015).....	8
Cuadro 2. Familias de hospedantes reportados para <i>Xylella fastidiosa</i> (EFSA, 2015; Jeger <i>et al.</i> , 2018).....	9
Cuadro 3. Especies silvestres hospedantes de <i>Xylella fastidiosa</i> en México (Oliva-Hurtado <i>et al.</i> , 2020).....	10
Cuadro 4. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Tipos e iniciadores utilizados en cada reacción	15
Cuadro 5. Especies de cicadélidos e importancia relativa, capturadas por tres métodos, en plantaciones comerciales de zarzamora y arándano sujetas a manejo orgánico y/o convencional en Atapan, Los Reyes, Michoacán, México.	31
Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson para las variables temperatura y precipitación en la abundancia estacional de cicadélidos, colectados en plantaciones de zarzamora y arándano con manejo orgánico y convencional en Los Reyes, Michoacán, México	36
Cuadro 7. Resultados de pruebas de PCR punto final con los iniciadores RST31 y RST33 usando el ADN total de insectos y plantas	37

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ubicación de trampas en plantación de zarzamora var. Dasha, “3 Parajes” bajo manejo orgánico en Atapan, municipio de Los Reyes, Michoacán	17
Figura 2. Ubicación de trampas en plantación de zarzamora var. Dasha, “4 Parajes” bajo manejo convencional en Atapan, municipio de Los Reyes, Michoacán	18
Figura 3. Ubicación de trampas en plantación de arándano var. Arana “4 Parajes” bajo manejo convencional en Atapan, municipio de Los Reyes, Michoacán	18
Figura 4. Métodos de colecta de cicadélidos en plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México: A) Trampa amarilla, B) Redeo y C) Aspirado.	19
Figura 5. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) <i>Acinopterus angulatus</i> ; B) <i>Acuera ultima</i> ; C) <i>Phera centrolineata</i> ; D) <i>Chlorogonalia coeruleovittata</i> ; E) <i>Sibovia recta</i> ; F) <i>Xyphon reticulatum</i>	25
Figura 6. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) <i>Paraulacisez figurata</i> ; B) <i>Draeculacephala minerva</i> ; C) <i>Homalodisca insolita</i> ; D) <i>Cyrtodisca major</i> ; E) <i>Graphocephala fennahi</i> ; F) <i>Graphocephala aurolineata</i>	26
Figura 7. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) <i>Graphocephala punctulata</i> ; B) <i>Graphocephala rufimargo</i> ; C) <i>Graphocephala flavovittata</i> ; D) <i>Graphocephala marathonsensis</i> ; E) <i>Plesiommata mollicula</i> ; F) <i>Osbornellus rarus</i>	27

Figura 8. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) <i>Texananus hosanus</i> ; B) <i>Spanbergiella mexicana</i> ; C) <i>Omanolidia bistyla</i> ; D) <i>Sibovia compta</i> ; E) <i>Homalodisca ichthyocephala</i> ; F) <i>Ponana woodruffi</i>	28
Figura 9. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) <i>Sanctanus fasciatus</i> ; B) <i>Scaphytopius nitridus</i> ; C) <i>Stirellus bicolor</i> ; D) <i>Trypanalebra maculata</i> ; E) <i>Agallia quadripunctata</i> ; F) <i>Daltonia blacki</i>	29
Figura 10. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) <i>Balclutha mexicana</i> ; B) <i>Coladonus beameri</i> ; C) <i>Amblysellus necopinus</i> ; D) <i>Exitianus picatus</i> ; E) <i>Dalbulus maidis</i> ; F) <i>Graminella sonora</i>	30
Figura 11. Abundancia estacional de cicadélidos capturados, por trampeo (T), aspirado (A) y redeo (R), en plantaciones de zarzamora en manejo orgánico, zarzamora en manejo convencional y arándano en manejo convencional, de junio a diciembre de 2020, en Los Reyes, Michoacán, México	35
Figura 12. Electroforesis de PCR punto final para detección de <i>X. fastidiosa</i> en chicharritas. Utilizando iniciadores RST31-RST33. Ob3= <i>O. bistyla</i> ; Gr1-3= <i>G. rufimargo</i> ; Gf1-3= <i>G. flavovittata</i> ; Sr1-3= <i>S. recta</i> ; Cc1-3= <i>C. coeruleovittata</i> ; Ds1-3= <i>Dilobopterus</i> sp; Xr1-3= <i>X. reticulatum</i> ; Dm1-3 = <i>D. minerva</i> ; Sc1-3= <i>S. compta</i> ; Sm1-3= <i>S. mexicana</i> ; Au1-3= <i>A. ultima</i> ; Cm1-2= <i>C. major</i> ; Gc1-3= <i>P. woodruffi</i> ; Or1-3= <i>O. rarus</i> ; Ga1-3= <i>G. aurolineata</i> ; Pf1-3= <i>P. figurata</i> ; Gi1-3= <i>G. fennahi</i> ; POS= Control positivo; NEG= Control negativo	38

I. INTRODUCCIÓN

La producción de frutillas o berries (fresas, frambuesas, arándanos y zarzamoras) se encuentra en constante riesgo por la presencia de plagas entre las que se encuentran las chicharritas o cicadélidos (Hemiptera: Cicadellidae), debido a que éstos insectos pueden destruir u obstruir el sitio de alimentación, extraer nutrientes y/o transmitir patógenos causales de graves enfermedades (Hail *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2013; Pérez-Mejía *et al.*, 2020). En este último grupo se considera a los cicadélidos en su interacción con *Xylella fastidiosa* Wells; una bacteria fastidiosa que representa un alto riesgo fitosanitario debido al numeroso rango de hospedantes que tiene, entre los que se encuentra la zarzamora (Elbeaino *et al.*, 2014) y arándano (Genova *et al.*, 2020). *X. fastidiosa* es el agente causal de la enfermedad de Pierce en vid, la clorosis variegada de los cítricos y la crespada del café, entre otras (Hail *et al.*, 2010). La bacteria se propaga de una manera rápida mediante insectos vectores, principalmente chicharritas (Cicadellidae) y salivazos (Cercopidae) (Janse y Obradovic, 2010; Camacho-Aguilar *et al.*, 2019). Actualmente hay identificadas 39 especies y 19 géneros de Cicadellidae transmisores de *X. fastidiosa* en el continente americano (EFSA, 2015). Tan solo en California, EUA existen al menos 20 especies de vectores de la bacteria en vid, de ellas, las más importantes históricamente son *Graphocephala atropunctata* (Signoret), *Draeculacephala minerva* (Ball) y *Xyphon (Carneocephala) fulgida* (Nottingham) (Redak *et al.*, 2004). En cítricos, en Yucatán, México, Blanco-Rodríguez *et al.* (2015) reportaron como potenciales vectores a *Oncometopia clarior* (Walker), *Hortensia similis* (Walker), *Phera obtusifrons* (Fowler) y *Homalodisca* sp (Stel); en vid, Purcell *et al.* (2014) notifican a *G. atropunctata* y *Phyllaenus spumaris* (Stel) y Camacho-Aguilar *et al.* (2019) a *Homalodisca vitripennis* (Germar); Redak *et al.* (2004) reportaron a *D. minerva* y *X. fulgida*; por último, en arándano Burbank *et al.* (2020) reportaron a *H. vitripennis*.

En México hasta el momento se tiene registro de la presencia de 40 especies de Cicadellidae asociados a arándano en la región productora de Jalisco, entre las que se encuentra *D. minerva* y *Homalodisca insolita* (Walker) (Pérez-Mejía *et al.*, 2020)

considerados vectores potenciales de *X. fastidiosa*, pero no se realizaron pruebas para verificar si eran o no portadoras de la bacteria.

1.1. OBJETIVOS

- Determinar las especies de cicadélidos presentes en las plantaciones comerciales de zarzamora y arándano, en Michoacán, México.
- Determinar la abundancia estacional e importancia relativa de los cicadélidos asociados a plantaciones comerciales de zarzamora y arándano, en Michoacán, México.
- Detectar la presencia de *X. fastidiosa* en cicadélidos capturados y con antecedentes como vectores de la bacteria.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Producción de berries y su importancia en México

Las berries o frutillas, incluyen alrededor de 700 especies nativas de Asia, Europa y Norteamérica como la zarzamora, frambuesa, fresa y arándano. Se consideran cultivos de climas fríos, aunque existen variedades e híbridos que se adaptan a climas templados y cálidos (Ricárdez *et al.*, 2016). A nivel internacional, México contribuye con el 10.2% de las berries que se consumen en el mundo.

En México se cultivan alrededor de 34 mil hectáreas de berries, con una producción estimada de 900 mil toneladas al año (SIAP, 2020). En 2019 México se ubicó en el ranking mundial como el quinto productor para arándano (48,999 t), segundo en frambuesa (128,848 t), y tercero en fresa (861,337 t) y primero en zarzamora (298,024 t). En este año las exportaciones de fresas y frambuesas frescas superaron los 900 millones de dólares (SIAP, 2020; FAOSTAT, 2021).

Los estados con mayor producción son Jalisco (29,471 t), Michoacán (7,619 t), Sinaloa (4,897 t) y Baja California (3,670 t), lo cuales aportan más del 60 por ciento de la producción nacional. En los últimos años ha habido un incremento significativo en volumen de producción de arándano, fresa y frambuesa debido entre otros aspectos a la incorporación de una mayor superficie de siembra, mejora en los rendimientos (SIAP, 2021), pero sobre todo debido a su buen nivel de rentabilidad y a la gran cantidad de importantes empresas comercializadoras de frutillas presentes que aseguran el proceso comercial y sirven de vínculo entre los productores y el mercado de exportación, principalmente con Estados Unidos, y en menor grado con otros mercados como Canadá, Japón y Europa (Castellanos-Flores *et al.*, 2013). Aunado a lo anterior, una alternativa que está cobrando importancia es la producción orgánica de frutillas, a través de la cual es posible participar en crecientes nichos de mercado con grandes diferenciales favorables en precio con respecto a la producción convencional.

Actualmente, de la superficie destinada a la siembra de arándano el 96.5% se encuentra bajo manejo convencional y el 3.5% a manejo orgánico. Para el caso de zarzamora, el 98.5% está bajo manejo convencional y el 1.5% sujeto a manejo orgánico (SIAP, 2021). En arándano, las variedades más utilizadas son Biloxi, Victoria, Ventura, JupiterBlue, BiancaBlue y AtlasBlue (Vargas, 2021) y para zarzamora Tupy, Choctaw, Shawnee, Kiowa, Comanche, Cheyenne y Cherokee (Rivas, 2016).

Michoacán destaca como líder nacional en producción de berries y en el año 2019 se colocó en primer lugar en la producción de zarzamora y fresa, y segundo en la producción de arándano y frambuesa (SIAP, 2020). Los municipios de Salvador Escalante (1,750 t), Los Reyes (1,380 t), Tangancícuaro (1,216 t) y Chilchota (588.3 t) encabezaron la lista como principales productores de arándano, mientras que Zamora (11,348.7 t), Tangancícuaro (5,658.8 t), Los Reyes (2,880 t) y Jacona (2,808 t) fueron para frambuesa. Para fresa se enlistaron Lagunillas (158,470 t), Zamora (149,290 t), Tangancícuaro, Ziracuaretiro (73,837 t) y Jacona (51,460 t) y la mayor producción de zarzamora se registró en Los Reyes (137,246.4 t), Peribán (59,296.1 t), Tacámbaro (20,178.6 t) (SIAP, 2021).

Las exportaciones mexicanas de berries, se realizan principalmente en fresco, siendo los primeros meses del año (enero a abril) la ventana de exportación más utilizada por los productores nacionales. En este sentido, la producción de berries en México se perfila como una trascendente actividad agrícola, ya que además de crear empleos, es una fuente importante en la generación de divisas para nuestro país, al aprovechar las ventajas comparativas y competitivas que nos brinda el mayor mercado consumidor de dichas frutas, especialmente durante el invierno (Castellanos-Flores *et al.*, 2013).

2.2. Condición fitosanitaria del cultivo de berries

El cultivo de berries (fresas, frambuesas, arándanos y zarzamoras) es afectado por un gran número de plagas y enfermedades que ocasionan daños en la planta y en el fruto, los cuales resultan en disminución del rendimiento y/o calidad de la cosecha. La

incidencia de los problemas sanitarios es variable anualmente de acuerdo a las condiciones climáticas, cultivares utilizados y prácticas del cultivo.

Entre las plagas más importantes y difíciles de controlar en la producción de berries se encuentran: *Drosophila suzukii* (Matsumura), *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Myzus persicae* (Sulzer), *Bemisia tabaci* (Gennadius), *Tetranychus urticae* (Koch), *Spodoptera exigua* (Hübner) y chicharritas o cicadélidos (Hemiptera: Cicadellidae). Las enfermedades del cultivo de berries son variadas en cuanto al organismo que las provocan y al órgano que dañan, siendo las más importantes las que afectan al fruto disminuyendo su calidad organoléptica. Entre las más comunes están: *Sphaerotheca macularis* (Wallroth), *Phytophthora fragariae* (Hickman), *Botrytis cinerea* (Persoon), *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz), *Rhizoctonia solani* (Kühn) y *Fusarium oxysporum* (Schlechtendal) (Aneberries, 2021; Garay-Serrano *et al.*, 2021).

Además, hay plagas y enfermedades asociadas a las berries que constituyen una amenaza hoy día para distintos cultivos de gran importancia estratégica, en todos los países donde aún no están presentes. Dentro de esta última categoría, se encuentra la bacteria *Xylella fastidiosa* Wells, que de acuerdo a la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias (NIMF) No. 5, “Glosario de términos fitosanitarios”, esta cumple con la definición de plaga cuarentenaria, ya que se encuentra ausente en el país y puede causar pérdidas económicas en cultivos hospedantes y con lo dispuesto en la NIMF No. 8, “Determinación de la situación de una plaga en un área”, *X. fastidiosa* es una plaga ausente en México para berries: no existen registros de la plaga (SENASICA, 2019).

Xylella fastidiosa puede dispersarse naturalmente mediante cicadélidos vectores que se alimentan del xilema, haz vascular donde se alberga esta bacteria (Redak *et al.*, 2004, Elbeaino *et al.*, 2014), habilidad que se ve favorecida por su corto ciclo de vida y su elevada dispersión junto con la adaptabilidad y movilidad de las poblaciones por lo cual, su impacto biológico y económico en sistemas agrícolas no debe de ser descartado (Pinedo-Escatel y Moya-Raygoza, 2018).

La dispersión de *X. fastidiosa* puede tener un impacto negativo en México, debido a que se cuenta con hospedantes vegetales de las diversas subespecies reportadas hasta la fecha, entre los que se encuentran cultivos de importancia en producción y superficie sembrada. Además, se ha reportado la presencia de arvenses hospedantes distribuidos en toda la República (Oliva-Hurtado *et al.*, 2020).

2.3. Cicadélidos vectores de *Xylella fastidiosa*

La mayoría de los artrópodos vectores de patógenos de plantas son insectos y, dentro de este grupo, los hemípteros constituyen el orden con un mayor número de vectores de agentes causales de enfermedades (Heck, 2018). Los hemípteros especializados cuentan con un aparato bucal desarrollado que les permite penetrar en los tejidos de la planta intercelularmente sin ocasionarle ningún daño, lo que favorece la inoculación de patógenos evadiendo las barreras naturales de la epidermis.

La mayoría de los cicadélidos se alimentan de floema y fluidos de parénquima (Brentassi *et al.*, 2010), sin embargo, los cicadélidos se pueden alimentar exclusivamente de xilema y debido a este tipo de alimentación expulsan grandes cantidades de excremento mientras se alimentan. Novotny y Wilson (1977), señalan que la preferencia por el sitio de alimentación está acorde al gasto energético, que este a su vez se relaciona con el tamaño de la especie, por lo que el rango de hospedantes o polifagia es mayor para aquellas especies con mayor tamaño corporal.

La importancia fitosanitaria de los cicadélidos radica en el gran número de especies, que causan de daños y efectos durante su alimentación, por la toxicidad de su saliva y por la transmisión, dispersión y reservorio de patógenos como virus, espiroplasmas, bacterias y fitoplasmas (Weintraub y Beanland, 2006). La introducción de especies vectoras a un lugar, puede cambiar radicalmente la epidemiología de la enfermedad causada por *X. fastidiosa*, como fue demostrado en el Sur de California a finales de la década de 1990, y en varios estudios posteriores (Purcell y Saunders 1999; Blua *et al.*, 2000).

De acuerdo a la EFSA (2015) en el continente americano se reportan 19 géneros y 39 especies de Cicadellinae (Cuadro 1) transmisores de *X. fastidiosa*. Tan solo en California, EUA existen al menos 20 especies de vectores de la bacteria en vid, de ellas, las más importantes históricamente son *Graphocephala atropunctata* (Signoret), *Draeculacephala minerva* (Ball) y *Xyphon (Carneocephala) fulgida* (Nottingham) (Redak *et al.*, 2004).

En México se tiene registro de la presencia de *Draeculacephala minerva*, *Xyphon fulgida* (Danee *et al.*, 2011), *H. vitripennis* (Camacho-Aguilar *et al.*, 2019) en vid, *H. insolita* (Pérez-Mejía *et al.*, 2020) en arándano, *Plesiommata corniculata* en cítricos, *H. liturata* y *G. hieroglyphica* en vid (Redak *et al.*, 2004).

Los cicadélidos pasan el invierno en estado de adulto en la vegetación herbácea que rodea a los cultivos y, una vez llegada la primavera, se desplazan hacia el cultivo para alimentarse. De este modo, la incidencia de la enfermedad es mayor en aquellas plantas cercanas a los bordes del cultivo, disminuyendo hacia el interior, sobre todo en cultivos rodeados de alfalfa con irrigación, y donde se deja crecer la hierba hasta los meses de verano. Según la hipótesis propuesta por Purcell en 1981 y comprobada por Feil *et al.* (2003), las inoculaciones de la bacteria llevadas a cabo a inicios de los meses de primavera y verano favorecen el establecimiento de la enfermedad en la planta, que se hace crónica. Sin embargo, aquellas inoculaciones realizadas más tarde producen la enfermedad en la planta, pero esta no persiste. En gran parte, este fenómeno se debe a la poda severa del cultivo en los meses de invierno, en la que se eliminan aquellas zonas de la planta que han sido infectadas sin dar tiempo a que la bacteria se propague hasta las hojas y tallos más desarrollados de la planta (Ferreles, 2015).

Cuadro 1. Especies de cicadélidos reportados como vectores de *Xylella fastidiosa* en el continente americano (Redak *et al.*, 2004; EFSA, 2015)

<i>Acrogonia citrina</i> (MaryCav)	<i>Draeculacephala minerva</i> (Ball)	<i>Oncometopia facialis</i> (Signoret)
<i>Acrogonia virescens</i> (Metcalf)	<i>Draeculacephala noveboracensis</i> (Fitch)	<i>Oncometopia nigricans</i> (Walker)
<i>Acrogonia citrina</i> (MaryCav)	<i>Ferrariana trivittata</i> (Signoret)	<i>Oncometopia orbona</i> (Fabricius)
<i>Acrogonia virescens</i> (Metcalf)	<i>Friscanus friscanus</i> (Ball)	<i>Paragonia confusa</i> (Oman)
<i>Amphigonalia severini</i> (DeLong)	<i>Graphocephala atropunctata</i> (Signoret)	<i>Paragonia furcata</i> (Oman)
<i>Aphrophora angulata</i> (Ball)	<i>Graphocephala confluens</i> (Uhler)	<i>Paragonia tredecimpunctata</i> (Ball)
<i>Aphrophora permutata</i> (Uhler)	<i>Graphocephala cythura</i> (Baker)	<i>Paragonia triundata</i> (Ball)
<i>Bucephalagonia xanthophis</i> (Berg)	<i>Graphocephala hieroglyphica</i> (Say)	<i>Parathona gratiosa</i> (Blanchard)
<i>Clastoptera achatina</i> (Germar)	<i>Graphocephala versuta</i> (Say)	<i>Philaenus spumarius</i> (Linnaeus)
<i>Clastoptera brunnea</i> (Ball)	<i>Helochara delta</i> (Oman)	<i>Plesiommata corniculata</i> (Young)
<i>Cuerna costalis</i> (Fabricius)	<i>Homalodisca ignorata</i> (Melichar)	<i>Sonesimia grossa</i> (Signoret)
<i>Cuerna occidentalis</i> (Oman y Breamer)	<i>Homalodisca insolita</i> (Walker)	<i>Xyphon flaviceps</i> (Riley)
<i>Cuerna yuccae</i> (Oman y Breamer)	<i>Homalodisca liturata</i> (Ball)	<i>Xyphon fulgida</i> (Nottingham)
<i>Diceroprocta apache</i> (Davis)	<i>Homalodisca vitripennis</i> (Germar)	<i>Xyphon triguttatum</i> (Nottingham)
<i>Dilobopterus costalimai</i> (Young)	<i>Macugonalia leucomelas</i> (Walker)	
<i>Draeculacephala crassicornis</i> (van Duzee)	<i>Oncometopia facialis</i> (Signoret)	

2.4. Generalidades de *Xylella fastidiosa* Wells *et al.*, 1987

Taxonómicamente *Xylella fastidiosa* (Wells) se ubica en el dominio Bacteria, que pertenece a la clase Gamma de las proteobacteria, Orden Xanthomonadales y familia Xanthomonadaceae (CABI 2018). Es una de las bacterias más peligrosas a nivel mundial debido a que produce daños en hojas, tallos y frutos, lo cual puede causar un fuerte impacto económico en cultivos de gran importancia por el valor de su producción y la superficie destinada a la siembra de los mismos.

Xylella fastidiosa es una bacteria Gram negativa, limitada al xilema, en forma de bacilo con paredes celulares onduladas. Es estrictamente aeróbico, no flagelado, no forma esporas y las células de esta bacteria miden 0.1 - 0.5 x 1 - 5 μ , el desarrollo óptimo está entre temperaturas de 26 – 28°C (Janse y Obradovic, 2010).

Hasta el momento se tiene el registro de seis subespecies de la bacteria diagnosticadas mediante pruebas moleculares; todas están presentes en el continente americano,

causando daño en diversos hospedantes. *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (Schaad, 2004), es el agente causal de la “Enfermedad de Pierce y Escaldadura del almendro”; *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (Schaad, 2004), provoca escaldaduras en el falso melocotón y ciruelo; *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (Schaad, 2004), es agente causal de la Clorosis variegada de los cítricos, crespeta del café y declinamiento en olivo; *X. fastidiosa* subsp. *sandyi* (Schuenzel *et al.*, 2005), causa escaldaduras en lauráceas; *X. fastidiosa* subsp. *tashke* (Randall *et al.*, 2009), produce escaldaduras en la ornamental *Chitalpa tashkensis* y *X. fastidiosa* subsp. *morus* (Almeida y Nunney, 2015), origina escaldaduras en mora (CABI, 2018, EFSA, 2015).

La bacteria puede afectar especies forestales, así como cultivos de importancia económica. Jeger *et al.* (2018) reportaron a 29 familias que pueden ser hospedantes de la bacteria y el CABI (2018) hace mención a 178 especies, entre las que se encuentran los géneros *Vaccinium* (arándano) y *Rubus* (frambuesa y zarzamora) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Familias de hospedantes reportados para *Xylella fastidiosa* (EFSA, 2015; Jeger *et al.*, 2018).

Altingiaceae	Fabaceae	Plantaginaceae
Apocynaceae	Fagaceae	Platanaceae
Araliaceae	Ginkgoaceae	Poaceae
Asteraceae	Juglandaceae	Rosaceae
Betulaceae	Lamiaceae	Rutaceae
Brassicaceae	Lythraceae	Sapindaceae
Caryophyllaceae	Magnoliaceae	Ulmaceae
Celastraceae	Malvaceae	Urticaceae
Cornaceae	Moraceae	Vitaceae
Ericaceae	Oleaceae	

De acuerdo al SENASICA (2019), en México en el sector agrícola, los hospedantes principales son aguacate, arándano, nuez pecanera, durazno, ciruelo, chabacano y almendra, a los cuales en 2017 se dedicó una superficie de 400 mil hectáreas. La mayoría de estos hospedantes se encuentran en los estados de Michoacán, Sonora y Chihuahua.

Por otro lado, Oliva-Hurtado *et al.* (2020) reportaron 26 especies de plantas como hospedantes de *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, mismas que están presentes en las 32 entidades federativas de la República Mexicana (Cuadro 3).

Cuadro 3. Especies silvestres hospedantes de *Xylella fastidiosa* en México (Oliva-Hurtado *et al.*, 2020)

<i>Amaranthus blitoides</i> (Watson)	<i>Datura wrightii</i> (Regel)	<i>Malva parviflora</i> (Linnaeus)
<i>Ambrosia acanthicarpa</i> (Hooker)	<i>Echinochloa crus-galli</i> (Linnaeus)	<i>Nicotiana glauca</i> (Graham)
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (Linnaeus)	<i>Eriochloa acuminata</i> (E.Fournier)	<i>Portulaca oleracea</i> (Linnaeus)
<i>Catharanthus roseus</i> (Linnaeus)	<i>Erodium moschatum</i> (Linnaeus)	<i>Rumex crispus</i> (Linnaeus)
<i>Conium maculatum</i> (Linnaeus)	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> (Dehnhardt)	<i>Simmondsia chinensis</i> (Link)
<i>Convolvulus arvensis</i> (Linnaeus)	<i>Eucalyptus globulus</i> (Labillardière)	<i>Sorghum halepense</i> (Linnaeus)
<i>Conyza canadensis</i> (Linnaeus)	<i>Helianthus annuus</i> (Linnaeus)	<i>Vicia sativa</i> (Linnaeus)
<i>Cyperus esculentus</i> (Linnaeus)	<i>Ipomoea purpurea</i> (Roth)	<i>Xanthium strumarium</i> (Linnaeus)
<i>Chrysanthemum morifolium</i> (Kitamura)	<i>Lactuca serriola</i> (Linnaeus)	

Los síntomas que origina *X. fastidiosa* dependen de la combinación específica de la planta huésped, variante o cepa de la bacteria y condiciones climáticas prevalentes (Almeida y Purcell, 2003). Generalmente, los síntomas varían desde asociaciones asintomáticas hasta el deceso de la planta. Los síntomas incluyen el denominado quemado, escaldado, chamuscado foliar o necrosis marginal, marchitamiento del follaje, defoliación, clorosis o bronceado en el margen de la hoja y enanismo de la planta (EFSA, 2015).

En vid, los síntomas iniciales son manchas cloróticas en el borde de la lámina foliar, seguido de un desecamiento rodeado por un halo amarillento (Hopkins y Purcell, 2002). Posteriormente los bordes se unen para dar forma a anillos concéntricos que van desde el exterior hacia el centro, en síntomas avanzados la hoja se seca por completo en los bordes, pero el peciolo permanece adherido a la rama (Winkler, 1976). En los racimos las frutas se desecan y toman aspecto de pasas (EPPO, 2018).

En cítricos, los primeros síntomas se manifiestan en el haz de las hojas con variegaciones moteadas con pequeños halos cloróticos y en el envés pequeñas manchas marrones de consistencia gomosa (Schaad *et al.*, 2004), las frutas afectadas maduran

precozmente y no completan su llenado, por lo que se reduce drásticamente el rendimiento y calidad del mismo, en arboles más viejos ocurre muerte regresiva del dosel (Hartung *et al.*, 1994).

En arándano, los síntomas se perciben como pequeñas áreas cloróticas en bordes que posteriormente se volverán quemaduras en la lámina foliar rodeadas por una banda negra. En etapas avanzadas los síntomas pueden distribuirse en todo el follaje, seguido de defoliación precoz (Chang *et al.*, 2009), mientras que, en los tallos, se manifiestan como amarillamientos que progresan a la muerte regresiva (Oliver *et al.*, 2015).

En café, los síntomas de chamuscado o quemadura de las hojas aparecen desde el borde hacia el ápice de las hojas jóvenes, posteriormente caen prematuramente, se reduce los brotes foliares y las hojas apicales se vuelven pequeñas y amarillentas (EPPO, 2018). En etapas avanzadas el crecimiento de la planta se reduce y posteriormente puede llevar a una muerte regresiva, el tamaño y rendimiento de la fruta es afectado drásticamente (De Lima *et al.*, 1998). Se le conoce como crespada del café, porque cuando se encuentra sintomática se observa la presencia del rizado en las hojas en todo el cultivo (Montero-Astúa *et al.*, 2008).

Actualmente *X. fastidiosa* es considerada ausente para el cultivo de berries, aunque ya existen registros de su presencia en plantaciones comerciales y plantas silvestres en la zona vinícola de Parras, Coahuila, donde se determinó a *X. fastidiosa* subsp. *multiplex*. Además, se llevó a cabo el registro de detección positiva en *H. vitripennis* en dicho lugar (Camacho-Aguilar *et al.*, 2019).

La dispersión de *X. fastidiosa* puede tener un impacto negativo en la producción de berries en México, debido a que se cuenta con hospedantes vegetales de las diversas subespecies reportadas hasta el momento y que representan cultivos de importancia en producción y superficie sembrada. Además, se ha reportado la presencia de arvenses hospedantes distribuidos en toda la República Mexicana (Oliva-Hurtado *et al.*, 2020).

Aunque solo se tenga reporte de la presencia de seis especies consideradas como potenciales vectores y uno como portador de cicadélidos (Camacho-Aguilar *et al.*, 2019), por las condiciones ambientales, disponibilidad de alimento (superficie sembrada) y capacidad de transmisión de los mismos, pueden generar potencialmente un problema desmesurado en México.

2.5. Transmisión de *Xylella fastidiosa* por cicadélidos

Xylella fastidiosa puede dispersarse naturalmente mediante insectos vectores que se alimentan del xilema, haz vascular donde se alberga esta bacteria. El vector al alimentarse extiende su haz de estiletes hasta el tejido vegetal (xilema), para tomar la savia contaminada con la bacteria a través de fuerzas de succión, accionada por la bomba cibarial. Los fluidos son probados químicamente mediante sensilas gustativas que se encuentran en el *precibarium* (Backus, 1988). Las células bacterianas son retenidas en una biopelícula densa a nivel del *precibarium* y *cibarium*, en donde se alojarán y multiplicarán. Cuando el insecto se encuentra infectivo y se mueve hacia una planta sana, realiza el mismo procedimiento de alimentación, sin embargo, en los movimientos turbulentos se desprenden células de *X. fastidiosa* y estas mediante la descarga de ingestión son inoculadas al xilema de la planta (Backus y Morgan, 2011).

Un insecto infectado, en estadio de ninfa pierde la carga bacteriana, debido a que se aloja en el intestino anterior y este es perdido durante la muda. No obstante, si ingiere la bacteria como adulto, permanecerá virulífero hasta su muerte, pero no puede transmitirla a su descendencia (Hill y Purcell, 1995).

La abundancia de vectores y el comportamiento biológico (vuelo y eficiencia en la transmisión), así como las preferencias de la planta huésped son componentes claves en la propagación de *X. fastidiosa*, sin olvidar que el movimiento de material de propagación vegetativo es el que puede introducir a la bacteria a largas distancias (CABI, 2018). Aunado a lo anterior, los hospedantes pueden clasificarse en propagativos y no propagativos, sistémicos o no sistémicos (Purcell y Saunders, 1999), sin embargo, los

hospedantes sistémicos propagativos son los mejores para la adquisición eficiente de la bacteria por el vector, en comparación con los no sistémicos, pero aun así el vector puede adquirir a la bacteria. La eficiencia de transmisión está determinada por la capacidad del vector y la concentración de las células bacterianas en el tejido vegetal (Hill y Purcell, 1997).

2.6 Métodos de inspección, diagnóstico y detección de *Xylella fastidiosa*

La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF, IPPC en inglés) es un órgano que tiene por objetivo proteger los recursos vegetales del mundo de la propagación e introducción de plagas y promover el comercio seguro, por lo cual, introdujo las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF, ISMP en inglés) como su principal herramienta para lograr sus objetivos, convirtiéndola en la única organización mundial de establecimiento de normas para la sanidad vegetal. Entre las Normas que este órgano ha establecido se encuentran los protocolos de diagnóstico para plagas reguladas descritos en la NIMF 27, siendo el anexo 25 específicamente para *Xylella fastidiosa*. En dicho documento se describen los métodos de diagnóstico aceptados de acuerdo a la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad (IPPC, 2021).

La distribución y concentración de *X. fastidiosa* en la planta llega a ser variable y depende de la especie vegetal y condiciones ambientales. Para una mayor probabilidad de detección, los muestreos deben llevarse a cabo en el periodo activo de crecimiento (Hopkins, 1981). Sin embargo, el muestreo después de periodos cálidos aumenta la probabilidad de detección precisa de *X. fastidiosa*, por lo tanto, el momento adecuado para la búsqueda de síntomas es cuando las condiciones climáticas son cálidas y secas, o cuando se encuentren en estrés por sequía (Gálvez *et al.*, 2010). En el caso de toma de muestras en plantas asintomáticas, no puede hacerse una búsqueda como tal establecida, por lo tanto, debe de ser representativa del sitio (Valentini y Porcelli, 2016).

Existen dos métodos con diversas técnicas para detección de *X. fastidiosa*, que son los serológicos y moleculares. Entre los métodos serológicos desarrollados se incluyen ELISA (Sherald y Lei, 1991), inmunofluorescencia por captura de membranas (Hartung *et al.*, 1994), ensayo de inmunofluorescencia puntual (Lee *et al.*, 1992), análisis de Western Blot (Chang *et al.*, 1993) e inmunofluorescencia (Carbajal *et al.*, 2004). Recientemente el inmunoensayo de transferencia directa de tejido como medio alternativo de cribado rápido (*O. europea*) (Djelouah *et al.*, 2014). Sin embargo, los métodos serológicos no son lo suficientemente sensibles para su uso temprano en la temporada de crecimiento, debido a la baja concentración de bacterias que probablemente estén presentes en el tejido asintomático joven y el mismo principio aplica para insectos, debido a que la bacteria solo coloniza el intestino anterior (ISPM 27, 2018).

Asimismo, se han desarrollado métodos moleculares para la detección e identificación de la bacteria directamente en cultivos puros, tejidos vegetales e insectos vectores siendo la PCR convencional (Punto final) y en tiempo real, los métodos más empleados (Minsavage *et al.*, 1994, Pooler y Hartung, 1995, Rodrigues *et al.*, 2003, Harper *et al.*, 2010 *erratum* 2013, Li *et al.*, 2013) (Cuadro 4).

Para la extracción del ADN de la bacteria en cultivos puros y tejido vegetal se puede realizar con el uso de kits comerciales estándar como son el DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), QuickPick SML Plant DNA Kit (Bio-Nobile) o el KingFisher (Thermo Scientific) usando InviMAG Plant DNA Kit (Statec Molecular), sin embargo, existen otros kits similares que pueden ser utilizados (ISPM 27, 2018).

Cuadro 4. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Tipos e iniciadores utilizados en cada reacción

Método	Nombre (Iniciador)	Secuencia	Pares de bases (pb)	Gen	Descrito por
PCR convencional	RST31 (F)	5'-GCG TTA ATT TTC GAA GTG ATT CGA TTG C-3'	733	<i>rpoD</i>	Minsavage <i>et al.</i> (1994)
	RST33 (R)	5'-CAC CAT TCG TAT CCC GGT G-3'			
PCR convencional	272-1 (F)	5'-CTG CAC TTA CCC AAT GCA TCG-3'	500	-	Pooler y Hartung (1995)
	272-2 (R)	5'-GCC GCT TCG GAG AGC ATT CCT-3'			
PCR convencional	S-S-X.fas-0067-a-S-19 (F)	5'-CGG CAG CAC ATT GGT AGT A-3'	1348	16S rRNA	Rodrigues <i>et al.</i> (2003)
	S-S-X.fas-1439-a-A-19 (R)	5'-CTC CTC GCG GTT AAG CTA C-3'			
	S-S-X.fas-0067-a-S-19 (F)	5'-CGG CAG CAC ATT GGT AGT A-3'			
	S-S-X.fas-0838-a-A-21 (R)	5'-CGA TAC TGA GTG CCA ATT TGC-3'			
	S-S-X.fas-0838-a-S-21 (F)	5'-GCA AAT TGG CAC TCA GTA TCG-3'			
	S-S-X.fas-1439-a-A-19 (R)	5'-CTC CTC GCG GTT AAG CTA C-3'			
PCR multiplex	FXYgyr499 (F)	5'-CAG TTA GGG GTG TCA GCG-3'	429	<i>gyrB</i>	Rodrigues <i>et al.</i> (2003)
	RXYgyr907 (R)	5'-CTC AAT GTA ATT ACC CAA GGT-3'			
PCR tiempo real	XF-F (F)	5'-CAC GGC TGG TAA CGG AAG A-3'	-	16S rRNA	Harper <i>et al.</i> (2010) erratum (2013)
	XF-R (R)	5'-GGG TTG CGT GGT GAA ATC AAG-3'			
	XF-P (P)	5'-6-FAM-TCG CAT CCC GTG GCT CAG TCC-BHQ-1-3'			
PCR tiempo real	XF16Sf (F)	5'-CGG CAG CAC GTT GGT AGT AA-3'	-	16S rRNA	Li <i>et al.</i> (2013)
	XF16Sr (R)	5'-CCG ATG TAT TCC TCA CCC GT-3'			
	XF16Sp (P)	5'-6-FAM-CA TGG GTG GCG AGT GGC-BHQ-1-3'			
	XF-F3 (E)	5'-CCG TTG GAA AAC AGA TGG GA-3'			
	XF-B3 (E)	5'-GAG ACT GGC AAG CGT TTG A-3'			
	XF-FIP (I)	5'-ACC CCG ACG AGT ATT ACT GGG TTT TTC GCT ACC GAG AAC CAC AC-3'			
LAMP	XF-BIP (I)	5'-GCG CTG CGT GGC ACA TAG ATT TTT GCA ACC TTT CCT GGC ATC AA-3'	-	-	Harper <i>et al.</i> (2010) erratum (2013)
	XF-LF (L)	5'-TGC AAG TAC ACA CCC TTG AAG-3'			
	XF-LB (L)	5'-TTC CGT ACC ACA GAT CGC T-3'			

*F=forward, R=reverse, P = probe (sonda), E = externo, I = interno, L= loop (bucle)

En insectos vectores se han evaluado varios métodos de extracción de ADN para la detección de *X. fastidiosa*, por mencionar algunos DNeasy Tissue Kit (Qiagen), QuickPick SML Plant DNA Kit (Bio-Nobile) para insectos y que son ampliamente utilizados en varios laboratorios. Para ambos tipos de organismo, puede emplearse la extracción de DNA por el método de CTAB al 2%. Asimismo, se han desarrollado varios iniciadores y sondas usando puntos específicos de los genes de interés (Cuadro 4) (ISPM 27, 2018).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

El presente estudio se realizó de junio a diciembre de 2020, en las plantaciones, bajo micro túneles, de zarzamora, “3 Parajes” (19°39'29.8" N, 102°26'8.2" O, 1551 msnm) (Figura 1), “4 Parajes” (19°32'54.93" N, 102°26'17.6 O, 1588 msnm) (Figura 2) y arándano (19°39'56.9 N, 102° 26' 07.7" O, 1599 msnm) (Figura 3), localidad Atapan, municipio de Los Reyes, Michoacán. El clima de la región es templado semicálido húmedo [*tipo(A)C(m)(f)*] con lluvias en verano, y temperatura media de 22°C (García, 1998).

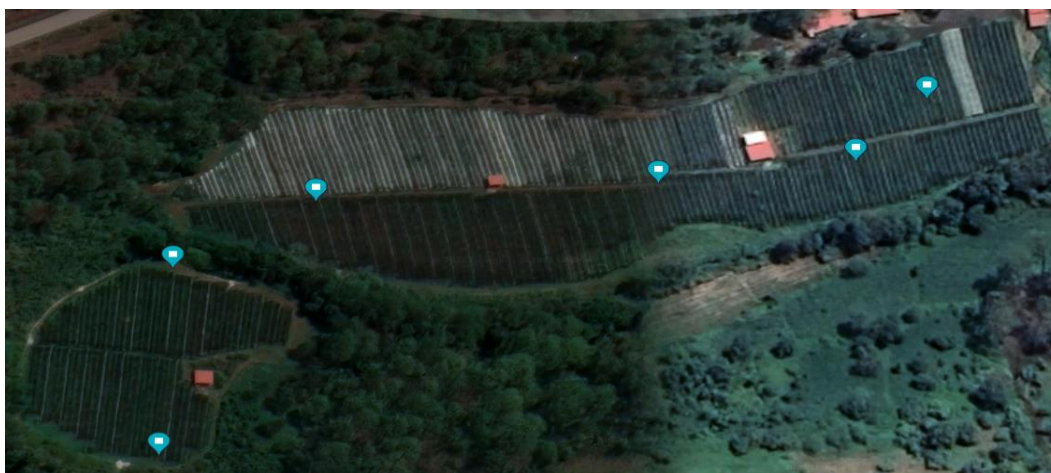


Figura 1. Ubicación de trampas en plantación de zarzamora var. Dasha, “3 Parajes” bajo manejo orgánico en Atapan, municipio de Los Reyes, Michoacán

En la plantación “3 Parajes” sembrada con zarzamora variedad Dasha estuvo sujeta a manejo orgánico (sector 1, 3 y 4); mientras que en la plantación “4 Parajes” se contaba con siembras de zarzamora de la variedad Dasha (sector 6) trasplantadas directamente a suelo con acolchado en hileras y arándano variedad Arana (sector 10) sujetas a manejo convencional y trasplantadas en bolsas con sustrato de coco, en sistema semi-hidropónico y acolchado total. Los esquemas de manejo estuvieron definidos por la

empresa, que básicamente consistieron en la realización de podas, fertilización, y aplicación de productos químicos y orgánicos contra plagas.

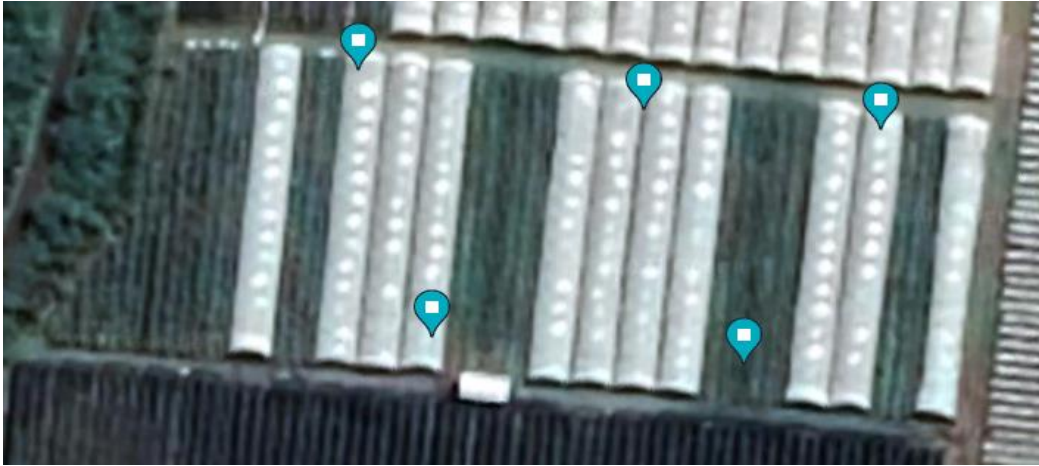


Figura 2. Ubicación de trampas en plantación de zarzamora var. Dasha, “4 Parajes” bajo manejo convencional en Atapan, municipio de Los Reyes, Michoacán

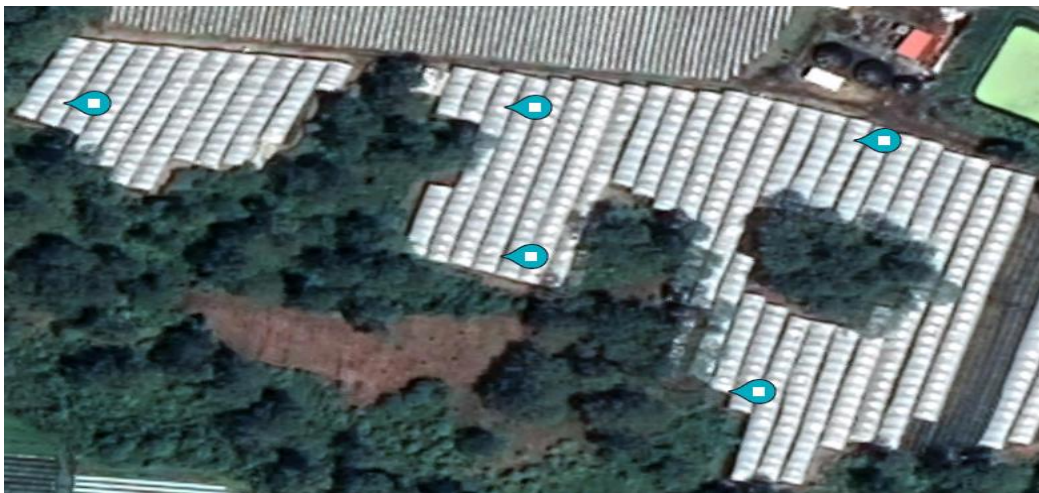


Figura 3. Ubicación de trampas en plantación de arándano var. Arana “4 Parajes” bajo manejo convencional en Atapan, municipio de Los Reyes, Michoacán

3.2. Muestreo de adultos

Para estimar presencia y abundancia de cicadélidos se realizaron colectas con trampas amarillas, aspirado y redeo, cada mes, en el periodo de junio a diciembre de 2020. En

cada plantación se instalaron cinco trampas amarillas de forma rectangular (12.5 × 21.5 cm) cubiertas por ambos lados con una capa ligera de adherente base Poliisobutileno® (Ferommis® S.A. de C.V. México), fusionado a alto calor. Cada trampa se georreferenció e instaló a la altura media de la planta, sujeta al soporte del túnel con rafia negra (Figura 4). Las trampas se reemplazaron cada 30 días. El aspirado de cicadélidos se realizó con una sopladora-aspiradora Truper® con motor a gasolina 26 cc, adaptada para succionar los insectos y colectarlos en una red de captura interna. Se realizaron cinco aspirados por plantación y fecha, y en cada punto se accionó la maquina por 2 min, a velocidad media, dirigiendo la succión a la base del cultivo. La colecta mediante redeo consistió en realizar 20 golpes, con una red entomológica de golpeo, en cinco puntos de la plantación, en la cercanía de la base del cultivo. El material colectado fue resguardado en refrigeración y/o alcohol etílico 96%, hasta su procesamiento.(Figura 4)



Figura 4. Métodos de colecta de cicadélidos en plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México: A) Trampa amarilla, B) Redeo y C) Aspirado.

3.3. Determinación de especies

Los cicadélidos capturados en las trampas se removieron sumergiendo éstas en gasolina blanca por 10 min, filtrando y lavando los ejemplares, en tres ocasiones, con alcohol etílico al 96%. Los ejemplares colectados en redeos y aspirados, se resguardaron en bolsas Ziploc, con 20 mL de alcohol etílico al 96%, para su traslado al laboratorio. Después, bajo microscopio estereoscópico Leica EZ4 (Leica Geosystems S.A. de C.V.) se separaron y contabilizaron por similitud morfológica y sexo. Los especímenes se conservaron en alcohol etílico al 96%. Para su identificación se realizó el montaje de los adultos en triángulos y se extrajo la genitalia del macho de acuerdo a la metodología de Acevedo-Reyes *et al.* (2019). Las estructuras montadas se utilizaron para la identificación a nivel género y especie con base en las claves taxonómicas de Nielson (1968), Young (1968), DeLong y Freytag (1974), DeLong y Hamilt (1974), Freytag (1992) y Young (1977). La determinación a nivel especie se realizó únicamente para las colectas que contenían machos y las hembras fueron identificadas a nivel de género. Los especímenes se depositaron en la colección entomológica de insectos vectores a cargo de la Dra. Laura Delia Ortega Arenas, Programa de Fitosanidad, Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados.

3.4. Importancia relativa

La importancia de las especies capturadas en el estudio, y con los tres métodos de colecta, se determinó mediante el índice de Importancia Relativa (IR), que permitió la ponderación de la presencia de distintas entidades taxonómicas a lo largo del tiempo. Los valores de IR se obtuvieron de acuerdo a la siguiente ecuación: $IR = (ni/nt) * (mi/mt) * 100$ donde “ni” representa el número de individuos de la especie “i”; “nt” el número total de individuos capturados de todas las especies; “mi” el número de muestras donde aparece la especie “i”, “mt” número total de muestras analizadas.

Según Paradell *et al.* (2014), este índice pondera la relación de individuos de cada especie (ni/nt) por la importancia que representa a lo largo del ciclo de muestreo (mi/mt),

con valores esperados en un rango de cero a 100. Las especies con valores de $IR \leq 1$, fueron consideradas ocasionales; con $IR \geq 1.1$ y ≤ 5 poco frecuentes; entre $IR \geq 5.1$ y ≤ 20 frecuentes; e $IR \geq 20.1$ dominantes (Pérez-Mejía *et al.*, 2020).

3.5. Análisis estadístico

A través de estadísticas descriptivas se analizaron las poblaciones mensuales y su relación con las etapas fenológicas, y variables ambientales. También se realizaron análisis de correlación (Coeficiente de correlación de Pearson) entre la densidad poblacional y temperatura y precipitación media, con el programa SAS (v. 9.0). (SAS, 2004)

3.6. Detección molecular de *Xylella fastidiosa* en plantas e insectos

Durante el estudio se realizaron recorridos en las plantaciones para coleccionar plantas con síntomas asociados a la presencia de *X. fastidiosa* (necrosis marginal, marchitamiento, defoliación, clorosis o bronceado en hoja y tallo) (Rapicavoli *et al.*, 2018). Una primera colecta se realizó en diciembre en la plantación “3 Parajes” en donde se coleccionaron tres plantas en etapa de fructificación. Posteriormente y con fines de corroborar los síntomas en primera inspección se coleccionaron al azar 25 plantas, en la misma plantación.

Para la selección de especies de cicadélidos para detectar la posible presencia de *X. fastidiosa* se tomaron en cuenta dos criterios: 1) especies con una longitud mayor a 8 mm (Novotny y Wilson, 1997) y 2) especies con antecedentes como vectores de la bacteria.

3.7. Extracción de ADN de plantas e insectos

Para esta investigación, se siguió el Protocolo de Diagnóstico Fitosanitario del Centro Nacional de Referencia Fitosanitario (SENASICA, 2020) con modificaciones. De cada planta se tomaron 300 mg de tejido. De las plantas se seleccionaron las nervaduras principales y el peciolo de cada hoja, tallos y raíz, estas se maceraron en un mortero con nitrógeno líquido, posteriormente se agregaron 1000 μ L de buffer CTAB al 2%. El macerado se transfirió a tubos eppendorf de 2 mL los que se incubaron a 95 °C por 90 min, se centrifugaron a 12,000 \times g por 10 min, el sobrenadante se colocó en tubos nuevos de 1.5 mL. Se agregaron 500 μ L de cloroformo alcohol isoamílico (24:1), se mezclaron por inversión y se centrifugaron a 12,000 \times g durante 10 min; se recuperó el sobrenadante y se agregaron 500 μ L de isopropanol frío. Las muestras se mantuvieron toda la noche a -20 °C, posteriormente se centrifugaron a 12,000 \times g durante 15 min, se decantaron y la pastilla se lavó con 1 mL de etanol al 70% y se centrifugó a 12,000 \times g por 5 min, finalmente se eliminó el alcohol igual que en el paso anterior. La pastilla se resuspendió en 100 μ L de agua estéril libre de nucleasas.

En el caso de los insectos, se consideró al espécimen completo. Cada individuo se maceró en un mortero con nitrógeno líquido, se agregaron 500 μ L de buffer CTAB al 2%. El macerado se transfirió a tubos eppendorf de 2 mL los que se incubaron a 95 °C por 90 min, se centrifugaron a 12,000 \times g por 10 min, el sobrenadante se colocó en tubos nuevos de 1.5 mL. Se agregaron 500 μ L de cloroformo alcohol isoamílico (24:1), se mezclaron por inversión y se centrifugaron a 12,000 \times g durante 10 min; se recuperó el sobrenadante y se agregaron 500 μ L de isopropanol frío. Las muestras se mantuvieron toda la noche a -20 °C, posteriormente se centrifugaron a 12,000 \times g durante 15 min, se decantaron y la pastilla se lavó con 1 mL de etanol al 70% y se centrifugó a 12,000 \times g por 5 min, finalmente se eliminó el alcohol igual que en el paso anterior. La pastilla se resuspendió en 50 μ L de agua estéril libre de nucleasas.

3.8. Detección de *X. fastidiosa* en plantas e insectos

El ADN obtenido de las muestras se utilizó para realizar la detección específica de la bacteria siguiendo el Protocolo de Diagnóstico para *Xylella fastidiosa* mediante la Técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en “punto final” del SENASICA-DGSV-CNRF (2020). Cada ensayo de PCR incluyó controles positivos y negativos. Se utilizaron los iniciadores (5'-GCGTTAATTTTCGAAGTGATTCGATTGC-3') y RST33 (5'CACCATTCGTATCCCGGTG-3') (Minsavage *et al.*, 1994). El programa para el termociclador consistió en 1 ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C por 1 min, seguido de 40 ciclos de amplificación: 95 °C por 30 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 45 s y una extensión final a 72 °C por 7 min. Los productos amplificados se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa (Seakem, USA) al 1.2% y se visualizaron en un fotodocumentador Infinity-3026 WL/LC/26MX Vilber Lourmat® (Eberhardzell, Germany). La muestra que amplificó una banda de 733 pares de bases (pb), se envió a secuenciar a la compañía Psomagen, USA.

IV. RESULTADOS

4.1. Determinación de especies e importancia relativa

En la región productora de zarzamora y arándano en Atapan, Los Reyes, Michoacán se recolectaron, con los tres métodos, un total de 7,512 especímenes que representan a seis subfamilias, 18 tribus, 35 géneros, y 45 especies de Cicadellidae (Cuadro 5, Figura 5-9). En Cicadellinae y Deltocephalinae, se concentró el mayor número de especies. *Graphocephala rufimargo* (68%), *Scaphytopius nitridus* (5.07%), *Empoasca* sp.1 (3.86%), *Empoasca* sp.2 (3.37%), *Graminella cognita* (3.18%), *G. sonora* (3.15%), *Agallia quadripunctata* (2.76%) y *Dalbulus maidis* (2.53%) fueron las especies más abundantes, que en conjunto representaron el 88% de la población colectada. En general, se colectó un mayor número de especies y especímenes en trampas amarillas (35/45 (86.18%), respectivamente, en comparación con aspirado (27/45) (9.73%) y redeo (18/45) (4.09%), y más en zarzamora orgánica (73%) que en las sujetas a manejo convencional (27%) (Cuadro 5, Figura 5-10).

En el presente estudio se clasificaron a tres especies como dominantes, 10 especies frecuentes, 10 especies poco frecuentes, y 22 especies ocasionales. Estas últimas representadas por un género y de una a tres especies cada uno (Cuadro 5). Cabe señalar que, tanto en zarzamora orgánica como convencional, la especie dominante capturada en trampas amarillas fue *G. rufimargo*, lo cual denota una asociación establecida con el cultivo; sin embargo, la dominancia cambió a favor de *G. sonora* y *G. cognita* en las colectas realizadas con la aspiradora. La mayor abundancia de especies ocasionales encontradas en las plantaciones estudiadas, se encuentran particularmente en las sujetas a manejo orgánico.

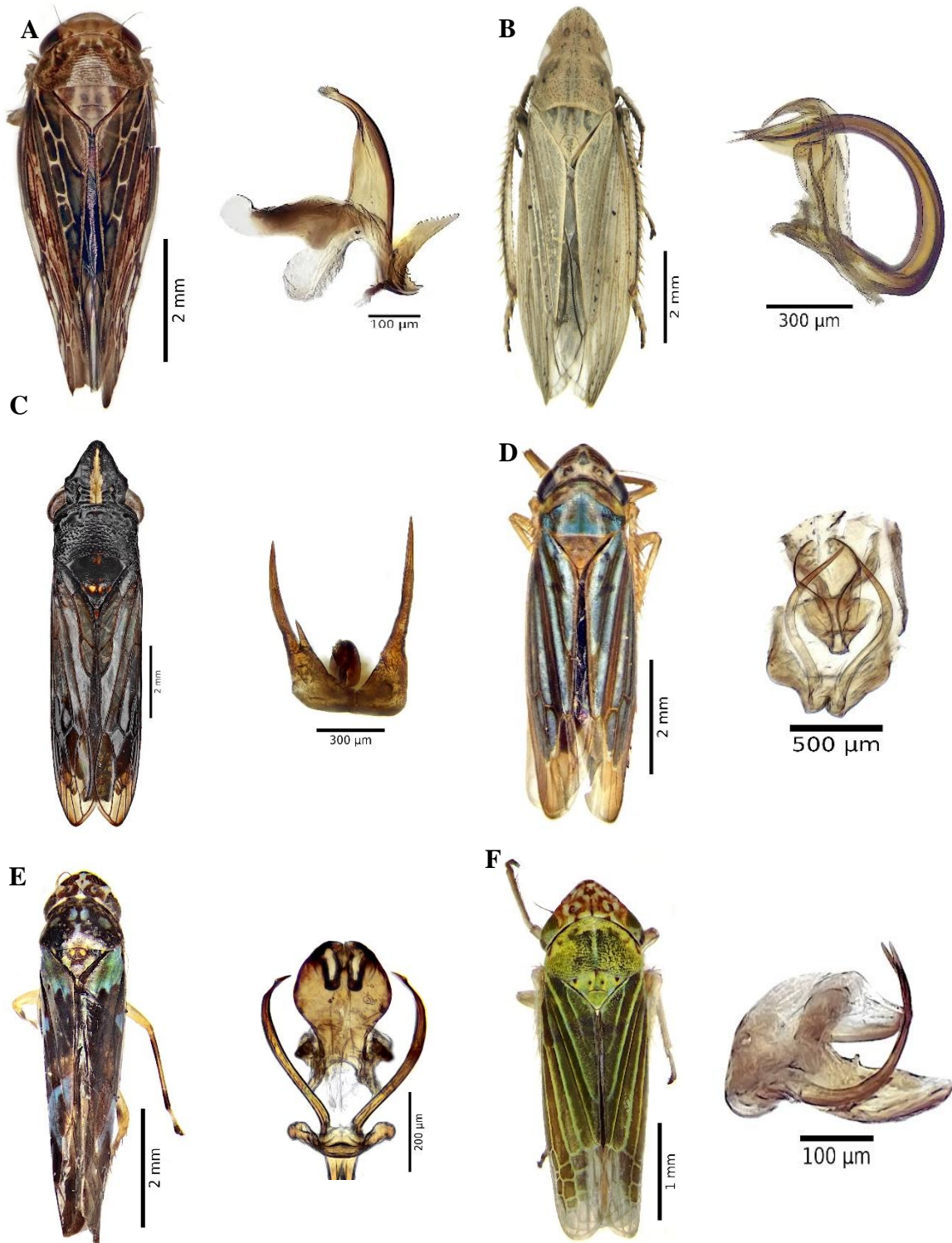


Figura 5. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) *Acinopterus angulatus*; B) *Acuera ultima*; C) *Phera centrolineata*; D) *Chlorogonalia coeruleovittata*; E) *Sibovia recta*; F) *Xyphon reticulatum*

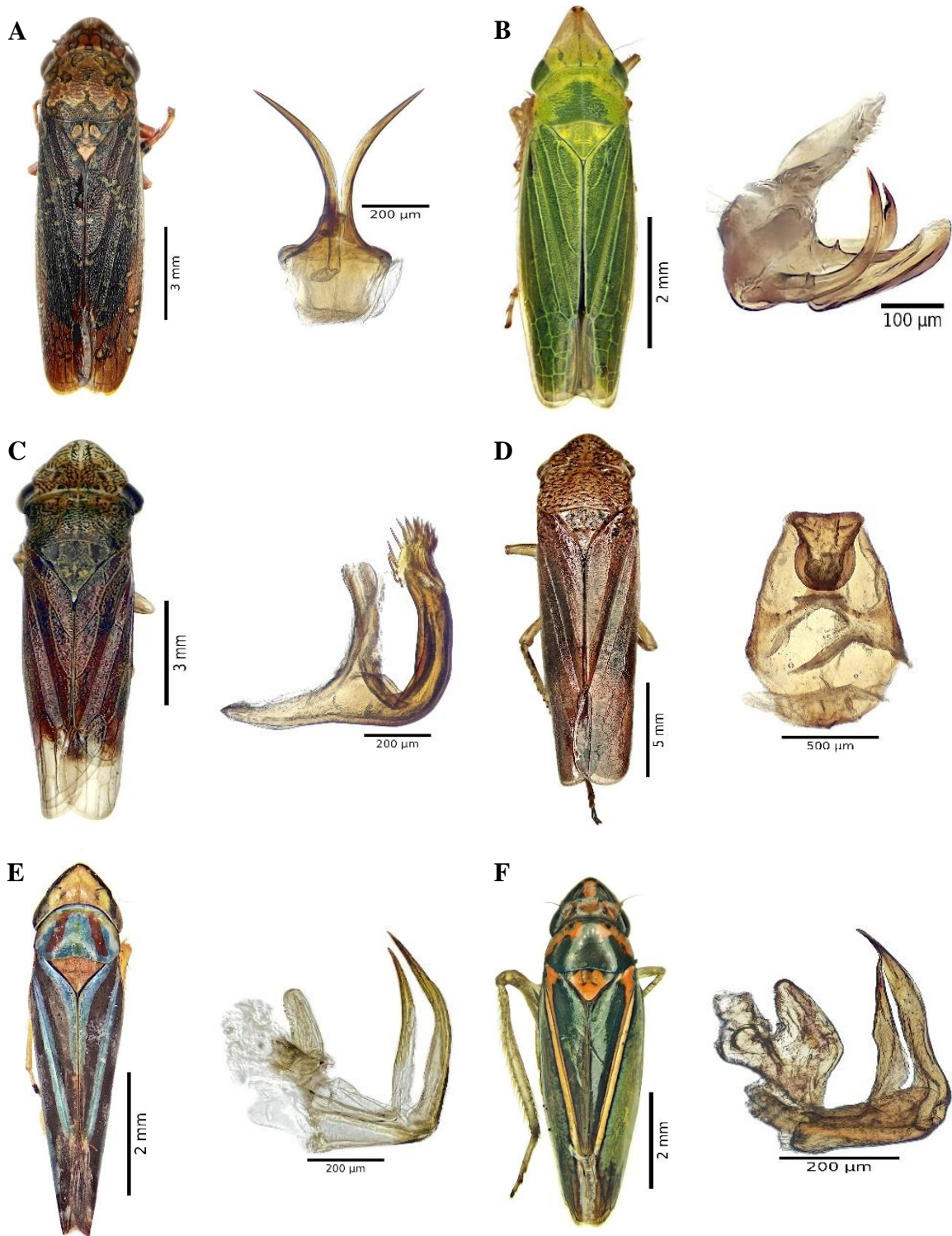


Figura 6. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) *Paraulacisez figurata*; B) *Draeculacephala minerva*; C) *Homalodisca insolita*; D) *Cyrtodisca major*; E) *Graphocephala fennahi*; F) *Graphocephala aurolineata*

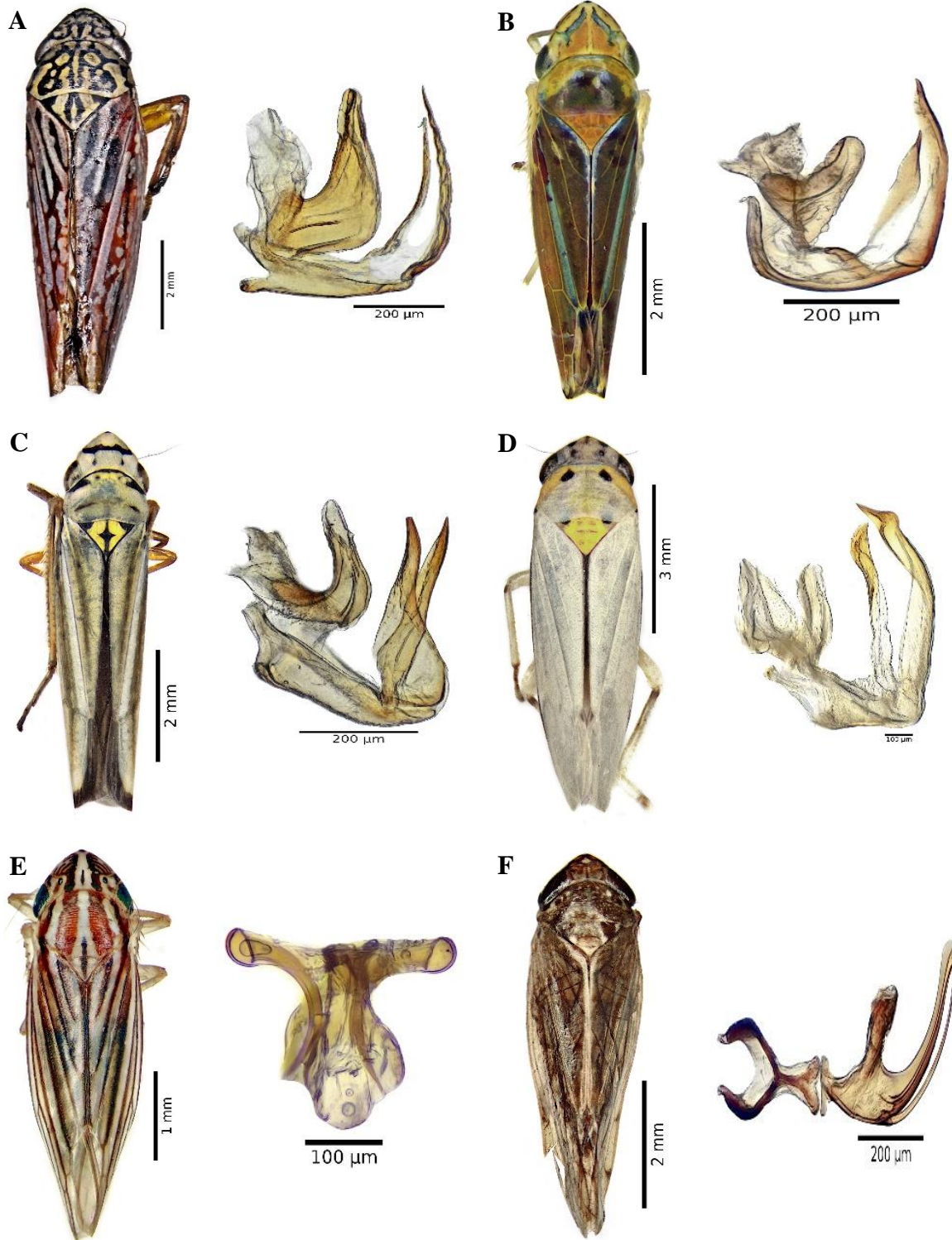


Figura 7. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) *Graphocephala punctulata*; B) *Graphocephala rufimargo*; C) *Graphocephala flavovittata*; D) *Graphocephala marathonensis*; E) *Plesiommata mollicula*; F) *Osbornellus rarus*

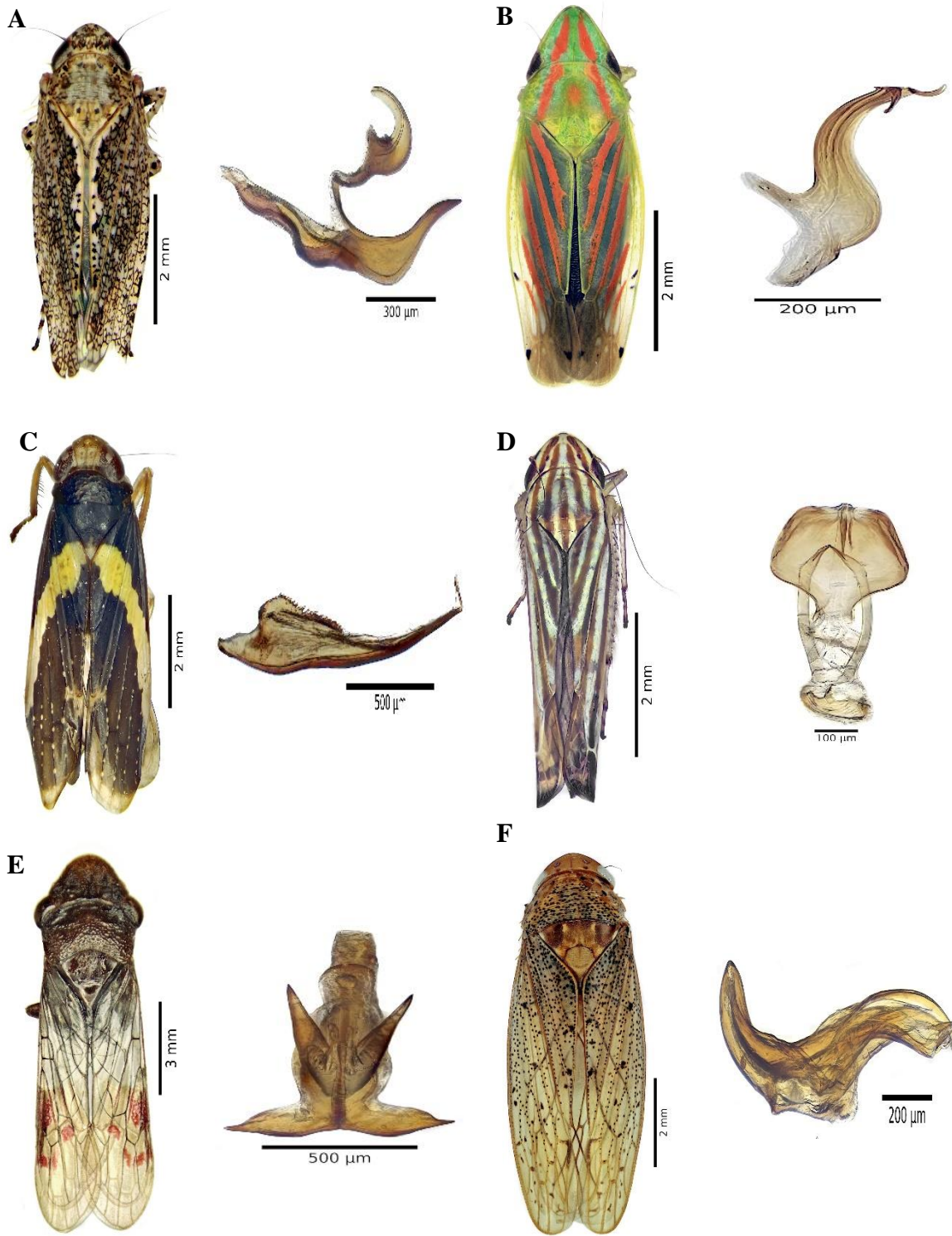


Figura 8. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) *Texananus hosanus*; B) *Spanbergiella mexicana*; C) *Omanolidia bistyla*; D) *Sibovia compta*; E) *Homalodisca ichthyocephala*; F) *Ponana woodruffi*

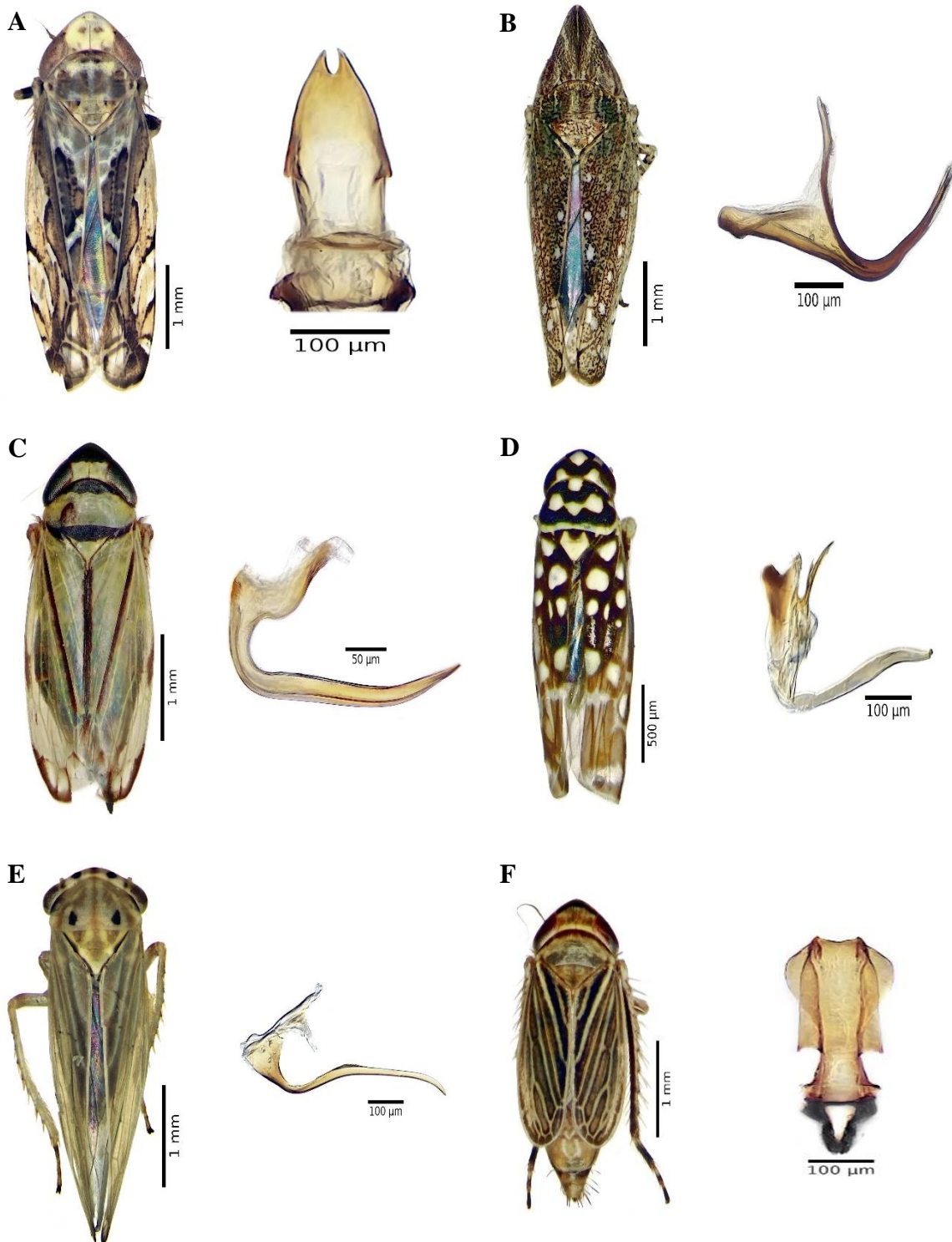


Figura 9. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) *Sanctanus fasciatus*; B) *Scaphytopius nitridus*; C) *Stirellus bicolor*; D) *Trypanalebra maculata*; E) *Agallia quadripunctata*; F) *Daltonia blacki*

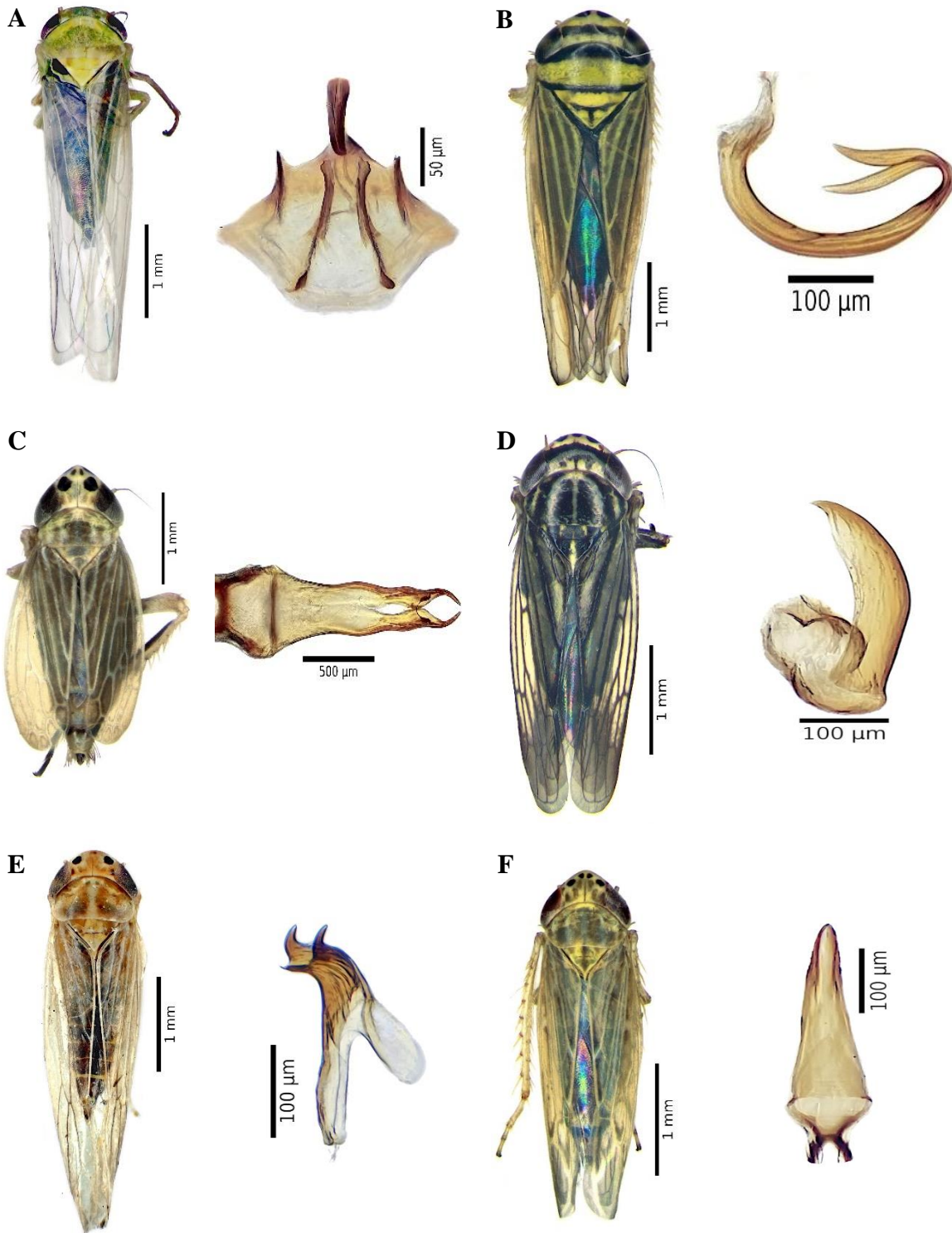


Figura 10. Especies de cicadélidos y genitalia de macho, recolectados bajo tres métodos de colecta en las plantaciones de zarzamora y arándano en Los Reyes, Michoacán, México. A) *Balclutha mexicana*; B) *Coladonus beameri*; C) *Amblysellus necopinus*; D) *Exitianus picatus*; E) *Dalbulus maidis*; F) *Graminella sonora*

Cuadro 5. Especies de cicadélidos e importancia relativa, capturadas por tres métodos, en plantaciones comerciales de zarzamora y arándano sujetas a manejo orgánico y/o convencional en Atapan, Los Reyes, Michoacán, México.

Subfamilia (# especies)	Tribu	A	Trampas amarillas						Aspirado						Redeo					
			Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional	
			IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C
Cicadellinae																				
Cicadellini																				
<i>Chlorogonalia coeruleovittata</i>	4	0	-	0	-	0	-	0.42	O	0	-	0.16	O	0	-	0	-	0	-	
<i>Dilobopterus</i> sp	4	0.01	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Draeculachephala minerva</i>	80	0.50	O	0.38	O	0.33	O	3.75	PF	4.49	PF	0.64	O	5.10	F	7.94	F	3.72	PF	
<i>Graphocephala aurolineata</i>	32	0.08	O	0.73	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Graphocephala fenahi</i>	10	0.08	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Graphocephala flavovittata</i>	83	1.30	O	1.31	PF	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Graphocephala marathonensis</i>	7	0	-	0	-	1.15	PF	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Graphocephala punctulata</i>	43	0.14	O	0.73	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Graphocephala rufimargo</i>	4726	80.7	D	48.95	D	10.91	F	1.56	PF	0.42	O	1.44	PF	0	-	0	-	0	-	
<i>Plesiommatia mollicula</i>	1	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0.08	O	0	-	0	-	0	-	
<i>Sibovia compta</i>	36	0.01	O	0.38	O	6.22	F	0	-	0	-	1.92	PF	0	-	0	-	0	-	
<i>Sibovia recta</i>	15	0.05	O	0.19	O	0	-	0	-	0	-	0.16	O	0	-	0	-	0	-	
<i>Xyphon reticulatum</i>	10	0.003	O	0.01	O	0.22	O	0.10	O	0.28	O	0.24	O	0	-	0	-	0	-	
Proconini																				
<i>Cyrtodisca major</i>	2	0.01	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Homalodisca ichthyocephala</i>	2	0.01	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Homalodisca insolita</i>	2	0	-	0.02	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Paraulacizes figurata</i>	6	0	-	0.07	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Phera centrolineata</i>	119	1.83	PF	0.49	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
<i>Oncometopia</i> sp	5	0.003	O	0.05	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
Coelidiinae																				
Coelidiini																				
<i>Omanolidia bystila</i>	3	0.01	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	
Deltocephalinae																				

Subfamilia (# especies)	A	Trampas amarillas						Aspirado						Redeo					
		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional	
		IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C
Acinopterini																			
<i>Acinopterus angulatus</i>	5	0.003	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0.32	O	0	-	0	-	0.35	O
Athysanini																			
<i>Coladonus beameri</i>	56	0.87	O	0	-	0	-	0.10	O	0.84	O	0.08	O	0.24	O	0.40	O	1.42	PF
Chiasmini																			
<i>Exitianus picatus</i>	61	0.01	O	0	-	0	-	7.50	F	1.97	PF	4.07	PF	4.37	PF	2.38	PF	4.26	PF
Deltocephalini																			
<i>Amblysellus necopinus</i>	94	0	-	0	-	2.29	PF	10	F	0.14	O	8.31	F	12.62	F	4.76	PF	8.51	F
<i>Daltia blacki</i>	22	0	-	0	-	0	-	0.83	O	0	-	4.31	PF	0	-	0	-	0	-
<i>Graminella cognita</i>	239	0	-	0	-	0	-	25.42	D	35.96	D	23.32	D	13.59	F	16.67	F	6.91	F
<i>Graminella sonora</i>	237	0	-	0	-	0	-	26.67	D	25.28	D	25.88	D	18.45	F	10.71	F	6.74	F
<i>Planicephalus flavicosta</i>	25	0	-	0	-	0	-	4.17	PF	1.12	PF	0.96	O	0.97	O	1.59	PF	0.18	O
<i>Sanctanus fasciatus</i>	11	0	-	0	-	0.05	O	0	-	0.14	O	0.32	O	0	-	0.40	O	0.71	O
Hecalini																			
<i>Spanbergiella mexicana</i>	4	0	-	0	-	0	-	0.10	O	0	-	0.48	O	0	-	0	-	0	-
Macrostelini																			
<i>Balclutha mexicana</i>	5	0	-	0	-	0	-	0.21	O	0	-	0.24	O	0	-	0	-	0	-
<i>Dalbulus maidis</i>	190	0.57	O	6.53	F	8.72	F	0	-	0	-	0	-	3.64	PF	3.57	PF	0.71	O
Phepsiini																			
<i>Texanus hosanus</i>	4	0	-	0	-	0	-	0	-	0.14	O	0.24	O	0	-	0	-	0	-
Scaphoideini																			
<i>Osbornellus rarus</i>	66	0.72	-	0.71	O	0.22	O	0	-	0	-	0.48	O	0	-	0	-	2.66	PF
Scaphytopiini																			
<i>Scaphytopius nitridus</i>	381	3.88	PF	8.49	F	12.10	F	0.42	O	0	-	0.16	O	0.24	O	0	-	0.35	O
Stenometopiini																			
<i>Stirellus bicolor</i>	30	0	-	0.01	O	0	-	1.04	PF	0.28	O	3.83	PF	0.24	O	0.79	O	4.96	PF
lassinae																			
Gyponini																			

Subfamilia (# especies) Tribu Especie	A	Trampas amarillas						Aspirado						Redeo					
		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional		Zarzamora orgánica		Zarzamora convencional		Arándano convencional	
		IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C	IR	C
<i>Acuera ultima</i>	3	0.01	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
<i>Ponana woodruffi</i>	11	0.01	O	0.08	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Megophthalminae																			
Agallini																			
<i>Agallia quadripuctata</i>	207	1.09	PF	4.98	PF	12.76	F	5	PF	5.06	F	2.56	PF	4.37	PF	6.35	F	8.51	F
Typhocybinae																			
Alebrini																			
<i>Trypanalebra maculata</i>	49	0	-	0	-	9.16	F	0.21	O	0	-	1.60	PF	0.97	O	0	-	0.89	O
Dikraneurini																			
<i>Alconeura sp</i>	34	0.15	O	0.22	O	1.64	PF	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
<i>Typhlocybella minima</i>	30	0	-	0	-	0	-	1.04	PF	1.40	PF	1.60	PF	3.64	PF	2.38	PF	0.35	O
Empoascini																			
<i>Empoasca sp</i>	290	2.55	PF	6.20	F	0.65	O	1.04	PF	6.18	F	0.24	O	8.74	F	11.11	F	14.18	F
<i>Empoasca sp</i>	253	0.97	O	7.92	F	3.71	PF	2.92	PF	5.06	F	0.16	O	7.28	F	7.94	F	11.35	F
<i>Empoasca sp</i>	15	0.02	O	0.19	O	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-

A: Abundancia total de cicadélidos. IR: Importancia relativa expresada en porcentaje. C: Clasificación por presencia y ausencia: D = especies dominantes, F = especies frecuentes, PF = especies poco frecuentes, O = especies ocasionales, y - = especies ausentes

4.2. Abundancia estacional

Los cicadélidos se presentaron durante todo el periodo de estudio, y el perfil de incremento fue similar en las tres plantaciones. La mayor infestación de adultos se registró en las plantaciones de zarzamora sujetas a manejo orgánico, con el método de trampeo, en el periodo de noviembre a diciembre; mientras que en arándano de septiembre a diciembre (Figura 11), situación que coincide en las tres plantaciones con las etapas de fructificación-cosecha. La población de hembras y machos fue similar en los cultivos estudiados (Figura 11) con ligera tendencia a favor de machos capturados con trampas amarillas, en zarzamora orgánica.

El análisis de correlación indica que las precipitaciones prevaletientes en la zona de estudio, tuvieron un efecto adverso en la abundancia de los cicadélidos ($p \leq 0.05$), puesto que, en los periodos de mayor precipitación (junio-agosto), la población tendió a disminuir (Figura 11, Cuadro 6).

4.3. Detección molecular de *X. fastidiosa* en plantas

En los recorridos realizados en diciembre, en la plantación “3 Parajes” (zarzamora orgánica) se colectaron tres plantas en etapa de fructificación con síntomas sospechosos a *X. fastidiosa*, por lo que, el diagnóstico molecular se realizó en hojas y tallos de las tres plantas, con sus respectivas repeticiones, además del control positivo y negativo (Cuadro 7).

Del total de muestras analizadas, solo se logró la amplificación de una muestra de tallo (733 pb) con sospechas a la presencia de la bacteria, sin embargo, no se obtuvo amplificación del positivo lo que invalidó el resultado obtenido. Aun con ello y para contar con elementos de interpretación del hallazgo, la muestra se envió a secuenciar a la compañía Psomagen, EUA. El resultado indicó una coincidencia del 100% a *X. fastidiosa*, pero el porcentaje de cobertura solo correspondió al 7% de las bases comparadas, las que coincidieron con la secuencia del iniciador, por lo que esta muestra se consideró negativa.

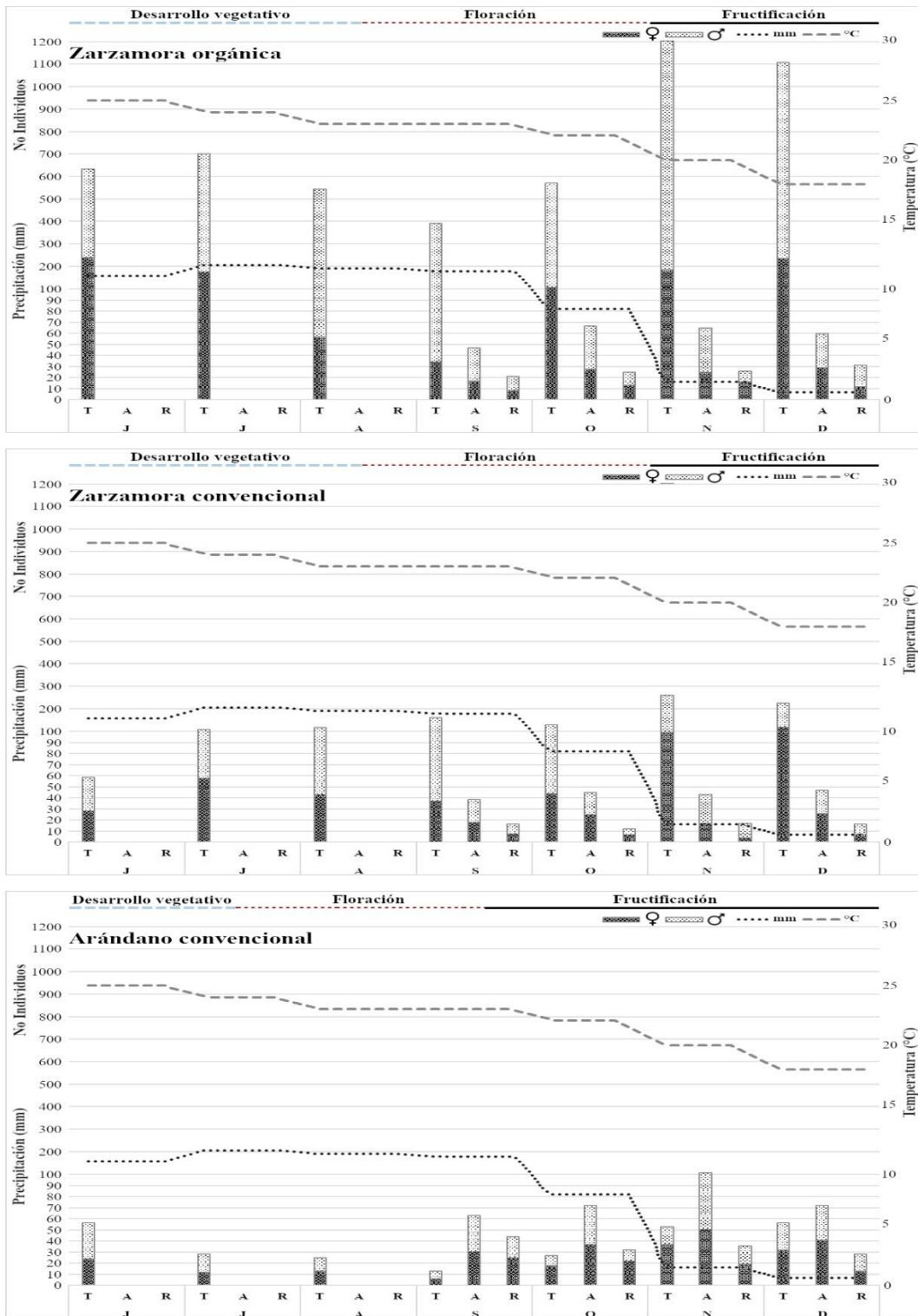


Figura 11. Abundancia estacional de cicadélidos capturados, por trampeo (T), aspirado (A) y redeo (R), en plantaciones de zarzamora en manejo orgánico, zarzamora en manejo convencional y arándano en manejo convencional, de junio a diciembre de 2020, en Los Reyes, Michoacán, México

Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson para las variables temperatura y precipitación en la abundancia estacional de cicadélidos, colectados en plantaciones de zarzamora y arándano con manejo orgánico y convencional en Los Reyes, Michoacán, México

Plantación	Variable	Cicadélidos totales		
		Trampeo	Aspirado	Redeo
Arándano convencional	Precipitación	-0.639	-0.628	0.819
	Prob.	0.121	0.371	0.180
	Temperatura	-0.403	-0.362	0.7458
	Prob.	0.369	0.637	0.254
Zarzamora convencional	Precipitación	-0.767	-0.644	-0.092
	Prob.	0.043*	0.355	0.907
	Temperatura	-0.858	-0.767	-0.375
	Prob.	0.013*	0.232	0.624
Zarzamora orgánica	Precipitación	-0.817	-0.735	-0.889
	Prob.	0.024*	0.264	0.110
	Temperatura	-0.761	-0.387	-0.959
	Prob.	0.046*	0.612	0.040*

* Correlaciones estadísticamente significativas con probabilidad de $p \leq 0.05$

Posteriormente y con fines de corroborar los síntomas en primera inspección se colectaron al azar, el 17 de mayo de 2021, en la misma plantación donde se habían colectado las plantas sintomáticas, 25 plantas que se encontraban en etapa de desarrollo vegetativo. Se procedió a realizar el diagnóstico para hoja, raíz y tallo de cada planta. El análisis molecular y patrón electroforético mostró amplificación solo para el control positivo y resultados negativos al control negativo y a las 75 muestras analizadas (Cuadro 7).

4.4. Detección molecular de *X. fastidiosa* en insectos

Para detectar la posible presencia de la bacteria en cicadélidos, y tomando en cuenta los criterios de las dimensiones mayor a 8 mm y especies con antecedentes como vectores de la bacteria, se seleccionaron representantes de 26 especies de cicadélidos del total de las especies encontradas en el estudio (Cuadro 7). De cada especie se realizó el diagnóstico molecular de tres ejemplares, 2 hembras y un macho.

Cuadro 7. Resultados de pruebas de PCR punto final con los iniciadores RST31 y RST33 usando el ADN total de insectos y plantas

Especie	Insectos			No de planta	Plantas		
	Ejemplar				Órgano analizado		
	1	2	3		Hoja	Tallo	Raíz
<i>Acinopterus angulatus</i>	-	-	-	Primera colecta (diciembre-2020)			
<i>Acuera ultima</i>	-	-	-	1	-	-	-
<i>Chlorogonalia coeruleovittata</i>	-	-	-	2	-	+	-
<i>Cyrtodisca major</i>	-	-	-	3	-	-	-
<i>Draeculacephala minerva</i>	-	-	-	Control negativo	-	-	-
<i>Dilobopterus sp</i>	-	-	-	Control positivo	-	-	-
<i>Graphocephala aurolineata</i>	-	-	-	Segunda colecta (mayo-2021)			
<i>Graphocephala fennahi</i>	-	-	-	1	-	-	-
<i>Graphocephala flavovittata</i>	-	-	-	2	-	-	-
<i>Graphocephala marathonensis</i>	-	-	-	3	-	-	-
<i>Graphocephala punctulata</i>	-	-	-	4	-	-	-
<i>Graphocephala rufimargo</i>	-	-	-	5	-	-	-
<i>Homalodisca ichthyocephala</i>	-	-	-	6	-	-	-
<i>Homalodisca insolita</i>	-	-	-	7	-	-	-
<i>Omanolodia bystila</i>	-	-	-	8	-	-	-
<i>Osbornellus. rarus</i>	-	-	-	9	-	-	-
<i>Oncometopia sp</i>	-	-	-	10	-	-	-
<i>Phera centrolineata</i>	-	-	-	11	-	-	-
<i>Paraulacizes figurata</i>	-	-	-	12	-	-	-
<i>Plesiommata mollicula</i>	-	-	-	13	-	-	-
<i>Ponana. woodruffi</i>	-	-	-	14	-	-	-
<i>Sibovia compta</i>	-	-	-	15	-	-	-
<i>Spanbergiella mexicana</i>	-	-	-	16	-	-	-
<i>Sibovia recta</i>	-	-	-	17	-	-	-
<i>Texananus hosanus</i>	-	-	-	18	-	-	-
<i>Xyphon reticulatum</i>	-	-	-	19	-	-	-
Control negativo	-	-	-	20	-	-	-
Control positivo	+	+	+	21	-	-	-
				22	-	-	-
				23	-	-	-
				24	-	-	-
				25	-	-	-
				Control negativo	-	-	-
				Control positivo	+	+	+

Las amplificaciones de ADN de los 71 ejemplares sometidos a diagnóstico y comparación con la banda amplificada para el control positivo permitieron inferir que los cicadélidos estudiados se encontraban libres de la bacteria (Cuadro 7 y Figura 5-8, 12).

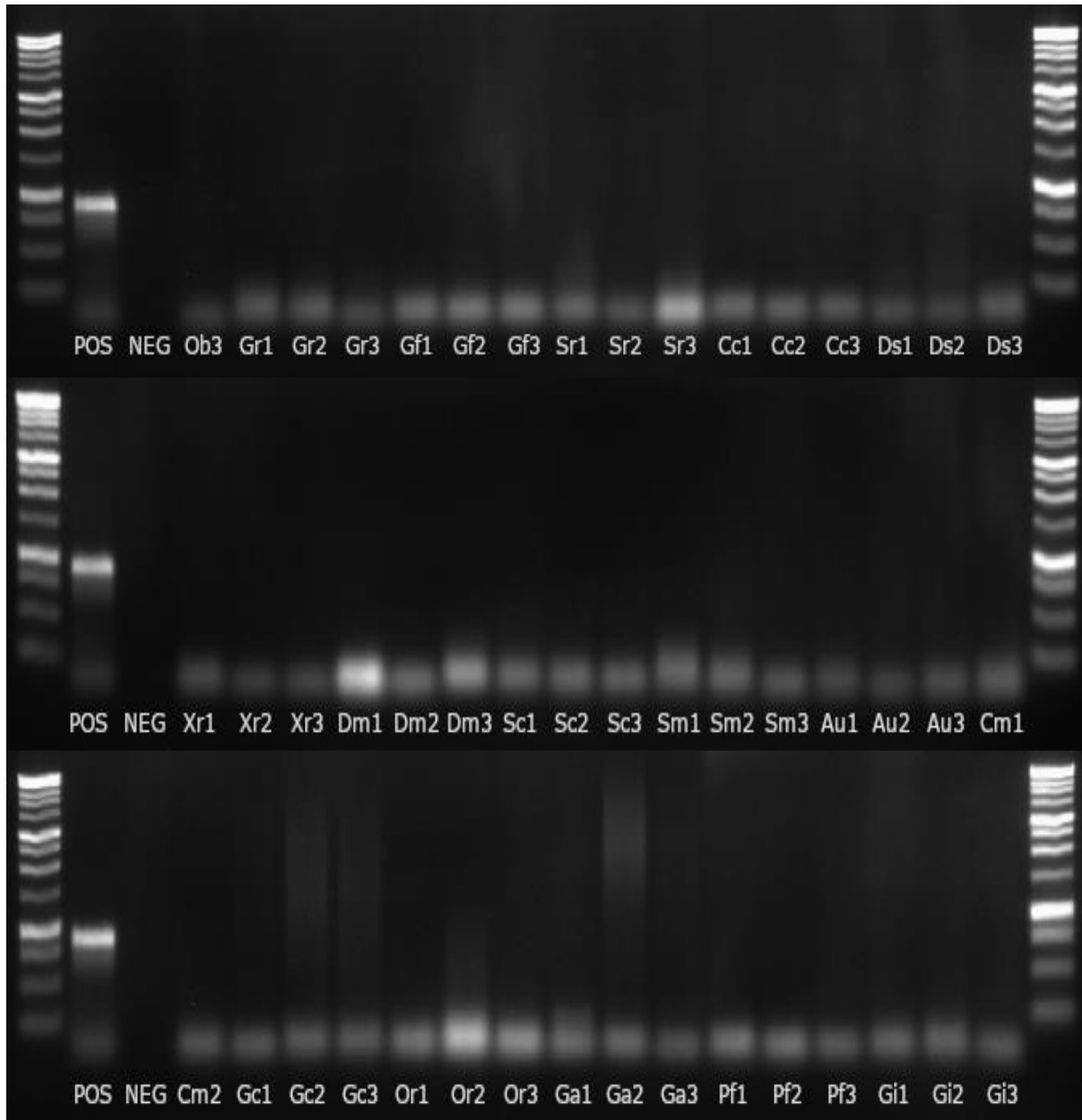


Figura 12. Electroforesis de PCR punto final para detección de *X. fastidiosa* en chicharritas. Utilizando iniciadores RST31-RST33. Ob3= *O. bistyla*; Gr1-3= *G. rufimargo*; Gf1-3= *G. flavovittata*; Sr1-3= *S. recta*; Cc1-3= *C. coeruleovittata*; Ds1-3= *Dilobopterus* sp; Xr1-3= *X. reticulatum*; Dm1-3 = *D. minerva*; Sc1-3= *S. compta*; Sm1-3= *S. mexicana*; Au1-3= *A. ultima*; Cm1-2= *C. major*; Gc1-3= *P. woodruffi*; Or1-3= *O. rarus*; Ga1-3= *G. aurolineata*; Pf1-3= *P. figurata*; Gi1-3= *G. fennahi*; POS= Control positivo; NEG= Control negativo

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se reportan por primera vez 43 de las 45 especies de cicadélidos citados para zarzamora var. Dasha en México, de los cuales, 15 se suman a la lista de especies reportadas por Pérez-Mejía *et al.* (2020) en arándano en Jalisco.

La preferencia de los cicadélidos por el color amarillo, hace que el uso de trampas de ese color sea considerado un método efectivo y constante de captura (Krügner y Fiore, 2019). Sin embargo, es importante considerar que si el objetivo de la captura es realizar un análisis molecular con fines de determinación específica y/o identificar especies portadoras de patógenos y potenciales vectores, entonces la captura de cicadélidos mediante aspirado y redeo es preferible para contar con material biológico fresco (Sánchez *et al.*, 2019).

El cambio de dominancia de una especie a otra, o entre un sistema y otro, puede deberse a que con la aspiradora se dio la posibilidad de coleccionar especímenes afines a pastos que crecen en la cercanía de los cultivos (Pinedo-Escatel y Moya-Rayagoza, 2018). Un sistema orgánico favorece la presencia de vegetación herbácea, entre y alrededor de los cultivos, que resguarda a los cicadélidos adultos, que al llegar la primavera se desplazan hacia el cultivo para alimentarse (Pérez-Mejía *et al.*, 2020).

De las 45 especies registradas en este estudio, *D. minerva* (Lopes *et al.*, 2009) y *H. insolita* (Sanderlin y Melanson, 2010) se reportan como vectores de *X. fastidiosa* en vid y durazno, respectivamente; no obstante, existen referencias que señalan a especies de los géneros *Graphocephala* (Ranieri *et al.*, 2020), *Xyphon* (Redak *et al.*, 2004), *Dilobopterus*, *Oncometopia* (Alves *et al.*, 2008), *Plesiommata* (Dellapé *et al.*, 2016) y *Sibovia* (Müller *et al.*, 2021), en diversos cultivos, como potenciales vectores de la bacteria.

La baja captura de cicadélidos en trampas amarillas en arándano, se atribuye al sistema de plantación que es manejado, al no permitir el crecimiento de arvenses entre hileras

dentro del cultivo, viéndose reflejado en la captura de cicadélidos en las arvenses en la periferia del mismo.

Los picos poblacionales se asignan a una mayor disponibilidad y concentración de nutrientes en el hospedante (Brodbeck *et al.*, 1990) y a un mayor metabolismo enzimático en el xilema (Coudron *et al.*, 2007) que define la preferencia y selectividad por parte de las cicadélidos. La ligera tendencia de machos en zarzamora orgánica contrasta con lo mencionado por Chen *et al.* (2010) y Pérez-Mejía *et al.* (2020), quienes encontraron mayor abundancia de hembras, lo que relacionaron con tiempos prolongados de alimentación y mayor esperanza de vida de éstas durante la migración (Swenson, 1971; Beanland *et al.*, 2000).

A excepción de lo registrado en plantaciones de zarzamora sujetas a manejo orgánico, las temperaturas prevalecientes en la zona de estudio (18-25 °C) fueron favorables para el desarrollo de los cicadélidos (Van Nieuwenhove *et al.*, 2016), sin embargo, el análisis de correlación evidenció una relación negativa con la precipitación, aspecto que se contrapone a lo reportado por Pérez-Mejía *et al.* (2020), quienes indican que las variables climáticas no influyeron de forma determinante en la abundancia de los cicadélidos debido a que el uso de microtúneles para la producción de arándano evita acción directa de la lluvia sobre las plantas y genera un microclima al interior del mismo, que propicia condiciones favorables para el establecimiento de las poblaciones (Gallardo-Granados *et al.*, 2016; Cruz-Andrés *et al.*, 2018). Aunque la abundancia de cicadélidos en determinados periodos también se explica por la disponibilidad de vegetación abundante, en la colindancia de las plantaciones, donde algunas de éstas se alimentan (Almeida y Nunney, 2015). Las prácticas de manejo en cada plantación, determinadas por los dueños de la empresa, también podrían ser un factor determinante en la reducción de la abundancia poblacional.

La variabilidad o falta de consistencia en la detección de *X. fastidiosa* en plantas e insectos quizás se debe a que la bacteria presenta una variación estacional que en gran medida depende de la planta huésped y la zona geográfica, como demuestran los

estudios en diversos cultivos. Por tanto, factores diferentes a los climáticos, como la senescencia de la hoja, hibernación del huésped y variaciones en las poblaciones de los vectores y su eficiencia de transmisión, podrían asimismo contribuir a esta dinámica estacional de las poblaciones bacterianas (Henneberger *et al.*, 2004).

Los resultados negativos para la detección de la bacteria en cicadélidos refuerzan lo señalado por Weintraub y Beanland (2006) quienes sostienen que el hecho de que una especie esté presente en el cultivo no es garantía de que porte la bacteria, por lo que es imprescindible realizar pruebas moleculares y ensayos para confirmar su participación en la transmisión de un patógeno. Asimismo, y aun cuando en el estudio se identificaron 11 especies de cicadélidos como potenciales vectores de *X. fastidiosa* es importante considerar que la relación entre especie y bacteria es compleja y específica y dependiente de factores ambientales prevalecientes en la zona de estudio.

VI. CONCLUSIONES

Se obtuvieron 7,512 especímenes que representan a seis subfamilias, 18 tribus, 35 géneros, y 45 especies de Cicadellidae. Se incluyen fotografías de los adultos y genitales de macho de especies representativas.

En las familias Cicadellinae y Deltocephalinae, se concentró el mayor número de especies. *Graphocephala rufimargo*, *Scaphytopius nitridus*, *Empoasca* sp. 1, *Empoasca* sp. 2, *Graminella cognita*, *G. sonora*, *Agallia quadripunctata* y *Dalbulus maidis*, fueron las especies más abundantes.

La mayor abundancia de cicadélidos, en zarzamora orgánica y convencional, se registró en noviembre – diciembre, mientras que, en arándano convencional a finales de septiembre, que coincide con los periodos de fructificación y menor precipitación.

La abundancia de cicadélidos es mayor en el sistema de trasplante directo a suelo con acolchado por hilera en comparación con el sistema de trasplante en sustrato en semi-hidroponía y acolchado total. Aunado a lo anterior, la mayor cantidad de individuos fue capturada en la plantación bajo manejo orgánico.

El uso de trampas amarillas permite coleccionar individuos en un tiempo de monitoreo determinado, sin embargo, la calidad del material biológico disminuye entre mayor tiempo de exposición con la intemperie. Sin embargo, el aspirado y redeo posibilita el obtener material fresco, requisito deseable en diversos procesos de laboratorio.

El análisis molecular de cicadélidos representantes de 26 especies (71 muestras) y 25 plantas (75 muestras) fueron negativos a la presencia de la bacteria *X. fastidiosa*.

VII. LITERATURA CITADA

- Acevedo-Reyes, N., Zetina, D. H., Blanco-Rodríguez, E., López-Buenfil, J. A., y Martínez-Rosas, R. 2019. Mendez-Herrera Technique: New clearing technique proposed for immature stages and internal structures of adult insects. *Southwestern Entomologist*, 44(2), 519-522. <https://doi.org/10.3958/059.044.0218>
- Almeida, R. P. P., y Nunney, L. 2015. How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? *Plant Disease*, 99(11), 1457-1467. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0159-FE>.
- Almeida, R. P., y Purcell, A. H. 2003. Biological traits of *Xylella fastidiosa* strains from grapes and almonds. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7447-7452. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7447-7452.2003>
- Alves, E., Leite, B., Marucci, R. C., Pascholati, S. F., Lopes, J. R. S., y Andersen P. C. 2008. Retention sites for *Xylella fastidiosa* in four sharpshooter vectors (Hemiptera: Cicadellidae) analyzed by scanning electron microscopy. *Current Microbiology*, 56(5), 531-538. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9119-7>
- Aneberries, 2021a. Lista de productos autorizados en mora azul (Blueberry). En línea. Disponible en: https://www.aneberries.mx/wp-content/uploads/2020/08/Aneberries_Mora-Azul-USA_2021.pdf
- Aneberries, 2021b. Lista de productos autorizados en zarzamora (Blackberry). En línea: Disponible en: https://www.aneberries.mx/wp-content/uploads/2020/08/Aneberries_Zarzamora-EU_2021.pdf
- Backus, E. A. 1988. Sensory systems and behaviours which mediate hemipteran plant-feeding: A taxonomic overview. *Journal of Insect Physiology*, 34(3), 151-157. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(88\)90045-5](https://doi.org/10.1016/0022-1910(88)90045-5)
- Backus, E. A., y Morgan, D. W. 2011. Spatiotemporal colonization of *Xylella fastidiosa* in its vector supports the role of egestion in the inoculation mechanism of foregut-borne plant pathogens. *Phytopathology*, 101(8), 912-922. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-10-0231>
- Beanland, L., Hoy, C. W., Miller, S. A., y Nault, L. R. 2000. Influence of aster yellows phytoplasma on the fitness of aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Annals*

- of the *Entomological Society of America*, 93 (2), 271-276.
[https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2000\)093\[0271:IOAYPO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2000)093[0271:IOAYPO]2.0.CO;2)
- Blanco-Rodríguez, E., Romero-Nápoles, J., Lomelí-Flores, R., Mora-Aguilera, G., y Dietrich, C. 2015. Cicadélidos asociados a cítricos en la Península de Yucatán, México. *Entomología Mexicana*, 2(1), 830-834.
- Blua, M. J., Phillips, P. A., y Redak, R. A. 2000. A new sharpshooter threatens both crops and ornamentals. *Plant Health Progress*, 1(1), 1-4. <https://doi.org/10.1094/PHP-2000-0627-01-RS>
- Brentassi, M. E., Catalano, M. I., Paradell, S., y de Remes Lenicov, A. M. M. 2010. Caracterización de *Typhlocybella maidica* (Hemiptera: Cicadellidae) y descripción del daño producido en plantas de maíz y gramíneas asociadas en la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 69(1-2), 57-64.
- Brodbeck, B. V., Mizell III, R. F., French, W. J., Andersen, P. C., y Aldrich, J. H. 1990. Amino acids as determinants of host preference for the xylem feeding leafhopper, *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae). *Oecologia*, 83(1), 338-345.
<https://doi.org/10.1007/bf00317557>
- Burbank, L. P., Sisterson, M. S., y O'Leary, M. 2020. Infection of blueberry cultivar 'Esmeral' with a California Pierce's disease strain of *Xylella fastidiosa* and acquisition by glassy-winged sharpshooter. *Plant Disease*, 104(1), 154–160.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1126-RE>
- CABI (Centre for Agricultural Bioscience International) 2018. *Xylella fastidiosa* (Pierce's disease of grapevines). En línea. Disponible en: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/57195#tosummaryOfInvasiveness>. Ultimo acceso: 27 de agosto de 2021.
- Camacho-Aguilar, I. I., Hernández-Castillo, F. D., González-Gallegos, E., Blanco-Rodríguez, E., Flores-Olivas, A., y García-Martínez, O. 2019. Host and vectors of *Xylella fastidiosa* in Parras, Coahuila vineyards, Mexico. *Revista Bio Ciencias*, 6(e413), 1-9. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e413>
- Carbajal, D., Morano, K. A., y Morano, L. D. 2004. Indirect immunofluorescence microscopy for direct detection of *Xylella fastidiosa* in xylem sap. *Current Microbiology*, 49(5), 372-375. <https://doi.org/10.1007/s00284-004-4369-5>

- Castellanos-Flores, J. J., Santoyo-Cortés, V. H., Leos-Rodríguez, J. A., y Ávalos-Gutiérrez, C. 2013. Factibilidad técnica y financiera de una estrategia de innovación basada en la producción orgánica de zarzamora (*Rubus fruticosus*) en Michoacán. Tesis Maestro en Estrategia Agroempresarial. Universidad Autónoma Chapingo. 139 p.
- Coudron, T. A., Brandt, S. S., y Hunter, W. B. 2007. Molecular profiling of proteolytic and pectin transcripts in *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadellidae) feeding on sunflower and cowpea. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 66(2), 76-88. <https://doi.org/10.1002/arch.20200>
- Cruz-Andrés, O. R., Pérez- Herrera, A., Martínez-Gutiérrez, G. A., y Morales, I. 2018. Cubiertas de macrotúneles y su efecto en las propiedades nutraceuticas del chile de agua. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(4-A), 555-558.
- Chang, C. J., Donaldson, R., Brannen, P., Krewer, G., y Boland, R. 2009. Bacterial leaf scorch, a new blueberry disease caused by *Xylella fastidiosa*. *HortScience*, 44(2), 413-417. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.2.413>
- Chang, J. C., Garnier, M., Zreik, L., Rossetti, V., y Bové, J. M. 1993. Culture and serological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. *Current Microbiology*, 27(3), 137-142. <https://doi.org/10.1007/BF01576010>
- Chen, W., Leopold, R. A., y Boetel, M. A. 2010. Host plant effects on development and reproduction of glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Homoptera: Cicadellidae). *Environmental Entomology*, 39(5), 1545-1553. <https://doi.org/10.1603/EN10098>
- Danee, K. M., Wistrom, C. M., Shapland, E. B., y Sisterson, M. S. 2011. Seasonal abundance of *Draeculacephala minerva* and other *Xylella fastidiosa* vectors in California almond orchards and vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 104(2), 367-374. <https://doi.org/10.1603/EC10226>
- De Lima, J. E. O., Miranda, V. S., Hartung J. S., Brlansky, R. H., Coutinho, A., Roberto S. R., y Carlos, E. F. 1998. Coffee Leaf Scorch Bacterium: Axenic culture, pathogenicity, and comparison with *Xylella fastidiosa* of citrus. *Plant Disease*, 82(1), 94-97. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.1.94>

- DeLong, D. M., y Freytag, P. H. 1974. Studies of the Gyponinae: The genus *Acuera* (Homoptera: Cicadellidae). *The Ohio Journal of Science*, 74(3), 185.
- DeLong, D. M., y Hamilt, K. G. A. 1974. The genus *Amblysellus* (Homoptera: Cicadellidae): A key to the known species, with descriptions of eight new species. *The Canadian Entomologist*, 106(8), 841–849. <https://doi.org/10.4039/Ent106841-8>
- Dellapé, G., Paradell, S., Semorile, L., y Delfederico, L. 2016. Potential vectors of *Xylella fastidiosa*: a study of leafhoppers and treehoppers in citrus agroecosystems affected by Citrus Variegated Chlorosis. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 161(2), 92-103. <https://doi.org/10.1111/eea.12491>
- Djelouah, K., Frasher, D., Valentini, F., D'Onghia A. M., y Digiario, C. 2014. Setting up of direct tissue blot immunoassay for detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(1), 559-564. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14603
- EFSA, Panel on Plant Health (European Food Safety Authority) 2015. Scientific opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*, 13(1), 3989. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3989>
- Elbeaino, T., Yassen, T., Valentini, F., Ben Moussa, I. E., Mazzoni, V., y D'onghia, M. 2014. Identification of three potential insect vectors of *Xylella fastidiosa* in southern Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(1), 328-332. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14113
- EPPO, (European and Mediterranean Plant Protection Organization) 2018. *Xylella fastidiosa*. PM 7/24 (3). *EPPO Bulletin*, 40, 175-218.
- FAOSTAT, (Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2021. Crops and livestock products. En línea. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Último acceso: 25 de agosto de 2021.
- Feil, H., Feil, S. W., y Purcell, H. 2003. Effects of date of inoculation on the within-plant movement of *Xylella fastidiosa* and persistence of Pierce's disease within field grapevines. *Phytopathology*, 93(2), 244-251. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.244>

- Fereres, A. 2015. Insect vectors as drivers of plant virus emergence. *Current Opinion Virology*, 10, 42-46. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.coviro.2014.12.008>
- Freytag, P. H. 1992. Two new species of Acinopterus (Homoptera: Cicadellidae) from Central America. *Journal of Kansas Entomological Society*, 65(4), 459–461.
- Galvez, L. C., Korus, K., Fernandez, J., Behn, J. L., y Banjara, N. 2010. The threat of Pierce’s disease to midwest wine and table grapes. *APSnet Features Article*. <https://doi.org/10.1094/APSnetFeature-2010-1015>
- Gallardo-Granados, S., Salazar-Solís, E., Salas-Araiza, M. D., y Martínez-Jaime, O. A. 2016. Incidencia de especies de hemípteros en fresa bajo dos sistemas de cultivo en Irapuato, Guanajuato, México. *Southwestern Entomologist*, 41(2), 547-560. <https://doi.org/10.3958/059.041.0223>
- Garay-Serrano, E., Cruz-Esteban, S., Fernández-Pavia, S. P. F., Rodríguez-Alvarado, G. A., y Gómez-Dorantes, N. 2021. Pathogenic microorganisms infecting berries in Mexico. *International Journal of Agriculture y Biology*, 25(5), 1007-1015. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1758>
- García, E. (1998). “Climas en México (Clasificación de Köeppen, modificado por García)”. Escala 1:1,000,000. CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad), México.
- Genova, D. D., Lewis K. J., y Oliver, J. E. 2020. Natural infection of southern highbush blueberry (*Vaccinium corybosum* interspecific hybrids) by *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*. *Plant Disease*, 104(10), 2595–2605. <https://doi.org/10.1094/pdis-11-19-2477-re>
- Hail, D., Mitchell, F., Lauzière, I., Marshall, P., Brady, J., y Bextine, B. 2010. Detection and analysis of the bacterium, *Xylella fastidiosa*, in glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis*, populations in Texas. *Journal of Insect Science*, 10(168), 1-11. <https://doi.org/10.1673/031.010.14128>
- Harper, S. J., Ward, L. I., y Clover, G. R. G. 2010, erratum 2013. Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. *Phytopathology*, 100(12), 1282-1288. <https://doi.org/10.1094/phyto-06-10-0168>

- Hartung, J. S., Beretta, J., Brlansky, R. H., Spisso, J., y Lee, R. F. 1994. Citrus variegated chlorosis bacterium: Axenic culture, pathogenicity and serological relationships with other strains of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology*, 84, 591–597.
- Heck, M. 2018. Insect transmission of plant pathogens: a system biology perspective. *Host-Microbe Biology*, 3(2), 1-5. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00168-17>
- Henneberger, T. S. M., Stevenson, K. L., Britt, K. O., y Chang, C. J. 2004. Distribution of *Xylella fastidiosa* in sycamore associated with low temperature and host resistance. *Plant Disease*, 88(9), 951-958. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.9.951>
- Hill, B. L., y Purcell, A. H. 1995. Acquisition and retention of *Xylella fastidiosa* by an efficient vector, *Graphocephala atropunctata*. *Phytopathology*, 85(2), 209-212.
- Hill, B. L., y Purcell, A. H. 1997. Populations of *Xylella fastidiosa* in plants required for transmission by an efficient vector. *Phytopathology*, 87(12), 1197-1201. <https://doi.org/10.1094/phyto.1997.87.12.1197>
- Hopkins, D. L. 1981. Seasonal concentration of the Pierce's disease bacterium in grapevine stems, petioles, and leaf veins. *Phytopathology*, 71(4), 415-418. <https://doi.org/10.1094/Phyto-71-415>
- Hopkins, D. L., y Purcell, A. H. 2002. *Xylella fastidiosa*: Cause of Pierce's Disease of grapevine and other emergent diseases. *Plant Disease*, 86(10), 1056-1066. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.10.1056>
- IPPC, (International Plant Protection Convention), 2021. What is the International Plant Protection Convention (IPPC)? En línea. Disponible en: <https://www.ippc.int/es/about/overview/>. Último acceso: 26 de septiembre de 2021.
- ISPM 27, (International Standard for Phytosanitary Measures 27) 2018. ISPM 27, Diagnostic protocols for regulated pests, DP 25: *Xylella fastidiosa*. En línea. Disponible en: [DP 25: <i>Xylella fastidiosa</i> \(fao.org\)](https://www.fao.org/4/06402/20180601/0640220180601.pdf)
- Janse, J. D., y Obradovic, A. 2010. *Xylella fastidiosa*: its biology, diagnosis, control and risks. *Journal of Plant Pathology*, 92(1), 35-48.
- Jeger, M., Caffier, D., Candresse, T., Chatzivassiliou, E., Dehnen-Schmutz, K., Gilioli G., ... y Bragard, C. 2018. Updated pest categorisation of *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal*, 16(7): 5357. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5357>

- Krüger, K., y Fiore, N. 2019. Sampling methods for leafhopper, planthopper, and psyllid vectors. In: Musetti, R., y Pagliari, L. (eds). *Phytoplasmas, Methods in Molecular Biology* (pp 37–52), Vol 1875. Humana Press, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8837-2_4
- Lee, R. F., Beretta, M. J. G., Derrick, K. S., y Hooker, M. E. 1993. Development of a serological assay for citrus variegated chlorosis: A new disease of citrus in Brazil. *Proceedings Florida State Horticultural Society*, 105, 32-35.
- Li, W., Teixeira, D. C., Hartung, J. S., Huang, Q. Duan, Y., Zhou, L., Chen, J., Lin, H., Lopes, S., Ayres, A. J., y Levy, L. 2013. Development and systematic validation of qPCR ASSAYS for rapid and reliable differentiation of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. *Journal of Microbiological Methods*, 92(1), 79-89. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.10.008>
- Lopes, J. R. S., Daugherty, M. P., y Almeida, R. P. P. 2009. Context-dependent transmission of a generalist plant pathogen: host species and pathogen strain mediate insect vector competence. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131(2), 216–224. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00847.x>
- Martin, R. R., MacFarlane, S., Sabanadzovic, S., Quito, D., Poudel, B., y Tzanataki, L. E. 2013. Viruses and virus diseases of *Rubus*. *Plant Disease*, 97(2), 168-182. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-12-0362-FE>
- Minsavage, G. V., Thompson, C. M., Hopkins, D. L., Leite, R. M. V. B. C., y Stall, R. E. 1994. Development of a Polymerase Chain Reaction Protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. *Phytopathology*, 84(5), 456–461. <https://doi.org/10.1094/Phyto-84-456>
- Montero-Astúa, M., Chacon-Díaz, C., Aguilar, E., Rodríguez, C. M., Garita, L., Villalobos, W., Moreira, L., Hartung, J. S., y Rivera, C. 2008. Isolation and molecular characterization of *Xylella fastidiosa* from coffee plants in Costa Rica. *The Journal of Microbiology*, 46 (5), 482-490. <https://doi.org/10.1007/s12275-008-0072-8>
- Müller, C., Esteves, M. B., Kleina, H. T., Nondillo, A., Bott, M., y Lopes, J. R. S. 2021. First sharpshooter species proven as vectors of *Xylella fastidiosa* subsp *multiplex* in *Prunus salicina* trees in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 46: 386-391. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00430-8>

- Nielson, M. W. (1968). The leafhopper vectors of phytopathogenic virus (Homoptera, Cicadellidae), taxonomy, biology and virus transmission. Technical bulletin 1382. Agricultural Research Service. Washingt, D.C.
- Novotny, V., y Wilson, M. R. 1997. Why are there no small species among xylem-sucking insects? *Evolutionary Ecology*, 11(1), 419-437. <https://doi.org/10.1023/A:1018432807165>
- Oliva-Hurtado, M. M., Téliz-Ortiz, D., Ortega-Arenas, L. D., y Quezada-Salinas, A. 2020. Distribución de plantas hospedantes silvestre de *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* en México. *Acta Botánica Mexicana*, 127 (e1676), 1-13. <https://doi.org/10.21829/abm127.2020.1676>
- Oliver, J. E., Cobine, P. A., y De La Fuente, L. 2015. *Xylella fastidiosa* isolates from both subsp. *multiplex* and *fastidiosa* cause disease on southern highbush blueberry (*Vaccinium* sp.) under greenhouse conditions. *Phytopathology*, 105(7), 855-862. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-14-0322-FI>
- Paradell, S., Defea, B., Dughetti, A., Zárata, A., y Remes, L. M. M. 2014. Diversity of Auchenorrhyncha (Hemiptera: Cicadellidae: Delphacidae) associated with *Vicia villosa* in Southern Buenos Aires Province, Argentina. *Florida Entomologist*, 97(2), 674-684. <https://doi.org/10.1653/024.097.0247>
- Pérez-Mejía, F. A., Ortega-Arenas, L. D., Bautista-Martínez, N., Blanco-Rodríguez, E., y López-Buenfil, J. A. 2020 Leafhoppers1 associated with blueberry2 in Jalisco, Mexico. *Southwestern Entomologist*, 45(1), 275–288. <https://doi.org/10.3958/059.045.012>
- Pinedo-Escatel, J. A., y Moya-Raygoza. G. 2018. Diversity of leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae) associated with border grasses and maize durin the wet and dry seasons in Mexico. *Environmental Entomology*, 47(2), 282–291. <https://doi.org/10.1093/ee/nvx204>
- Pooler, M. R., y Hartung, J. S. 1995. Specific PCR detection and identifications of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. *Current Microbiology*, 31, 377-381. <https://doi.org/10.1007/BF00294703>
- Purcell, A. H., Porcelli, F., Cornara, D., Bosco, D., y Picciau, L. 2014. Characteristics and identification of xylem-sap feeders. Morelli M (ed). Regione Puglia, Bari, Italy.

- Purcell, A. H., y Saunders, S. R. 1999. Fate of Pierce's Disease strains of *Xylella fastidiosa* in common riparian plants in California. *Plant Disease*, 83(9), 825-830. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.9.825>
- Randall, J. J. Goldberg, N. P., Kemp, J. D., Radionenko, M., French J. M., Olsen, M. W., y Hanson, S. F. 2009. Genetic analysis of a novel *Xylella fastidiosa* subspecies found in the Southwestern United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(17), 5631-5638. <https://doi.org/10.1128/AEM.00609-09>
- Ranieri, E., Zitti, G., Riolo, P., Isidoro, N., Ruschioni, S., Brocchini, M., y Almeida R. P. P. 2020. Fluid dynamics in the functional foregut of xylem-sap feeding insects: A comparative study of two *Xylella fastidiosa* vectors. *Journal of Insect Physiology*, 120(103995), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.103995>
- Rapicavoli, J., Ingel, B., Blanco-Ulate, B., Cantu, D., y Roper, C. 2018. *Xylella fastidiosa*: an examination of re-emerging plant pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 19(4), 786-800. <https://doi.org/10.1111/mpp.12585>
- Redak, R. A., Purcell, A. H., Lopes, J. R. S., Blua, M. J., Mizel III, R. F., y Andersen, P. C. 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology*, 49(1), 243-270. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123403>
- Ricárdez-Luna, G., Aguilar-Rivera, N., Galindo-Tovar, M. E., y Debernardi-Vázquez, T. J. 2016. Diagnóstico de la producción de zarzamora (*Rubus* sp.) en la zona centro de Veracruz, México. *Agroproductividad*, 9(6), 34-38.
- Rivas, C. G. 2016. Manejo y producción forzada del cultivo de zarzamora. Serie Frutillas, Núm. 7, Artículos Técnicos de INTAGRI. México.
- Rodrigues, J. L. M., Silva-Stenico, M. E., Gomes, J. E., Lopes, J. R. S., y Tsai, S. M. 2003. Detection and diversity assessment of *Xylella fastidiosa* in field-collected plant and insect samples by using 16 rRNA and *gyrB* sequences. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 4249-4225. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.4249-4255.2003>
- SAS, 2004. Statistical Analysis System for Windows v. 9.0. Cary, North Caroline, USA.
- Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz, Moya J. M., Gonzales, L. J. J., y Orta, M. N. 2019. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el

- laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica*, 37(2), 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>
- Sanderlin, R. S., y Melanson, R. A. 2010. Insect transmission of *Xylella fastidiosa* to Pecan. *Plant Disease*, 94 (4), 465–470. <https://doi.org/10.1094/pdis-94-4-0465>
- Schaad, N. W., Postnikova, E., Lacy, G., Fatmi, M., y Chang, C. 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *pierce*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(3), 290-300. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00263>
- Schuenzel, E. L., Scally, M., Stouthamer, R., y Nunney, L. 2005. A multigene phylogenetic study of clonal diversity and divergence in North American Strains of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 3832-3839. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.3832-3839.2005>
- SENASICA, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2020. Protocolo de Diagnóstico: *Xylella fastidiosa* y sus subespecies (Versión 2.0). Autor. En línea. Disponible en: <http://sinavef.senasica.gob.mx/CNRF/AreaDiagnostico/DocumentosReferencia/ProtocoloFichas>. Ultimo acceso: 25 de agosto de 2021.
- SENASICA, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2019. Quemadura de la hoja (*Xylella fastidiosa*). Dirección General de Sanidad Vegetal- Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Ciudad de México. Ficha técnica No 66. 18p.
- Sherald, J. L., y Lei, J. D. 1991. Evaluation of a rapid ELISA test kit for detection of *Xylella fastidiosa* in landscaping trees. *Plant Disease*, 75 (2), 200-203. <https://doi.org/10.1094/PD-75-0200>.
- SIAP, (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2020. Panorama Agroalimentario 2020. En línea. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020. Ultimo acceso: 25 de agosto de 2021.
- SIAP, (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2021. Cierre de la producción agrícola. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. En línea.

- Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Ultimo acceso: 25 de agosto de 2021.
- Swenson, K. G. 1971. Relation of age, sex, and mating of *Macrostelus fascifrons* to transmission of aster yellows. *Phytopathology* 61: 657-659. <https://doi.org/10.1094/Phyto-61-657>.
- Tertuliano, M., Srinivasan, R., y Scherm, H. 2012. Settling behavior of the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis*, vector of *Xylella fastidiosa*, on southern highbush blueberry cultivars. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 143: 67-73. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01228.x>
- Valentini, F., y Porcelli, F. 2016. Sampling procedures. Presentation to the FAO-IPPC-CIHEAM International Workshop on *Xylella fastidiosa* y the Olive Quick Decline Syndrome, 19–22 April, 2016, Bari, Italy.
- Van Nieuwenhove, G. A., Frías, E. A., y Virla, E. G. 2015. Effects of temperature on the development, performance and fitness of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong) (Hemiptera: Cicadellidae): implications on its distributions under climate change. *Agricultural and Forest Entomology*, 18(1), 1-10. <https://doi.org/10.1111/afe.12118>
- Vargas, A. U. 2021. Las variedades de arándano más cultivadas en México. En línea. Disponible en: <https://nxtagro.io/las-variedades-de-arandano-mas-cultivadas-en-mexico/>.
- Weintraub, P. G., y Beanland, L. 2006. Insect vectors of phytoplasmas. *Annual Review of Entomology*, 51(1), 91-111. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151039>
- Winkler, A. K. 1976. Viticultura. CECOSA. México, D.F. 792 p.
- Young, D. A. 1968. Taxonomic study of the Cicadellinae (Homoptera: Cicadellidae) Part 1. Proconiini. Bulletin. U.S. Natl. Mus. 261.
- Young, D. A. 1977. Taxonomic study of the Cicadellinae (Homoptera: Cicadellidae) Part 2. New World Cicadellini and the genus *Cicadella*. North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin. 239.