

Evaluación del Riesgo de *Acidovorax avenae* Subsp. *citrulli* Asociada a Semilla de Sandía de Importación a México

Risk Assessment of *Acidovorax avenae* Subsp. *citrulli* Associated to Watermelon Seed Imported to Mexico

Norma Alejandra Elizalde Jiménez, Javier Hernández Morales, Santos Gerardo Leyva Mir, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, Carr. México-Texcoco, km. 38.5, Chapingo, Edo. de México, CP 56230, México; **Cristian Nava Díaz,** Colegio de Postgraduados, km. 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Edo. de México, CP 56230, México; **Ronald A. Sequeira, Glenn Fowler y Roger Magarey,** USDA-APHIS-PPQ, Center for Plant Health Science and Technology, Pest Epidemiological Risk Analysis Laboratory, 1730 Varsity Dr., Raleigh, NC, 27606, EUA. Correspondencia: lsantos@correo.chapingo.mx

(Recibido: Septiembre 30, 2009 Aceptado: Mayo 14, 2010)

Elizalde JNA, Hernández MJ, Leyva MSG, Nava DC, Sequeira RA, Fowler G y Magarey R. 2011. Evaluación del riesgo de *Acidovorax avenae* Subsp. *citrulli* asociada a semilla de sandía de importación a México. Revista Mexicana de Fitopatología 29:133-145.

Resumen. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, causante de la mancha bacteriana del fruto de la sandía, se considera un patógeno con alto potencial de destrucción capaz de causar pérdidas del 100% en vivero o plantación, cuando se desarrolla bajo condiciones ambientales favorables para su multiplicación y diseminación. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue analizar el riesgo de introducción y establecimiento de *A. avenae* subsp. *citrulli* (plaga cuarentenaria para México), asociada a semilla de sandía de importación. El proceso se basó en el análisis de riesgo versión 5.02 APHIS-PPQ, modificado para evaluar a este patógeno, incluyendo un análisis geoespacial para estimar el potencial de establecimiento de la bacteria en zonas productoras de sandía en México usando el sistema NAPPFAST. Los resultados indican que el rango de riesgo total de *A. avenae* subsp. *citrulli* es alto en México, al obtener un valor de 12 puntos acumulado de los elementos de riesgo categorizados. Las zonas productoras de sandía ubicadas en los estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco y la parte sur de Veracruz, resultaron con mayor potencial de establecimiento, debido a que las condiciones climáticas favorecen la infección por la bacteria durante los meses de mayo y junio, cuando el cultivo es susceptible. Mientras que las zonas productoras en los estados de Sinaloa, Durango, Zacatecas, Estado de México, Hidalgo, Querétaro, Michoacán, Guanajuato, Tlaxcala y Puebla, presentan menor potencial de establecimiento. La adopción de medidas fitosanitarias tales como el tratamiento de la semilla con ácido peroxiacético, que minimicen este riesgo, es ampliamente recomendada.

Palabras clave: *Citrullus lanatus*, plaga cuarentenaria, zonas

Abstract. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, causing bacterial fruit blotch of watermelon, is considered a pathogen with high potential for destruction capable of causing losses of 100% in nursery or plantation, when it is developed under favorable environmental conditions for their multiplication and dissemination. Therefore, the objective of this research was to analyze the risk of introduction and establishment of *A. avenae* subsp. *citrulli* (quarantine pest for Mexico) associated to import seed of watermelon. The assessment was based on the process of risk analysis version 5.02 APHIS-PPQ, modified to evaluate this pathogen, including a geospatial analysis to determine the potential of establishment of the bacterium in growing areas of watermelon in Mexico using the NAPPFAST system. The results show that the range of total risk of *A. avenae* subsp. *citrulli* is high in Mexico, obtaining a value of 12 points accumulated on the risk elements categorized. The growing areas of watermelon located in the states of Yucatan, Quintana Roo, Campeche, Tabasco, and Southern Veracruz, are at high risk of establishment, because the climatic conditions favor infection by the bacterium during May and June, when the crop is susceptible. Whereas the watermelon-producing areas in the states of Sinaloa, Durango, Zacatecas, Mexico, Hidalgo, Queretaro, Michoacan, Guanajuato, Tlaxcala, and Puebla, have low risk of establishment. The adoption of phytosanitary measures such as the treatment of the seed with peroxyacetic acid, to minimize this risk is widely recommended.

Additional key words: *Citrullus lanatus*, quarantine pest, establishment areas, potential.

The risk of introducing exotic pests with the increase of marketing agricultural products, due to the free trade agreement, also increases. The establishment of new pests can be costly because it increases crops damage, requires control programs and it presents quarantine restrictions on commercial trade (Follett and Neven, 2006). A total of 80%

de establecimiento, potencial.

Con el incremento de la comercialización de productos agrícolas debido al tratado de libre comercio, el riesgo de la introducción de plagas exóticas también se incrementa. El establecimiento de nuevas plagas puede ser costoso porque se incrementa el daño a los cultivos, se requiere de programas de control y representa restricciones cuarentenarias en el comercio (Follett y Neven, 2006). Francia, Holanda, Dinamarca, Estados Unidos, Japón, Alemania e Inglaterra exportan a México el 80% de las semillas en general. El otro 20% lo conforman países asiáticos y sudamericanos, destaca Brasil en los primeros lugares. De la semilla de importación se subraya la destinada para la producción de sandía en México, donde se siembra en 27 estados en una superficie de más de 48 mil hectáreas y cuyo valor de la producción oscila entre los 2,234 millones de pesos (SIAP, 2007). A causa de la importación de semilla de sandía, existe el riesgo en México de la entrada de patógenos con alto potencial de destrucción, como el caso de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, causante de la mancha bacteriana del fruto de sandía, que puede causar pérdidas del 100% en vivero o plantación cuando se desarrolla bajo condiciones ambientales favorables para su multiplicación y diseminación (Mora y Araya, 2002). El análisis de riesgo de plagas (ARP), proporciona la información necesaria a quienes toman las decisiones acerca del riesgo que representan las plagas que pueden ser introducidas a través de la importación de productos vegetales. Un análisis de riesgo típico incluye la evidencia científica, sus fuentes de consulta, fuentes de incertidumbre y criterios de raciocinio. En el ámbito fitosanitario, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), a través de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF), establece la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias No. 11, titulada Análisis de Riesgo de Plagas para Plagas Cuarentenarias, incluido el Análisis de Riesgo Ambiental y Organismos Vivos Modificados (FAO, 2004). Los requisitos generales para el ARP de acuerdo a la metodología FAO/CIPF, están integrados en tres etapas: 1) iniciación del análisis de riesgo, 2) evaluación del riesgo, y 3) manejo del riesgo. El ARP basado en los lineamientos FAO/CIPF, ha sido formalmente aplicado para la toma de decisiones por parte de la Dirección General de Sanidad Vegetal en México (DGSV), desde su versión inicial publicada en 1996 (Elizalde, 2008), como por ejemplo en el caso de la detección de Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) en cítricos en Yucatán y Quintana Roo (NAPPO, 2009) y de la roya anaranjada (*Puccinia kuenii*) de la caña de azúcar (NAPPO, 2010). Para las autoridades de la DGSV, es importante actualizar sus métodos de ARP y compararlos con los métodos aplicados en otras partes del mundo. Los objetivos del presente estudio fueron: 1) utilizar la metodología FAO/CIPF, para el análisis de riesgo de plagas, y 2) identificar el potencial de riesgo asociado a la introducción, establecimiento y dispersión de *A. avenae* subsp. *citrulli* en México, asociado a la importación de semilla de sandía (*Citrullus lanatus*).

of the seeds in general, exported to Mexico come from France, Holland, Denmark, USA, Japan, Germany and England. The other 20% is conformed by Asian and South African countries, having Brazil standing out in first place. The seed intended for watermelon production is emphasized as the most relevant imported seed, which in Mexico is sown in 27 states in an area of over 48 thousand hectares, and a production value reaching as much as 2,234 millions pesos (SIAP, 2007). Consequently, due to the watermelon seed imports in Mexico, a high risk of pathogens entry with high potential for destruction prevails, such as the *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, causing bacterial blotch of watermelon fruit, which can cause as much as 100 % losses in either nursery or plantation when developed under favorable environmental conditions for both multiplication and dissemination (Mora and Araya, 2002). The necessary information to those in charge to make decisions about the risk involved by pests which can be introduced through the importation of plant products is provided by the pest risk analysis (PRA). The scientific evidence, their reference sources, as well as sources of uncertainty and rationality criteria are usually included in a typical risk analysis. Concerning the phytosanitary environment, The United Nations Food and Agricultural Organization (FAO), through the International Plant Protection Convention (IPPC), established the International Standard for Phytosanitary Measures No. 11, titled Pest Risk Analysis for quarantine pests, including Analysis of Environmental Risk and Living Modified Organisms (FAO, 2004). The general requirements for PRA methodology, in accordance to FAO/IPPC, are built in three different stages: 1) risk analysis initiation; 2) risk assessment; 3) risk management. The PRA, based on FAO/IPPC guidelines, has been formally applied to decision making by the Dirección General de Sanidad Vegetal in Mexico (DGSV), from its original version published in 1996 (Elizalde, 2008); as an instance, the case of the detection of Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter asiaticus*), in citrus in Yucatan and Quintana Roo (NAPPO, 2009), and leaf rust (*Puccinia kuenii*) of sugarcane (NAPPO, 2010). It is important for DGSV authorities to update their PRA methods and to have them compared with other methods used in other parts of the world. The present study is aimed to: 1) use the FAO/IPPC technology for PRA; 2) identify the potential risk associated with the introduction, establishment and spreading of *A. avenae* subsp. *citrulli* in Mexico, associated with the importation of watermelon seed (*Citrullus lanatus*).

MATERIALS AND METHODS

Pest risk analysis. The database from CABI, AGRICOLA and AGRIS were consulted to meet the objectives, as well as the central library and the Department of Agricultural Parasitology library of Chapingo University, the Post-Graduate College library, the Library of the Center of Phytosanitary Science and Technology (CPHST), The United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service (USDA-APHIS), and the North Carolina State University Library (NCSU). The risk analysis process for the *A. avenae* subsp. *citrulli* (*Aac*)

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis de riesgo de plagas. Para cumplir con los objetivos, se consultaron las bases de datos del CABI, AGRICOLA y AGRIS, y las bibliotecas Central y del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, la biblioteca del Colegio de Postgraduados, la biblioteca del Centro de Ciencia y Tecnología Fitosanitaria (CPHST, por sus siglas en inglés), del Departamento de Agricultura de Estados Unidos-Servicio de Inspección de Sanidad Vegetal y Protección-Animal Fitosanitaria y Cuarentena (USDA-APHIS-PPQ), y la biblioteca de la Universidad Estatal de Carolina del Norte (NCSU). El proceso de análisis de riesgo de la introducción y establecimiento de *A. avenae* subsp. *citrulli* (*Aac*) se basó en lo propuesto por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), Servicio de Inspección y Sanidad Agropecuaria (APHIS) y Protección Cuarentenaria de las Plantas (PPQ) (USDA, 2000). Este proceso de evaluación de riesgo corresponde a la versión 5.02, adaptada a la evaluación de insectos y patógenos (USDA, 2005; 2007) e incluyó los siguientes pasos: 1) Inicio del proceso. Se documentó las razones de la evaluación de riesgo de *Aac* asociada a la semilla de sandía de importación, considerando su categoría cuarentenaria, los antecedentes de detección en México y la importancia económica potencial. 2) Identificación, biología y epidemiología. Para la evaluación de las consecuencias de introducción de *Aac* con base en diversos factores de riesgo, se obtuvo información en bases de datos acerca de la taxonomía, características morfológicas, biología y epidemiología del patógeno. 3) Distribución geográfica mundial. Si el patógeno se introdujera a México se esperaría que su comportamiento estuviera relacionado al de sus áreas nativas si los hospedantes y clima fueran similares, por lo que se consultaron diversas fuentes de información para realizar un listado de los países donde ocurre el patógeno. Esta información se analizó con base en el sistema NAPFAST (Magarey *et al.*, 2007), para conocer cuantas zonas climáticas en México son similares a las zonas donde *Aac* está o estuvo presente y se retomó en la categorización de hábitat favorable. 4) Consecuencias de una introducción. Se categorizaron cinco elementos de riesgo correspondientes a: a) hábitat favorable para la bacteria de acuerdo a la disponibilidad de zonas productoras de sandía en una etapa susceptible y condiciones climáticas favorables en México; b) rango de hospedantes presentes en México; c) potencial de dispersión después de su introducción a México, considerando los patrones reproductivos de la bacteria, su capacidad de movilidad y factores que faciliten su dispersión como viento y agua; d) impacto económico, en esta categoría se consideró la capacidad de *Aac* de causar daños directos o indirectos, como disminución en la producción de los cultivos que afecta, reducción en el valor de la sandía y las pérdidas de mercados que ha ocasionado en donde está presente; e) impacto ambiental, se incluyen los impactos directos como disrupción ecológica, reducción de la biodiversidad, y la estimulación de programas de control químico. Los elementos de riesgo se calificaron como: bajo 1=punto, medio=2 puntos y alto=3 puntos. El valor

introduction and establishment was based on what has been proposed by the (USDA), the (APHIS), and the Plant Protection and Quarantine (PPQ) (USDA, 2000). This risk assessment process corresponds to the 5.02 version adapted to the insects and pathogens evaluation (USDA, 2005; 2007), which included the following: 1) Beginning of the process. The reasons for the risk assessment of *Aac* associated to watermelon seed import were documented, considering its quarantine status, its detection history in Mexico and the potential economical relevance. 2) Identification, biology and epidemiology. Information collected from databases regarding taxonomy, morphological features, biology and pathogen epidemiology was used to assess the consequences of introducing *Aac*, based on several risk factors. 3) Geographical distribution worldwide. If the pathogen was introduced to Mexico, it would be expected that its behavior was related to their native areas if the host and climate were to be similar, so several information sources were consulted to make a list of countries where the pathogen occurs. This information was analyzed based on the NAPFAST system (Magarey *et al.*, 2007), in order to become better acquainted of how many climate zones in Mexico are similar to areas where the *Aac* is or had been present, having the issue revisited in the categorization of favorable habitat. 4) Introduction implications. A total of five risk elements were categorized related with: a) favorable habitat for bacteria according to watermelon producing areas availability at a susceptible stage and favorable weather conditions in Mexico; b) present host range in Mexico; c) potential dispersion after introduction in Mexico, considering the bacteria reproductive patterns, its mobility and factors which facilitate its spreading, such as wind and water; d) economical impact. The *Aac* ability to cause either direct or indirect damage was considered in this category, such as decreased production of affected crops, reduction in watermelon value and market losses caused by its presence; e) environmental impact, including direct impacts such as ecological disruption, biodiversity reduction and chemical control programs stimulation. Risk elements were rated as 1 point = lower; 2 points = middle; 3 points = high. The accumulated value is an indicator of the of biological potential of *Aac* to establish and spread itself, causing an economical and environmental impact in Mexico, thus. 5) Introduction pathways. The potential introduction of *Aac* to Mexico throughout the importation of watermelon seeds was identified. 6) Control options. Control measures for *Aac* exclusion, as well as cultural and chemical control, were identified. 7) Risk mitigation options. Phytosanitary measures were documented as having been adopted by several National Plant Protection Organizations, to decrease the risk of *Aac*. 8) Recommendation. Formulate the most appropriate mitigation measures considering the range of risk. 9) Information and uncertainty gaps. Research necessities on *Aac* host range. 10) Conclusion. The *Aac* potential risk corresponds to the cumulative sum of the ranks of introduction consequences. No specific phytosanitary measures are required, since the category for a cumulative risk, ranging from 5 to 7 points, is low; inspection at the

acumulado es un indicador del potencial biológico de *Aac* para establecerse, dispersarse y causar impacto económico y ambiental en México. 5) Vías de introducción. Se identificó el potencial de introducción a México de *Aac* a través de la importación de semilla de sandía. 6) Opciones de control. Se documentaron las medidas de control para la exclusión de *Aac*, así como control cultural y control químico. 7) Opciones de mitigación de riesgo. Se documentaron las medidas fitosanitarias como adoptadas por distintas Organizaciones Nacionales de Protección Vegetal, para disminuir el riesgo de *Aac*. 8) Recomendación. Para formular las medidas de mitigación más apropiadas considerando el rango de riesgo. 9) Vacíos en información e incertidumbre. Necesidades en investigación sobre el rango de hospedantes de *Aac*. 10) Conclusión. El riesgo potencial de *Aac*, el cual corresponde a la suma acumulativa de los rangos de las consecuencias de introducción. Para un rango de riesgo acumulado entre 5-7 puntos, la categoría es baja, por lo cual no se requieren medidas fitosanitarias específicas; la inspección en el punto de entrada se esperaría que proporcionaría suficiente seguridad cuarentenaria. Para un rango de riesgo entre 8-11 puntos, la categoría es media, por lo que medidas fitosanitarias específicas podrían ser necesarias. Si el rango de riesgo se encuentra entre 12-15 puntos, la adopción de medidas fitosanitarias específicas son ampliamente recomendadas, y la inspección en el punto de entrada se considera como insuficiente seguridad cuarentenaria.

Análisis geoespacial. En el análisis geoespacial para identificar áreas de riesgo de establecimiento y dispersión de *Aac*, se empleó el sistema NAPPFAST (NCSU-APHIS Plant Pest Forecast System), desarrollado por la Universidad Estatal de Carolina del Norte (NCSU) y Servicio de Inspección y Sanidad Agropecuaria (APHIS). NAPPFAST es un sistema útil en el análisis de riesgo, es usado para generar mapas basados en parámetros climáticos para plagas exóticas e incluye un modelo genérico de infección. El sistema de NAPPFAST tiene dos bases de datos separadas. La base de datos que corresponde a Norte América comprende más de 2000 estaciones meteorológicas, las cuales tienen una resolución por cuadrante de 10 km usando una interpolación 3D. Las variables climáticas de la base de datos corresponden a datos diarios de temperatura media, máxima y mínima (°C); número de horas totales de humedad (rocío) en las hojas; humedad relativa promedio (%); velocidad promedio del viento (km h⁻¹); precipitación (mm); temperatura promedio del suelo a 5 cm (°C); y evaporación (mm); además cuenta con datos mensuales de temperatura media, máxima y mínima (°C); rango de temperatura diaria (°C); frecuencia de heladas; precipitación (mm); frecuencia de días con humedad; presión de vapor (hectapascals); y nubosidad (%) (Magarey *et al.*, 2007). Con ayuda de esta interface se desarrolló el modelo genérico de infección de *Aac*. El modelo de infección de *Aac* consideró los siguientes parámetros: T_{min} = 26, T_{opt} = 28, T_{max} = 32°C, H_{min} = 6 h, precipitación > 2 mm por día, con al menos 30 min al 50% de humedad (rocío) en las hojas y con humedad relativa del 90% (Hu *et al.*, 1997; Zitter *et al.*, 1998). El período en que el

point of entry is expected to provide sufficient quarantine security. Specific phytosanitary measures could be required for a medium category risk, ranging from 8 to 11 points. If the risk ranges from 12 to 15 points, the specific phytosanitary measures are highly recommended; inspection at the point of entry is considered as an insufficient quarantine security measure.

Geospatial analysis. The NAPPFAST (NCSU-APHIS Plant Pest Forecast System), developed by both NCSU and APHIS, was used for the *Aac* establishment and spreading geospatial analysis. The NAPPFAST, which is a useful system for risk analysis, is used to generate maps based on climatic parameters for exotic pests, including an infection generic model. It has two separate databases. Over 2000 weather stations are included in the database corresponding to North America that has a 10 km resolution per quadrant, using a 3D interpolation. The database climatic variables correspond to daily data of average maximum and minimum temperature (°C); humidity total hours (dew) on leaves; average relative humidity (%); average wind speed (km h⁻¹); precipitation (mm); average soil temperature at 5 cm (°C), as well as evaporation (mm). It also has a monthly data on average maximum and minimum temperature (°C); range of daily temperature (°C); frost frequency; precipitation (mm); frequency of days with humidity; vapor pressure (hectapascals); and cloudiness (%) (Magarey *et al.*, 2007). The *Aac* infection generic model was developed using this interface. The following parameters were considered for the *Aac* infection model: T_{min} = 26, T_{opt} = 28, T_{max} = 32°C, H_{min} = 6 h, precipitation > 2 mm per day, with at least 30 min at 50% humidity (dew) on the leaves and with a 90% relative humidity (Hu *et al.*, 1997; Zitter *et al.*, 1998). The period when the foliage and fruit are more susceptible was defined in May and June, since it is during these months that the bacteria development becomes favored by a humid temperate climate. Every day was rated between 0 and 1 for infection, and these values were accumulated based on a 10 years historical climate record, for Mexico. At least a 30-45 period favorable for infection was used as a threshold, based on the climate conditions that may take place, in order to represent high risk and five days low risk. Different information layers were created with this information as a series of different color shades, with the help provided by the Arcview geographic system, and generated a map corresponding to the presence of bacteria worldwide, to the major watermelon producing states in the USA and Mexico during the production season of May and June, depending on the colors seen on the map, the best environmental conditions and those unsuitable for bacteria development.

RESULTS AND DISCUSSION

Reasons for risk assessment. Risk assessment for *Aac*, associated with the importation of watermelon seed, is required because it is a quarantine bacteria and it has not been reported in Mexico, yet. There have been losses as high as 100% in watermelon and melon (*Cucumis melo*) cantaloupe as a result of this disease (Mora and Araya, 2002). The pathogen represents a significant threat to

follaje y fruta son más susceptibles se definió en los meses de mayo y junio por presentarse en estos meses un clima templado húmedo que favorece el desarrollo de la bacteria. Cada día fue calificado entre 0 y 1 para infección y esos valores fueron acumulados con base en un registro histórico climático de 10 años para México. Con base en las condiciones climáticas que se pueden presentar, al menos 30-45 días favorables para infección fue usado como umbral para representar alto riesgo y cinco días bajo riesgo. Con esta información se crearon diferentes capas de información como una serie de diferentes tonalidades de color, con la ayuda del sistema geográfico Arcview se generó un mapa correspondiente a la presencia de la bacteria a nivel mundial a los principales estados productores de sandía, en los Estados Unidos de América y México en la estación de producción en mayo y junio, dependiendo del color que se observó en el mapa, las mejores condiciones ambientales y las no adecuadas para el desarrollo de la bacteria.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Motivos para la evaluación del riesgo. La evaluación del riesgo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (*Aac*) asociado a la semilla de sandía de importación, se debe a que es una bacteria cuarentenaria y aún no reportada en México. Se han registrado pérdidas de hasta 100% en sandía y melón (*Cucumis melo*) cantaloupe como consecuencia de esta enfermedad (Mora y Araya, 2002). El patógeno es una amenaza significativa para la producción de las cucurbitáceas en Estados Unidos y a nivel mundial con el mismo porcentaje de pérdidas (Schaad *et al.*, 2003).

Identificación, biología y epidemiología del patógeno. *A. avenae* subsp. *citrulli* agente causal de la mancha bacteriana del fruto (MBF) o bacterial fruit blotch (BFB) en inglés, se encuentra clasificada taxonómicamente en el Dominio: Bacteria, Phylum: Proteobacteria, Clase: Betaproteobacteria, Orden: Burkholderiales, Familia: Comamonadaceae, Género, especie y subespecie: *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Es una bacteria Gram negativa, aeróbica obligada y móvil con un sólo flagelo polar. La morfología de la célula es en forma de bastón, su tamaño varía de 0.02 a 0.08 x 1.0 a 5.0 µm. En agar nutritivo forma colonias redondas con márgenes irregulares de color beige a amarillo, convexas, lisas a ligeramente granulares y con una zona marginal translúcida. Las colonias no fluorescen en medio B de King (Schaad *et al.*, 2001; 2003). La severidad de la enfermedad es modificada por alta humedad y temperatura así como fuertes corrientes de viento. En Estados Unidos, el desarrollo de la bacteria es favorecido por el clima templado húmedo como el que existe en Florida en los meses de mayo y junio, época de producción de sandía, cultivo que requiere de temperaturas que van de los 23 a 34°C para el desarrollo de la planta y maduración del fruto, y humedad relativa óptima de 60 a 80%. La enfermedad puede progresar rápidamente en estas condiciones climáticas (Latin y Hopkins, 1995), ya que la bacteria puede crecer en rangos de temperaturas que van desde 1°C para la mínima, 28-32°C óptima y 32-41°C máxima, según algunos investigadores. Una vez en que la bacteria lograra introducirse a una zona productora de

cucurbit production in the USA, as well as at a worldwide level with the same losses percentage (Schaad *et al.*, 2003).

Pathogen identification, biology and epidemiology. The *Aac*, causal agent of the bacterial fruit blotch (BFB), is taxonomically classified in the domain: Bacteria, Phylum: Proteobacteria, Class: Betaproteobacteria, Order: Burkholderiales, Family: Comamonadaceae, genus, species and subspecies: *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. It is a Gram-negative bacterium, aerobic and mobile bound with a single polar flagellum. The cell morphology is rod-shaped; its size varies from 0.02 to 0.08 x 1.0 to 5.0 µm. It forms round colonies on nutrient agar with beige to yellow irregular margins, convex from smooth to slightly granular with a translucent marginal zone. The colonies do not fluoresce in a King B medium (Schaad *et al.*, 2001; 2003). Disease severity is modified by high humidity and temperature, as well as by strong wind currents. The bacteria development in the USA is favored by a humid temperature climate, such as it is in Florida from May to June, watermelon production season, a crop that requires temperatures ranging from 23 to 34°C for plant development and ripening, as well as an optimum relative humidity ranging from 60 to 80%. The disease can progress quickly in such climatic conditions (Latin and Hopkins, 1995), since the bacteria can grow in a temperature ranging from 1°C for the minimum, 28-32°C for optimum and 32-41°C for maximum, according to some researchers. Once the bacterium is able to enter an area of watermelon production in Mexico, it would have a high reproductive potential, since under favorable temperature conditions ranging from 27-30°C and with a 90% humidity, the first chlorotic spots can be appreciated two days after inoculation, turning into a necrosis after three days (Hu *et al.*, 1997; Tanajura *et al.*, 2005; Zitter *et al.*, 1998). It is indicated by Silveria *et al.* (2003), that the incubation period can occur even in the range of 1.3 to 2.7 days. The disease cycle in most host crops apparently initiated with contaminated seed is the inoculum source; then the bacteria infect the seedling cotyledons as it emerges from the seed coat. The *Aac* can survive for several years in seeds that have been dried and stored. Most watermelon production in the USA is still by direct sowing of seed, but the transplant is also becoming more common. The bacteria are dispersed effectively to neighboring seedlings in greenhouses by means of overhead irrigation, which may result in a high number of infected seedlings that can reach the fields of production, becoming the mechanism through which the bacteria can spread themselves, thus. Transplants usually have no symptoms (Latin and Hopkins, 1995). The *Aac* symptoms development and spreading on foliage and fruit are faster in the summer, when the weather is warm and sunny with rains in gusts. The *Aac* disease spreads itself from lesions on fruits and flowers through the water splashed during rain or irrigation. Lesions on leaves in the field do not result in defoliation, but are an important reservoir of bacteria for the infection of newly formed fruits, which are more vulnerable to pathogen infection. The bacterium enters through the surface of developing fruit, where it forms small, watery lesions after three to seven

sandía en México, tendría un alto potencial reproductivo, ya que bajo condiciones favorables de temperaturas entre 27-30°C y 90% de humedad, se observan los primeros puntos cloróticos dos días después de la inoculación, convirtiéndose en una necrosis después de tres días (Hu *et al.*, 1997; Tanajura *et al.*, 2005; Zitter, 1998). Silveria *et al.* (2003), señalan que el período de incubación incluso puede presentarse en un rango de 1.3 a 2.7 días. El ciclo de la enfermedad en la mayoría de los cultivos hospedantes aparentemente inicia con semilla contaminada y representa la fuente de inóculo, posteriormente la bacteria infecta los cotiledones de la plántula cuando ésta emerge de la testa de la semilla. *Aac* puede sobrevivir por varios años en semillas que han sido secadas y almacenadas. La mayoría de la producción de sandía en los Estados Unidos es aún por siembra directa de semilla, pero el trasplante también se está haciendo más común. La irrigación aérea dispersa con efectividad a la bacteria a plántulas vecinas en invernaderos, lo que puede resultar en un alto número de plántulas infectadas las cuales pueden llegar a los campos de producción y ser el mecanismo a través del cual la bacteria puede diseminarse. Generalmente los trasplantes no presentan síntomas (Latin y Hopkins, 1995). En el campo, el desarrollo de síntomas y la dispersión de *Aac* en el follaje y frutos son más rápidos durante el verano, cuando el clima es cálido y soleado con lluvias en ráfagas. *Aac* se dispersa desde las lesiones de las hojas a las flores y frutos a través del agua salpicada durante la lluvia o en la irrigación. Las lesiones en las hojas en el campo no resultan en defoliación, pero son un importante reservorio de la bacteria para la infección de frutos recién formados, los cuales son más vulnerables a la infección del patógeno. La bacteria penetra a través de estomas en la superficie de los frutos en desarrollo donde forma lesiones pequeñas y acusadas de tres a siete días después. Los frutos maduros de sandía están cubiertos con una capa de cera que sella a los estomas y previene la entrada de la bacteria en el fruto. Una vez que la capa de cera se ha formado, las sandías maduras pueden ser únicamente invadidas por la bacteria a través de heridas. Las lesiones en la superficie cesan su alargamiento después de la cosecha (Hopkins *et al.*, 1995).

Distribución mundial. La bacteria fue reportada por primera vez en 1965 en Georgia, Estados Unidos (Sowel y Schaad, 1979), posteriormente se encontró en Guam y Tinian, en 1987 y en campos de producción comercial de sandía en Florida en 1989 (Somodi *et al.*, 1991). No se tiene certeza del origen de la bacteria; sin embargo, se presume que la región Xinjiang del este de China, puede estar implicada en la introducción de esta bacteria a los Estados Unidos (Gitaitis y Walcott, 2007). La presencia de *Aac* ha sido reportada en Asia: China, Xinjiang (Zhao *et al.*, 2001), Japón (Ogiso *et al.*, 2001), Turquía (Demir, 1996), Israel (Burdman *et al.*, 2005); Norte América: Estados Unidos: Alabama, Arkansas, California (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Delaware (CABI/EPPO, 1999; Evans y Mulrooney, 1991), Florida (CABI/EPPO, 1999; Somodi *et al.*, 1991), Georgia (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Illinois (Babadoost y Pataky, 2002), Indiana (CABI/EPPO, 1999; Latin y Rane, 1990), Iowa, Maryland,

days. The watermelon ripe fruits are covered with a wax layer that seals the stomata, preventing the entry of bacteria into the fruits. Once the wax layer is formed, ripe watermelons can only be invaded by the bacteria through wounds. Surface lesions cease their elongation after harvest (Hopkins *et al.*, 1995).

Distribution worldwide. The bacterium was initially reported in 1965 in Georgia, USA (Sowel and Schaad, 1979); subsequently, it was found in Guam and Tinian, in 1987, and on commercial watermelon production fields in Florida, in 1989 (Somodi *et al.*, 1991). The bacteria origin is not perfectly clear, but it is presumed that the Xinjiang region of Eastern China may be involved in this bacterium introduction to the United States (Gitaitis and Walcott, 2007). The presence of *Aac* has been reported in Asia: China, Xinjiang (Zhao *et al.*, 2001), Japan (Ogiso *et al.*, 2001), Turkey (Demir, 1996), Israel (Burdman *et al.*, 2005); North America: United States: Alabama, Arkansas, California (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Delaware (CABI/EPPO, 1999; Evans and Mulrooney, 1991), Florida (CABI/EPPO, 1999; Somodi *et al.*, 1991), Georgia (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Illinois (Babadoost and Pataky, 2002), Indiana (CABI/EPPO, 1999; Latin and Rane, 1990), Iowa, Maryland, Mississippi, Missouri, North Carolina (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Oklahoma (CABI/EPPO, 1999; Jacobs *et al.*, 1992), Oregon (CABI/EPPO, 1999; Hamm *et al.*, 1997), South Carolina (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Texas (Black *et al.*, 1994; CABI/EPPO, 1999); Nicaragua: Tipitapa (Muñoz and Monterroso, 2002); Brazil: Rio Grande do Norte (Assis *et al.*, 1999); Australia (CABI/EPPO, 1999): Queensland (CABI/EPPO, 1999; O'Brien and Martin, 1999); Guam, North Mariana Islands (CABI/EPPO, 1999; Wall *et al.*, 1990).

Consequences of an introduction. Risk element 1, favorable habitat. The risk assessment was carried out to evaluate the favorable climatic conditions in Mexico for *Aac* in watermelon. According to the NAPPFAST system geospatial analysis, the areas with high potential for the pest establishment in Mexico, with 30 and 45 days accumulated in favorable conditions for infection development, are located in the states of Yucatan, Quintana Roo, Campeche, Tabasco and Southern Veracruz. The areas which could be considered as with a lower establishment potential, in which only 5 to 10 days are accumulated for favorable pest infection development, are located in the states of Sinaloa, Durango, Zacatecas, Mexico, Hidalgo, Queretaro, Michoacan Guanajuato, Tlaxcala and Puebla (Figure 1). A medium category was assigned for this risk element, since it attacks and survives in watermelon in two to three climatic zones in Mexico. A risk element 2, *A. avenae* subsp. *citrullii* host range, has *Citrullus lanatus* (watermelon) and *Cucumis melo* (melon) as primary hosts; secondary: *C. sativus* (cucumber), *Cucurbita moschata* (squash), and *C. pepo* (zucchini) (Latin and Hopkins, 1995). Watermelon, cantaloupe and honeydew, (*Cucumis melo* var. *inodorus*), are apparently the most susceptible to foliar and spot symptoms on the fruit; the latter two are considered at risk from this disease (Isakeit *et al.*, 1997). Symptoms on foliage

Mississippi, Missouri, Carolina del Norte (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Oklahoma (CABI/EPPO, 1999; Jacobs *et al.*, 1992), Oregon (CABI/EPPO, 1999; Hamm *et al.*, 1997), Carolina del Sur (CABI/EPPO, 1999; Hopkins *et al.*, 1995), Texas (Black *et al.*, 1994; CABI/EPPO, 1999); Nicaragua: Tipitapa (Muñoz y Monterroso, 2002); Brasil: Rio Grande do Norte (Assis *et al.*, 1999); Australia (CABI/EPPO, 1999): Queensland (CABI/EPPO, 1999; O'Brien y Martin, 1999); Guam, Islas Marianas del Norte (CABI/EPPO, 1999; Wall *et al.*, 1990).

Consecuencias de una introducción. Elemento de riesgo 1, hábitat favorable. La evaluación de riesgo fue hecha para evaluar las condiciones climáticas favorables de México para *Aac* en sandía. De acuerdo con el análisis geoespacial mediante el sistema NAPPFAST, las zonas con alto potencial de establecimiento de la plaga en México, con 30 y 45 días acumulados de condiciones favorables para el desarrollo de la infección durante los meses de mayo y junio, se ubican en los estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco y la parte sur de Veracruz. Las zonas que podrían considerarse con menor potencial de establecimiento en las que se acumulan entre 5-10 días favorables se ubican en los estados de Sinaloa, Durango, Zacatecas, México, Hidalgo, Querétaro, Michoacán, Guanajuato, Tlaxcala y Puebla (Figura 1). Se asignó para este elemento de riesgo una categoría de media, porque ataca y sobrevive en sandía en dos ó tres zonas climáticas en México. Elemento de riesgo 2, rango de hospedantes. *A. avenae* subsp. *citrulli*, tiene como hospedantes primarios a *Citrullus lanatus* (sandía) y *Cucumis melo* (melón); secundarios: *C. sativus* (pepino), *Cucurbita moschata* (calabaza), y *C. pepo* (calabacín) (Latin y Hopkins, 1995). La sandía, el melón cantaloupe y rocío de miel (*Cucumis melo* var. *inodorus*), aparentemente son los más susceptibles, con síntomas foliares y manchas en el fruto, estos dos últimos cultivos están considerados en riesgo ante esta enfermedad (Isakeit *et al.*, 1997). Se han desarrollado síntomas en follaje en calabaza, pepino y otras cucurbitáceas a través de la inoculación, pero se han observado síntomas en frutos en estos hospedantes. Citron (*Citrullus lanatus* var. *citroides*), una maleza común en la parte sur de Estados Unidos, y presente en México, puede comportarse como un hospedante alterno. En estudios de laboratorio se pueden inducir síntomas en follaje de tomate (*Lycopersicon esculentum*), berenjena (*Solanum melongena*) y chile (*Capsicum annuum*), pero no en fruto. De acuerdo a lo anterior, la categoría para el elemento de riesgo correspondiente al rango de hospedantes para la bacteria *Aac*, es media, pues la bacteria ataca múltiples especies de plantas dentro de la familia de las cucurbitáceas, varias de las cuales se encuentran en México. En este caso en particular se identificaron las zonas productoras de sandía (Figura 1). Elemento de riesgo 3, potencial de dispersión. La bacteria puede ser introducida y dispersada en el campo por medio de semilla infectada, plántulas infectadas, o la diseminación natural a través de plantas hospederas como plantas voluntarias de sandía o cucurbitáceas silvestres contaminadas. *Aac* puede sobrevivir por varios años en semillas que han sido secadas y almacenadas. Hopkins *et al.*

have developed in squash, cucumbers and other cucurbits through inoculation; however, there have been symptoms revealed in fruits of these hosts. Citron (*Citrullus lanatus* var. *citroides*), a common weed in Southern USA, present in Mexico as well, can act as an alternate host. Disease symptoms on foliage of tomato (*Lycopersicon esculentum*), eggplant (*Solanum melongena*) and chilli (*Capsicum annuum*), but not in fruit, can be induced in laboratory studies but not in fruit. Thus, the host range category for the corresponding element of risk for the *Aac* host bacteria range is medium, because the bacteria attack many plant species within the cucurbitaceae family, several of which are found in Mexico. The watermelon producing areas were identified for this particular case (Figure 1).

Element of risk 3, potential dispersion. The bacteria can be introduced and dispersed in the field through infected seed, infected seedlings or spread naturally by host plants, such as watermelon volunteer plants or contaminated wild cucurbits. The *Aac* can survive for several years in seeds that had been dried and stored. As indicated by Hopkins *et al.* (1996), the level of infection was not reduced by seed storage at 12°C for 12 months. Infection rates above 80 % have been revealed by seed samples collected from fruits with symptoms (CABI, 2007). Conversely, irrigation systems favoring the spread of bacteria by splashing are used by greenhouses, which derive in infected seedlings reaching the field, where the pathogen spreads itself to other leaves or neighboring plants, as those infected plants grow in the field. The infected volunteer watermelon seedlings can serve as a source of local inoculum the following season. Infected weed in the cucurbit family can also become a threat in subsequent watermelon crops (Latin and Hopkins, 1995). A range of high risk, associated with potential scattering, was assigned based on the bacterium reproductive capacity, its ability to survive in the seed, seedlings and its possible spread through the irrigation system and wind. Risk element 4, economical impact. The *Aac* bacteria can cause production losses in watermelon since after *Aac* detection in the United States, these were as high as 90 % of the fruit for the market. Losses in 1994 were reported in thousands of hectares distributed at least in ten states of the American Union, due to the spread of bacteria (Hopkins *et al.*, 1996). The disease has become a threat to the watermelon industry ever since in this country. The disease has recently appeared in a few fields, but it has devastated several of these; some have ended with a total loss of the fruit. Losses per producer have reached in many cases as much as \$100,000 USD. It has also caused economic losses in various fields and watermelon and melon greenhouses from the 2000 to the 2003 period in different regions of Israel (Burdman *et al.*, 2005; CABI, 2007). Alternatively, it causes losses in the market. As an instance, several selling companies in the middle of the 90's, in order to avoid the cost of litigation due to claims for producers affected by the alleged use of infested watermelon seed, had their selling suspended in several states in the Southeastern region of the United States that were considered as high risk areas for the occurrence of bacteria outbreaks, which could have resulted in economic losses for both companies and

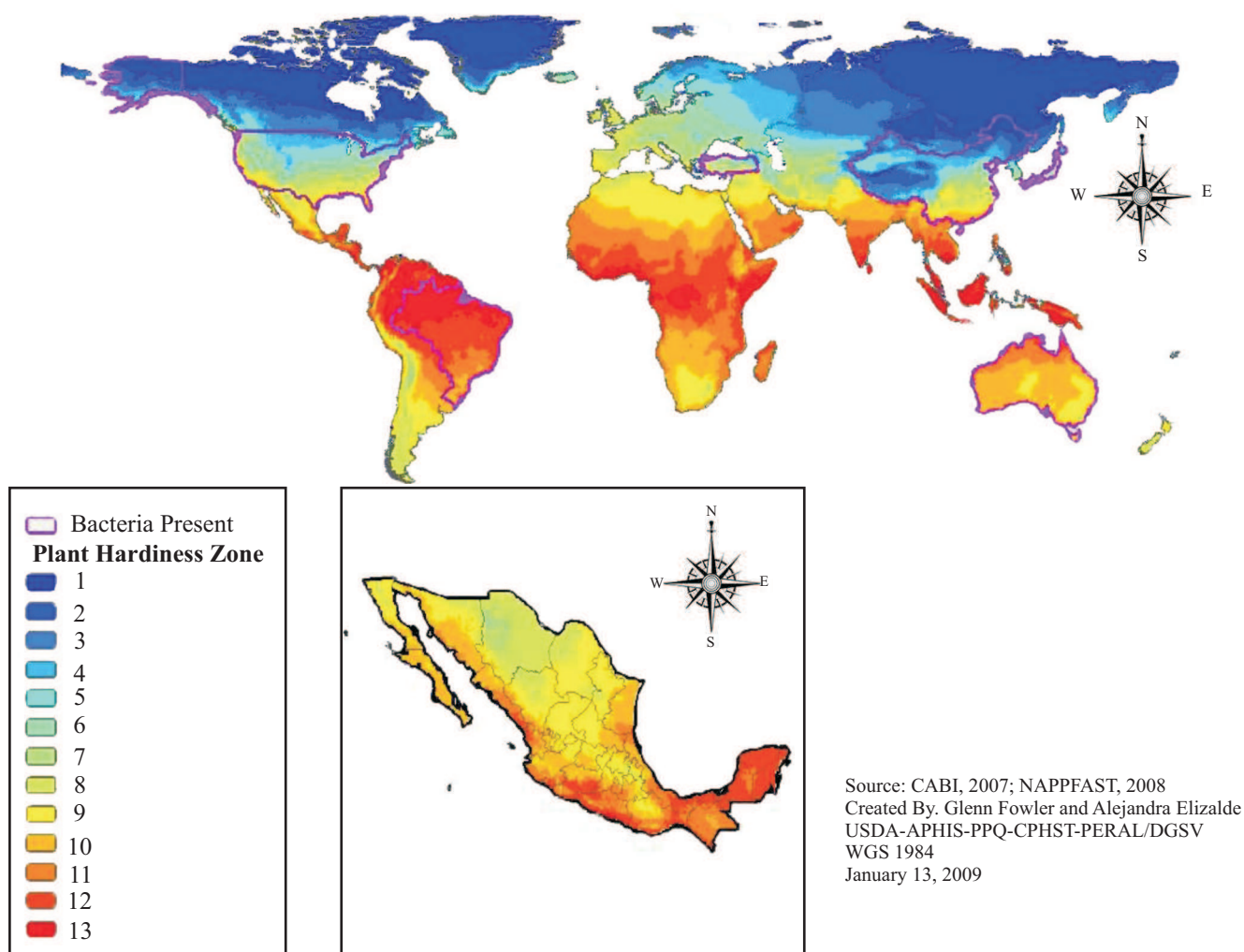


Figura 1. Potencial de establecimiento de *Aac* en zonas con condiciones ambientales favorables de México y el mundo. Entre líneas fucsia las regiones en donde la bacteria está presente y tonalidades que van del naranja al rojo (11, 12 y 13) las regiones productoras donde existen las condiciones más adecuadas para el desarrollo de la bacteria. NAPPFAST, 2008.
 Figure 1. Potential establishment of *Aac* in areas with favorable environmental conditions in Mexico and the world. Among the fuchsia lines are the regions where the bacteria is present; in shades changing from orange to red (11, 12, and 13) are the productive regions where the most suitable conditions are revealed for bacteria development. NAPPFAST, 2008.

(1996), señalan que el almacenaje de las semillas a 12°C por 12 meses no redujo el nivel de infección. En muestras de semillas colectadas de frutos con síntomas se han obtenido porcentajes de infección por arriba del 80% (CABI, 2007). Por otro lado, los invernaderos emplean sistemas de irrigación que favorecen la dispersión de la bacteria por salpique, lo que deriva en plántulas infectadas que llegan al campo, donde conforme las plantas van creciendo en el campo, el patógeno se dispersa a otras hojas de la planta o a plantas vecinas. Las plántulas de sandía voluntarias infectadas pueden servir como una fuente de inóculo local

producers. Even the mildest symptoms in the fruit (greasy, watery, dark or stained appearance), prevents its commercialization, causing substantial market loss (Latin and Hopkins, 1995). Thus, *Aac* revealed a range of high risk for the economical impact, due to the fact that at least three of the foreseen economical impacts in this element of risk, are caused by it. Element of risk 5, environmental impact. According to the Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) CONABIO, in accordance to the species registered in databases of projects undertaken by such institution, Mexico has a total of 207 species of the

en la siguiente temporada. Las malezas infectadas de la familia de las cucurbitáceas también pueden ser una amenaza en subsecuentes siembras de sandía (Latin y Hopkins, 1995). Con base en la capacidad reproductiva de la bacteria, su habilidad para sobrevivir en la semilla, plántulas y su posible dispersión a través del sistema de irrigación y el viento se asignó un rango de riesgo alto asociado con el potencial de dispersión. Elemento de riesgo 4, impacto económico. *Aac* puede causar pérdidas en la producción de sandía, ya que posterior a la detección de *Aac* en los Estados Unidos, éstas fueron del 90% del total de la fruta destinada al mercado. En 1994, debido a la dispersión de la bacteria, se reportaron pérdidas en miles de hectáreas distribuidas en al menos diez estados de la Unión Americana (Hopkins *et al.*, 1996). Desde entonces, la enfermedad ha representado una amenaza para la industria de la sandía en este país. En los últimos años, la enfermedad se ha presentado en pocos campos pero ha devastado varios de éstos, algunos han resultado en pérdidas totales de la fruta. Las pérdidas por productor han sido del orden de los \$100,000 dólares en muchos de estos casos. También ha causado pérdidas económicas en varios campos e invernaderos de sandía y melón durante el período de 2000 a 2003, en diferentes regiones de Israel (Burdman *et al.*, 2005; CABI, 2007). Por otro lado, ocasiona pérdidas en el mercado, por ejemplo, a mediados de los 90's, para evitar el costo de la litigación, debido a demandas por productores afectados por el presunto uso de semilla de sandía infestada, diversas compañías suspendieron su venta en varios estados del sureste de Estados Unidos, consideradas zonas de alto riesgo para la ocurrencia de brotes de la bacteria, resultando en pérdidas económicas para las compañías y los productores. Incluso los síntomas más leves en fruto (aspecto grasoso, acuoso, oscuro o manchado) impiden su comercialización, produciendo pérdidas cuantiosas de mercado (Latin y Hopkins, 1995). Con base en lo anterior, *Aac* tuvo un rango de riesgo alto para el impacto económico, ya que causa al menos tres de los impactos económicos previstos en este elemento de riesgo. Elemento de riesgo 5, impacto ambiental. Según el Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) de CONABIO, de acuerdo a especies registradas en bases de datos de proyectos realizados por esta institución, México cuenta con un total de 207 especies de la familia cucurbitácea. Ello indica que hay evidencia de plantas hospedantes; sin embargo, ninguna está considerada en amenaza o en peligro de extinción en México, aunque algunas de ellas se reportan con escasa presencia. El impacto ambiental del patógeno se puede categorizar como medio, considerando que por un lado puede ocasionar disrupciones importantes en hábitats críticos en donde se reportan estas 207 especies y que incluyen huerto, bosque tropical, selva baja caducifolia, matorral xerófilo con cactáceas columnares, bosque de pino-encino, ruderal, entre otros y su control requeriría de un programa de manejo que puede implicar el uso del control químico o biológico (CONABIO, 2009, comunicación personal).

Vías de introducción. La principal vía de introducción y dispersión de la bacteria ha sido mediante la transmisión por semilla, debido a que *Aac* puede sobrevivir

cucurbit family. This indicates that there is host plants evidence, but none are considered threatened or endangered in Mexico, although some of them are reported with a minimal presence. The pathogen environmental impact can be categorized as medium, whereas in some areas can cause major disruptions in critical habitats where these 207 species are reported, which include orchards, tropical forest, tropical deciduous forest, xerophytic scrub with columnar cacti, forest, pine-oak forest, ruderal, among others; its control will require a management program which may imply the usage of either a chemical or a biological control (CONABIO, 2009, personal communication).

Pathways. The main introduction and spread route of the bacteria has been through speed transmission because *Aac* can survive for several years in seeds that have been dried and stored (Latin and Hopkins, 1995; Silveira *et al.*, 2003; Sowel and Schaad, 1979).

Control options. Pathogen exclusion. As part of the preventive measures, certified seed *Aac* free is used by producers. Additionally, the foundation seeds lots are established for commercial production in regions with cold and dry climates and semi-arid regions where it is possible to escape from pathogen transmission to the seed, as well as from a negative test for *Aac* by planting a minimum batch of 10,000 seedlings per lot in greenhouses under suitable humidity and temperature conditions, looking forward to ensure it is bacteria free (Gitaitis and Walcott, 2007). Cultural control. It is recommended to remove the weeds and crop residues, since they can act as reservoir for the bacteria; to not abandon the cultures at the end of the growing cycle; to protect the plant first vegetative stages; to make sure the bacteria is neither carried along with the regular operations performed in the crop, clothing, shoes nor tools; carry on the culture duties always following the same path corridors and rows; avoid unnecessary visits to the plantation; perform work utensils and drying tables disinfection with a trisodium-phosphate solution at 10% or 2% NaOCl, before and after usage; use resistant or tolerant varieties; disinfect the soil by solarization before planting, when disease symptoms are revealed; disinfect the irrigation water (balsa and irrigation structures disinfection); check greenhouse weather conditions to maintain adequate ventilation, low relative humidity and temperature, as well as a water supply control to reduce dew periods on the leaves (Hopkins *et al.*, 1996). Chemical control. Fungicides application containing copper hydroxide and mancozeb at recommended dosages have reduced the incidence of bacteria symptoms when the applications initiate in the first flowering and a week prior to fruiting (Hopkins *et al.*, 1995).

Risk mitigation options. Among the risk mitigation measures for the importation of watermelon seed of different origins and backgrounds, the exporting country must comply with the seed certification in accordance to the procedures set by its own National Plant Protection Organization, and have it manifested in the International Phytosanitary Certificate (IPC) additional declaration as follows: "The crop was officially inspected during its growing season and it was found free of fruit bacterial spot (*A. avenae* subsp. *citrulli*)" or else "The presence of *A.*

por varios años en semillas que han sido secadas y almacenadas (Latin y Hopkins, 1995; Silveira *et al.*, 2003; Sowel y Schaad, 1979).

Opciones de control. Exclusión del patógeno. Como parte de las medidas de prevención, los productores usan semilla libre de *Aac* y certificada. Adicionalmente, para la producción comercial se establecen los lotes fundación de semilla en regiones con climas fríos y secos, regiones semiáridas donde se logra un escape a la transmisión del patógeno a la semilla, además de una prueba negativa para *Aac* mediante la siembra de un mínimo de 10,000 plántulas por lote en invernadero bajo condiciones adecuadas de humedad y temperatura para comprobar que está libre de la bacteria (Gitaitis y Walcott, 2007). Control cultural. Se recomienda eliminar la maleza y restos de cultivo, ya que pueden actuar como reservorio de la bacteria, no abandonar los cultivos al final del ciclo, proteger los primeros estados vegetativos de las plantas, tener cuidado para no transportar la bacteria con las operaciones habituales que se hacen en el cultivo, o con la ropa, calzado y herramientas de trabajo, realizar las labores de cultivo siguiendo siempre el mismo recorrido por pasillos y filas, evitar visitas excesivas a la plantación, desinfectar los útiles de trabajo y mesas de secado con una solución de fosfato trisódico al 10% ó 2% NaOCl antes y después de su uso, usar variedades resistentes o tolerantes, cuando existan, desinfectar el suelo mediante solarización antes de realizar la plantación, desinfectar el agua de riego (desinfección de balsa y estructuras de riego). Controlar las condiciones climáticas en el invernadero manteniendo adecuada ventilación, baja humedad relativa y temperatura, así como control en el suministro de agua para disminuir períodos de rocío en las hojas (Hopkins *et al.*, 1996). Control químico. Las aplicaciones de fungicidas que contengan cobre como mancozeb e hidróxido de cobre en dosis recomendadas, han reducido la incidencia de síntomas de la bacteria cuando las aplicaciones se inician en la primera floración y una semana antes de la fructificación (Hopkins *et al.*, 1995).

Opciones de mitigación de riesgo. Entre las medidas de mitigación de riesgo para la importación de semilla de sandía de distintos orígenes y procedencias, el país exportador cumple con la certificación de la semilla de acuerdo a los procedimientos de su Organización Nacional de Protección Fitosanitaria y lo manifiesta en la declaratoria adicional del Certificado Fitosanitario Internacional (CFI), de la siguiente forma: “El cultivo fue oficialmente inspeccionado durante el período de cultivo y se encontró libre de la mancha bacteriana del fruto (*A. avenae* subsp. *citrulli*)”, o bien “No se ha reportado la presencia de *A. avenae* subsp. *citrulli* en el estado de producción”, apoyada por una inspección en el campo del país exportador durante el período de crecimiento para declarar libre de la plaga. Otras medidas fitosanitarias corresponden a una prueba de diagnóstico antes de la exportación, la aplicación de un tratamiento cuyos detalles se deben señalar en el CFI, inspección y prueba de diagnóstico en el punto de ingreso al país importador. Tratamiento químico a la semilla. La prevención de la transmisión de *Aac* a través de la semilla es la forma más efectiva de control. Para ello se recomienda el

avenae subsp. *citrulli* has not been reported in the state of production”, supported by a field inspection of the exporting country during the growing season, in order to have it declared pest free. Other phytosanitary measures correspond to a diagnostic test prior to export; the application of a treatment whose details must be noted in the IPC; inspection and diagnostic testing at the point of entry into the importing country. Chemical treatment to the seed. The prevention of *Aac* transmission through the seed is the most effective control measure. The seed treatment recommended to do so is with 1.25 % Tsunami, whose active ingredient is peroxyacetic acid (PA), which has an antimicrobial activity at low concentrations, and it has been rated as one of the disinfectants that can effectively eradicate *Aac* from the contaminated seed, as well as other diseases transmitted throughout spread by seed in watermelon; it can be safely applied to triploid watermelon harvested seeds without affecting neither seed quality nor germination (Block, 2001). The treatment protocol most effectively applied to the watermelon seed in the United States accounted for 30 min with peroxyacetic acid at $1600 \mu\text{g mL}^{-1}$, followed by drying, to reduce humidity from the seed in a drying oven at 40°C (Hopkins *et al.*, 2003).

Recommendation. Review of phytosanitary measures applied in Mexico to mitigate the risk of *Aac* associated with watermelon seed importation. Ensure the seed certification compliance in accordance to the procedures set by the National Phytosanitary Protection Organization.

Information and uncertainty gaps. Research to discard involvement in solanaceae is necessary, since there are no reports in the field, but only at laboratory level through inoculation (Rueda *et al.*, 2006).

CONCLUSIONS

The total risk range of *Aac* is high in Mexico, as it reached a value of 12 points accumulated by the categorized elements of risk: it could attack and survive on watermelon in two or three climatic zones in Mexico, similar to the areas where the pathogen is present; it attacks multiple plant species, but all within the cucurbitaceae family; it reveals a high potential for dispersal (reproduction one in two days; spread over long distances on seed and seedlings and through irrigation systems and rain); it has a high potential to cause severe economical damage to watermelon producing areas; it could represent an environmental impact by causing major disruptions in critical habitats in Mexico, where a total of 207 cucurbit species have been reported.

According to the NAPPFAST geospatial analysis, Mexico represents a favorable habitat for such bacteria, depending on the host material availability and climatic conditions. The areas with the highest potential for establishment of the pest in Mexico, with 30 to 45 cumulative days favorable for bacterium infection, are located in the states of Yucatan, Quintana Roo, Campeche, Tabasco and Southern Veracruz.

Information availability about the areas with the greatest potential for bacterium establishment only indicates Yucatan, since it is a watermelon producer from May to

tratamiento a la semilla con Tsunami 1.25%, cuyo ingrediente activo es ácido peroxiacético (AP), el cual a bajas concentraciones tiene una actividad antimicrobial y ha sido evaluado como uno de los desinfectantes que pueden erradicar eficazmente a *Aac* de semilla contaminada, así como otras enfermedades que se transmiten por semilla en sandía; éste puede ser aplicado con seguridad a semillas cosechadas de sandía triploide sin afectar la calidad de la semilla y la germinación (Block, 2001). El protocolo de tratamiento más efectivo aplicado a la semilla en Estados Unidos correspondió a 30 min con ácido peroxiacético a $1600 \mu\text{g mL}^{-1}$, seguido por el secado para disminuir la humedad de semilla en un horno secador a 40°C (Hopkins *et al.*, 2003).

Recomendación. Revisión de las medidas fitosanitarias aplicadas en México para la mitigación de riesgo de *A. avenae* subsp. *citrulli* asociada a la importación de semilla de sandía. Que se asegure el cumplimiento de la certificación de la semilla de acuerdo a los procedimientos de su Organización Nacional de Protección Fitosanitaria

Vacíos en información e incertidumbre. Es necesario la investigación para descartar la afectación en solanáceas, ya que no hay reportes en campo, únicamente a nivel de laboratorio a través de inoculación (Rueda *et al.*, 2006).

CONCLUSIONES

El rango de riesgo total de *A. avenae* subsp. *citrulli* es alto en México, al obtener un valor de 12 puntos acumulado de los elementos de riesgo categorizados: podría atacar y sobrevivir en sandía en dos ó tres zonas climáticas en México similares a las zonas donde el patógeno está presente; ataca múltiples especies de plantas pero todas dentro de la familia de las cucurbitáceas; presenta un alto potencial de dispersión (reproducción uno en dos días, dispersión a grandes distancias sobre semilla y plántulas, y a través de sistemas de irrigación y lluvia); presenta un alto potencial de causar severos daños económicos en zonas productoras de sandía; podría tener un impacto ambiental al ocasionar disrupciones importantes en hábitats críticos en México donde se reportan alrededor de 207 especies de cucurbitáceas.

De acuerdo al análisis geoespacial NAPPFAST, México representa un hábitat favorable para la bacteria de acuerdo a la disponibilidad de material hospedante y condiciones climáticas. Las zonas con mayor potencial de establecimiento de la plaga en México, con 30 y 45 días acumulados de condiciones favorables para la infección de la bacteria, se ubican en los estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco y la parte sur de Veracruz.

De las zonas con mayor potencial de establecimiento de la bacteria en México, únicamente se cuenta con información que señala que en Yucatán presenta producción de sandía en los meses de mayo a junio, lo que puede influir en el establecimiento del patógeno.

El análisis geoespacial no incluyó otros hospedantes como melón, pepino, calabaza, por lo que sería recomendable realizar el pronóstico con base en los parámetros definidos en el sistema NAPPFAST.

June, which might influence the settlement of the pathogen.

The geospatial analysis did not include any other hosts, such as melon, cucumber or squash; so, it would be advisable to perform the forecast based on the parameters defined by NAPPFAST.

Due to the pest high potential risk, the adoption of specific phytosanitary measures is widely recommended. Inspection at the port of entry is considered insufficient to provide phytosanitary security. The certification of phytosanitary measures applied during watermelon seed production, including seed submitted to a peroxyacetic acid treatment, can be considered in mitigation of the risk.

Risk assessment of *Aac* under the process used is scientifically supported, which decreases subjectivity and gives transparency to the decision-making for the establishment of phytosanitary measures.

LITERATURA CITADA

- Assis SMP, Mariano RLR, Silva-Hanlin DMW and Duarte V. 1999. Bacterial fruit blotch caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in melon in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 24:191.
- Babadoost M and Pataky N. 2002. First report of bacterial fruit blotch of watermelon caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Illinois. *Plant Disease* 86:443.
- Black MC, Isakeit T, Barnes LW, Kucharek TA, Hoover RJ and Hodge NC. 1994. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Texas. *Plant Disease* 78:831.
- Block SS 2001. Peroxygen Compounds. Pp:185-204. In: *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Fifth edition. Lippincott, Williams and Wilkins Press. Philadelphia, PA, USA. 1504p.
- Burdman S, Kots N, Kritzman G and Kopelowitz J. 2005. Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. *Plant Disease* 89:1339-1347.
- CABI. 2007. *Crop protection compendium*, 2007 ed. CAB International. Wallingford, UK. Encyclopedic Software.
- CABI/EPPO. 1999. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Distribution Maps of Plant Diseases*, Map 10 No. 787. CAB International. Wallingford, UK.
- Demir G. 1996. A new bacterial disease of watermelon in Türkiye: bacterial fruit blotch of watermelon (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*). *Journal of Turkish Phytopathology* 25:43-49.
- Elizalde JNA. 2008. Evaluación de Riesgo Fitosanitario Aplicado a los OGM: Análisis, Manejo y Comunicación. Pp:131-144. En: *Bioseguridad en la Aplicación de la Biotecnología y el uso de los Organismos Genéticamente Modificados*. Comisión Intersecretarial de Bioseguridad de los Organismos Genéticamente Modificados CIOBIOGEM, UPND y GEF. México, D.F. 383p.
- Evans TA and Mulrooney RP. 1991. First report of watermelon fruit blotch in Delaware. *Plant Disease* 75:1074.
- FAO, Food and Agriculture Organization. 2004. Análisis de Riesgo de Plagas para Plagas Cuarentenarias, Incluido el Análisis de Riesgos Ambientales y Organismos Vivos

Dado el alto potencial de riesgo de la plaga, la adopción de medidas fitosanitarias específicas es ampliamente recomendada. La inspección en el puerto de entrada se considera insuficiente para proveer seguridad fitosanitaria. La certificación de las medidas fitosanitarias aplicadas durante la producción de la semilla de sandía, incluyendo el tratamiento a la semilla con ácido peroxiacético puede considerarse en la mitigación de riesgo.

La evaluación del riesgo de *A. avenae* subsp. *citrulli* bajo el proceso utilizado está científicamente fundamentado, lo que ayuda a disminuir la subjetividad, y le confiere transparencia a la toma de decisión en el establecimiento de medidas fitosanitarias.

- Modificados. NIMF No. 11. Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias. Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. Roma, Italia. 18p.
- Follett PA and Neven LG. 2006. Current trends in quarantine entomology. *Annual Review of Entomology* 51:359-385.
- Gitaitis R and Walcott RR. 2007. The epidemiology and management of seedborne bacterial diseases. *Annual Review of Phytopathology* 45:371-97.
- Hamm PB, Spink DS, Clough GH and Mohan KS. 1997. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oregon. *Plant Disease* 81:113.
- Hopkins DL, Cucuzza JD and Watterson JC. 1996. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. *Plant Disease* 80:529-532.
- Hopkins DL, Stall B, Kucharek T, Gay D, Gitaitis R, Cook W, Kenath A and Latin R. 1995. Bacterial fruit blotch of watermelon. Special Interstate Cooperative Publication. University of Florida, The University of Georgia, Clemson University and Purdue University. 5p. <http://plantpath.ifas.ufl.edu/takexpub/FactSheets/sicp1.pdf> (consulta, enero 2009).
- Hopkins DL, Thompson CM, Hilgren J and Lovic B. 2003. Wet seed treatment with peroxyacetic acid for the control of bacterial fruit blotch and other seedborne diseases of watermelon. *Plant Disease* 87:1495-1499.
- Hu PF, Young MJ, Triggs MC and Wilkie PJ. 1997. Pathogenic relationships of the subspecies of *Acidovorax avenae*. *Australasian Plant Pathology* 26:227-238.
- Isakeit T, Black MC, Barnes LW and Jones JB. 1997. First report of infection of honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Plant Disease* 81:694.
- Jacobs JL, Damicone JP and McCraw BD. 1992. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oklahoma. *Plant Disease* 76:1185.
- Latin RX and Hopkins DL. 1995. Bacterial fruit blotch of watermelon: The hypothetical exam question becomes reality. *Plant Disease* 79:761-765.
- Latin RX and Rane KK. 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. *Plant Disease* 74:331.
- Magarey RD, Fowler GA, Borchert DM, Sutton TB, Colunga-García M and Simpson JA. 2007. NAPFAST an internet system for the weather-based mapping of plant pathogens. *Plant Disease* 91:336-345.
- Mora UF y Araya CM. 2002. Mancha bacteriana del fruto de melón y sandía: manejo integrado de una emergencia. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66:105-106.
- Muñoz M and Monterroso D. 2002. Identification of *Acidovorax avenae citrulli* in watermelon seeds in Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66:101-104.
- O'Brien RG and Martin HL. 1999. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 39:479-485.
- Ogiso H, Fujinaga M and Shimizu T. 2001. Occurrence of watermelon bacterial fruit blotch in Nagano prefecture. *Annual Report of the Kanto-Tosan Plant Protection Society* 48:33-36.
- NAPPO, Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria. 2009. Actualización de la detección de Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) en árboles de traspatio en los estados de Yucatán y Quintana Roo, México. <http://www.pestalert.org/espanol/oprDetail.cfm?oprID=401> (consulta, enero 2010).
- NAPPO, Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria. 2010. Detección de roya anaranjada de la caña de azúcar (*Puccinia kuenii*) en México. <http://www.pestalert.org/espanol/oprDetail.cfm?oprID=424> (consulta, diciembre 2010).
- Rueda PEO, Tarazón HMA, García HJL, Murillo AB, Holgín PRJ, Flores HA, Sánchez AA, Flores OA y Preciado RP. 2006. Producción de antisuero contra la mancha bacteriana del fruto [*Acidovorax avenae* pv. *citrulli* (Schaad, Sowell, Goth, Colwell y Webb) Willems, Goor, Thielemans, Gillis, Kersters y De Ley] y su detección en el cultivo de sandía (*Citrullus vulgaris* Schrad.) en la Comarca Lagunera, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 24:129-136.
- Schaad NW, Jones JB and Chun W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. The American Phytopathological Society. Third Edition. St. Paul, Minnesota, USA. 373p.
- Schaad NW, Postnikova E and Randhawa P. 2003. Emergence of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as a crop-threatening disease of watermelon and melon. In: Iacobellis NS, Collmer A, Hutcheson SW, Mansfield JW, Morris CE, Murillo J, Schaad NW, Stead DE, Surico G, Ullrich MS. (eds.). Document Title: Presentations from the 6th International Conference on *Pseudomonas syringae* pathogens and related pathogens, Maratea, Italy, September 15-19, 2002. Kluwer Academic Publishers. 708p.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2007. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.siap.gob.mx> (consulta, julio 2008).
- Silveira EB, Michereff SJ e Mariano RLR. 2003. Severidade da mancha-aquosa em meloeiro sob diferentes condições de molhamento foliar e concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Fitopatologia Brasileira* 28:171-175.
- Somodi GC, Jones JB, Hopkins DL, Stall RE, Kucharek TA,

- Hodge NC and Watterson JC. 1991. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. *Plant Disease* 75:1053-1056.
- Sowel GJr and Schaad NW. 1979. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* on watermelon: Seed transmission and resistance of plant introductions. *Plant Disease Reporter* 63:437-441.
- Tanjura CM, Barbosa da SE, Ramos MR de L e Oliveira VI. 2005. Crescimento de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* sob diferentes temperaturas, pH, concentrações de cloreto de sodio e fontes de carbono. *Ciência Rural*, Santa Maria 35:1313-1318.
- USDA, United States Department of Agriculture. 2000. Guidelines for pathway-initiated pest risk assessment. Version 5.02. Animal and Plant Health Inspection (APHIS). Plant Protection and Quarantine (PPQ). Permits and Risk Assessment. Commodity risk analysis branch. Riverdale, MD, USA. 30p.
- USDA, United States Department of Agriculture. 2005. Risk analysis for *Phytophthora ramorum* Werres, de Cock and 1 In't Veld, causal agent of Phytophthora Canker (Sudden Oak Death), Ramorum Leaf Blight, and Ramorum Dieback. Animal and Plant Health Inspection (APHIS). Plant Protection and Quarantine (PPQ). Center for Plant Health Science and Technology (CPHST). Raleigh, NC, USA. 77p.
- USDA, United States Department of Agriculture. 2007. Risk analysis of potential consequences associated with the introduction of the Red Palm Mite, *Raoiella indica*, into the United States. Animal and Plant Health Inspection (APHIS). Plant Protection and Quarantine (PPQ). Center for Plant Health Science and Technology (CPHST). Raleigh, NC, USA. 24p.
- Wall GC, Santos VM, Cruz FJ, Nelson DA and Cabrera I. 1990. Outbreak of watermelon fruit blotch in the Mariana Islands. *Plant Disease* 74:80.
- Zhao TC, Sun FZ, Wang BW and Hui WG. 2001. Pathogen identification of Hami melon bacterial fruit blotch. *Acta Phytopathologica Sinica* 31:357-364.
- Zitter TA, Hopkins DL and Thomas CF. 1998. Compendium of Cucurbit Diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 87p.