

El Reportaje



En la imagen, la Dra. Meritxell Pérez-Edo y su equipo en el laboratorio de Entomología del Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología del IVIA. / IVIA

El IVIA busca patrones de cítricos tolerantes al HLB

El Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias potencia dos líneas de investigación dirigidas al control de la enfermedad: la búsqueda de material vegetal tolerante al HLB y el aumento del sistema inmune de la planta a través de sustancias volátiles

■ ÓSCAR ORZANCO. REDACCIÓN.

El huanglongbing (HLB) o greening de los cítricos es una enfermedad bacteriana devastadora que está provocando enormes daños en numerosas zonas cítricas del mundo. Como ejemplo, en Brasil apareció en 2004 y en diez años fue capaz de causar la muerte de 43 millones de plantas, mientras que, en Florida, tras su detección en 2005, ha dañado 66.000 hectáreas y ha provocado un descenso del 70% de la producción total de cítricos en este estado de Estados Unidos.

Afortunadamente, tanto la enfermedad como los dos principales insectos que la transmiten, los psíidos *Trioza erytreae* y *Diaphorina citri*, no están presentes hasta el momento en la citricultura mediterránea. Pero la detección en 2014 de uno de sus vectores en Galicia y Portugal, el psílido africano *Trioza erytreae*, mantiene en alerta a la citricultura española, confirmando que el HLB es una amenaza muy real y su llegada podría suponer un desastre de magnitudes inimaginables. Se trata, según los expertos, de la enfermedad más grave para la citricultura en todo el mundo debido a su complejidad, poder de destrucción y dificultad de gestión. De hecho, actualmente está definida como una afección incurable.

Ante este escenario tan pesimista, el futuro de la citricultura española pasa, sin lugar a dudas, por mantenerse el mayor tiempo posible libre del HLB y reforzar la investigación para encontrar

posibles soluciones para hacer frente esta grave amenaza.

En virtud de recientes y esperanzadores hallazgos obtenidos en California, el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) ha potenciado dos líneas de investigación dirigidas al control de la enfermedad que dibujan una estrategia conjunta. Así, al control biológico en el que ya se trabajaba, se ha añadido ahora la búsqueda de material vegetal o patrones de cítricos tolerantes al HLB así como nuevas vías para potenciar el sistema inmune de la planta a través de sustancias volátiles.

Con el objetivo de presentar al sector estas nuevas estrategias, en las que ya se está trabajando con resultados prometedores, el IVIA celebró recientemente el webinar "Nuevas estrategias de lucha frente a HLB: material vegetal tolerante e inducción de defensas".

Alberto Urbaneja, coordinador del Centro de Protección Vegetal y Biotecnología del IVIA, fue el encargado de exponer la importancia del HLB, sus vectores y las nuevas líneas de trabajo en este campo. El control biológico de los insectos vectores fue el punto de inicio de los avances en la lucha y control de esta bacteria. A día de hoy se dispone ya, de hecho, de eficaces herramientas para hacer frente a la *Trioza erytreae*.

Son varios los frentes abarcados por la investigación en los que se está teniendo éxito. En este sentido, Alberto Urba-

neja detalló que desde el IVIA, en colaboración con el ICIA de Canarias, se ha desarrollado un método de detección específico y altamente fiable del HLB. Pero sin duda, para el coordinador el resultado más espectacular obtenido hasta la fecha son los óptimos resultados registrados en el control de este vector mediante la introducción del parasitoide *Tamarixia dryi*.

Desde el IVIA se puso en marcha un proyecto de control biológico clásico de *Trioza erytreae*, liderado por Alejandro Tena, que viajó hasta Sudáfrica para prospectar distintas zonas cítricas del país. Tras un minucioso análisis se seleccionó un parasitoide, *Tamarixia dryi*, que con todos los permisos necesarios pudo traer-se hasta el territorio español. Se introdujo en el ICIA y se liberó de forma experimental en la primavera de 2018 en la isla de Tenerife.

"Los resultados han sido espectaculares. Los cítricos se desarrollan sin los daños característicos del psílido en todas las zonas productoras de Canarias y en la actualidad es prácticamente imposible encontrar ejemplares de *Trioza erytreae*", argumentó Alberto Urbaneja.

Tras la eficacia demostrada en Canarias, con los permisos oportunos del Ministerio de Agricultura, *Tamarixia dryi* se liberó en Galicia, y en toda la zona afectada de Portugal, incluida Madeira. En colaboración con el ICIA, y junto con el Servicio de Sanidad Vegetal de Galicia, se introdujo en tres parcelas experi-

mentales de tal región en otoño del año 2019 y la suelta se reforzó en la primavera de 2020. Los resultados obtenidos muestran que en apenas dos meses el parasitoide fue capaz de desplazarse más de 30 kilómetros desde los puntos de suelta y alcanzar niveles de parasitismo cercanos al 75% en dichas zonas. Esta primavera se van a realizar sueltas en otras zonas del norte peninsular en las que también se ha detectado la presencia de *Trioza erytreae* como Asturias, Cantabria y el País Vasco.

Sin embargo, a pesar del éxito de la liberación de *Tamarixia dryi*, la amenaza del HLB continúa acechando. El psílido asiático *Diaphorina citri*, mucho más agresivo que *Trioza erytreae*, cada vez se encuentra más cerca de la citricultura mediterránea. En 2020 se localizó en Nigeria, Etiopía y en Kenia. "Esto supone una gran amenaza si se desplaza hacia el sur del continente africano. Desafortunadamente muchas de nuestras plagas nos han llegado desde Sudáfrica y el riesgo de introducción a través de material vegetal infectado es muy elevado. La aparición de *Diaphorina citri* pondría en jaque a la citricultura", afirmó con rotundidad Alberto Urbaneja.

Por ello, el instituto IVIA ha potenciado sus líneas de estudio dirigidas al control de la enfermedad. No obstante, el coordinador del Centro de Protección Vegetal y Biotecnología recalcó que, "a pesar de todas las investigaciones, a día de hoy, la

mejor arma contra el HLB es la prevención".

■ PATRONES TOLERANTES

Entre las líneas novedosas de investigación que abren nuevas vías para el control de la enfermedad se encuentra la búsqueda de tolerancia en el material vegetal y el aumento del sistema inmune de la planta para frenar el efecto del HLB.

María Ángeles Forner, del Centro de Citricultura y Producción Vegetal, analizó los resultados que se van obteniendo en la búsqueda de patrones de cítricos tolerantes a la enfermedad y la situación del material vegetal del IVIA frente al HLB.

Esta enfermedad apareció en 2004 y 2005 en Brasil y Florida, y en 2013 llegó a California. En Florida ya observaron grandes diferencias en su incidencia en función del material vegetal. Algunos patrones de cítricos presentaban cierta tolerancia al HLB y las plantas seguían desarrollándose y produciendo en mejores condiciones que aquellas que mostraban más sensibilidad. Por ello, la Universidad de Florida y el USDA comenzaron a identificar los patrones más tolerantes o resistentes ante este problema.

Posteriormente se identificó que *Poncirus trifoliata*, el principal parental de todos los híbridos obtenidos en el programa de mejora de patrones del IVIA, portaba genes de resistencia al HLB. Pero en la Comunitat Valenciana no se puede utilizar como patrón principalmente porque es muy

sensible a la caliza y a la salinidad. Sin embargo, en el programa de variedades de Florida si han empleado *Poncirus trifoliata* para realizar cruzamientos y generar material vegetal con algo de tolerancia al HLB. De hecho, ya cuentan con una variedad que van a lanzar al mercado, denominada US SunDragon.

Pero realmente el cambio importante en esta línea de investigación llegó de la mano de la Universidad de California. En 2016 publicaron un artículo en el que realizaron una exhaustiva evaluación de material vegetal con tolerancia y resistencia respecto a la bacteria del HLB. Analizaron 66 accesiones de cítricos y otras 33 de cultivos afines, y se evaluaron en una zona con mucho huanglongbing en campo. Todos los materiales se clasificaron en ocho categorías, y las primeras cinco recogen material que presenta tolerancia, resistencia e incluso inmunidad ante esta enfermedad. Para María Ángeles Forner lo más importante de este estudio radica en que “se identificó resistencia y tolerancia en la familia de Aurantoideas, en *Eremocitrus* y *Microcitrus*. Esa resistencia o tolerancia se puede heredar en cítricos y la podemos aprovechar realizando híbridos”.

Otra noticia relevante, que publicó la Universidad de California Riverside en junio de 2020, informaba de que habían encontrado un péptido antimicrobiano en *Microcitrus australasica* y se postulaba como una posible cura para el HLB.

Más relevador si cabe fue el hallazgo de la científica Hailing Jin, quien estudió los cítricos identificados por la Universidad de California Riverside como tolerantes y analizó las causas de esa resistencia. En su investigación encontró un péptido antimicrobiano muy estable a temperatura (SAMP, *stable antimicrobial peptides*). Este péptido actúa frente al HLB mediante dos mecanismos complementarios, una acción directa de toxicidad sobre la bacteria que produce el HLB, y una acción indirecta al activar el sistema inmune de la planta y por tanto protegiéndola de la infección.

De todos los SAMPs presentes en los materiales vegetales comprobaron que MaSAMP de *Microcitrus australasica* es el que tiene mayor efecto antibacteriano. Lo inyectaron en plantas con alta carga bacteriana de HLB y comprobaron que se curaban.

“MaSAMP reduce significativamente el contenido de la bacteria y por tanto tiene un efecto bactericida. Pero, además, se comprobó que activa el sistema de defensa sistémico. MaSAMP actúa como una vacuna porque induce todo el sistema inmunitario de la planta y los árboles sanos no se infectan de HLB”, explicó María Ángeles Forner.

Los péptidos son proteínas naturales, y por lo tanto no son patentables, lo que los convertiría en una solución accesible para todos los citricultores. Y si se obtiene una vacuna no sería necesario arrancar y reconvertir todas las plantaciones como ocurrió cuando llegó la enfermedad de la tristeza.

Los resultados de estas investigaciones han abierto nuevas vías de estudio en el IVIA. El centro tiene un programa de pa-



Primeras sueltas de *Tamarixia dryi* para frenar el avance del psílido *Trioza erytreae*. / IVIA



La citricultura española se mantiene en alerta tras detectarse en 2014 el psílido africano *Trioza erytreae* en Galicia y Portugal. / ARCHIVO

trones híbridos de cítricos que se evalúan para todas las condiciones y problemas presentes en la Comunitat Valenciana. Actualmente, cuentan con 26 patrones registrados y 5 comerciales, y se han obtenido poblaciones nuevas de *Microcitrus*.

Con los patrones del IVIA se ha logrado aumentar la rentabilidad de las plantaciones. Concretamente, Forner Alcaide 5 es actualmente el más vendido y este año ya no quedan plantas en los viveros. Se trata de un patrón que se ha adaptado a las condiciones de la Comunitat Valenciana y mejora notablemente los resultados de los patrones que se utilizan de forma más habitual.

En relación a la actuación del IVIA frente al HLB siguiendo estas nuevas líneas de trabajo, María Ángeles Forner detalló que el instituto va a identificar entre todas las poblaciones citricolas de la Comunitat Valenciana cuántas presentan péptidos antimicrobianos capaces de controlar el HLB. En este sentido, la gran ventaja del instituto es que cuenta la mayor colección de material vegetal del mundo.

“Vamos a identificar los distintos SAMPs y a cuantificarlos en todo el material vegetal. Además, realizaremos una secuenciación de péptidos y una evaluación de su capacidad antimicrobiana. Hasta ahora se ha

identificado que MaSAMP de *Microcitrus* cuenta con una elevada propiedad antimicrobiana pero podemos encontrar SAMPs que tengan todavía mayor capacidad”, detalló la investigadora.

El instituto también analizará las principales rutas de mecanismos de defensa de las plantas y van a seleccionar el material vegetal en el que los sistemas defensivos se activan de forma más acusada. También se iniciará un plan de protección de las plantaciones adultas realizando diferentes pruebas con los péptidos que se identifiquen. Pruebas de injerto, patrón o madera intermedia, injertos recíprocos para comprobar si la producción de SAMP es mayor en la copa o en la raíz, y la distribución que puede tener el péptido en las diferentes combinaciones de material vegetal.

“Y por supuesto, vamos a realizar nuevas plantaciones con una red de parcelas de patrones tolerantes al HLB, que nos permitirá tener el material perfectamente evaluado en gran número de condiciones y con gran información útil. Y continuaremos haciendo cruces para generar nuevas poblaciones de patrones con potencial tolerancia a la enfermedad. El objetivo es generar nuevo material vegetal que pueda ser útil en el futuro”, concluyó María Ángeles Forner

■ INDUCCIÓN DE DEFENSAS

Meritxell Pérez-Hedo, investigadora del Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, analizó otro avance en la gestión de plagas y enfermedades a través de la inducción de defensas de las plantas en general, y de los cítricos en particular. Además de la búsqueda de tolerancias innatas en el material vegetal del IVIA, otra vía indirecta de potenciar las defensas de las plantas frente a plagas y enfermedades como son los vectores del HLB y el propio HLB, es activar sus defensas a través de volátiles. Recientemente el instituto ha descubierto cómo activar estos mecanismos de defensa en cítricos mediante la exposición a volátiles que emiten las propias plantas.

En un proyecto iniciado ya hace 7 años para el tomate, en el instituto se han identificado varios volátiles capaces de activar defensas en plantas. Se ha demostrado cómo la exposición a estos volátiles puede activar diversos genes relacionados con la defensa y aumentar la acumulación de compuestos específicos de defensa como son los inhibidores de proteínas con acción plaguicida.

El IVIA ha liderado en colaboración con el CEQA y el IBMCP el desarrollo de un difusor polimérico que consigue liberar el volátil (Z)-3-hexenil propanoato de manera constante y a una dosis suficiente para activar defensivamente diversos cultivos (patente española nº ES2763224). Entre los cultivos donde esta técnica puede aplicarse están los cítricos, donde ya se ha comprobado el efecto positivo de esta inducción defensiva en varias plagas clave como es el caso del psílido asiático *Diaphorina citri*. Pero podría ser también eficaz frente a otras plagas de gran impacto, como ahora lo es el llamado Cottonet de Sudáfrica.

Los cítricos expuestos a estos volátiles resultan altamente atractivos para enemigos naturales con lo que esta nueva herramienta de control puede potenciar además el control biológico. Además, la exposición a (Z)-3-hexenil propanoato activa las mismas rutas de defensa que activa el péptido SAMP, descrito anteriormente, que se ha demostrado como capaz de limitar la infección por HLB. Por tanto, esta nueva técnica basada en el uso de volátiles emerge como una herramienta potente en la gestión de esta enfermedad.

Los resultados son prometedores. Meritxell Pérez-Hedo detalló que en 2019 ya viajaron a la Universidad de Florida con el volátil y el difusor para analizar los resultados sobre el vector *Diaphorina citri*. “Colocamos difusores en un campo de naranjas Valencia donde realizamos un recuento de brotes receptivos que tenían los árboles. La aplicación de (Z)-3-hexenil propanoato redujo la puesta de huevos de *Diaphorina citri* en más de un 70% por la exposición al volátil”.

No obstante, los desafíos en esta línea de investigación todavía son grandes. Hay que conocer los efectos en distintas combinaciones de patrón/variedad, estudiar la duración de la activación y si es permanente, conocer los efectos metabólicos de las plantas a mantener esta respuesta activada en el tiempo, estudiar la aplicación a gran escala y analizar los efectos sobre diversas plagas y enfermedades en cítricos, porque el HLB y sus vectores suponen una gran amenaza pero no se deben dejar de lado otros problemas que perjudican a la citricultura valenciana.

En las últimas semanas ya se ha instalado todo el sistema necesario en el IVIA y se comienzan a obtener los primeros resultados con parasitoides autóctonos. *Aphytis melinus*, un parasitoide del piojo rojo, muestra preferencia por el patrón Amargo y Carrizo activados con (Z)-3-hexenil propanoato. “Dentro de las posibilidades, seguimos con esta línea en marcha. Trabajamos en los efectos de las plagas y los enemigos naturales tanto en laboratorio como en semicampo. Intentamos conocer el efecto de la activación de las defensas de las plantas sobre enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos. Sobre el HLB, en la Comunitat Valenciana no podemos trabajar, pero nuestra intención es, cuando la pandemia lo permita, viajar a zonas donde se encuentra presente la enfermedad para investigar en esta línea”, concluyó Meritxell Pérez-Hedo.

Impulso a la investigación para hacer frente al HLB

Desde la Conselleria de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica de la Generalitat Valenciana, con la colaboración de los distintos actores del sector citrícola, se va a dar un impulso a estas dos líneas de investigación: la búsqueda de material vegetal tolerante al HLB, y el aumento del sistema inmune de la planta a través de sustancias volátiles. En concreto, se va a lanzar un ambicioso proyecto de investigación que comprende desde estudios básicos sobre las bases moleculares que están tras la tolerancia al HLB y la inducción de defensas, pasando por un exhaustivo *screening* de más de 500 patrones híbridos desarrollados en el IVIA a partir de parentales previamente descritos como tolerantes, hasta estudios agronómicos en campo donde también se analizará la eficacia de distintas combinaciones de material vegetal del IVIA e inductores frente a plagas y enfermedades entre las que se encuentra, cómo no, el HLB.

El principal objetivo de este proyecto es poder contar en un horizonte no muy lejano con un abanico de material vegetal tolerante al HLB, adaptado a las condiciones de cultivo mediterráneas, así como de un nuevo método sostenible de control que active las defensas de las plantas y con ello reducir el impacto de plagas y enfermedades. ■