



Últimos resultados en la prevención y lucha frente al HLB y sus vectores

El Huanglongbing (HLB) es una enfermedad de los cítricos que provoca daños de enorme magnitud en las zonas productoras donde está presente. Se asocia a algunas bacterias del género *Candidatus Liberibacter*, que se transmiten principalmente por dos insectos vectores: los psílicos *Trioza erytrae* y *Diaphorina citri*. El primero ya ha sido detectado en nuestra península, y el segundo, aún más preocupante, en Israel. La enfermedad todavía no ha llegado a Europa; pero, si lo hiciera y afectara a nuestros cítricos, las consecuencias para este sector serían catastróficas.

El Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) lleva años trabajando en programas de prevención frente a esta grave enfermedad, con

resultados tan importantes como el desarrollo de un kit de detección rápida de la bacteria y la realización de un estudio epidemiológico de la enfermedad para asistir en los programas de contención. Además, tras la detección de *T. erytrae* en la península ibérica, se puso en marcha un programa de control biológico clásico con la introducción y liberación de un parasitoide que ha resultado ser extraordinariamente eficaz en el control de este insecto vector. Todos estos trabajos se han intensificado en los últimos años con la financiación por parte de la Conselleria de un ambicioso proyecto de investigación que se centra en la búsqueda de material vegetal tolerante a la enfermedad y el uso de inductores de defensa de las plantas.

LA SITUACIÓN ACTUAL

En estos momentos, la citricultura mediterránea española está libre tanto de los vectores citados como del HLB (**Figura 1**). Sin embargo, el panorama que se vislumbra no es nada alentador. El insecto vector *T. erytrae* se detectó en 2014 en Galicia, desde donde se ha ido propagando por la cornisa cantábrica y la costa atlántica portuguesa. Actualmente se localiza ya en el Algarve portugués, apenas a 120

kilómetros de la zona citrícola española de Huelva. Por otra parte, *D. citri* se detectó por primera vez en la cuenca mediterránea en julio de 2021, en la región de Emek Hefer, en Israel, donde son abundantes las plantaciones de cítricos. Al no lograrse erradicar este foco inicial, la plaga se ha propagado a otras zonas citricolas del país, como el valle del Jordán. Este caso es muy preocupante, ya que el potencial

Figura 1. Aspecto de cítricos afectados por HLB.

biótico de *D. citri*, así como su rápida capacidad de multiplicación sobre las principales variedades y especies de cítricos cultivadas en el Mediterráneo, es mucho mayor que el de *T. erytraea*. A día de hoy, nuestra citricultura está libre de HLB; sin embargo, los principales insectos vectores de la enfermedad están cada vez más cerca. Por ello, se ha de permanecer alerta y estar preparado para dar una respuesta rápida y coordinada en caso de detección de esta amenaza.

Debido a esta preocupante situación, el IVIA ha potenciado recientemente sus líneas de investigación dirigidas al control de los vectores y la enfermedad del HLB, y son varios los proyectos competitivos, tanto nacionales como europeos, en los que participa. Además, los trabajos se han intensificado notablemente con la financiación por parte de la Conselleria de un ambicioso proyecto de investigación —acaba de finalizar su segundo año— que se orienta en la búsqueda de material vegetal tolerante al HLB y en el uso de inductores de defensas. Como veremos a continuación, estas investigaciones han generado ya algunos resultados de gran interés.

Figura 2. Ejemplo de uso en campo del prototipo de kit de detección de las bacterias asociadas al HLB.

Nuestra citricultura está libre de HLB, pero los principales insectos vectores de la enfermedad están cada vez más cerca. Conviene estar alerta y preparados para dar una respuesta rápida y coordinada en caso de detección de esta amenaza.

ESTRATEGIA DE DETECCIÓN

La detección es fundamental para la gestión del HLB. Y también lo es disponer de herramientas adecuadas para determinar la presencia de las especies bacterianas de *Candidatus Liberibacter* asociadas a la enfermedad. El equipo de Bacteriología del IVIA ha diseñado y desarrollado un prototipo de kit de detección para ser utilizado en campo como primer método de cribado (**Figura 2**).

Las principales ventajas de este kit son la sencillez de su equipamiento y manejo y su rapidez de respuesta —alrededor de 30 minutos—, características que, lejos de comprometer su sensibilidad y especificidad, equiparan este método a los PCR actuales. Siguiendo las directrices marcadas por la Organización Europea de Protección de las Plantas (EPPO), y en colaboración con grupos

de investigación de Brasil, Costa Rica, Cuba y Estados Unidos, se analizaron muestras infectadas por HLB. El kit permitió discriminar clara y perfectamente entre muestras negativas y positivas, detectando diferentes aislados bacterianos independientemente del tipo de muestra a analizar —planta o insecto— y de su origen geográfico. Se evaluaron también la repetibilidad y la reproducibilidad de la técnica, alcanzándose niveles del cien por cien en ambos parámetros. Finalmente, el kit se ensayó en condiciones de campo en dos países donde el HLB está presente, Brasil y Costa Rica, realizando prospecciones aleatorias de muestras sintomáticas y asintomáticas y comparándolo con un protocolo de PCR en tiempo real ya validado. La concordancia entre ambas técnicas fue casi perfecta.

En conclusión, podemos decir que el kit desarrollado en el IVIA es un instrumento de detección altamente sensible, específico y rápido, que podrá ser utilizado en el diagnóstico *in situ* del HLB e integrarse como una herramienta más en los programas de gestión de esta enfermedad.

El equipo de Bacteriología del IVIA ha diseñado y desarrollado un prototipo de kit de detección de la bacteria causante del HLB de sencillo manejo en campo y de respuesta rápida y fiable.



PREVENCIÓN Y GESTIÓN DEL HLB CON EL USO DE PATRONES DE CÍTRICOS

La utilización de patrones de cítricos es una de las principales herramientas para la adaptación del cultivo a diferentes condiciones y enfermedades, así como para mejorar la rentabilidad de las plantaciones. En las zonas cítricas donde la enfermedad está presente se ha ido observando que algunos patrones de cítricos son más tolerantes al HLB que otros. Dicha respuesta diferencial de los patrones de cítricos desarrollados antes de la crisis del HLB demuestra que existe una variación genética en los mismos a dicha enfermedad. Esta variación está siendo utilizada en nuestro programa de mejora genética. En el IVIA existe un programa de obtención de patrones de cítricos donde se ha obtenido y evaluado un gran número de nuevos híbridos. En el último año se han evaluado más de 400 híbridos del banco de patrones del IVIA, cuantificándose en su floema la presencia de péptidos antimicrobianos que puedan tener acción sobre el HLB. Además, se ha iniciado un *screening* de la susceptibilidad de varios patrones IVIA frente a los dos vectores del HLB, *T. erytrae* y *D. citri*. Los resultados obtenidos hasta la fecha apuntan al buen comportamiento frente a los vectores de alguno de los patrones IVIA, como es el caso del Forner Alcaide 5.

Figura 3. Difusor polimérico cargado con (Z)-3-HP colgado en un plantón de cítrico..

INDUCCIÓN DE DEFENSAS EN LA GESTIÓN DEL HLB Y SUS VECTORES

Las plantas han desarrollado complejos mecanismos de defensa para responder a los ataques de plagas y enfermedades, lo que se conoce como defensas inducidas. La capacidad de modular estas respuestas defensivas es clave en el daño que causa la enfermedad del HLB y sus vectores. En el IVIA se han descubierto diversos agentes inductores de defensa que activan estos mecanismos en cítricos. Uno de los métodos más prometedores es la activación de defensas mediante la exposición a volátiles emitidos por las propias plantas (Figura 3). En particular, la exposición al volátil (Z)-3-hexenil propanoato ha demostrado ser efectiva en la activación de defensas en cítricos, lo que pone en marcha mecanismos de defensa en la planta como es la producción de proteínas defensivas como inhibidores de proteasas, catalasas o quitinasas, que reducen la supervivencia de los vectores en plantas inducidas. Además, las plantas activadas defensivamente tras su exposición a este volátil resultan

repelentes para ambos vectores (*D. citri* y *T. erytrae*) y atraen a sus parasitoides específicos (*Tamarixia radiata* y *T. dryi*), lo que contribuye a una mayor protección frente a estos insectos. Además, estudios recientes han puesto de manifiesto la importancia del papel de los antioxidantes en el desarrollo de la enfermedad del HLB. En este sentido, se está evaluando la posibilidad de aumentar el contenido de antioxidantes en cítricos mediante la activación de defensas o con tratamientos con hormonas vegetales.

Las plantas desarrollan complejos mecanismos de defensa para responder a los ataques de plagas y enfermedades, lo que se conoce como defensas inducidas. El IVIA ha descubierto diversos agentes inductores de defensa que activan estos mecanismos en cítricos.



CONTROL BIOLÓGICO DE *TRIOZA ERYTREA*: DISPERSIÓN Y EFICACIA DEL PARASITOIDE *TAMARIXIA DRYI*

El insecto vector *T. erytrae* se detectó en la península ibérica por primera vez en 2014. Con el fin de reducir la densidad poblacional del psílido e impedir que alcanzara las zonas citrícolas españolas, el IVIA implementó un programa de control biológico clásico para reducir la densidad de población. Para ello se estudió y evaluó la eficacia de los parasitoides en el África subsahariana, la zona de origen de *T. erytrae*. Los resultados de campo mostraron que el parasitoide *Tamarixia dryi* era el agente de control biológico más

eficaz, abundante y ampliamente distribuido, por lo que se solicitó su introducción y liberación al Ministerio de Agricultura. Tras establecer una cría del parasitoide y confirmar su especificidad en colaboración con el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, se obtuvieron los permisos para su liberación en campo. *T. dryi* se liberó primero en Canarias y Galicia y posteriormente en el resto de la cornisa cantábrica con la colaboración de los respectivos Servicios de Sanidad Vegetal de las comunidades autónomas.

Los resultados de los primeros años muestran que el parasitoide se ha establecido exitosamente, se ha dispersado hasta cien kilómetros por año y ha reducido significativamente el número de parcelas infestadas por *T. erytrae* tanto en Canarias como en Galicia y el resto de la cornisa cantábrica. En los próximos años deberá confirmarse que esta alta eficacia se mantiene en el tiempo y, si *T. erytrae* alcanza las zonas citrícolas, evaluar la eficacia del parasitoide en parcelas comerciales.

BASES EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS PROGRAMAS DE CONTROL DEL HLB

Actualmente, la legislación europea considera el agente causal del HLB como organismo patógeno prioritario y establece medidas especiales, como la vigilancia epidemiológica anual del territorio, planes de contingencia y acción, ejercicios de simulación e información pública. En el IVIA se han desarrollado modelos epidemiológicos para optimizar los programas de vigilancia y la demarcación de las áreas donde hay que aplicar las medidas establecidas en los planes de contingencia, como son la zona tampón alrededor del área afectada y las barreras de contención para frenar la dispersión de la

Los programas de control del HLB se basan en la reducción de inóculo mediante la eliminación de las plantas infectadas y el control de las poblaciones de los insectos vectores.

enfermedad. Este tipo de modelos permite, además, comparar posibles escenarios de dispersión de la enfermedad y evaluar diferentes planes de actuación. En las zonas afectadas, los programas de control del HLB se basan en la reducción de inóculo mediante la eliminación de las plantas infectadas y el control de las poblaciones de los insectos vectores. Se han desarrollado también modelos epidemiológicos para diseñar estos programas; por ejemplo, optimizando el tamaño y la localización de las áreas de tratamientos coordinados para el control de los vectores. Por último, en las zonas afectadas por HLB, los aspectos sociales se han mostrado claves para la adopción efectiva de las medidas de contingencia y control de la enfermedad por parte de los citricultores y el público en general. En este sentido, se han realizado también trabajos para caracterizar y cuantificar estos factores sociales e integrarlos en los planes de acción frente a la enfermedad.

ENLACES WEB



ENCUESTA PRE-HLB: Respondiendo a la encuesta, ayudarás en la toma de decisiones futuras en caso de la entrada de nuevos patógenos de cuarentena y a la mejora de la normativa en caso de ser necesario.

MARK HODDLE: «HAY QUE ESTAR LISTOS PARA COMBATIR LA PLAGA ANTES DE QUE APAREZCA». *L'Agrària* #02, p. 34 (diciembre 2022)

>Autores del artículo:

María Ángeles Forner-Giner (*), Ester Marco-Noales (**), Meritxell Pérez-Hedo (**), Alejandro Tena (**), Alberto Urbaneja (**), y Antonio Vicent (**)

* Centre de Producció Vegetal i Citricultura.

**Centre de Protecció Vegetal i Biotecnologia.

Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA).