

Estudios sobre los daños causados por psílidos (vectores del grupo 'nigricornis') desarrollados en el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León

El ITACyL ha puesto en marcha un proyecto financiado por el Plan de Desarrollo Rural de Castilla y León, en colaboración con ASOPROFIT (Asociación para la Protección Fitosanitaria del Puerro, la Zanahoria y la Cebolla en Castilla y León) que lleva por título "Nuevas estrategias para mitigar los daños causados por las enfermedades de especies hortícolas de reciente aparición"

M. Carmen Asensio Sánchez-Manzanera, Yolanda Santiago Calvo, Diego Flores Pérez, Rubén Vacas Izquierdo, Elena Fernández Oteruelo

Unidad de Cultivos Leñosos y Hortícolas, Subdirección de Investigación, Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León

Ctra. de Burgos Km. 119 47071 Valladolid; asesnmr@itacyl.es



INSTITUTO
TECNOLÓGICO
AGRARIO

Junta de Castilla y León
Consejería de Agricultura y Ganadería

Foto 1. Síntomas de Zebra Chip en tubérculos de patata.



Algunos síntomas de ciertos cultivos que hasta ahora estaban asociadas a virus, fitoplasmas o a daños causados por insectos, se han relacionado finalmente con especies de bacterias gram-negativas limitadas a floema. Este grupo de bacterias se han llamado 'Liberibacter', precedido de la palabra 'Candidatus' porque no son cultivables, son parásitos obligados de plantas e insectos vectores. Este tipo de bacterias se transmite mediante psílidos, que son a su vez plagas de algunas especies de plantas. Las enfermedades más importantes ligadas a estas bacterias son el 'Huanglongbing' (HLB) o amarillamiento-enverdecimiento de los cítricos y el 'Zebra Chip' de la patata, causando importantes daños y pérdidas económicas.

PSYLLIDOS

Los psílidos, o piojos saltadores, (Hemiptera: Psyllodea) son insectos chupadores, de 2-3 mm, que se alimentan del floema a través de un estilete. Actualmente están distribuidos por todas las zonas con vegetación del

planeta, y están clasificados en 11 familias que contienen aproximadamente 300 especies, muchas de las cuales están especializadas en alimentarse de una especie (monófagas) o de unas pocas especies relacionadas (oligófagas) (Haapalainen 2014). El ciclo de vida de estos insectos comienza con el apareamiento de los adultos, seguido de la oviposición, la eclosión del huevo y el desarrollo de cinco estados ninfales; el adulto emerge tras la metamorfosis. El tiempo necesario para el desarrollo completo del insecto es de aproximadamente un mes, dependiendo de la temperatura. El número total de huevos que puede poner una hembra varía entre 100 y 1000, por lo que las poblaciones de psílidos pueden crecer muy deprisa, si no se toman las medidas adecuadas (Hodkinson 2009). Por otra parte, los adultos son capaces de volar más de un kilómetro de distancia y también pueden ser trasladados por el viento distancias mucho mayores.

Los daños causados por estos insectos debido a su alimentación pueden ser importantes si las poblaciones de insectos son muy altas, produciendo amari- >>>

lleamientos, deformaciones de las hojas y reducción del tamaño de la raíz (Nissinen *et al.* 2012, 2014). Sin embargo, el daño más importante causado por los psílidos, es el daño indirecto producido por la transmisión de patógenos en numerosos cultivos. El mecanismo de transmisión es persistente, circulativo y propagativo (Cooper *et al.* 2014), ya que, una vez que el psílido adquiere la bacteria al alimentarse del floema de una planta infectada, la bacteria debe traspasar la pared del tracto digestivo del insecto y llegar a la hemolinfa, que la dispersa por diversos tejidos y órganos, donde se replica y se acumula. Finalmente llega a las glándulas salivares, desde donde es de nuevo inoculada mientras el insecto se alimenta en una nueva planta. El proceso entero desde la adquisición a la inoculación se conoce como 'periodo de latencia', que puede ser aproximadamente de dos semanas. El grado de especialización entre la bacteria y el psílido es tal, que una hembra es capaz de transmitirla a su descendencia, lo cual se conoce como transmisión transovárica (Hansen *et al.* 2008).

El denominado "*Bactericera nigricornis* Förstercomplex" (Hodkinson 1981) está formado por tres especies muy próximas: *B. tremblayi*, *B. nigricornis* y *B. trigonica*, caracterizadas por presentar más de una generación al año, ser polífagas, a diferencia de la mayoría de las especies de psílidos, y pasar el invierno en forma de adultos. La diferenciación de estas tres especies es difícil y se basa en la forma de los conos de la cabeza y en la genitalia masculina. Las tres especies están presentes en España y han sido localizadas en un rango amplio de cultivos en mayor o menor proporción. *B. trigonica* de ha descrito en zanahoria y otras umbelíferas (chirivía y apio), aunque también se ha recogido en campos de patata (Teresani *et al.* 2015). *B. tremblayi* está asociada a especies del género *Allium* (puerro y cebolla) (Ouvrardy Burckhard 2012). *B. nigricornis* es la más polífaga de las tres especies, y podría ser capaz de alimentarse y reproducirse en patata y otras especies de la familia *Brassicaceae*.

CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM

La bacteria fitopatógena no cultivable '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' (CaLsol), fue descrita por primera vez en 2008 (Liefting *et al.* 2009; Hansen *et al.* 2008) en Nueva Zelanda y EEUU, produciendo en patata una grave enfermedad conocida como 'Zebra Chip' o patata rayada (Foto 1). El análisis genético de bacterias de CaLsol procedentes de diversos países y cultivos ha permitido separar cinco grupos distintos llamados haplotipos: haplotipo A, B, C, D y E. Los haplotipos A y B se asocian con zebra chip de la patata y amarillos en

Foto 2. Síntomas de CaLsol en raíces de zanahoria.



Foto 3. Síntomas en puerro.



tomate y pimiento en México, Estados Unidos y Nueva Zelanda; son transmitidos por *B. cockerelli*. El haplotipo C se asocia con amarillos de la zanahoria en el norte de Europa, transmitido por *Trioza apicalis*. Los haplotipos D y E han sido citados en España, Francia y Marruecos en zanahoria y apio, siendo *B. trigonica* el insecto que los transmite.

La bacteria es capaz de transmitirse de forma primaria por semilla y por tubérculos de siembra en el caso de la patata. Sin embargo, las plantas de patata procedentes de tubérculos infectados presentan un escaso desarrollo y raramente llegan a producir tubérculos por lo que la diseminación de la enfermedad por este medio se considera despreciable, siendo necesaria la presencia de psílidos para causar daños en un cultivo (Munyanza 2015). En el caso de zanahoria, se han publicado estudios contradictorios sobre la transmisión por semilla de esta bacteria (Bertolini *et al.* 2015, Loiseau *et al.* 2017), por lo que aún se desconoce la importancia epidemiológica de esta forma de transmisión. De forma general, la presencia de psílidos en los cultivos huésped de CaLsol parece esencial para la aparición de los síntomas. No existen estrategias para un control efectivo contra CaLsol excepto el uso de dispositivos que impidan la colonización del cultivo por insectos vectores y la obtención de variedades resistentes. ▶▶▶

Foto 4. Huevos, Ninfas N1-N2 y ninfas N4-N5 de *Bactericera tremblayi* en puerro.



SITUACIÓN EN CASTILLA Y LEÓN

Hace algunos años comenzaron a aparecer los siguientes síntomas en cultivos de zanahoria de las provincias de Ávila, Segovia y Valladolid: retorcimiento, amarillamientos y enrojecimientos de las hojas, retraso en el crecimiento de los brotes, proliferación de raíces secundarias, proliferación de brotes en la corona, deformación de las raíces, y una reducción del rendimiento por parcela, así como de la calidad del producto (Foto 2). Estos síntomas fueron relacionados con la presencia de CaLsol y de *B. trignonica*, aunque también aparecieron otros fitoplasmas y diversos virus.

Al mismo tiempo aparecieron serias pérdidas de rendimiento en puerro en la misma zona (Foto 3). Los desórdenes fisiológicos que presentan las plantas, parecen asociados a la presencia de psílidos (*B. tremblayi*) en las parcelas, pero se desconoce la causa de los mismos. Los síntomas que presentan los puerros son: enanismo, rajado, amarilleamientos y enrojecimientos longitudinales del fuste, las puntas de las hojas marchitas y hacia abajo. Estos síntomas han sido asociados a la presencia de *B. tremblayi* en Francia (Ouvrard y Burckhard 2012).

En tercer lugar, la presencia de CaLsol en cultivos de zanahoria en Castilla y León, supone un riesgo para el cultivo de patata en esta zona, donde es un cultivo estratégico. Si hubiera algún insecto capaz de transmitir este patógeno a los cultivos de patata en España, el riesgo de aparición de Zebra Chip sería muy grave, y las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad muy altas.

Por estas tres razones el ITACyL comenzó en 2016 a trabajar en este tema, en colaboración con el Centro Regional de Diagnóstico de la Junta de Castilla y León (CRD-JCyL, Aldearrubia, Salamanca), y con otros centros con experiencia en estos insectos y este patógeno: el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA), el INIA (Grupo de Patología Vegetal) y el Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), en el marco de un proyecto financiado por el INIA titulado "Epidemiología de la enfermedad 'Zebra Chip' de la patata en España, situación de las principales zonas productoras y riesgos vinculados a otras solanáceas"

Foto 5. Mangueros en campo.



(E-RTA-2014-00008-C04-02). El proyecto tiene como objetivo principal el estudio de diferentes aspectos epidemiológicos de la enfermedad emergente "zebra chip" de la patata y conocer su incidencia en las principales zonas productoras. Además se pretenden determinar las posibles relaciones entre los aislados de la bacteria procedentes de patata y aquellos detectados en cultivos como la zanahoria, la chirivía o el apio en trabajos anteriores y estimar el riesgo de transmisión de la bacteria por las principales especies de psílidos potenciales vectores encontradas en campos de cultivo de patata. Para ello se han realizado prospecciones en patata de siembra y de consumo, observando síntomas y detectando la bacteria por métodos moleculares en material vegetal, así como identificando potenciales vectores presentes en las diferentes áreas. Además, se han establecido ensayos que permiten hacer un seguimiento de los síntomas a lo largo del ciclo de cultivo, al mismo tiempo que se realiza un seguimiento de las poblaciones de psílidos mediante trampeo, mangueros y conteo de individuos en plantas de forma periódica.

Ya en 2017 el ITACyL ha puesto en marcha un proyecto financiado por la Medida 16.2 del Plan de Desarrollo Rural de Castilla y León (2014-2020), en colaboración con ASOPROFIT (Asociación para la Protección Fitosanitaria del Puerro, la Zanahoria y la Cebolla en Castilla y León) que lleva por título "Nuevas estrategias para mitigar los daños causa-

dos por las enfermedades de especies hortícolas de reciente aparición". Los objetivos concretos que se pretenden abordar son los siguientes:

1º.- Conocer el nivel de incidencia de la enfermedad en zanahoria, puerro y cebolla en Castilla y León;

2º.- Estudiar la etiología de la enfermedad: detección e identificación de los patógenos implicados;

3º.- Estudiar la epidemiología: Transmisión por semilla y vectores;

4º.- Control de la enfermedad: detección en semilla, control de vuelos de vectores, ensayos de variedades. Ambos proyectos se enmarcan dentro del programa A.1.3.2. Plagas y enfermedades asociadas a cultivos o grupos de cultivos, del Nuevo Modelo de I+i de la Consejería de Agricultura.

Para acometer los tres primeros objetivos de este proyecto, en esta campaña se han evaluado, en primer lugar, todos los lotes de semilla de zanahoria empleados por los miembros de la Asociación, para conocer si son portadores de CaLsol o no, y realizar un seguimiento en campo, tanto de lotes positivos como negativos. La detección molecular de la bacteria se ha realizado en el laboratorio de patología vegetal del ITACyL y han sido confirmados por el CRD-JCyL.

Además, se han realizado prospecciones en cultivos de zanahoria, puerro y cebolla en parcelas distribuidas por todas las zonas productoras de las provincias de Ávila, Segovia y Valladolid (Figura1). Estas prospecciones se han realizado en colaboración con los técnicos de campo de ASOPROFIT. En cada parcela se realizaron al menos 3 visitas a lo largo del ciclo de cultivo, y se evaluaron en cuanto a síntomas apreciables a simple vista e infestación por psílidos. Además, se realizaron capturas de adultos mediante manga entomológica (10 mangueros de 10 batidas cada uno en cada muestreo) (Foto 5). En estos momentos, se están contando e identificando los insectos capturados en laboratorio. En la última visita, cercana al momento de recolección, se han recogido muestras en las parcelas más afectadas con el fin de cuantificar los daños causados en la cosecha. De las muestras recogidas, se han enviado plantas con diferentes sintomatologías al Laboratorio de Patología Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia, con el fin de relacionar las diferentes sintomatologías con los patógenos detectados en cada una de esas plantas.

El estudio de la dinámica poblacional en los cultivos, a partir del conocimiento de las especies presentes y las fluctuaciones estacionales de sus poblaciones, es básico para la identificación de las posibles especies vectoras y el desarrollo de estrategias de control. Para ello se instaló una trampa de agua en dos parcelas de puerro y dos de ▶▶▶

productos para la huerta

Fungicidas

- Daconil® 50 SC
- Prestop®
- Sponsor® MZ
- Nordox® 75 WG
- Cilus Plus®

Herbicidas

- Activus®
- Dixon®
- Eclipse® WDG
- Logrado®

Insecticidas

- Bactur® 2x
- Polaris®
- Quimato® 40 EC

Otros

- Steric P®
- Steric K®
- Growel®
- Welgro Standard®
- Welgro Amino®



DELEGACIÓN EN
CASTILLA Y LEÓN
Jesús Román Rodríguez
jroman@cqmasso.com
607 86 67 46



zanahoria y se marcó un cuadrado de 10 x 10 m en el que no se realizaron tratamientos. Los insectos que cayeron en la trampa fueron recogidos cada 10-15 días. En esas visitas también se realizaron mangueros para recoger insectos presentes en las parcelas, y se evaluaron 20 plantas para detectar la presencia de huevos y ninfas N1-N2 y N3-N5 (Foto 4). Han sido los técnicos de ASOPROFIT los que han llevado a cabo estas labores, enviando los datos y los insectos capturados periódicamente a los laboratorios del ITACyL y al ICA-CSIC, donde se cuentan y se identifican las muestras recogidas.

A partir de los insectos recogidos en las prospecciones y en las parcelas en las que instalaron las trampas y se realizaron los mangueros, es posible establecer la proporción de insectos portadores de la bacteria y, por tanto, susceptibles de transmitir el patógeno.

Con estos trabajos se obtendrá información acerca de la distribución de síntomas, daños, patógenos e insectos vectores en esta zona de producción. Estos conocimientos permitirán establecer estrategias que permitan controlar las especies vectoras y minimicen los daños causados en los cultivos hortícolas del Sureste de Castilla y León.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos: E-RTA-2014-00008-C04-02, financiado por el INIA, el Ministerio de Economía y Competitividad y co-financiado con Fondos FEDER; y el proyecto "Nuevas estrategias para mitigar los daños causados por las enfermedades de especies hortícolas de reciente aparición" financiado con cargo a la medida 16.2 del PDR de Castilla y León (2014-2020) y co-financiado con Fondos FEADER.



BIBLIOGRAFÍA

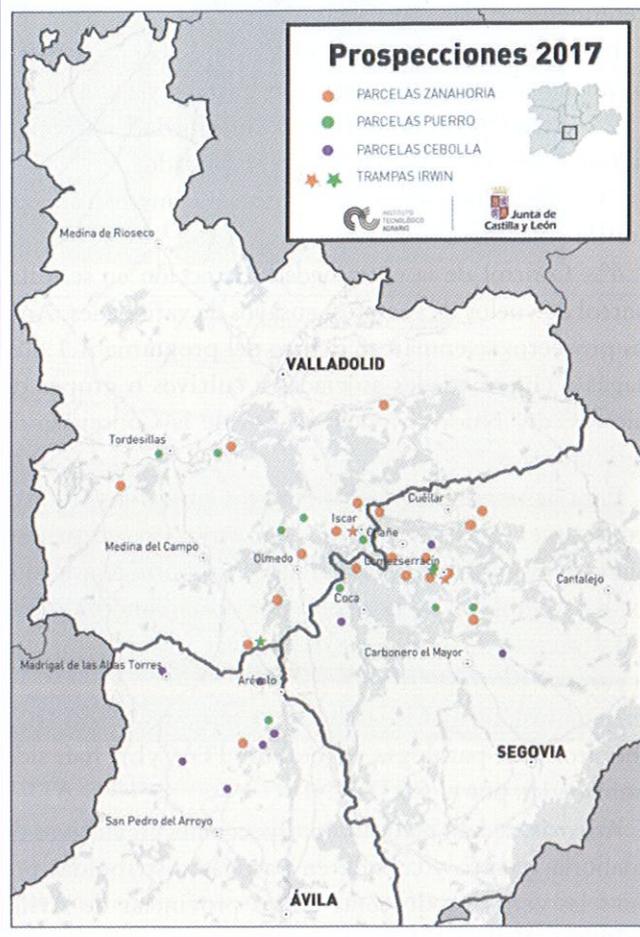
Bertolini E., Teresani G.R., Loiseau M., Tanaka F. a O., Barbé S., Martínez C., Gentil P., López M.M., Cambra M. 2015. Transmission of "Candidatus Liberibacter solanacearum" in carrot seeds. *Plant Pathol.* 64:276-285.

Cooper W.R., Sengoda V.G., Munyaneza J.E. 2014. Localization of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Annals of the Entomological Society of America* 107:204-210.

Haapalainen M. 2014. Biology and epidemics of *Candidatus Liberibacter* species, psyllid-transmitted plant-pathogenic bacteria. *Annals of Applied Biology* 165(2):172-198.

Hansen A.K., Trumble J.T., Stouthamar R., Paine T.D. 2008. A new huanglongbing species, "Candidatus Liberibacter psyllaerosus", found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and Environmental Microbiology* 74, 5862-5865.

Figura 1. Mapa de prospecciones de enfermedades y vectores de zanahoria, puerro y cebolla en 2017.



Hodkinson I.D. 1981. Status and taxonomy of the *Trioza* (Bactericera) *nigricornis* Förster complex (Hemiptera: Triozidae). *Bull. Entomol. Res.* 71:671-679.

Hodkinson I.D. 2009. Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insecta: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. *Journal of Natural History*, 43:65-179.

Liefting L.W., Sutherland P.W., Ward L.I., Paice K.L., Weir B.S., Clover G.R.G. 2009. A new 'Candidatus Liberibacter' species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93, 208-214.

Loiseau M., Ranaudin I., Cousseau-Suhard P., Lucas P.M. 2017. Lack of evidence of vertical transmission of "Candidatus Liberibacter solanacearum" by carrot seeds suggest that seeds is not a major transmission pathway. *Plant Dis.* DOI: 10.1094/PDIS-04-17-0531-RE.

Munyaneza J.E. 2015. Zebra Chip disease, *Candidatus Liberibacter*, and potato psyllid: a global threat to the potato industry. *Am. J. Potato Res.* (2015) 92:230-235.

Nissinen A.I., Lemmetty A., Pihlala J.M., Jauhiainen L., Munyaneza J.E., Vanhala P. 2012. Effects of carrot psyllid (*Triozaaepicalis*) feeding on carrot yield and content of sugars and phenolic compounds. *Ann. Appl. Biol.* 161:68-80.

Nissinen A.I., Haapalainen M., Jauhiainen L., Lindman M., Pirhonen M. 2014. Different symptoms in carrots caused by male and female carrot psyllid feeding and infection by 'Candidatus Liberibacter solanacearum'. *Plant Pathology* 63(4):812-820.

Ouvrard D., Burckhardt D. 2012. First record of the onion psyllid *Bactericera tremblayi* (Wagner, 1961) in France (Insecta: Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea), new symptoms on leek crops and reassessment of the *B. nigricornis* - group distribution. *EPPO Bulletin* 42(3):585-590.

Teresani G.R., Hernández E., Bertolini E., Siverio F., Marroquín C., Molina J., Mendoza A.H. de, Cambra M. 2015. Search for potential vectors of "Candidatus Liberibacter solanacearum": population dynamics in host crops. *Span. J. Agric. Res.* 13(1), 1002.