

Ensayo de variedades de zanahoria para susceptibilidad a *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Y. Santiago Calvo, Diego Flores Pérez, M.C. Asensio Sánchez-Manzanera*
UCH, ITACyL, Ctra. de Burgos km 119, 47071 Valladolid, *asesanmr@itacyl.es

Palabras clave: *Daucus*, amarillos, enrojecimientos, *Bactericera*, psila de la zanahoria

RESUMEN

Una compleja relación de síntomas encontrados en zanahoria, han sido relacionados con la presencia de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (CaLsol) y de su vector *Bactericera trigonica*. Con el objetivo de valorar si algunas variedades son más susceptibles que otras tanto a la enfermedad como al insecto transmisor de la bacteria, en 2020 se estableció un ensayo con 16 variedades de zanahoria. Se evaluaron los síntomas en hoja y en raíz visualmente en una escala de 1 a 9, los datos de producción (peso y número de raíces comerciales y destrío), y la presencia de formas inmaduras del insecto (huevos, N1-N2 y N3-N5) y de la bacteria en las plantas, mediante RT-PCR. No se encontraron diferencias significativas entre las variedades para los datos de producción, ni para la presencia de formas inmaduras del insecto ni de CaLsol, pero sí para los síntomas más característicos de la enfermedad: amarillos y rojeces en hoja y proliferación de raíces. Además, se encontraron correlaciones entre los síntomas, los datos de producción y la presencia de formas inmaduras en las hojas, lo cual sugiere ciertas diferencias entre variedades, que en este ensayo no se han traducido en diferencias en el rendimiento de las variedades.

INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años han aparecido síntomas severos en cultivos de zanahoria: retorcimiento, amarilleamientos y enrojecimientos de las hojas, proliferación de raíces secundarias y de brotes en la corona, deformación de las raíces, y una reducción del rendimiento por parcela, así como de la calidad del producto. Estos síntomas han sido relacionados con la presencia de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (CaLsol) y de su vector *Bactericera trigonica* Hodkinson, aunque también con fitoplasmas y virus (Alfaro-Fernández et al 2012, 2018).

En trabajos previos realizados para conocer la incidencia de la enfermedad en la zona de producción de hortalizas de las provincias de Ávila, Segovia y Valladolid (Asensio-S.-Manzanera et al., 2019a, 2019b), se observó una relación entre los síntomas de la parte aérea, la presencia de altas poblaciones de la psila de la zanahoria (*B. trigonica*) y su nivel de infección por CaLsol, con los síntomas encontrados en la raíz y la presencia de CaLsol en las plantas de zanahoria. También se observó un aumento de la incidencia según avanza la campaña, encontrando mayores daños y mayores capturas del insecto en los ciclos más tardíos de la zanahoria.

Con el objetivo de valorar si algunas variedades son más susceptibles que otras tanto a la enfermedad como al insecto transmisor de la bacteria, en 2020 se estableció un ensayo con 16 variedades de zanahoria en Villaverde de Íscar (Segovia).

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo fue sembrado el 19/06/2020 y se cosechó en dos fechas: 17/11/2020 (1ª rep) y 23/11/2020 (2ª rep). El diseño experimental fue en bloques al azar con dos repeticiones y una parcela experimental de 1,10 m de ancho por 2 m de largo.

Para monitorear la presencia de *B. trigonica* durante el ciclo del cultivo se dispusieron tres trampas amarillas, separadas 15 m y con altura variable, en función del crecimiento de la vegetación; se recogieron cada 15 días en papel film y fueron mantenidas en frigorífico a 4°C hasta el conteo y la identificación de individuos hasta nivel de género. Además, se realizaron 5 visitas a lo largo del ciclo del cultivo en las que se procedió al muestreo de adultos mediante manga entomológica (10 barridos consecutivos en cinco puntos diferentes). Cada muestra se colocó en una bolsa de plástico con cierre hermético y se almacenó en el laboratorio a -20 ° C durante 48 h. A partir de ese momento las muestras se conservaron en tubos con etanol al 70%, hasta el momento de la identificación por sexo y especie (Hodkinson, 1981; Ouvrard y Burckhardt, 2012). En el momento de la cosecha, se determinó el número de formas inmaduras en 10 plantas de cada parcela experimental, distinguiendo entre huevos, ninfas N1-N2 y ninfas N3-N5.

En el momento de la cosecha se tomaron en campo los síntomas visuales de hojas de cada parcela en campo, y de las raíces en laboratorio en una escala de 1 a 9 (1, ausencia, 9, muy presente). Para la valoración del rendimiento, de cada parcela experimental se tomó una muestra de 1 m de largo y dos surcos de la mesa, se contaron y pesaron separando las raíces comerciales y no comerciales, y las sintomáticas de las asintomáticas.

Finalmente, se procedió a la detección de CaLsol en 10 raíces de cada muestra. La extracción de ADN se realizó con tampón de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) ligeramente modificado (Murray y Thompson, 1980). El análisis para la detección de CaLsol se realizó utilizando el PlantPrint Detection Kit por RT-PCR (Teresani et al., 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra la evolución de las poblaciones de psila de la zanahoria a lo largo del ciclo de cultivo. La presencia de *B. trigonica* en su forma adulta fue discreta en comparación con las capturas registradas en otras parcelas en años anteriores. Tanto en las capturas de adultos de la trampa amarilla como en las registradas en los mangueros, la presencia del insecto fue baja hasta finales del mes de septiembre, más tarde de lo habitual, y a partir de ese momento se produjo un descenso constante, hasta el momento de la cosecha en la segunda mitad del mes de noviembre.

La presencia de formas inmaduras del insecto (huevos y ninfas) fue inferior también a la registrada en años anteriores en otras parcelas. No se registraron diferencias significativas entre variedades para el número de huevos, ninfas N1-N2 o ninfas N3-N5, por lo que no se puede decir que el insecto tenga alguna preferencia por alguna de las variedades estudiadas.

En cuanto a los síntomas en hoja en campo, se encontraron diferencias significativas en los amarillos y en los enrojecimientos. Ambos tipos de síntomas son bastante inespecíficos y relacionados con la asfixia radicular o la senescencia (amarillos), o con otros patógenos, p. ej. virus de la hoja roja de la zanahoria. Por el contrario, los síntomas en raíz, como son la proliferación de hojas en la corona o la proliferación de raicillas, son más específicos de esta enfermedad. Sólo las diferencias en la proliferación de raíces resultaron significativas, aunque ninguna variedad mostró unos síntomas muy graves.

En cuanto a los datos de producción, no se aprecian diferencias significativas entre las variedades ensayadas, debido a unos problemas de encharcamiento en la nascencia, que provocaron una gran variabilidad entre las repeticiones y las parcelas evaluadas, pero las

correlaciones calculadas entre los síntomas y los resultados de producción arrojan algunas relaciones: existe una correlación positiva entre el número de raíces no comerciales y la presencia de rojeces en las hojas (45,57; $P < 0,05$), y también existe una correlación positiva entre los valores de proliferación de hojas en la corona con el peso medio de raíz (38,06 $P < 0,05$). También se han encontrado correlaciones negativas entre los síntomas en hoja y la presencia de formas inmaduras, y de estas con el número de raíces sintomáticas. Por tanto, sí que encontramos una relación causal entre la presencia de formas inmaduras de psila en las hojas, los síntomas evaluados relacionados con CaLsol y los rendimientos, aunque no se puedan atribuir diferencias a las distintas variedades.

Por último, no se ha encontrado relación alguna entre el porcentaje de plantas CaLsol + ni con los síntomas, los datos de producción o la presencia de formas inmaduras de psila de la zanahoria en las hojas. Esto puede deberse a varias razones entre las que destacan el elevado número de plantas CaLsol + que no muestran ningún síntoma, al reducido número de reacciones realizadas por muestra o la relativamente escasa presencia del vector en la parcela de estudio. Destacar que la presencia significativa de insectos adultos se produjo con el cultivo muy avanzado, y sin tiempo hasta la cosecha de que las plantas infectadas desarrollaran los síntomas característicos de la enfermedad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado en el marco del 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, que llevan a cabo ITACyL y ASOPROFIT.

Referencias

- Alfaro-Fernández, A., et al., 2012. First Report of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in Carrot in Mainland Spain. *Plant Dis.* 96: 582.
- Alfaro-Fernández, A., et al., 2018. Virus detectados en cultivos de zanahoria en España en los últimos 10 años. XIX Congreso SEF, 8-10 octubre de 2018: 230p.
- Asensio-S.-Manzanera, M.C. et al., 2019a. Evolución de las poblaciones de *Bactericera trigonica* Hodkinson (Hemiptera: Psylloidea) en zanahoria y su relación con los daños causados. XI Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Nov 2019. Madrid. P. 184. ISBN: 978-84-09-15430-2.
- Asensio-S.-Manzanera, M.C., et al., 2019. Proyecto ITACyL-ASOPROFIT: Resultados relativos a la epidemiología de la enfermedad de los amarillos y enrojecimientos de la zanahoria. *Tierras* 2018:8-13.
- Hodkinson, I.D. 1981. Status and taxonomy of the *Trioza (Bactericera) nigricornis* Förster complex (Hemiptera: Triozidae). *Bull Entomol Res.* 71(4):671-679.
- Murray, M. G. & W. F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic acids research*, 8, 4321-4325.
- Teresani, G. R., et al., (2014) Association of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' with a Vegetative Disorder of Celery in Spain and Development of a Real-Time PCR Method for Its Detection. *Phytopathology*, 104, 804-811.
- Ouvrard, D., y 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 Bull.* 42(3):585-590.

Tabla 1. Síntomas en hoja y raíz relacionados con la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLsol) en variedades de zanahoria, datos de producción y de presencia de la bacteria en variedades de zanahoria.

Variedad	Síntomas en hoja (campo)			Síntomas en raíz (laboratorio)		Datos de producción					% plantas CaLsol +
	Amarilleos	Rojeces	Amarilleos y Rojeces	Proliferación de hojas en corona	Proliferación de raíces	Producción comercial (kg)	Destrío (kg)	Nº raíces comerciales	Nº raíces no comerciales	Peso medio de raíz comercial (g)	
55_414_RZ	2.0 e	3.5 bcd	4.0 ab	4.0 a	4.5 ab	6.990 ab	0.433 a	77 cde	11 a	95.0 a	50 a
ALLYANCE	6.0 a	3.0 cde	2.0 b	1.5 b	3.0 bcde	8.093 ab	0.283 a	62 cde	8 a	133.0 a	65 a
BENGALA	4.0 bcd	4.0 abc	2.0 b	1.0 b	2.0 cde	9.668 ab	0.055 a	93 abc	4 a	104.0 a	35 a
BERMUDA	4.0 bcd	2.0 de	3.0 ab	3.0 ab	3.0 bcde	8.198 ab	0.153 a	77 cde	4 a	107.0 a	50 a
BRILLYANCE	4.0 bcd	2.5 cde	3.0 ab	2.0 ab	2.0 cde	9.552 ab	0.298 a	118 ab	12 a	81.0 a	55 a
ELLIS_RZ	3.0 cde	3.0 cde	1.5 b	2.5 ab	2.5 bcde	6.865 ab	0.495 a	58 cde	8 a	130.0 a	50 a
MAESTRO	4.5 abc	5.0 ab	2.5 ab	2.0 ab	2.0 cde	8.145 ab	0.078 a	67 cde	3 a	124.0 a	65 a
MELODIO	5.0 ab	2.0 de	2.0 b	2.0 ab	2.0 cde	5.810 b	0.155 a	50 de	5 a	149.0 a	45 a
NAMIBIA	4.0 bcd	2.5 cde	3.0 ab	1.5 b	1.5 de	9.638 ab	0.405 a	90 bcd	11 a	107.0 a	45 a
NEBIDA	3.0 cde	2.5 cde	3.0 ab	3.0 ab	3.5 abcd	5.865 b	0.078 a	59 cde	4 a	102.0 a	60 a
ROMANCE	4.0 bcd	2.5 cde	2.5 ab	3.0 ab	2.5 bcde	7.343 ab	0.045 a	57 cde	2 a	130.5 a	45 a
SOPRANO	4.0 bcd	3.0 cde	2.5 ab	3.0 ab	4.0 abc	8.665 ab	0.168 a	75 cde	6 a	116.5 a	70 a
SUBITO	2.5 de	1.5 e	2.5 ab	1.5 b	2.5 bcde	8.445 ab	0.775 a	69 cde	10 a	121.5 a	60 a
VAC_113	2.0 e	2.0 de	2.0 b	2.0 ab	1.0 e	7.460 ab	0.180 a	66 cde	5 a	114.0 a	65 a
VAC_126	3.5 bcd	3.0 cde	5.0 a	3.0 ab	5.5 a	10.145 a	0.213 a	130 a	8 a	78.5 a	65 a
VAC_135	6.0 a	5.5 a	2.5 ab	1.5 b	4.0 abc	7.100 ab	0.585 a	48 e	6 a	148.0 a	50 a

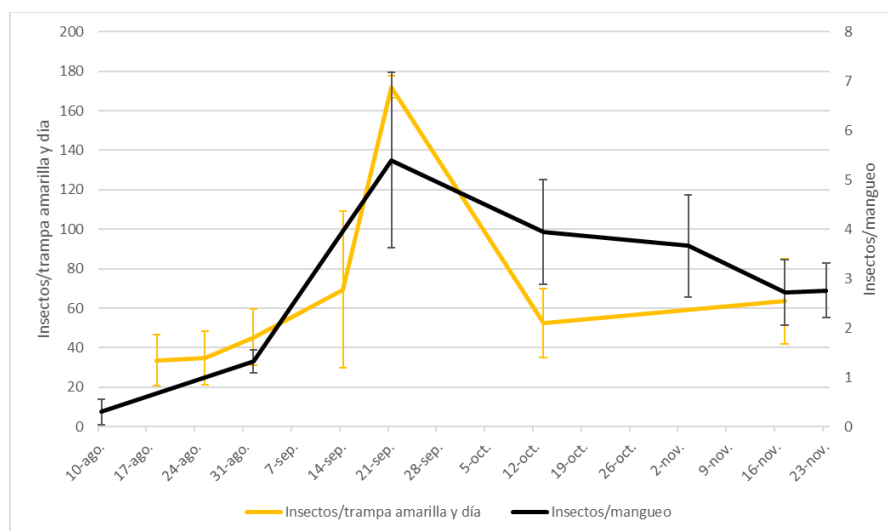


Figura 1. Número de individuos adultos de *Bactericera trigonica* capturados en trampa pegajosa amarilla y mediante manga entomológica a lo largo del cultivo.

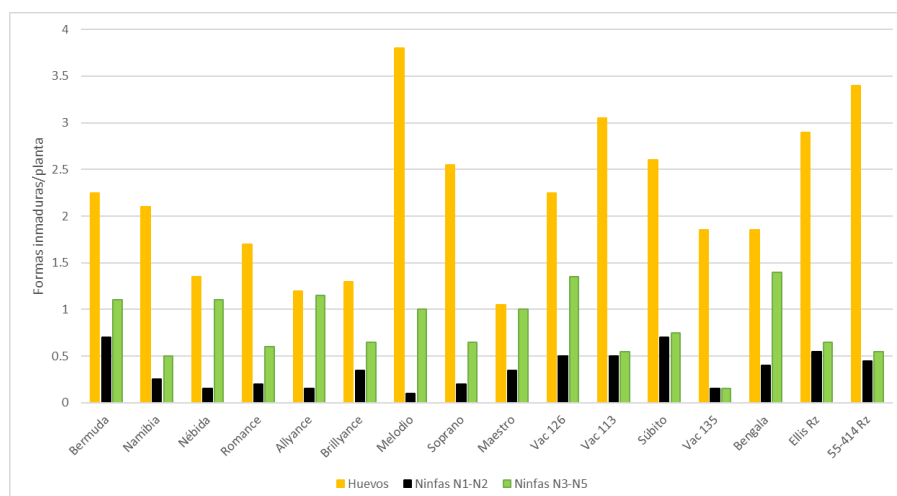


Figura 2. Presencia de formas inmaduras de *Bactericera trigonica* en hojas en variedades de zanahoria en el momento de la cosecha.