

Proyecto ITACyL-ASOPROFIT

Resultados relativos a la epidemiología de la enfermedad de los amarilleos y enrojecimientos de la zanahoria

M.C. Asensio-S.-Manzanera, Y. Santiago-Calvo, D. Ruano-Rosa, D. Flores-Pérez, R. Vacas Izquierdo y ASOPROFIT

Área de Investigación Agrícola, ITACyL, Ctra. de Burgos Km. 119 47071 Valladolid, asesamr@itacyl.es

ASOPROFIT, Asociación para la Protección Fitosanitaria del Puerro, la Zanahoria y la Cebolla en Castilla y León



En 2017 el ITACyL puso 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 que lleva por título “Nuevas estrategias para mitigar los daños causados por las enfermedades de especies hortícolas de reciente aparición”. ASOPROFIT (Asociación para la Protección Fitosanitaria del Puerro, la Zanahoria y la Cebolla en Castilla y León) se creó en 2015 con el objetivo de mejorar la producción agrícola del puerro, la zanahoria y la cebolla en Castilla y León, mediante la investigación y la experimentación para proteger estos cultivos de plagas y enfermedades.

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 (Figura 1). Estos síntomas han sido relacionados con la presencia de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (CaLsol) y de su vector *Bactericera trigonica* (Hodkinson, 1981), aunque también con

- * Las parcelas menos afectadas se localizan en la zona periférica a la zona de producción más tradicional e intensiva
- * Los síntomas y las capturas de psilas aumentan según avanza la campaña siendo muy importantes a partir de octubre-noviembre
- * Existe una relación entre los síntomas y el nivel de las poblaciones de insecto en las parcelas, y la detección de patógenos, especialmente CaLsol
- * Existe una infección por CaLsol remanente en plantas e insectos que no produce síntomas
- * No existe una relación aparente entre parcelas afectadas y lote de semilla utilizado

fitoplasmas y virus (Alfaro-Fernández et al 2012, 2018). La distribución de la psila de la zanahoria abarca todo el arco mediterráneo y las Islas Canarias (<https://gd.eppo.int/taxon/BCTCTR/distribution>). Otras dos especies, morfológicamente muy parecidas, *B. nigricornis* (Förster, 1848) y *B. tremblayi* (Wagner, 1961), muestran áreas de distribución solapadas y también hábitos polífagos. Las tres especies han sido reportadas en la zona de producción de hortícolas de Castilla y León.

El objetivo del trabajo fue valorar la presencia de *B. trigonica* durante dos campañas seguidas ▶▶▶

Figura 1. Zanahorias que muestran amarilleamientos 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.



(2017 y 2018) en diferentes parcelas de zanahoria de la zona de producción de hortalizas de las provincias de Ávila, Segovia y Valladolid, y relacionarlo con la aparición de los síntomas descritos y la detección de CaLsol en laboratorio, tanto en la semilla utilizada, como en los insectos capturados y en la producción final de zanahoria.

Para llevar a cabo este trabajo se visitaron 28 parcelas en total, entre los años 2017 y 2018, correspondientes a diferentes ciclos de cultivo y diferentes variedades. Se realizaron entre una y tres visitas en diferentes momentos del cultivo en las cuales se evaluaron visualmente síntomas en la parte aérea y en la raíz en una escala de 1 a 9 (1 = ausencia de síntomas, 9 = todas las plantas afectadas), se evaluó la presencia de huevos o ninfas en 50 plantas, y se realizaron mangueros para evaluar la presencia de adultos (5 repeticiones de 10 mangueros cada una). Los insectos capturados fueron identificados en laboratorio a nivel de especie (Ouvrard and Burkhardt, 2012) hasta un número de 50 individuos por muestra recogida. Finalmente, se recogieron muestras en cosecha para evaluar en laboratorio el grado de sintomatología de cada parcela. En las dos campañas se seleccionaron dos parcelas con plantas con síntomas asociados a CaLsol (Pedrajas de San Esteban y Chatún en 2017, y Pedrajas de San Esteban y Samboal, en 2018) y otras dos sin síntomas aparentes (Traspinedo y San Vicente de Arévalo en 2017, y Traspinedo y Navalmanzano en 2018). De los mangueros realizados en cada parcela y fecha se seleccionaron un número de adultos de *B. trigonica* no superior a 50 por género (machos y hembras). Para cada individuo se procedió a la extracción

de ADN con la técnica Chélex y detección de CaLsol mediante PCR a tiempo real, para determinar el porcentaje de insectos portadores. Además, se analizaron para la detección de la bacteria el lote de la semilla de siembra, y una muestra de las zanahorias de cada parcela para determinar el porcentaje de plantas infectadas en el momento de la cosecha.

► Detección de CaLsol en lotes de semilla de zanahoria

Se analizaron un total de 58 lotes de semilla en 2017 y 42 en 2018, resultando positivos un 40% y un 19% del total, respectivamente. Se desconoce si este porcentaje se corresponde con la superficie sembrada realmente, ya que no se realiza un seguimiento del número de hectáreas sembradas de cada uno de los lotes. No se encontró relación entre el lote de semilla utilizado y los síntomas demostrados por las parcelas al final de la campaña. Aunque se han publicado estudios contradictorios sobre la transmisión por semilla de esta bacteria (Bertolini et al. 2015, Loiseau et al. 2017), de forma general, la presencia de psílidos en los cultivos huésped de CaLsol parece esencial para la aparición de los síntomas (Figuras 2 y 4).

► Nivel de incidencia de la enfermedad

Las primeras visitas en 2017 se realizaron entre el 19 de mayo y el 14 de agosto en las siembras más tardías, y entre el 27 de junio y el 14 de agosto en 2018. Las segundas visitas se realizaron entre los meses de julio y septiembre, y las terceras visitas entre los meses de agosto y noviembre. Durante las visitas fueron aumentando paulatinamente los síntomas tanto en hoja como en raíz. En ambas campañas las parcelas que presentaron un porcentaje de raíces con

síntomas más alto fueron aquellas que se recogieron durante los meses de octubre y noviembre, llegando a valores del 100% en alguna de ellas. También se encontró que las parcelas más alejadas de la zona de producción más tradicional, en municipios donde la superficie de zanahoria es menor, los síntomas fueron menores. En cuanto a la correlación entre los síntomas se observa que están todos relacionados entre sí, siendo imposible separar unos de otros, aunque los síntomas en hojas en las visitas están correlacionados con los síntomas de raíz en cosecha.

Además de CaLsol, los resultados de las muestras sintomáticas analizadas por la Universidad Politécnica de Valencia (Rev. Tierras Agricultura nº 270 año 2018 Pág 16-23) muestran que también se detectan los siguientes virus: CtRLV (*Carrot red leaf virus*), CMoV (*Carrot mottled virus*) y CtrLVaRNA (*Carrot red leaf virus associated RNA*). Las infecciones mixtas entre los agentes analizados son frecuentes en campo, por tanto, se hace muy difícil asociar la sintomatología observada en las muestras con los patógenos presentes en éstas.

► **Resultados de las capturas de individuos de la psila de la zanahoria**

El número de individuos capturados depende mucho de la parcela prospectada y del día de la visita. De forma general, las capturas aumentan según avanza el cultivo en cada una de las parcelas. El promedio de capturas en la primera visita es de 0.64 insectos/manguero, en la segunda visita de 17.01 insectos/manguero, y en la tercera visita de 46.72 insectos/manguero. La campaña de 2017, con temperaturas excepcionalmente altas al principio, fue mucho más favorable a esta plaga que la de 2018. Se produjeron capturas muy importantes en 2017 ya en el mes de julio alcanzando el pico máximo el 18/09/2017 en San Pablo de la Moraleja (71.34 insectos/manguero). En 2018 las capturas fueron bajas en general, excepto en la parcela de Samboal donde se produjo un incremento de capturas muy importante en la tercera visita con 3.216 insectos capturados. Dado que en esta zona hay cultivo de zanahoria en campo

Figura 2. Síntomas en cosecha de cuatro parcelas evaluadas en 2017, lote de semilla positivo o negativo para *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLsol) y patógenos detectados.

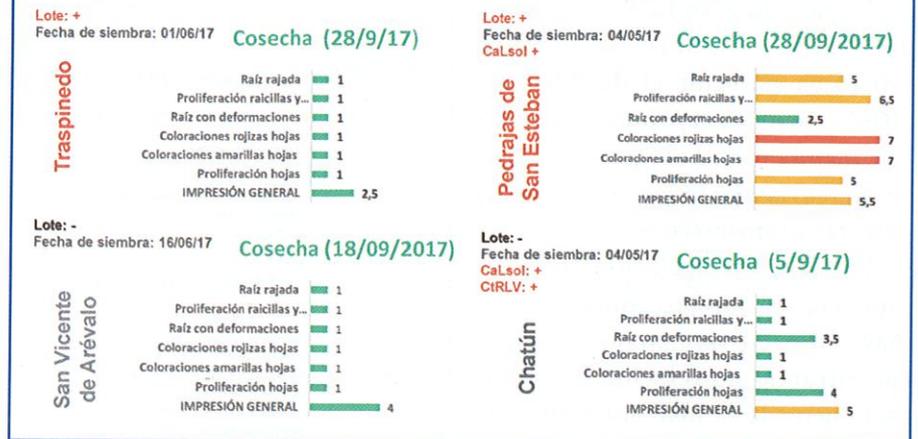
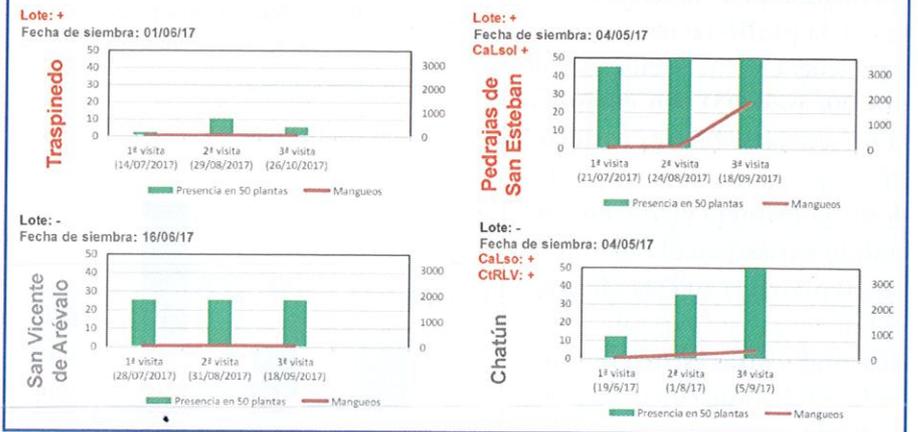


Figura 3. Capturas de psila de la zanahoria (*Bactericera trigonica*) en cuatro parcelas evaluadas en 2017, lote de semilla positivo o negativo para *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLsol) y patógenos detectados (CtRLV: virus de la hoja roja).



durante todo el año, y que esta especie podría aguantar las temperaturas invernales sobre plantas adultas procedentes del verano anterior o en especies arvenses, el control de este insecto una vez establecido en la zona podría resultar difícil.

Los resultados de la identificación de los adultos capturados mediante manga entomológica arrojan un predominio absoluto de *B. trigonica* con un 96% de las capturas realizadas. Las capturas de *B. tremblayi* son muy escasas y debidas a la cercanía de cultivos de puerro, sin embargo, las capturas de *B. nigricornis* sí son apreciables durante toda la campaña, aunque proporcionalmente muy bajas, ya que esta especie es capaz de vivir y reproducirse en cultivos de zanahoria. Aunque los insectos capturados son estables a lo largo de la campaña, la proporción frente a *B. trigonica* va bajando según avanza la campaña: 3% en primera visita, 0.4% en segunda visita y 0.12% en tercera visita. Esto puede ser debido a una mejor adaptación de *B. trigonica* a temperaturas más altas, y por tanto a una ventaja competitiva entre ambas especies sobre ►►►

el mismo huésped en esta zona.

Aunque es variable en función de la parcela estudiada, de forma general, el número de machos (60%) es superior al de hembras (40%) entre las capturas realizadas con manga entomológica, tanto en las parcelas afectadas como en las parcelas asintomáticas.

Existe una correlación entre las capturas del insecto con los síntomas tanto en raíz como en hojas, encontrando correlación entre los mangueos de la primera visita con los amarillos (73.00, $p < 0,01$) y la proliferación de hojas (56.00, $p < 0,05$) de la segunda visita y los mangueos de la tercera visita con la proliferación y protuberancias en raíces en cosecha (58.00, $p < 0,05$). En cuanto a la presencia de huevos y ninfas, fue importante en el año 2017 desde la primera visita, encontrando varias parcelas con más de 30 plantas con estas formas del insecto. Esta variable en las distintas visitas estuvo relacionada con los amarillos (64.00, $p < 0,01$) y rojeces detectados en la cosecha (60.00, $p < 0,05$) (Figura 3).

► **Porcentaje de plantas infectadas e insectos portadores de CaLsol**

En 2018 se analizaron 20 plantas recogidas al azar (síntomáticas y asintomáticas) para detección de CaLsol. Los resultados indican un porcentaje superior de infección en parcelas con síntomas (82% y 80% de plantas portadoras en Pedrajas de San Esteban y en Samboal, respectivamente) que en parcelas sin síntomas (15% y 35% de plantas portadoras en Traspinedo y Navalmanzano, respectivamente), poniendo de manifiesto una relación entre el patógenos y los síntomas observados (Figura 4). Cabe destacar un porcentaje de infección asintomático (plantas sin síntomas, pero positivas a la detección de la bacteria) que podría deberse a una infección temprana, sin que la bacteria haya podido causar síntomas en las plantas.

Se evaluó la presencia de la bacteria en los insectos vectores de las cuatro parcelas seleccionadas. El promedio de los insectos portadores de la bacteria fue

Figura 4. Síntomas en cosecha de cuatro parcelas evaluadas en 2018, lote de semilla positivo o negativo para Candidatus Liberibacter solanacearum (CaLsol) y porcentaje de plantas positivas a CaLsol.

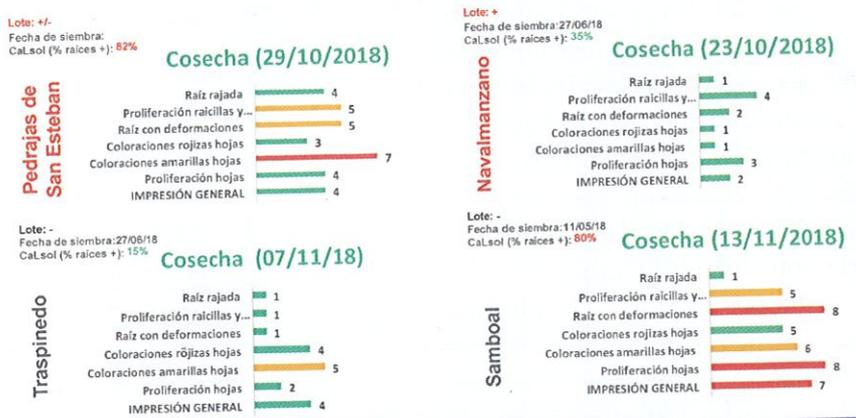
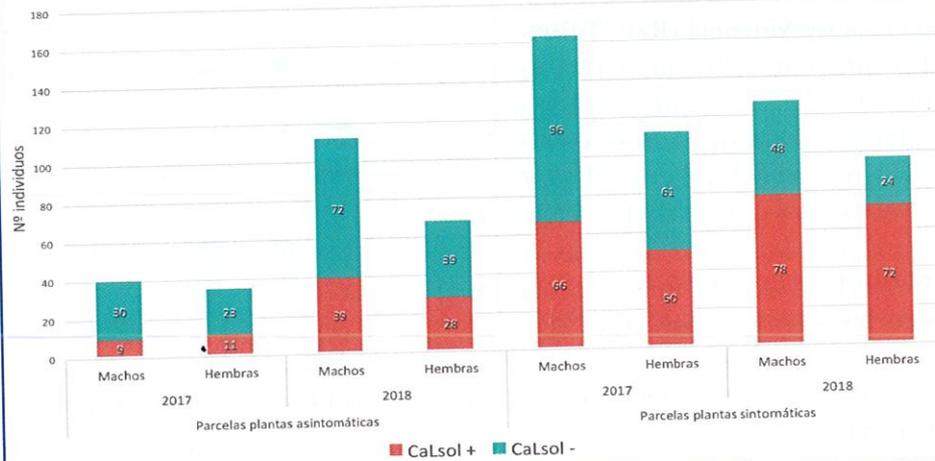


Figura 5. Número de individuos de Bactericera trigonica capturados en parcelas con plantas sintomáticas (Pedrajas de San Esteban y Chatún en 2017, y Pedrajas de San Esteban y Samboal, en 2018) y en parcelas con plantas asintomáticas (Traspinedo y San Vicente de Arévalo en 2017, y Traspinedo y Navalmanzano en 2018), según sexo y si son portadores de la bacteria Candidatus Liberibacter solanacearum (CaLsol).



mayor en las parcelas con plantas sintomáticas con un valor del 57.73 % (Figura 5). En las parcelas donde no se encontraron plantas con síntomas el valor fue del 35.12 %. A medida que avanza la campaña el número de insectos portadores de la bacteria aumenta de forma general, pero esta tendencia no se ve tan clara en todas las parcelas, principalmente en aquellas sin muestras sintomáticas, debido al tamaño de la muestra ya que el número de insectos recogidos en estas parcelas es menor. En 2018 los porcentajes obtenidos de insectos portadores de la bacteria fueron mayores, tanto en parcelas sintomáticas, como en aquellas parcelas sin plantas sintomáticas.

Las hembras presentaron unos porcentajes de infección mayor que los machos, llegando a un 75 % en parcelas con muestras sintomáticas en el año 2018. Esta mayor infección se debe probablemente a una mayor alimentación de la hembra ya que necesita más energía

para realizar las puestas. Estudios realizados hasta el momento en esta especie han probado que la cantidad de bacteria inoculada es mayor en hembras, siendo más eficientes en la inoculación (Antolínez et al, 2016).

CONCLUSIONES

- Las parcelas menos afectadas se localizan en la zona periférica a la zona de producción más tradicional e intensiva.
- Los síntomas y las capturas de psilas aumentan según avanza la campaña siendo muy importantes a partir de octubre-noviembre.
- Existe una relación entre los síntomas y el nivel de las poblaciones de insecto en las parcelas, y la detección de patógenos, especialmente CaLsol.
- Existe una infección por CaLsol remanente en plantas e insectos que no produce síntomas.
- No existe una relación aparente entre parcelas afectadas y lote de semilla utilizado.

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.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfaro-Fernández A., Cebrián M.C, Villaescusa F.J., Hermoso de Mendoza A., Ferrándiz J.C., Sanjuán S., Font M.I. 2012a. First report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in carrot in mainland Spain. Plant Dis. 96:582.
- Alfaro-Fernández A., Siverio F., Cebrián M.C, Villaescusa F.J., Font M.I. 2012b. "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" associated with *Bactericera trigonica*-affected carrots in the Canary Islands. Plant Dis. 96:581.
- Bertolini E., Teresani G.R., Loiseau M, Tanaka F. a O., Barbé S., Martínez C., Gentit P., López M.M., Cambra M. 2015. Transmission of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in carrot seeds. Plant Pathol. 64:276-285.
- 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.
- 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.



LABORATORIO DE ANÁLISIS AGRÍCOLAS, DE AGUAS Y MEDIOAMBIENTAL

REALIZAMOS ANÁLISIS DE;

- ❖ SUELOS AGRÍCOLAS
- ❖ AGUAS: de riego, de procesos y de consumo humano.
- ❖ PLANTAS: foliares y de frutos
- ❖ ABONOS: Estiércoles, purines,...
- ❖ ALIMENTOS: Residuos de plaguicidas
- ❖ VERTIDOS Y AGUAS RESIDUALES
- ❖ ...

WEB: <http://www.prodestursegovia.es/>

ESTAMOS A SU DISPOSICIÓN PARA CUALQUIER CONSULTA EN:
CTRA. RIAZA, 4 – 40003 SEGOVIA - Teléfono: 921 43 06 00
e_mail: aguas@prodestursegovia.es



Diputación
de Segovia