

Investigación sobre enfermedades en hortalizas al aire libre

# ESTUDIOS SOBRE CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM Y SU VECTOR EN EL CULTIVO DE LA ZANAHORIA EN CASTILLA Y LEÓN

Yolanda Santiago Calvo<sup>1</sup>, M. Carmen Asensio Sánchez-Manzanera<sup>1</sup>, Diego Flores Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Cultivos Herbáceos, Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León ASOPROFIT

Se presentan los resultados obtenidos sobre aspectos de la dinámica poblacional del insecto vector *Bactericera trigonica* Hodkinson en el cultivo de la zanahoria, la relación de este insecto y la bacteria con las pérdidas de rendimiento del cultivo, la susceptibilidad de diferentes variedades de zanahoria a la bacteria y su vector, y, por último, de la presencia del parasitismo del vector en campo.

*Bactericera trigonica* Hodkinson forma parte del llamado 'grupo nigricornis', incluido dentro de la familia Triozidae junto con las especies *Bactericera tremblayi* (Wagner, 1961) o psila del puerro y *Bactericera nigricornis* Förster (Hodkinson, 1981).

La psila de la zanahoria (Figura 1) es un insecto chupador que se alimenta del floema de las plantas y que es responsable de la transmisión de *Candidatus liberibacter solanacearum* (Lso) en el cultivo de zanahoria en su zona de distribución, que abarca

todo el Arco Mediterráneo y las Islas Canarias (<https://gd.eppo.int/taxon/BCTCTR/distribution>). *C. Liberibacter solanacearum* es la bacteria responsable de la enfermedad conocida como amarilleamientos y enrojecimientos de la zanahoria y fue identificada en España por primera vez en 2012 en muestras de zanahoria recogidas en Alicante, Valencia y Albacete (Alfaro-Fernández et al., 2012a, b).

Los síntomas asociados con *C. Liberibacter solanacearum* y su vector, *B. trigonica* son retorcimiento, 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, y una reducción del rendimiento por parcela, así como de la calidad del producto (Figura 2).

El proyecto 'Nuevas estrategias para mitigar los daños causados por las enfermedades de especies hortíco-



Figura 1. *Bactericera trigonica*: huevo, ninfa de primeros estadios, ninfa de últimos estadios y adulto (Fuente: ICIA).

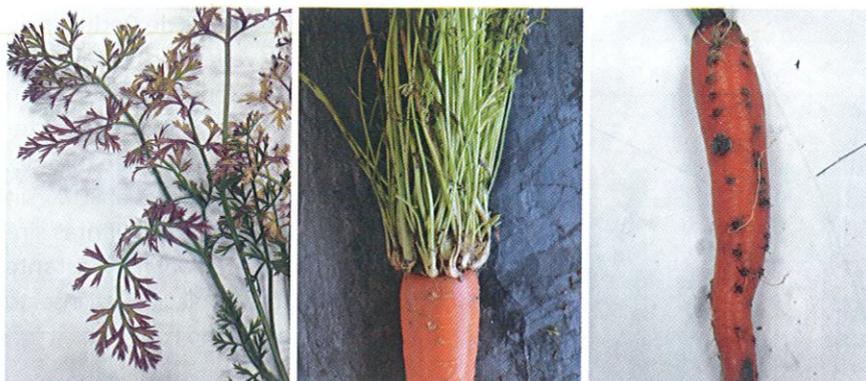


Figura 2. Síntomas de amarilleamientos y enrojecimientos en hoja (izquierda), multibrotaciones en corona (centro) y proliferación de raíces (derecha) en el cultivo de zanahoria asociados a Lso y su vector, *B. trigonica*.

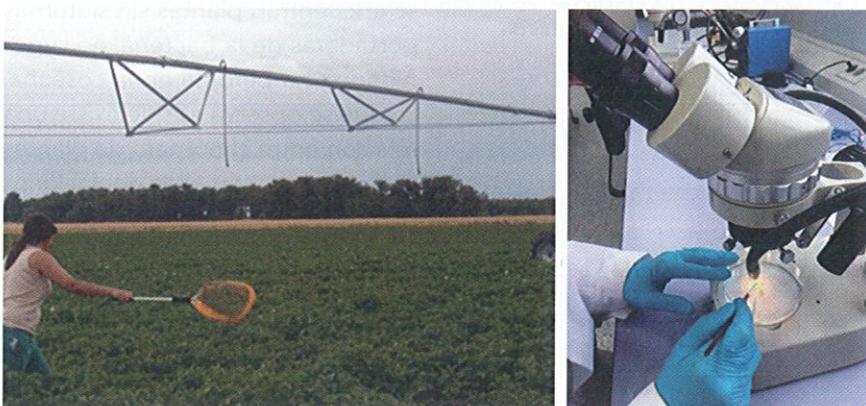


Figura 3. Captura de adultos de *B. trigonica* en campo mediante manga entomológica e identificación de la especie en lupa binocular.

las de reciente aparición' (PDR-CyL 2014-2020), puesto en marcha por el ITACyL, en colaboración con ASOPROFIT (Asociación para la Protección Fitosanitaria del Puerro, la Zanahoria y la Cebolla en Castilla y León) en 2017, ha abordado diversos estudios que han permitido conocer diferentes características del vector y su relación con la bacteria en las zonas de producción de zanahoria de Valladolid y Segovia.

### ESTUDIO DE LA DINÁMICA POBLACIONAL DE *B. TRIGONICA* EN EL CULTIVO DE LA ZANAHORIA DE CASTILLA Y LEÓN

El estudio de la dinámica poblacional de una plaga nos permite conocer la abundancia de la población a lo largo del cultivo, contribuyendo a su manejo y control. Durante los años 2018, 2019

y 2020, se realizó el seguimiento de varias parcelas de zanahoria en la zona de producción hortícola de Castilla y León desde el momento de la siembra hasta la cosecha, con diferentes métodos de monitoreo.

Los muestreos realizados con manga entomológica nos indican las especies que están habitando en el cultivo y alimentándose de él permitiendo conocer la abundancia de la población. Los muestreos se realizaron de forma periódica, cada 10 días, mediante 10 repeticiones de 10 barridos. Los insectos capturados se conservaron en etanol al 70% hasta su conteo e identificación a nivel de especie. Para un mejor conocimiento del estado de la plaga, al mismo tiempo de la realización de los mangueros se contaron el número de huevos, ninfas pequeñas y ninfas grandes del insecto en 20 plantas.

En la figura 4 se muestran los resultados obtenidos en una de las parcelas monitoreadas en Pedrajas de San Esteban (Valladolid) en el año 2019. Los primeros individuos adultos de *B. trigonica* en el cultivo aparecen a partir de los meses de junio y julio. La población de adultos comienza a aumentar a finales del mes de agosto, manteniéndose con valores altos hasta finales de octubre, cuando se produce la cosecha, con un pico máximo a finales de septiembre. El máximo de población de adultos, y los valores de ninfas N1-N2, N3-N5 van aumentando desde finales de agosto.

Este patrón de dinámica de la plaga se observa de forma general en las parcelas estudiadas, donde la población se mantiene con valores altos desde los meses de septiembre a noviembre, con picos máximos variables durante este tiempo, dependiendo de otros factores como el ciclo del cultivo de la parcela, factores ambientales específicos de la temporada y condiciones particulares de las parcelas estudiadas. El estudio de la dinámica poblacional del insecto permitirá a los agricultores y técnicos de la zona determinar los momentos de tratamiento de forma racional y eficaz para el control de la plaga.

### RELACIÓN DE LA POBLACIÓN DE *B. TRIGONICA*, LA PRESENCIA DE *CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM* (LSO) Y LA APARICIÓN DE PLANTAS SINTOMÁTICAS EN LA COSECHA

Se realizaron visitas ocasionales en diferentes parcelas correspondientes a ciclos de cultivo distintos y diferentes variedades a lo largo de diferentes campañas. En cada una de las parcelas, se realizaron entre una y tres visitas en diferentes momentos del cultivo en las cuales se evaluaron visualmente los síntomas en la parte aérea y en la raíz, la presencia de huevos o

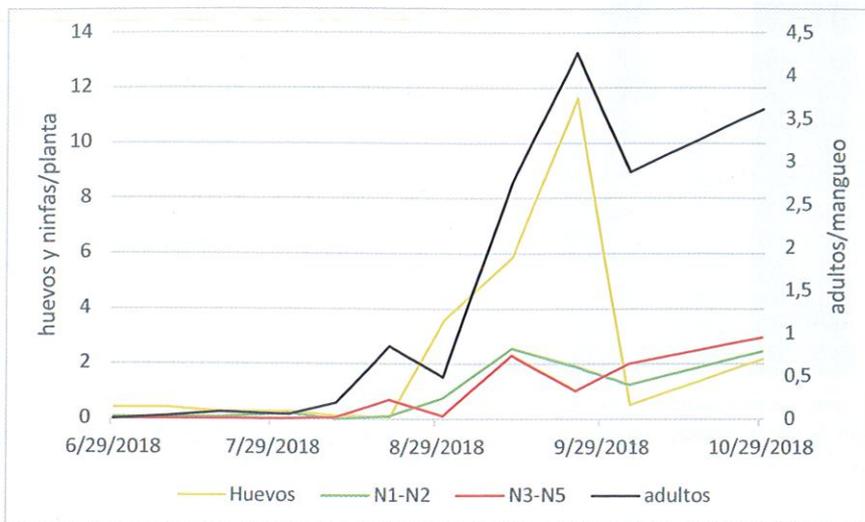


Figura 4. Promedio de huevos, ninfas N1-N2, ninfas N3-N5 observados en las plantas de zanahoria por fecha (eje Y primario). Número de adultos por manguero (eje Y secundario). Pedrajas de San Esteban (Valladolid), 2019.

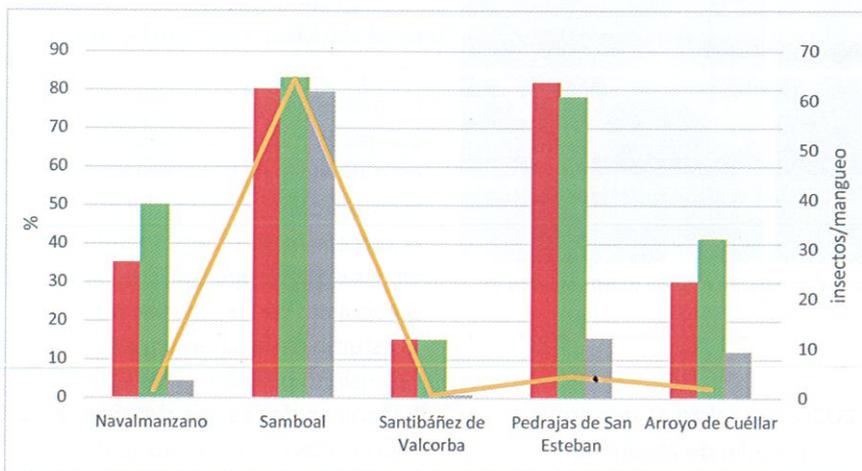


Figura 5. Porcentaje de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso) en planta (rojo) y en insecto (verde), porcentaje de plantas sintomáticas (gris) y número de insectos por manguero (línea amarilla) en el momento de la cosecha en cinco parcelas de zanahoria estudiadas.

ninfas en planta, y se realizaron mangueros para evaluar la presencia de insectos adultos. En el momento de la cosecha, se recogieron muestras en campo para evaluar el porcentaje de plantas sintomáticas. Además, se analizó la bacteria en los individuos adultos capturados mediante manga entomológica de forma individual, así como 20 plantas recogidas al azar. La extracción de ADN en el insecto se realizó mediante el protocolo Chelex de un solo paso de Casquet et al. (2012) y en planta mediante el protocolo descrito en EPPO (2020).

El análisis para la detección de *C. Liberibacter solanacearum* tanto en planta como en insecto se realizó utilizando el PlantPrint Detection Kit por Real Time PCR (Taqman) descrito por Teresani et al. (2014).

En la Figura 5 aparecen los resultados de 5 de estas parcelas monitoreadas durante el momento de la cosecha. La bacteria se detectó en todas las parcelas visitadas, aunque con porcentajes variables. En algunas de estas parcelas, aunque la bacteria estaba presente, apenas hubo plantas sinto-

máticas. Las parcelas de Pedrajas de San Esteban (Valladolid) y Samboal (Segovia) fueron donde se encontraron los porcentajes más altos de la bacteria tanto en planta como en insecto, con porcentajes próximos al 80 %, sin embargo, el número de plantas sintomáticas en Samboal fue bastante mayor, donde la población del insecto también era mucho más alta.

*C. Liberibacter solanacearum* está presente en toda la zona de producción de zanahoria, tanto en planta como en insecto, aunque en muchos casos se encuentran plantas sin síntomas portadoras de la bacteria, no suponiendo una pérdida en la cosecha. Lo que se observa es que existe una relación entre el número de plantas con síntomas con altas poblaciones del insecto. Por tanto, será importante controlar la población existente para evitar altas concentraciones de la bacteria y una mayor pérdida de cosecha por plantas sintomáticas.

### ESTUDIO DE LAS VARIEDADES DE ZANAHORIA

En el año 2020 se realizó un ensayo para ver la susceptibilidad de 16 variedades de zanahoria a la aparición de síntomas provocados por *B. trigonica* y la bacteria *C. Liberibacter solanacearum*. La parcela de zanahoria, ubicada en el municipio de Villaverde de Íscar (Segovia), se sembró el 19 de junio de 2020 en mesas de anchura de 1,10 m con 3 calles por mesa. En el momento de 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. Además, se evaluaron en campo los síntomas visuales de hojas 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 largo 1 m y de anchura dos surcos de la mesa. En el laboratorio se procedió a la valoración de los síntomas en raíces (1, ausencia, 9, muy presente), se contaron y pesa-

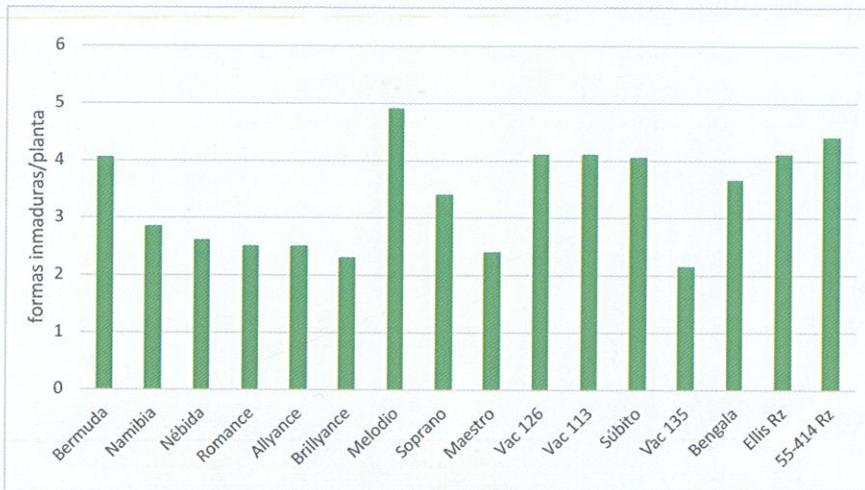


Figura 6. Número de formas inmaduras (huevos y ninfas) por planta en las variedades de zanahoria estudiadas.

ron separando las raíces comerciales y no comerciales, y las sintomáticas de las asintomáticas. Finalmente se procedió a la detección de Lso en 20 plantas por repetición.

La presencia de formas inmaduras del insecto (huevos y ninfas) fue inferior a la registrada en años anteriores en otras parcelas (Figura 6). El número de formas inmaduras por variedad osciló entre 2,3 y 4,4 por planta, no registrando diferencias significativas entre variedades, por lo que no se puede decir que el insecto tenga alguna preferencia por alguna de las variedades estudiadas.

En cuanto a los datos de producción, no se apreciaron diferencias significativas entre las variedades ensayadas. Solo se registraron diferencias debido a unos problemas de encharcamiento en la nascencia, que provocaron una gran variabilidad entre las repeticiones y las parcelas evaluadas. El porcentaje de destrío osciló entre el 0,5-9%, sin encontrar tampoco diferencias significativas entre variedades.

En cuanto a los síntomas en hoja en campo, se encontraron diferencias significativas entre variedades en la proliferación de hojas o de raíces, específicos de la aparición de *C. Liberibacter solanacearum*, sin embargo, ninguna

variedad presentó síntomas muy graves. Si se encontró una relación causal entre la presencia de formas inmaduras de psila en las hojas, los síntomas evaluados relacionados con *C. Liberibacter solanacearum* y los rendimientos, aunque no se puedan atribuir diferencias a la variedad.

Por último, no se ha encontrado relación alguna entre el porcentaje de plantas *C. Liberibacter solanacearum* (Lso +) ni con los síntomas, ni con los datos de producción ni con la presencia de formas inmaduras de psila de la zanahoria en las hojas. Todas las variedades presentaron la bacteria con porcentajes variables entre el 45-70 %. Esto puede deberse a varias razones entre las que destacan el elevado número de plantas Lso+ que no muestran ningún síntoma o la relativamente escasa presencia del vector en la parcela de estudio. Hay que des-

taclar 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.

**EVALUACIÓN DEL PARASITISMO DE B. TRIGONICA EN CAMPO**

Durante las campañas de 2019 y 2020 se realizaron ensayos para estimar el porcentaje de parasitismo en el cultivo de zanahoria en parcelas en ecológico y una de ellas en cultivo convencional. En cada parcela se recogieron 100 hojas de 100 plantas aleatoriamente en el campo desde los meses de septiembre a noviembre, momento en el que se encuentra una mayor abundancia de formas inmaduras de *B. trigonica* en el cultivo de la zanahoria. En el laboratorio se contó el número de huevos y de ninfas por hoja y en el caso de las ninfas N3-N5 se observó si presentaban parasitismo (Figura 7).

El porcentaje de parasitismo en las parcelas de ecológico osciló entre el 2 % y el 39 % en el año 2019 y entre el 21 y el 24 % en 2020. En las parcelas en cultivo convencional los porcentajes fueron mucho menores y oscilaron entre el 0,89 y el 17 %.

Se ha puesto en evidencia la presencia de parasitoides que controlan de forma natural la población de *B. trigonica*, con porcentajes variables en el tiempo, debido principalmente a las condiciones meteorológicas y al manejo de las parcelas. Esta presencia

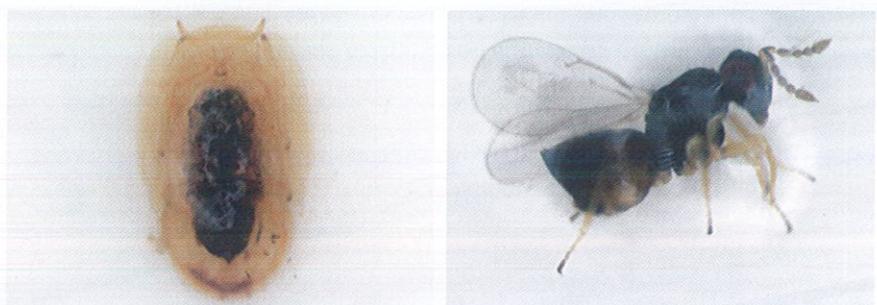


Figura 7. Ninfa de *B. trigonica* parasitada y adulto parasitoide.



### 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.

es más importante en aquellas parcelas con manejo en ecológico, donde existe un menor daño a la fauna auxiliar. Por ello, independientemente del manejo realizado en las parcelas, será importante un uso eficaz y racional de los tratamientos fitosanitarios, evitando

dañar a las poblaciones de parasitoides que están controlando de forma natural la plaga. Es necesario realizar más estudios para saber qué especies están implicadas en este parasitismo y de qué modo se puede utilizar este método de control. ■



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfaro-Fernandez, A., Cebrian, M. C., Villaescusa, F. J., Hermoso de Mendoza, A., Ferrandiz, J. C., Sanjuan, S., & Font, M. I. (2012a). First Report of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in Carrot in Mainland Spain. *Plant Disease*, 96(4), 582-582.
- Alfaro-Fernandez, A., Siverio, F., Cebrian, M. C., Villaescusa, F. J., & Font, M. I. (2012b). 'Candidatus Liberibacter solanacearum' associated with Bactericera trigonica-affected carrots in the Canary Islands. *Plant Disease*, 96(4), 581-582.
- Casquet, J., Thebaud, C., & Gillespie, R. G. (2012). Chelex without boiling, a rapid and easy technique to obtain stable amplifiable DNA from small amounts of ethanol-stored spiders. *Molecular Ecology Resources*, 12(1), 136-141.
- EPPO (2020). PM 7/143 (I) 'Candidatus Liberibacter solanacearum' Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 50, 49-68.
- Teresani, G. R., Bertolini, E., Alfaro-Fernandez, A., Martinez, C., Ossamu Tanaka, F. A., Kitajima, E. W., Rosello, M., Sanjuan, S., Ferrándiz, J.C., López, M.M., Cambra, M. & Font, M.I. (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(8), 804-811.