

[EVITAR EL HUANGLONGBING]

Una buena defensa es el mejor ataque contra la enfermedad

M.C. Vives

M.M. López

L. Navarro

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias

El huanglongbing (HLB) es actualmente la enfermedad más devastadora que afecta a los cítricos. Esta enfermedad causa graves pérdidas económicas en todos los lugares donde está presente ya que es muy destructiva y difícil de controlar. Está causada por una bacteria que se localiza en el floema de las plantas y que provoca inicialmente el amarilleo de brotes, afecta a la calidad de la fruta y acaba con la muerte del árbol.

Los países citrícolas de la Unión Europea están en alerta ante la llegada del HLB. No existe ninguna variedad comercial de cítricos ni ningún patrón que sea resistente a esta enfermedad, por lo que es imprescindible evitar que el HLB llegue a las regiones citrícolas de España, ya que causaría daños catastróficos.

Se estima que el HLB, cuyo nombre en chino significa enfermedad del brote amarillo, afecta actualmente a más de 100 millones de árboles en todo el mundo y supone una seria amenaza para las regiones libres de la enfermedad, como son los países de la cuenca mediterránea, California, Argentina, Uruguay, Chile, Australia y Nueva Zelanda. Esta enfermedad se describió por primera vez en el sur de China en 1919. Posteriormente se describió en Filipinas en 1921, donde recibió el nombre de “mottle leaf” por el característico moteado de las hojas, en 1928 se describió en Sudáfrica donde se denominó “greening” por el color verdoso que presentan los fru-

tos de árboles afectados y en 1928 se describió en India donde recibió el nombre de “dieback” por otro de los síntomas característicos de la enfermedad que consiste en la seca y muerte de ramillas. Actualmente está presente en más de 50 países productores de cítricos y las alarmas han saltado debido a su reciente emergencia en el continente americano, donde está devastando la citricultura de dos grandes potencias como son Brasil y Florida (Estados Unidos) (Bové, 2009).

Huéspedes y síntomas

Todas las variedades comerciales de cítricos son sensibles a HLB independientemente del patrón usado. Los síntomas más severos se han encontrado en naranjo dulce, mandarino, tangelo y pomelo. En los limones y naranjo amargo los síntomas son menos graves y las limas apenas resultan afectadas.

En los primeros estadios de la infección los árboles afectados presentan uno o varios brotes amarillentos



Foto 1. Aspecto general de árboles de naranjo dulce afectados por HLB. A) Brote amarillo en una rama. B) Presencia de ramas amarillentas en toda la copa del árbol.



Foto 2. Síntomas de HLB en hojas de naranjo dulce donde se observa el característico moteado clorótico difuso y asimétrico.

(Foto 1A) que con el tiempo se convierten en ramas amarillentas y que al final se extienden por toda la copa del árbol (Foto 1B). Las ramas afectadas pueden presentar defoliación, seca de ramillas y caída de frutos. El síntoma más característico de la enfermedad es la presencia de hojas con moteado clorótico difuso y asimétrico (Foto 2). Los frutos son pequeños (Foto 3A), asimétricos (Foto 3B), contienen semillas abortadas, presentan inversión de color (la coloración comienza en el extremo del pedúnculo mientras que el extremo del estilo permanece verde) (Foto 3C) y cuando se presionan con el dedo se forma una huella plateada en la superficie (Foto 3D). Además, el albedo de la zona peduncular es de color naranja mientras que en los frutos sanos es de color verdoso. La floración ocurre a menudo fuera de estación y las flores son pequeñas y normalmente estériles, por lo que suelen caer. Todos estos síntomas llevan en poco tiempo a la muerte económica del árbol y su muerte real suele tener lugar entre 8 y 10 años después de la aparición de los primeros síntomas.

[Agente causal

El agente causal del HLB es una bacteria Gram negativa que se localiza exclusivamente en los tubos cribosos del floema de las plantas (Foto 4). La bacteria se descubrió en 1970 mediante microscopía electrónica pero no se ha-

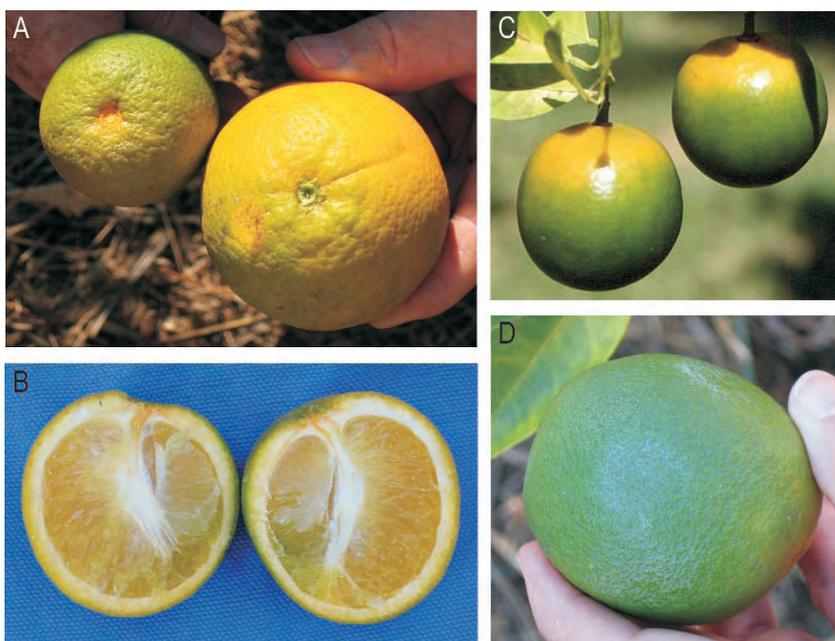


Foto 3. Síntomas de HLB en frutos de naranjo dulce. A) Disminución del tamaño respecto a un fruto sano. B) Asimetría en un fruto afectado. C) Inversión del color durante la maduración. D) Huella plateada formada al presionar la corteza con el dedo.

El síntoma más característico de la enfermedad es la presencia de hojas con moteado clorótico difuso y asimétrico

bía podido cultivar *in vitro*, aunque recientemente se ha publicado la obtención de un medio de cultivo adecuado para su crecimiento (Sechler *et al.*, 2009). Por lo tanto, su caracterización se ha realizado mediante métodos moleculares. Estos métodos han permitido la identificación de tres especies candidatas del género



Foto 4. Células de la bacteria *Candidatus Liberibacter* en el floema de una planta afectada por HLB (Foto: B. Gelie y J.M. Bové).

Liberibacter y un fitoplasma asociados con la enfermedad. *Candidatus Liberibacter africanus* está presente en el sur, este y oeste de África y es sensible al calor, desarrollándose a temperaturas relativamente suaves, entre 22 y 27°C. *Ca. L. asiaticus* se ha localizado en Asia, América y Oceanía y es más tolerante al calor, soportando temperaturas superiores a los 30°C. Por último, *Ca. L. americanus* también es sensible al calor y sólo se ha detectado en Brasil y en una provincia de China. Los síntomas que inducen las tres especies de bacterias son idénticos y sus efectos devastadores son muy similares. Recientemente, la aplicación de nuevas tecnologías como la metagenómica, ha permitido la obtención de la secuencia del genoma completo de *Ca. L. asiaticus* (Duan *et al.*, 2009), con lo que se abre un nuevo campo de investigación que permitirá realizar estudios encaminados al desarrollo de nuevos métodos de control de la enfermedad.

[Transmisión. Insectos vectores

La enfermedad se transmite mediante prácticas culturales como el injerto y el estaquillado (frecuente en el sudeste

asiático) pero la principal forma de transmisión es mediante insectos vectores, en concreto por las psilas *Trioza erytreae*, que transmite el HLB africano (**Foto 5A**) y *Diaphorina citri*, que transmite el HLB asiático y el americano (**Foto 5C**). En las zonas donde están presentes las dos especies de psilas, como en la península arábiga y en las islas Mauricio y Reunión, éstas se distribuyen de acuerdo con la temperatura y la altitud de cada zona. Por tanto, las bacterias que transmiten cada una se distribuyen de forma similar a sus vectores y en las zonas limítrofes entre ambas se pueden identificar tanto los dos vectores como árboles infectados con los dos tipos de bacterias (asiática y africana). Las psilas se desarrollan en material vegetal en crecimiento, en concreto las ninfas de *T. erytreae* se desarrollan en el envés de las hojas provocando deformaciones en forma de pequeñas bambollas visibles en el haz (**Foto 5B**), mientras que las ninfas de *D. citri* se desarrollan en el tallo de brotes jóvenes y en peciolos de hojas provocando la curvatura de las mismas (**Foto 5D**). Las psilas adquieren la bacteria cuando se alimentan de una planta enferma y el patógeno pasa al sistema circulatorio de las psilas, donde permanece infectivo durante toda la vida del insecto. Las psilas infectivas pueden transmitir la enfermedad a plantas sanas al alimentarse de ellas.

[Control en áreas afectadas

No existen métodos curativos para controlar el HLB, por lo que cuando ya se ha establecido la enfermedad en una región sólo se pueden aplicar medidas preventivas para evitar su difusión. Estas medidas consisten principalmente en: 1) eliminación de los árboles sintomáticos para reducir el inóculo de bacterias, 2) aplicación de tratamientos insecticidas para mantener las poblaciones de insectos vectores lo más bajas posible, 3) producción de cítricos sanos en invernaderos cerrados para reemplazar los árboles afectados y para las nuevas plantaciones.

Para establecer estas medidas debe existir una coordinación entre las administraciones públicas de cada

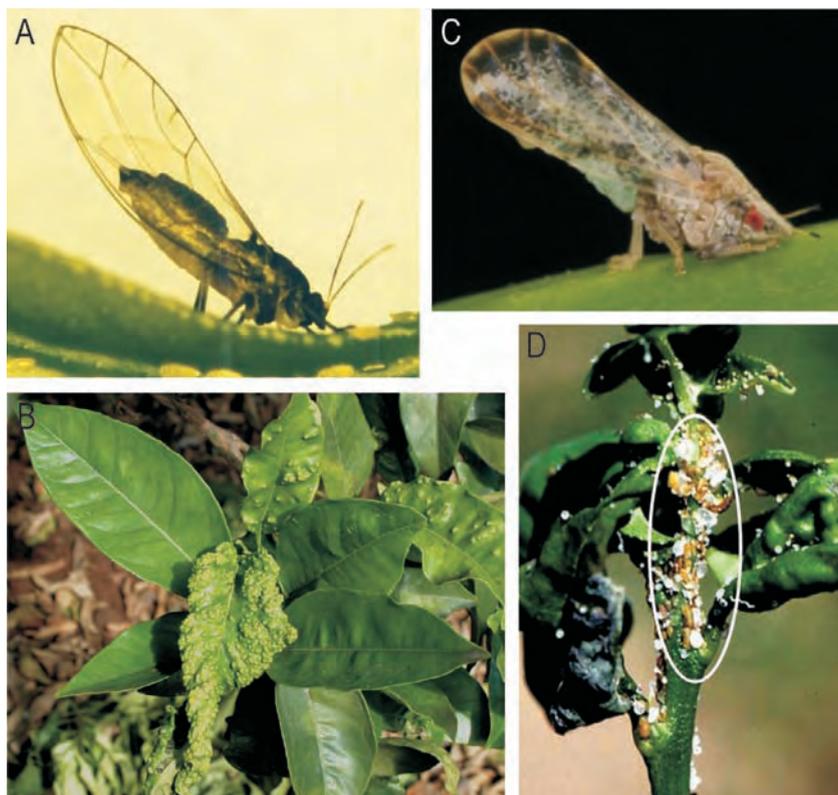


Foto 5. Insectos vectores del HLB y daños causados en plantas infestadas por la plaga. A) Adulto de la psila *Trioza erytreae*. B) Protuberancias en el haz de las hojas causadas por las ninfas de *T. erytreae*. C) Adulto de la psila *Diaphorina citri*. D) Brote deformado infestado por ninfas de *D. citri*.

La enfermedad se transmite mediante prácticas culturales como el injerto y el estaquillado, pero la principal forma de transmisión es mediante insectos vectores

región, los centros de investigación y los productores locales, y además se tienen que aplicar rigurosamente, ya que un retraso o paro en la realización de las mismas conlleva la aparición de nuevos árboles afectados y eventualmente al fracaso del control de HLB.

El progreso de la enfermedad en una región afectada depende de numerosos factores entre los que destacan el número de focos de la bacteria, las poblaciones de psilas presentes en el área y la edad de los árboles en el momento de la infección. Todos estos factores hay que tenerlos en cuenta para determinar qué medidas de control se pueden aplicar en cada caso. Por ejemplo, en Sudáfrica se han podido establecer medidas que comenzaron a aplicar-

se en la década de los 80 y actualmente se ha podido detener el avance de la enfermedad garantizando la continuidad de la producción cítrica en áreas amenazadas por HLB. Además, incluso se han reintroducido cítricos en áreas que se habían abandonado previamente, debido a que el HLB las había arrasado.

La experiencia de Brasil

Actualmente, el país que está invirtiendo más esfuerzos en la lucha contra el HLB es Brasil. Este país es el líder mundial en la producción de cítricos y en la industria de zumos, por lo que para mantener la competitividad se ha puesto en marcha un plan de erradicación de plantas sintomáticas y control de psilas financiado por el Ministerio de Agricultura y por los grandes productores. Además, los organismos de investigación también están invirtiendo mucho esfuerzo buscando alternativas para el control de la enfermedad y desarrollando métodos de diagnóstico específicos, sensibles y rápidos de la misma. El primer foco de infección en Brasil se detectó en 2004 en un área relativa-

mente restringida de los estados de São Paulo y Minas Gerais y rápidamente comenzaron a aplicarse drásticas medidas de erradicación. Desde entonces, más de 800 inspectores supervisan árbol por árbol la presencia de los síntomas característicos y se han arrancado más de 3 millones de árboles afectados. Dependiendo de la incidencia de la enfermedad se realizan entre 4 y 12 inspecciones anuales. Las inspecciones se realizan a pie para observar la parte lateral de los árboles (**Foto 6A**) y en plataformas móviles para evaluar la parte superior de árboles grandes (**Foto 6B**). Los árboles con síntomas se analizan mediante técnicas de laboratorio y los productores están obligados a eliminar todas las plantas en las que se confirma la presencia de la bacteria (**Foto 6C**). Por otro lado, también se efectúa un control intensivo de la población de psilas mediante la aplica-

ción de insecticidas tanto sistémicos como de contacto (**Foto 6D**). Dependiendo de la severidad de la infección y de la edad de los árboles, se efectúan entre 6 y 24 aplicaciones anuales de insecticidas mediante pulverización en suelo y entre 4 y 8 aplicaciones mediante avionetas. Por último, los nuevos plantones que se utilizan para reemplazar los árboles erradicados se están produciendo a partir de material sano en invernaderos cubiertos protegidos contra insectos (**Foto 6E**), lo que garantiza que están libres de HLB y de otras enfermedades transmisibles por injerto. Todas estas medidas están encaminadas a mantener el porcentaje de árboles sintomáticos por debajo del 1% en cada inspección. El mayor problema con el que se están encontrando es que no todos los propietarios de plantaciones están eliminando las plantas sintomáticas detectadas, con lo cual

ponen en peligro las plantaciones de los propietarios que sí cumplen las medidas de control. Convencer a los productores de que eliminen regularmente las plantas sintomáticas es actualmente el mayor desafío para el control efectivo del HLB en el estado de São Paulo (Belasque et al., 2009). El éxito alcanzado hasta el momento ha supuesto un gran esfuerzo tanto económico como de formación de personal cualificado para diagnosticar la enfermedad.

El caso de Florida

En este estado norteamericano, el gran número de focos de la enfermedad y la imposibilidad de imponer un programa de erradicación obligatorio, ha conducido a que las autoridades consideren el control tradicional de HLB inviable con los conocimientos actuales, por lo que se ha decidido invertir en investigación para desarrollar medidas más eficientes del control de la enfermedad. En este sentido, el FCPRAC (Florida Citrus Production Research Advisory Council) ha aprobado una inversión en 2009 de 7.2 millones de dólares para financiar aproximadamente unos 100 proyectos de investigación en HLB y cancrisis, en diferentes áreas como entomología, genética, patología y diagnóstico (<http://www.fcprac.com/>). Se espera que con los resultados que se obtengan en estos proyectos, se puedan desarrollar nuevas estrategias de control para contener la enfermedad y poder continuar con la industria cítrica en este estado.

Control en áreas libres de HLB

La bacteria causante del HLB es un organismo de cuarentena en las regiones libres de la enfermedad, lo que obliga a notificar su detección y proceder a su erradicación en caso de que se confirme su presencia. Hoy en día sólo dos grandes zonas productoras de cítricos están libres tanto de la enfermedad como de sus vectores: la cuenca mediterránea y Australia, aunque ambas se encuentran actualmente en peligro debido a la proximidad en la que se han localizado los vectores que la transmiten. La experiencia de otros países como Estados



Foto 6. Medidas de control de HLB aplicadas en el estado de São Paulo (Brasil). A) Supervisión de los árboles a pie para buscar síntomas característicos de la enfermedad. B) Inspección de la parte superior de los árboles utilizando plataformas móviles. C) Erradicación de árboles afectados por HLB. D) Aplicación de insecticidas para controlar las poblaciones de *D. citri*. E) Plantones certificados producidos en invernaderos cubiertos protegidos contra insectos.

Unidos (Florida), Cuba, República Dominicana e Irán ha demostrado que cuando el vector está presente en una región productora, la enfermedad tarde o temprano acaba apareciendo, por lo que es imprescindible evitar que lleguen las psilas que transmiten el HLB a las zonas libres de la enfermedad.

La mejor forma de luchar contra el HLB y la más barata es evitar la introducción en los países libres de la enfermedad, tanto de la bacteria como de sus vectores, mediante medidas de cuarentena adecuadas. Sobre todo debe evitarse la introducción de material vegetal ilegal de propagación (yemas o varetas) procedente de países en los que radica la enfermedad ya que puede estar infectado con la bacteria y contener huevos o ninfas de psilas. La introducción de material vegetal ilegal por parte de algunos agricultores o viveristas es desgraciadamente una práctica relativamente frecuente en todo el mundo y constituye la principal vía de movimiento de patógenos de unos países a otros.

Amenaza en el área mediterránea. El caso de España

La citricultura mediterránea está amenazada simultáneamente por dos frentes: al este por la presencia de la psila asiática *D. citri* en el sudeste de Irán desde 1997 y al oeste por la presencia de la psila africana *T. erytreae* en Madeira (Portugal) desde 1994 y en las islas Canarias (Tenerife, La Gomera, La Palma y El Hierro) desde 2002 (González Hernández, 2003), lo que supone un riesgo muy alto de introducción de la plaga en la Península Ibérica. El gobierno canario rápidamente informó a la Subdirección General de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de la presencia de esta plaga de cuarentena, presentándose un plan de erradicación y control de la misma. Se delimitaron los focos afectados por la plaga y después de 7 años de control no se ha erradicado completamente, pero se ha conseguido que la plaga no avance a nuevas regiones y no ha alcanzado Gran Canaria, que es la principal productora de cítricos en las islas. Tampoco se han encontrado plantas con síntomas de HLB y el

Sólo dos grandes zonas productoras de cítricos están libres de la enfermedad y de sus vectores: la cuenca mediterránea y Australia

análisis de la presencia de la bacteria siempre ha sido negativo (F. Siverio. Laboratorio de Sanidad Vegetal de Tenerife, comunicación personal).

En nuestro país existe una Estación Nacional de Cuarentena de cítricos situada en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), dependiente de la Dirección General de Recursos Agrícolas y Ganaderos, Subdirección General de Acuerdos Sanitarios y Control de Fronteras del Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino, que permite la introducción de material vegetal de cualquier parte del mundo con las suficientes garantías sanitarias (Navarro *et al.*, 1984), ya que todo el material que llega se sana mediante la técnica de microinjerto de ápices caulinares *in vitro* (Navarro y Juárez, 2005). Esta técnica permite eliminar la práctica totalidad de patógenos que afectan a los cítricos, obteniéndose plantas sanas que luego son analizadas para confirmar la ausencia de cada uno de los patógenos, incluyendo HLB (Navarro *et al.*, 2005; Vives *et al.*, 2006). La utilización de material vegetal certificado es una garantía de la sanidad de los cultivos.

Por otro lado, los servicios de Sanidad Vegetal de las principales regiones citricolas españolas (Comunidad Valenciana, Murcia, Cataluña, Andalucía y Baleares) están alertados y realizan prospecciones periódicas en campo encaminadas a la detección de la psila africana *T. erytreae* confirmando que, de momento sólo está presente en Canarias. Además, en caso de que el HLB llegue a España, el Laboratorio de Referencia de Bacteriología, situado también en el IVIA, dispone de los métodos necesarios para diagnosticar rápida y específicamente la enfermedad, tanto en material vegetal como en insectos vectores, con lo cual se podría actuar con rapidez para eliminar los primeros focos y evitar su extensión, evitando a su vez los incalculables daños que podría causar el HLB en la citricultura española.

Perspectivas de futuro

Como hemos comentado anteriormente, el HLB es una enfermedad altamente destructiva que afecta a todas las variedades y patrones de cítricos y para la que no existen métodos curativos. Su reciente aparición en Brasil y Florida constituye una seria amenaza para la industria citrícola mundial tanto de productos frescos como procesados, por lo que esta enfermedad se ha convertido en el foco de atención de la comunidad científica y de las asociaciones de productores de cítricos. Este hecho se ha visto reflejado en la gran participación que han tenido los numerosos congresos internacionales sobre HLB que se han celebrado en los últimos años. La principal conclusión a la que se ha llegado en ellos es que las actuales medidas de control en las áreas infectadas son muy caras e ineficaces si no se aplican rigurosamente, por lo que los centros de investigación están invirtiendo una gran cantidad de recursos tanto económicos como humanos para desarrollar medidas de control más eficaces.

En países donde todavía no está presente el HLB, como es el caso de España, la mejor forma de actuar contra la enfermedad es evitar su entrada. Para ello es imprescindible aplicar las medidas de prevención utilizando material vegetal certificado y disponiendo de información actualizada del movimiento de las psilas hacia el Mediterráneo. También es necesario realizar campañas de información a técnicos y agricultores orientadas a concienciarles sobre la aplicación de las medidas preventivas, a enseñarles a reconocer los síntomas de la enfermedad y a identificar a los insectos vectores para que puedan informar a los Servicios de Sanidad Vegetal en caso de aparición del vector y de HLB y para que se pueda poner en marcha rápidamente un plan de actuación contra la enfermedad.

Bibliografía

Queda a disposición del lector en los correos electrónicos de redacción @editorialagricola.com y en vives_mac@gva.es •