



Darrers resultats en la prevenció i lluita contra l'HLB i els seus vectors

L'Huanglongbing (HLB) és una malaltia dels cítrics que provoca danys d'enorme magnitud a les zones productores on és present. S'associa a alguns bacteris del gènere *Candidatus Liberibacter* que es transmeten principalment per dos insectes vectors: els psíl·lids *Trioza erytrae* i *Diaphorina citri*. El primer ja ha sigut detectat a la nostra península, i el segon, encara més preocupant, a Israel. La malaltia encara no ha arribat a Europa; però, si ho fera i afectara els nostres cítrics, les conseqüències per a aquest sector serien catastròfiques.

L'Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA) porta anys treballant en programes de prevenció enfront d'aquesta greu malaltia, amb

resultats tan importants com el desenvolupament d'un kit de detecció ràpida del bacteri i la realització d'un estudi epidemiològic de la malaltia per a assistir en els programes de contenció. A més, després de la detecció de *T. erytrae* a la península ibèrica, es va posar en marxa un programa de control biològic clàssic amb la introducció i alliberament d'un parasitoide que ha resultat ser extraordinàriament eficaç en el control d'aquest insecte vector. Tots aquests treballs s'han intensificat els darrers anys amb el finançament per part de la Conselleria d'un ambiciós projecte d'investigació que se centra en la cerca de material vegetal tolerant a la malaltia i l'ús d'inductors de defensa de les plantes.

LA SITUACIÓ ACTUAL

A hores d'ara, la citricultura mediterrània espanyola està lliure tant dels vectors citats com de l'HLB (**Figura 1**). No obstant això, el panorama que s'albira no és gens encoratjador. L'insecte vector *T. erytrae* es va detectar en 2014 a Galícia, des d'on s'ha anat propagant per la cornisa cantàbrica i la costa atlàntica portuguesa. Actualment es localitza ja a l'Algarve portuguès, a penes a 120 quilòmetres de la zona citrícola

espanyola de Huelva. D'altra banda, *D. citri* es va detectar per primera vegada a la conca mediterrània en juliol de 2021, a la regió d'Emek Hefer, a Israel, on són abundants les plantacions de cítrics. En no aconseguir-se erradicar aquest focus inicial, la plaga s'ha propagat a altres zones citrícoles del país, com la vall del Jordà. Aquest cas és molt preocupant, atès que el potencial biòtic de *D. citri*, així com la seua ràpida

Figura 1. Aspecte de cítrics afectats per HLB.

capacitat de multiplicació sobre les principals varietats i espècies de cítrics cultivades al Mediterrani, és molt major que el de *T. erythrae*. Ara com ara, la nostra citricultura està lliure d'HLB; no obstant això, els principals insectes vectors de la malaltia estan cada vegada més a prop. Per això, s'ha de romandre alerta i estar preparats per a donar una resposta ràpida i coordinada en cas de detecció d'aquesta amenaça.

Arran d'aquesta preocupant situació, l'IVIA ha potenciat recentment les seues línies d'investigació dirigides al control dels vectors i la malaltia de l'HLB, i són diversos els projectes competius, tant nacionals com europeus, en els quals participa. A més, els treballs s'han intensificat notablement amb el finançament per part de la Conselleria d'un ambiciós projecte d'investigació —acaba de finalitzar el segon any— que s'orienta a la cerca de material vegetal tolerant a l'HLB i en l'ús d'inductors de defenses. Com vorem a continuació, aquestes investigacions han generat ja alguns resultats de gran interès.

La nostra citricultura està lliure d'HLB, però els principals insectes vectors de la malaltia estan cada vegada més a prop. Convé estar alerta i preparats per a donar una resposta ràpida i coordinada en cas de detecció d'aquesta amenaça.

ESTRATÈGIA DE DETECCIÓ

La detecció és fonamental per a la gestió de l'HLB. I també ho és disposar d'eines adequades per a determinar la presència de les espècies bacterianes de *Candidatus Liberibacter* associades a la malaltia. L'equip de Bacteriologia de l'IVIA ha dissenyat i desenvolupat un prototip de kit de detecció per a ser utilitzat en camp com a primer mètode de garbellat (**Figura 2**).

Els principals avantatges d'aquest kit són la senzillesa d'equipament i maneig i la rapidesa de resposta —al voltant de 30 minuts—, característiques que, lluny de comprometre la seua sensibilitat i especificitat, equiparen aquest mètode als PCR actuals. Seguint les directrius marcades per l'Organització Europea de Protecció de les Plantes (EPPO), i en col·laboració amb grups d'in-

vestigació del Brasil, Costa Rica, Cuba i els Estats Units, es van analitzar mostres infectades per HLB. El kit va permetre discriminar clara i perfectament entre mostres negatives i positives, detectant diferents aïllats bacterians independentment de la mena de mostra a analitzar —planta o insecte— i del seu origen geogràfic. Es van avaluar també la repetibilitat i la reproducibilitat de la tècnica, aconseguint-se nivells del cent per cent en ambdós paràmetres. Finalment, el kit es va assajar en condicions de camp a dos països on l'HLB és present, el Brasil i Costa Rica, realitzant prospeccions aleatòries de mostres simptomàtiques i asimptomàtiques i comparant-ho amb un protocol de PCR en temps real ja validat. La concordança entre una tècnica i l'altra va ser quasi perfecta.

En conclusió, podem dir que el kit desenvolupat a l'IVIA és un instrument de detecció altament sensible, específic i ràpid, que podrà ser utilitzat en el diagnòstic *in situ* de l'HLB i integrat-se com una eina més en els programes de gestió d'aquesta malaltia..

L'equip de Bacteriologia de l'IVIA ha dissenyat i desenvolupat un prototip de kit de detecció del bacteri causant de l'HLB de senzill maneig en camp i de resposta ràpida i fiable

Figura 2. Exemple d'ús en camp del prototip de kit de detecció dels bacteris associats a l'HLB.



PREVENCIÓ I GESTIÓ DE L'HLB AMB L'ÚS DE PATRONS DE CÍTRICS

La utilització de patrons de cítrics és una de les principals eines per a l'adaptació del cultiu a diferents condicions i malalties, així com per a millorar la rendibilitat de les plantacions. A les zones cítriques on la malaltia és present s'ha anat observant que alguns patrons de cítrics són més tolerants a l'HLB que uns altres. Aquesta resposta diferencial dels patrons de cítrics desenvolupats abans de la crisi de l'HLB demostra que existeix en ells una variació genètica a la malaltia. Aquesta variació està sent utilitzada en el nostre programa de millora genètica. A l'IVIA hi ha un programa d'obtenció de patrons de cítrics dins del qual s'ha obtingut i avaluat una gran quantitat de nous híbrids. Al darrer any, s'han avaluat més de 400 híbrids del banc de patrons de l'IVIA, quantificant-se en el seu floema la presència de pèptids antimicrobians que puguen tindre acció sobre l'HLB. A més, s'ha iniciat un cribratge de la susceptibilitat de diversos patrons IVIA enfront dels dos vectors de l'HLB, *T. erytrae* i *D. citri*. Els resultats obtinguts fins ara apunten al bon comportament enfront dels vectors d'alguns dels patrons IVIA, com és el cas del Forner Alcaide 5

Figura 3. Difusor polimèric carregat amb (Z)-3-HP penjat en un plantó de cítric.

INDUCCIÓ DE DEFENSES EN LA GESTIÓ DE L'HLB I ELS SEUS VECTORS

Les plantes han desenvolupat complexos mecanismes de defensa per a respondre als atacs de plagues i malalties, els quals es coneixen com a defenses induïdes. La capacitat de modular aquestes respostes defensives és clau en el mal que causa la malaltia de l'HLB i els seus vectors. A l'IVIA s'han descobert diversos agents inductors de defensa que activen aquests mecanismes en cítrics. Un dels mètodes més prometedors és l'activació de defenses mitjançant l'exposició a volàtils emesos per les pròpies plantes (Figura 3). En particular, l'exposició al volàtil (Z)-3-hexenil propanoat ha demostrat ser efectiva en l'activació de defenses en cítrics, la qual cosa posa en marxa mecanismes de defensa en la planta, com ara la producció de proteïnes defensives com a inhibidors de proteases, catalases o quitinases, les quals redueixen la supervivència dels vectors en plantes induïdes. A més, les plantes activades defensivament en exposar-se a aquest volàtil resulten repel·lents per als dos vectors

(*D. citri* i *T. erytrae*) i atrauen els seus parasitoides específics (*Tamarixia radiata* i *T. dryi*), la qual cosa contribueix a una major protecció front aquests insectes. A més, estudis recents han posat de manifest la importància del paper dels antioxidants en el desenvolupament de la malaltia de l'HLB. En aquest sentit, s'està avaluant la possibilitat d'augmentar el contingut d'antioxidants en cítrics mitjançant l'activació de defenses o amb tractaments amb hormones vegetals.

Les plantes desenvolupen complexos mecanismes de defensa per a respondre als atacs de plagues i malalties, els quals es coneixen com a defenses induïdes. L'IVIA ha descobert diversos agents inductors de defensa que activen aquests mecanismes en cítrics.



CONTROL BIOLÒGIC DE *TRIOZA ERYTREA*: DISPERSIÓ I EFICÀCIA DEL PARASITOIDE *TAMARIXIA DRYI*

L'insecte vector *T. erytreae* es va detectar a la península ibèrica per primera vegada en 2014. Amb la finalitat de reduir la densitat poblacional del psíl·lid i impedir que arribara a les zones cítriques espanyoles, l'IVIA va implementar un programa de control biològic clàssic per a reduir la densitat de població. Així, es va estudiar i avaluar l'eficàcia dels parasitoides a l'Àfrica subsahariana, la zona d'origen de *T. erytreae*. Els resultats de camp van mostrar que el parasitoide *Tamarixia dryi* era l'agent de control

biològic més eficaç, abundant i àmpliament distribuït, per la qual cosa se'n va sol·licitar la introducció i alliberament al Ministeri d'Agricultura. Després d'establir una cria del parasitoide i confirmar-ne l'especificitat en col·laboració amb l'Institut Canari d'Investigacions Agràries, es van obtenir els permisos per al seu alliberament en camp. *T. dryi* es va alliberar a Canàries i Galícia i, posteriorment, a la resta de la cornisa cantàbrica amb la col·laboració dels respectius Serveis de Sanitat Vegetal de les comunitats autònomes.

Els resultats dels primers anys mostren que el parasitoide s'ha establert reeixidament, s'ha dispersat fins a cent quilòmetres per any i ha reduït significativament el nombre de parcel·les infestades per *T. erytreae* tant a Canàries com a Galícia i la resta de la cornisa cantàbrica. En els anys vinents haurà de confirmar-se que aquesta alta eficàcia es manté en el temps i, si *T. erytreae* arriba a les zones cítriques, avaluar l'eficàcia del parasitoide en parcel·les comercials.

BASES EPIDEMIOLÒGIQUES DELS PROGRAMES DE CONTROL DE L'HLB

La legislació europea considera actualment l'agent causal de l'HLB com a organisme patògen prioritari i estableix mesures especials, com la vigilància epidemiològica anual del territori, plans de contingència i acció, exercicis de simulació i informació pública. A l'IVIA s'han desenvolupat models epidemiològics per a optimitzar els programes de vigilància i la demarcació de les àrees on cal aplicar les mesures establides en els plans de contingència, com ara la zona tampó al voltant de l'àrea afectada i les barreres de contenció per a frenar la dispersió de la malaltia.

Els programes de control de l'HLB es basen en la reducció d'inòcul mitjançant l'eliminació de les plantes infectades i el control de les poblacions dels insectes vectors.

Aquest tipus de models permet, a més, comparar possibles escenaris de dispersió de la malaltia i avaluar diferents plans d'actuació. A les zones afectades, els programes de control de l'HLB es basen en la reducció d'inòcul mitjançant l'eliminació de les plantes infectades i el control de les poblacions dels insectes vectors. S'han desenvolupat també models epidemiològics per a dissenyar aquests programes; per exemple, optimitzant la grandària i la localització de les àrees de tractaments coordinats per al control dels vectors. Finalment, a les zones afectades per HLB, els aspectes socials esdevenen claus per a l'adopció efectiva de les mesures de contingència i control de la malaltia per part dels citricultors i el públic en general. En aquest sentit, s'han realitzat també treballs per a caracteritzar i quantificar aquests factors socials i integrar-los en els plans d'acció enfront de la malaltia.

ENLLAÇOS WEB



ENQUESTA PRE-HLB: Responent l'enquesta, ajudareu en la presa de decisions futures en cas de l'entrada de nous patògens de quarantena i a la millora de la normativa en cas de ser necessari.

MARK HODDLE: «CAL ESTAR LLESTOS PER A COMBATRE LA PLAGA ABANS QUE APAREGA». *L'Agrària* #02, p. 34 (desembre 2022)

>Autors de l'article:

María Ángeles Forner-Giner (*), Ester Marco-Noales (**), Meritxell Pérez-Hedo (**), Alejandro Tena (**), Alberto Urbaneja (**), i Antonio Vicent (**)

* Centre de Producció Vegetal i Citricultura.

**Centre de Protecció Vegetal i Biotecnologia.

Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA).