

Graves amenazas para el cultivo de la vid

Identificación de vectores potenciales de *Xylella fastidiosa* y fitoplasmas en viñedos del norte de España

J. Sabaté, A. Laviña y A. Batlle (IRTA, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. Cabriels, Barcelona, España. Programa de Protección Vegetal sostenible).

Xylella fastidiosa es una bacteria fitopatógena de reciente detección en Europa, amenazando seriamente a muchos cultivos leñosos de gran importancia económica y social en España. No tiene tratamientos efectivos y los únicos medios de lucha factibles son la erradicación de inóculos y el control de sus insectos vectores, hemípteros que se alimentan del xilema. Este estudio tiene el objetivo de determinar las poblaciones de hemípteros auquenorrincos presentes en los viñedos del Valle del Ebro y Cataluña para determinar el peligro de dispersión de las bacterias y fitoplasmas que transmiten.

Los resultados han mostrado la polifagia y amplia distribución de *Philaenus spumarius* y la amenaza que existe para muchos cultivos en caso de introducción de la bacteria.

PALABRAS CLAVE: *Xylella fastidiosa*, 'Bois Noir', *Philaenus spumarius*, *Hyalestes obsoletus*, vid.

Xylella fastidiosa es una bacteria fitopatógena de crecimiento limitado al xilema, donde se adhiere a las paredes celulares, se multiplica y obtura los vasos conductores, dificultando el movimiento de la sabia y produciendo marchitamiento, necrosis, desecación de ramas y en muchos casos la muerte de las plantas afectadas.

X. fastidiosa presenta un amplio rango de huéspedes, habiéndose identificado en cientos de especies vegetales de decenas de familias. Muchas de estas especies no muestran síntomas evidentes, pero sí pueden actuar como reservorios de la bacteria. En especies cultivadas causa enfermedades muy destructivas y de extrema gravedad como "Pierce's Disease" en vid, "Citrus Variegated Chlorosis" en cítricos, "Phony Peach Disease" en melocotonero, "Plum Leaf Scald" en ciruelo, "Almond leaf scorch" en almendro, y "Olive Quick Decline Syndrome" en

olivo, (Purcell, 2002; Martelli 2016). Los síntomas son variables e inespecíficos en función de la planta huésped, siendo los más comunes la marchitez y seca de ramas y hojas, el decaimiento generalizado y la clorosis y el quemado de hojas y brotes (Purcell, 2002). Se han descrito tres subespecies principales, las cuales afectan a un rango distinto de huéspedes (ssp. *Fastidiosa*, ssp. *Multiplex*, y ssp. *Pauca*), con una alta tasa de recombinación genética, lo cual implica que puedan aparecer nuevas cepas y con nuevas afectaciones sobre los huéspedes (Schaad y col., 2004; Denance y col., 2017).

X. fastidiosa se transmite de manera natural mediante insectos que se alimentan del xilema, hemípteros del suborden *Auchenorrhyncha*, de las familias *Aphrophoridae*, *Cercopidae*, *Cicadidae* y *Cicadellidae*. Los insectos vectores no



Figura 1. Adulto de *Philaenus spumarius*.



Figura 2. Adulto de *Hyalestes obsoletus*.



Centinela[®] I O E C

**RESIDUO CERO
EN TU VINO**



www.sapecagro.es



SAPEC
AGRO ESPAÑA

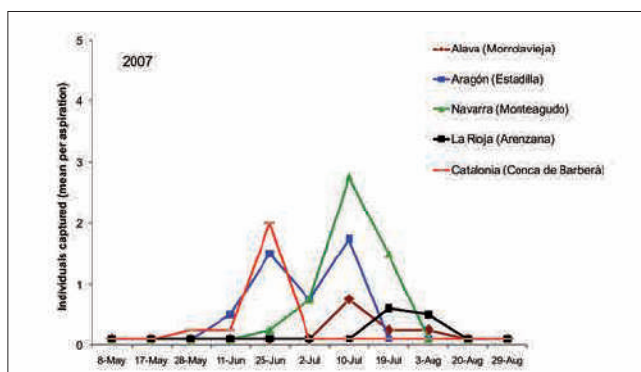


Figura 3. Evolución de capturas de *Hyalesthes obsoletus* en distintas parcelas de vid durante 2007.

requieren apenas periodo de latencia y son infectivos hasta su muerte. Aunque todas estas familias de insectos tienen potencial para transmitir la enfermedad por su alimentación, son las familias *Aphrophoridae* y *Cicadellidae* (Subfamilia *Cicadellinae*), por su abundancia, distribución y hábitos alimenticios las más remarcables (EFSA, 2015). En Estados Unidos existen muchas especies de vectores de la enfermedad, entre las que destaca *Homalodisca vitripennis* (Say, 1832) (*Cicadellidae*: Subfamilia *Cicadellinae*) (Almeida y col., 2003). En Europa solo se ha podido probar como vector efectivo de la enfermedad a *Philaenus spumarius* (Linnaeus, 1758) (Saponari y col., 2014), aunque otras especies de *Aphrophoridae* y *Cicadellidae* capturadas en olivos afectados también han resultado positivas (Cornara y col., 2017) (Figura 1).

Todo indica que *P. spumarius* (L) es el responsable de la expansión de la epidemia de *X. fastidiosa* en olivo en Italia. Este insecto tiene una generación al año e hiberna en forma de huevo, eclosiona a inicios de primavera y pasa por cinco estadios ninfales, pudiéndose ver los primeros adultos en el mes de mayo dependiendo de las temperaturas. Los adultos se dispersan por multitud de huéspedes vegetales durante el verano y desaparecen después de poner los huevos en otoño-invierno. Este insecto está ampliamente distribuido a nivel mundial y es muy polífago, alimentándose preferentemente de plantas silvestres, en muchos casos fuera de las plantaciones.

Esta preferencia por ambientes naturales y plantas no cultivadas hace que su seguimiento y control sea especialmente dificultoso, ya que solo entra puntualmente en las plantaciones y muchas veces sobre malas hierbas y márgenes. Este hecho implica que la transmisión de *X. fastidiosa* sea un hecho puntual en el tiempo, y que el control químico del vector en aplicaciones sobre los cultivos no sea efectivo. El ciclo patológico se asemeja a grandes rasgos al del fitoplasma causante del "Bois Noir" de la vid '*Ca. P. solani*' transmitido por *Hyalesthes obsoletus* (Signoret, 1865) (*Auchenorrhyncha*: *Cixidae*) (Figura 2), que tiene como huéspedes principales a *Convolvulus arvensis* y *Urtica dioica* y que transmite el fitoplasma a la vid en picadas puntuales en estado adulto buscando sus huéspedes primarios (Sabaté y col., 2014).

Con la finalidad de determinar los vectores potenciales de *X. fastidiosa* en el caso de que la enfermedad fuera introducida en nuestro país, nuestro equipo ha realizado durante más de doce años, seguimientos de los insectos vectores potenciales presentes en distintas áreas vinícolas de Aragón, Cataluña, Navarra, Rioja y Rioja Alavesa, determinando la presencia y dinámica poblacional de aquellas especies que pueden ser vectoras de la enfermedad. También se realizaron muestreos visuales de posible presencia de síntomas tanto en vid, como en frutales de hueso y olivo.

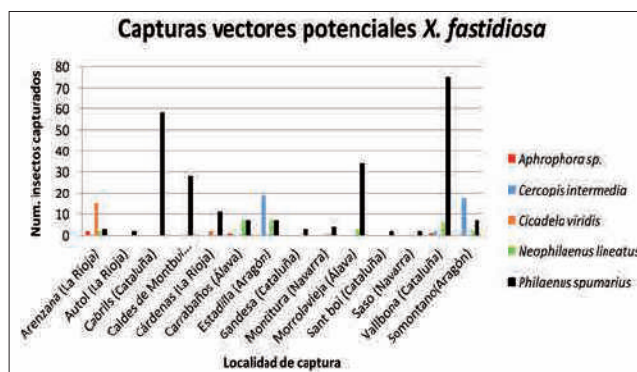


Figura 4. Capturas de vectores potenciales de *Xylella fastidiosa*.

Muestreo de insectos potencialmente vectores

Para el estudio de los vectores potenciales de *X. fastidiosa* y de fitoplasmas, se realizaron seguimientos de las poblaciones de *Auchenorrhyncha* presentes en 50 parcelas de distintas áreas vinícolas y del norte de España, desde mayo hasta octubre. Los insectos fueron capturados tanto en trampas amarillas como con un aspirador D-vac cada quince días. Se aspiraron, tanto en la cubierta vegetal de los márgenes como en el interior de las parcelas. Así mismo, se colocaron cinco trampas en cada parcela, tres en los márgenes y dos en el interior. Los insectos una vez clasificados, fueron guardados en eppendorfs a -20°C para analizarlos, individualmente o por grupos de 4, dependiendo del tamaño. La extracción de DNA de los insectos se realizó siguiendo la metodología utilizada en Batlle y col., 2008. Para determinar si eran portadores de la bacteria *X. fastidiosa* se analizaron mediante PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) con los cebadores HL5/HL6 (Francis y col., 2006).

Resultados y discusión

Se identificaron 53 especies distintas de *Auchenorrhyncha* en parcelas de vid de Cataluña y el Valle del Ebro, entre las cuales destacaban por número de capturas y distribución: *Empoasca vitis* (Göethe, 1875), *Hyalesthes obsoletus* (S), *Philaenus spumarius* (L), *Neophilaenus lineatus* (Linnaeus, 1758), *Scaphoideus titanus* (Ball, 1932), *Cicadula divaricata* (Ribaut, 1952), *Adarrus taurus* (Ribaut, 1952), *Agallia laevis* (Ribaut, 1935), *Cercopis intermedia* (Kirschbaum, 1868), *Laodelphax striatellus* (Fallen, 1826), *Euscellidius variegatus* (Kirschbaum, 1858), *Neoliturus fenestratus* (Herrich-Schäffer, 1834), *Peragallia sinuata* (Ribaut, 1948), *Psammotettix striatus* (Linnaeus, 1758) y *Zyginidia scutellaris* (Herrich-Schäffer, 1838). La mayoría de estas especies fueron capturadas en los márgenes de las parcelas, y solo *E. vitis*, *S. titanus* y *E. variegatus* presentaron capturas remarcables en el follaje vid, de acuerdo con su huésped preferente.

Se constató la presencia de *H. obsoletus* en la mayoría de parcelas y su dinámica poblacional, existiendo una clara correlación entre el número de capturas de este vector y la incidencia en cada parcela. También se determinó un porcentaje de infección del vector por '*Ca. P. solani*' superior al 50% en la mayoría de localizaciones. Este vector estaba asociado a *C. arvensis* como huésped principal en la mayoría de parcelas, pero en algunas localizaciones frescas de La Rioja y la Ribera del Ebro de Navarra, su huésped principal fue *U. dioica*, donde también se detectó en las vides enfermas mayoritariamente el aislado virulento



	Localidad	Sant Boi	Cabrils	Vallbona M.	Caldes M.	Gandesa
Familia	Especie					
Compuestas	<i>Sonchus oleraceus</i>	+++	+++		++++	
	<i>Sonchus arvensis</i>		+			
	<i>Sonchus asper</i>		+			
	<i>Sonchus tenerrimus</i>	+	+		+	
	<i>Cirsium arvense</i>		+			
	<i>Urospermum delechampii</i>	++++				
	<i>Dittrichia viscosa</i>	+				
Crucíferas	<i>Erucastrum nasturtifolium</i>		+	+	+	+
Gramíneas	<i>Bromus sp.</i>		+			
	<i>Arundo donax</i>		+			
	Otras	+	+	++	++	
Rubiáceas	<i>Gallium aparine</i>		+			
Fabáceas	<i>Anthirrhinum majus</i>		+			
	<i>Medicago falcata</i>		++			
	<i>Medicago sativa</i>	+		++	++	+++
	<i>Medicago polymorpha</i>	+				
	<i>Medicago orbicularis</i>	+				
	<i>Psoralea bituminosa</i>		+			
Capriofiláceas	<i>Silene vulgaris</i>		+++			
	<i>Scabiosa atropurpurea</i>	++++	++++	++	++	++++
Boragináceas	<i>Ecchium vulgare</i>		+			
Euforbiáceas	<i>Mercurialis annua</i>		+			
Plantagináceas	<i>Plantago lanceolata</i>	+	+			
Papaveráceas	<i>Roemeria hybrida</i>		+			
Umberlíferas	<i>Phoeniculum vulgare</i>	++	++			
Rosáceas	<i>Sanguisorba minor</i>	+++		++	++	+++

Tabla 1. Huéspedes vegetales de ninfas de *P. spumarius* en Cataluña.

Tuf-a, asociado a esta planta (Sabaté y col., 2014). El vuelo de adultos de *H. obsoletus* se inició en mayo y terminó en agosto en función de la temperatura de cada localidad y año (Figura 3).

En cuanto a vectores potenciales de *X. fastidiosa*, los resultados mostraron, que estaban presentes cinco de los géneros incluidos en la lista de vectores potenciales en Europa (EFSA, 2013), *Aphrophora* spp., *Cercopis* spp., *Cicadella* spp. (Figura 10), *Neophilaenus* spp. y *Philaenus* spp.

Las especies más abundantes fueron *P. spumarius* en Cataluña y Rioja alavesa, *Cercopis* intermedia en Aragón y *Cicadela viridis* en La Rioja. *P. spumarius* fue capturado en prácticamente todas las localidades, presentando así la mayor distribución y número de capturas medias entre todas estas especies (Figura 4).

También se estudiaron los huéspedes vegetales de las ninfas de *P. spumarius*

en distintas localidades de Cataluña donde se constató la extraordinaria polifagia de esta especie incluso en el estado de desarrollo más restrictivo en cuanto a alimentación (Figura 5). El rango de huéspedes en tan solo cinco localidades de Catalunya de clima mediterráneo entre 0 y 500 metros de altura, fue de más de 35 especies de plantas pertenecientes a 12 familias distintas. Destacaron por la densidad de ninfas y su distribución geográfica *Sonchus* sp., *Medicago* sp., *Scabiosa atropurpurea* y *Sanguisorba minor* (Tabla 1).

El pico de captura de adultos de *P. spumarius* en las 5 comunidades fue en mayo-junio, aunque las capturas de esta especie se prolongaron hasta finales de julio principios de agosto en las zonas más frías. Los resultados mostraron el pico de capturas de adultos de *P. spumarius* alrededor de las parcelas de vid aproximadamente un mes después de la captura del primer adulto (Figura 6).



Figura 5. *Philaenus spumarius* y 'nido' sobre *Urospermum delechampii*.

Ninguno de los individuos de las cinco especies de *Auchenorrhyncha* que se alimentan de xilema capturadas resultó ser positiva a *X. fastidiosa* mediante PCR y Q-PCR con los cebadores HL5/HL6. Tampoco ninguna de las plantas analizadas con síntomas inespecíficos.

Estos resultados ponen de manifiesto la presencia generalizada del vector del fitoplasma del "Bois Noir" (*Ca. P. solani*) *H. obsoletus* en los viñedos del norte de España, y una clara correlación entre el tamaño de sus poblaciones y su infectividad con la incidencia de cepas enfermas en las parcelas. También se ha constatado que el aislado de '*Ca. P. solani*' *Tuf-b* relacionado con *C. arvensis*, es el mayoritario, pero que en localizaciones húmedas y de suelos profundos de La Rioja y Navarra donde *U. dioica* es común, el aislado mayoritario es el virulento *Tuf-b*.

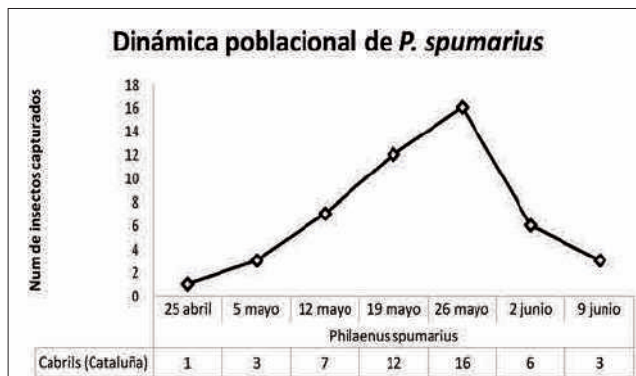


Figura 6. Evolución de capturas de adultos de *P. spumarius* por aspiración en Cabriels.

Queda clara la amplia distribución y polifagia de *P. spumarius*, único vector demostrado de *X. fastidiosa* en Europa, y la presencia de muchas otras especies potencialmente vectoras en los alrededores de los viñedos. Estos hechos, ponen en evidencia que las condiciones para la dispersión de *X. fastidiosa* en caso de entrada a la península son favorables y obligan a profundizar en el estudio de la distribución, los ciclos, dinámicas poblacionales y movimientos de estas especies para establecer estrategias de control y manejo de las plantaciones integradas que permitan contener la bacteria y minimizar las pérdidas.

Trabajo financiado por los proyectos RTA 2005-156 y RTA 2011-c67.

BIBLIOGRAFÍA

- Almeida, R. P. P., Purcell, A. H. 2003. Homalodisca coagulata (Hemiptera: Cicadellidae) transmission of *Xylella fastidiosa* to almond. *Plant Disease* 87:1255-1259.
- Battle, A., Altabella, N., Sabaté, J., Laviña, A. 2008. Study of the transmission of Stolbur Phytoplasma to different crop species, by *Macrostelus quadripunctulatus* (Kirschbaum). *Annals of Applied Biology* 152: 235-242
- Cornara, D., Saponari, M., Zeilinger, A.R., de Stradis, A., Boscia, D., Loconsole, G., Bosco, D., Martelli, G.P., Almeida, R.P.P., Porcelli, F. 2017. Spittlebugs as vectors of *Xylella fastidiosa* in olive orchards in Italy. *Journal of Pest Science* 90:521-530. DOI 10.1007/s10340-016-0793-0
- Denance, N., Legendre, B., Briand, M., Olivier, V., de Boisseson, C., Poliakoﬀ, F., Jacques, M-A. 2017. Several subspecies and sequence types are associated with the emergence of *Xylella fastidiosa* in natural settings in France. *Plant Pathology In press*. doi: 10.1111/ppa.12695
- EFSA. 2013. Statement of EFSA on host plants, entry and spread pathways and risk reduction options for *Xylella fastidiosa*. European Food Safety Authority. *EFSA Journal* 11(11): 3468. 50 pp
- EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health). 2015. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal* 2015;13(1):3989, 262 pp., doi:10.2903/j.efsa.2015.3989.
- Francis, M., Lin, H., Cabrera-La Rosa, J., Doddapaneni, H. and Civerolo, E.L. 2006. G genome-based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. *European Journal of Plant Pathology* (2006) 115:203-213
- Martelli, G. P. 2016. The current status of the quick decline syndrome of olive in southern Italy. *Phytoparasitica* 44:1-10. DOI 10.1007/s12600-015-0498-6.
- Purcell, A. H. 2002. Fate of *Xylella fastidiosa* in alternative hosts. Pages 47-48 in *Proceedings of Pierce's Disease Research Symposium*, Coronado, CA, Dec. 15-18, 2002.
- Sabaté, J., Laviña, A., Battle, A. 2014. Incidence of Bois Noir phytoplasma in different viticulture regions of Spain and Stolbur isolates distribution in plants and vectors. *European Journal of Plant Pathology* 139: 185-193.
- Saponari, M., Loconsole, G., Cornara, D., Yokomi, R., De Stradis, A., Boscia, D., Bosco, D., Martelli, G., Krugner, R., Porcelli, F. 2014. Infectivity and Transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of Economic Entomology* 107 (4): 1316-1319.
- Schaad NW, Postnikova E, Lacy G, Fatmi M, Chang CJ, 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. piercei subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. multiplex subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. pauca. *Syst Appl Microbiol* 27: 290-300.