Las enfermedades de los cítricos: riesgos y amenazas

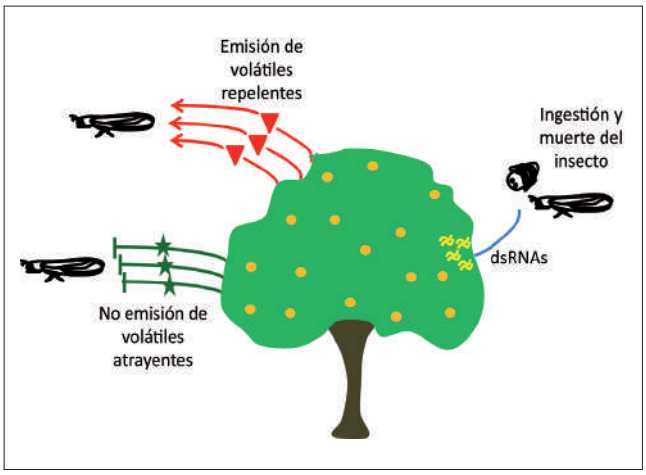
Estrategias biotecnológicas para hacer frente al HLB, la mayor amenaza de la citricultura española

Berta Alquézar y Leandro Peña (Laboratorio de Biotecnologia Vegetal, Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), Vila Melhado, Araraquara, Sao Paulo, Brazil. Email: lpenya@fundecitrus.com.br. Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP): Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)-Universidad Politécnica de Valencia (UPV). Valencia, Spain. Email: lpenya@ibmcp.upv.es).

La citricultura mundial se encuentra seriamente amenazada hoy en día por el Huanglongbing (HLB). Actualmente su control se basa en la eliminación de árboles sintomáticos, agresivos tratamientos insecticidas y excelentes prácticas viverísticas. Sin embargo, resulta prácticamente imposible la convivencia a largo plazo entre una citricultura rentable y respetuosa con el ambiente y la presencia endémica del HLB. Creemos que la única vía duradera y sostenible a largo plazo para lograr resistencia al HLB consiste en incorporar resistencia genética en aquellas variedades y portainjertos cítricos que se pretenda proteger.

En el año 2015 la Organización Europea y Mediterránea para la Protección de Plantas (OEPP) introdujo 331 especies en la lista de vectores y plagas peligrosas para las que se recomienda adoptar medidas de cuarentena. Entre las especies detalladas se encuentran *Tryoza erytreae* y *Diaphorina citri*, unos psílidos que se alimentan fundamentalmente de especies cítricas y excretan melaza sobre la que se suele desarrollar negrilla, pero su verdadera importancia radica en que son vectores transmisores de las bacterias *Candidatus* Liberibacter (americanus, africanus y asiaticus) causantes del Huanglongbing (HLB). Esta patología afecta al sistema vascular de la planta y se manifiesta inicialmente con brotaciones amarillas y clorosis asimétrica en las hojas. Las ramas se van secando conforme la enfermedad progresa y la producción de frutos se reduce. Los frutos son pequeños, asimétricos, presentan inversión de color al madurar (la desverdización comienza por la zona peduncular) y sabor ácido y amargo, por lo que pierden valor comercial. Finalmente el árbol muere en un período de 5-10 años.

En los últimos diez años, el HLB más agresivo (inducido por la bacteria *Candidatus* Liberibacter asiaticus, transmitida por el insecto *Diaphorina citri*) ha pasado de ser una enfermedad prácticamente restringida a ciertas partes de China, India y el Sudeste asiático, a aparecer y difundirse rápidamente por casi todo el continente americano y la península arábica, llegando recientemente a África. No existe ningún mecanismo eficaz de control a medio y largo plazo, por lo que esta enfermedad, que se expande rápidamente, está amenazando seriamente la citricultura mundial. Por ejemplo, solamente en Florida, desde que se introdujo esta enfermedad (2005) la industria citrícola presenta unas pérdidas medias anuales de más de 7.500 puestos de trabajo y 975 millones de dólares, debido a que no se han tomado medidas adecuadas para el control de la enfermedad, que hoy en día afecta a casi el 100% de los árboles. En cambio, en São Paulo (una de las regiones citrícolas más importantes del mundo y que también se encuentra seriamente amenazada por el HLB) el sistema de control está basado en tres acciones combinadas: inspección de los árboles y eliminación de cualquier individuo sintomático, replantación con material vegetal sano (procedente de viveros certificados) y, sobre todo, agresivos tratamientos insecticidas para limitar la expansión de *D. citri*. Con ello, se ha conseguido mantener la productividad de los huertos, con una incidencia en 2015 de "solo" un 18% de los árboles infectados, es decir, "solo" 35 millones de naranjos eliminados. Recientemente se ha detectado en Galicia y norte de Portugal el insecto *Trioza erytrae*, vector que transmite el HLB africano, inducido por *Candidatus* Liberibacter africanus. Aunque el HLB africano no es tan agresivo como el asiático, también se trata de una enfermedad importante. Además, en condiciones apropiadas, *Trioza erytrae* puede ser vector de *Candidatus* Liberibacter asiaticus.



Posibles estrategias biotecnológicas encaminadas a controlar la infección por HLB reduciendo la población de *D. citri* así como su atracción por los cítricos. Figura de Berta Alquézar.

A pesar de los muchísimos estudios realizados no se ha encontrado en el germoplasma de los cítricos ninguna fuente de resistencia genética a esta enfermedad. Por lo tanto, resulta imposible conseguir resistencia mediante la generación de nuevos genotipos por mejora genética clásica, mediante cruzamientos. Además, las particulares características genéticas y reproductivas de los cítricos harían esto extraordinariamente difícil en caso de que se encontrase

Adultos y huevos de *Tryoza erytreae* sobre un fruto. Foto: Ferran Garcia Marí.

en el futuro una fuente de resistencia en géneros sexualmente compatibles. En consecuencia, la única opción en el largo plazo para asegurar una citricultura rentable y a la vez respetuosa con el ambiente es el desarrollo de plantas modificadas genéticamente resistentes/tolerantes a la bacteria y/o a su insecto vector. *Candidatus* Liberibacter spp. son α-proteobacterias gram negativas que viven como parásitos obligados en el floema de la plantas y, hasta la fecha, aún no han podido ser cultivadas *in vitro*. Como consecuencia, la interacción bacteria-huésped ha sido poco estudiada y se hace extremadamente complicado diseñar estrategias eficaces para controlar su infección. Es pues, en la actualidad, el control de la transmisión mediada por psílidos el mejor punto sobre el que actuar para limitar la infección por HLB. A este nivel podrían desarrollarse distintas estrategias para actuar sobre el vector: (i) reducir su población y (ii) limitar su predilección por los cítricos.

Una técnica efectiva y sostenible para el manejo de plagas es inducir, mediante interferencia de RNA (RNAi), el silenciamiento de genes esenciales para la vida del insecto que jueguen un papel fundamental en la interacción planta-patógeno, crecimiento y desarrollo del patógeno, vuelo, reproducción, etc. Los conocimientos adquiridos en los últimos años, a nivel del genoma y del transcriptoma del psílido han permitido identificar genes diana sobre los que inducir silenciamiento de manera específica. El desarrollo de plantas transgénicas portadoras de módulos capaces de inducir el silenciamiento de uno o más de estos genes diana supondría una forma eficaz de limitar la supervivencia del psílido y, por tanto, la transmisión del HLB.

Diaphorina citri localiza a los cítricos en base a pistas visuales y olfativas. La modificación de la emisión de compuestos volátiles y su uso potencial para controlar distintas plagas ya se ha demostrado eficaz en distintas plantas, como Arabidopsis o maíz. En Vietnam, la presencia de guayabas junto a los cítricos protege a estos de la infección por HLB durante períodos prolongados de tiempo y, esta protección se ha relacionado con un efecto repelente sobre *D. citri* de los compuestos volátiles emitidos por las hojas de guayaba. La identificación de el/los compuesto/s responsables de esta repelencia permitiría, mediante ingeniería genética, la generación de variedades super-emisoras de este compuesto y que resultarían repelentes (o al menos no atrayentes) para el psílido. Otra alternativa para limitar la atracción que el psílido siente por los cítricos sería determinar qué compuesto/s volátiles son los responsables de esta atracción y limitar su síntesis en las hojas, o preferiblemente en los brotes, que son los que tienen un mayor poder de atracción.