



Figura 1. Plantas de *Prunus* sp. híbrido melocotonero x almendro GF677 utilizadas en los experimentos de inoculación con *X. fastidiosa* para los estudios de patogenicidad i control químico (foto L. Montesinos).

**Emilio Montesinos
Seguí**

Centro de Innovación y
Desarrollo en Sanidad
Vegetal (CIDSAV)

Instituto de Tecnología
Agroalimentaria.
Universitat de Girona

Control de *Xylella fastidiosa* en la planta huésped. La otra cara del problema

Las medidas para evitar la introducción y diseminación de *Xylella fastidiosa* en la Unión Europea (UE) están principalmente orientadas al control del material vegetal y a evitar su diseminación a partir de focos mediante el control de los insectos vectores. Sin embargo, se requiere disponer de medidas de control (tanto preventivas como terapéuticas) que se puedan aplicar a los árboles/plantas enfermos, una vez la enfermedad se ha establecido en una zona, que permitan la sostenibilidad del cultivo.

Xylella fastidiosa presenta un ciclo biológico relativamente sencillo, común en otros patógenos transmitidos por insectos vectores, pero muy complicado por ser uno de los patógenos con mayor rango de huésped (más de 350 especies vegetales), lo que hace que se afronte con cierto pesimismo su total contención, prevención y erradicación a pesar de los grandes esfuerzos que se realizan.

Por lo tanto, las medidas de convivencia deberán encaminarse en un futuro además de a la continuación de las actividades de prevención, erradicación y control de los vectores, a la protección genética de los cultivos mediante variedades resistentes, al saneamiento del material de propagación, y a la aplicación de tratamientos fitosanitarios efectivos en las plantas enfermas. Aunque se dispone de información sobre sensibilidad varietal en cultivos de clima mediterráneo estratégicos, como la vid, cítricos, olivo y especies de *Prunus*, en muchos casos éstos son incompletos o se trata de variedades de menor importancia en Europa, y por lo tanto se requiere un gran esfuerzo de investigación para

disponer de variedades resistentes. El saneamiento del material vegetal de propagación es otro aspecto clave, y en concreto la termoterapia, que ha sido utilizada con éxito para reducir o eliminar fitoplasmas y hongos de la madera en vid, y en otros cultivos leñosos, tiene eficacia en la reducción de los niveles de *X. fastidiosa* y juega un papel importante como complemento de las otras medidas. Los tratamientos fitosanitarios y nutricionales de los árboles afectados coinciden en todos los ensayos realizados hasta el momento en que se revigorizan los árboles y en algunos casos los síntomas de la enfermedad son menos graves, pero se continúa detectando *X. fastidiosa*, de modo que tarde o temprano la enfermedad reaparece al cesar los tratamientos. El problema reside en que es difícil para los productos acceder al xilema mediante los tratamientos foliares o drencher convencionales, ya que el patógeno se desarrolla en los vasos leñosos. En este sentido la endoterapia presenta buenas expectativas pero todavía requiere de avances tanto tecnológicos como de un mayor conocimiento científico en cuanto a la fitotoxicidad o residuos en los productos de la cosecha.

Los importantes esfuerzos de investigación que se realizan actualmente se espera que repercutan a medio-largo plazo en una mayor eficacia del manejo de esta enfermedad que puede comprometer en un futuro la viabilidad de cultivos de clima mediterráneo como la vid, olivo, cítricos y almendro.

Xylella fastidiosa produce numerosas enfermedades en las plantas. Una de estas enfermedades descrita por Newton B. Pierce a finales del siglo XIX en Estados Unidos, posteriormente denominada 'Enfermedad de Pierce de la vid', más tarde se atribuyó a *X. fastidiosa* (Davis y col. 1978). Desde entonces, esta enfermedad produce grandes pérdidas en Estados Unidos, estimadas en California anualmente en 56 millones de dólares (Tumber y col. 2014). *X. fastidiosa* ha afectado también en el siglo XX al cultivo de cítricos en Estados Unidos y Brasil, y en café en Centroamérica. Desde 2013, han ido apareciendo en Europa las distintas enfermedades causadas por la bacteria en cultivos como el olivo en Italia, en plantas del bosque mediterráneo en Córcega y sur de Francia, en múltiples cultivos en las islas Baleares (almendro, acebuches, vid, vegetación mediterránea) y en almendro en Alicante.

La gravedad de la enfermedad se debe a que, a pesar de su progresión lenta en la mayoría de casos (varios años), tarde o temprano acaba con la vida de sus plantas huésped, principalmente a causa de la oclusión de los vasos leñosos que transportan la savia bruta. Por eso los síntomas más característicos son parecidos a una sequía, ya que la planta no puede compensar la evapotranspiración con agua y sales minerales procedentes de las raíces.

Esta bacteria es considerada en la UE como patógeno de cuarentena que afecta a más de 350 especies vegetales, tanto cultivadas como compo-

nentes de la flora salvaje. Debido a su rango de huésped amplio y a la mortalidad que causa en las plantas infectadas, la UE ha activado medidas cuarentenarias de exclusión y erradicación, que pretenden evitar su introducción, diseminación y establecimiento en el territorio. Dichas medidas están orientadas básicamente al control del material vegetal infectado, mediante prevención, erradicación y para evitar la diseminación de la enfermedad a partir de los focos detectados.

Sin embargo, el problema se presenta cuando la enfermedad afecta de forma masiva a un número considerable de árboles o a una extensión importante, sobre la que puede ser

materialmente imposible aplicar las medidas de erradicación, como es el caso de la zona demarcada en Puglia (Italia). En este artículo se describen y discuten las medidas de control (tanto preventivas como terapéuticas) que se pueden aplicar a los árboles/plantas enfermos, una vez la enfermedad se ha establecido.

Ciclo biológico y estrategias de control

Xylella fastidiosa presenta un ciclo biológico relativamente sencillo, común a muchos patógenos transmitidos por insectos vectores, en el que éstos juegan un papel esencial. La diferencia con respecto a virus, fitoplasmas y *Candidatus Liberibacter*

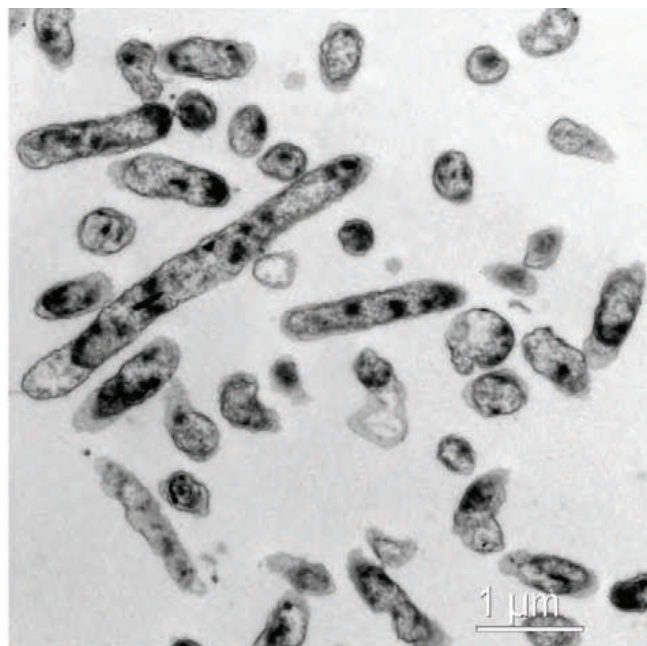


Figura 2. Ultraestructura de células de *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* cepa TEMECULA mediante microscopía electrónica (foto I. Mora).

es que el hábitat de *X. fastidiosa* se restringe al xilema del huésped. Además, se trata probablemente de uno de los patógenos con mayor rango de huésped conocido, ya que afecta a más de 350 especies vegetales. Así, el aspecto más importante en la epidemiología de la enfermedad deriva del conocimiento de los mecanismos de diseminación, que son el material vegetal portador (incluido el injerto) y de los insectos vectores. No hay evidencias de transmisión mediante aerosoles o contacto directo; sin embargo, existen dudas razonables respecto a semillas o herramientas de poda, que habrá que confirmar científicamente.

Así, las estrategias de control se basan en el uso de plantas libres de *Xylella fastidiosa* (pasaporte fitosanitario), la erradicación-eliminación de plantas enfermas, el control de los vectores, o como medida accesoria hasta que no existan evidencias de su inocuidad, la desinfección de las herramientas de poda. Sin embargo, otras medidas están encaminadas a la protección genética del cultivo mediante variedades resistentes, el saneamiento del material vegetal de propagación mediante termoterapia y los tratamientos fitosanitarios de las plantas enfermas. En este artículo se van a presentar las diferentes posibilidades y los datos científicos que apoyan su eficacia o ineficacia en condiciones de campo o invernadero.

Resistencia en el huésped

Existen estudios sobre sensibilidad varietal en cultivos de clima mediterráneo, principalmente en vid, cítricos, olivos y especies de *Prunus*. Sin embargo, en muchos casos éstos son incompletos o se trata de variedades de menor importancia en Europa.

En el caso de la vid (Kivaneck y col., 2005, Rashed y col. 2013), las variedades muy sensibles o moderadamente sensibles son Barbera, Flame seedless, Thompson Seedless, Cabernet Sauvignon, Chenin blanc, Cabernet franc, Merlot Sauvignon blanc y Zinfandel, mientras que son poco sensibles Blanc du bois, Chardonnay, Pinot Noir, Rubired, y D'Arpa. Se consideran muy poco sensibles o resistentes Roucaneuf, Tampa, y las especies de *V. aestivalis*, *V. cau-*

/ Se requiere un gran esfuerzo de investigación para disponer de variedades resistentes /

dicans, *V. berlandieri*, *V. rupestris* y *V. rotundifolia* (muscats).

En los cítricos, el trabajo más relevante fue realizado en Brasil inoculando plantas en maceta, concluyendo que las variedades de naranjo Caipira, Natal, Pera, Valencia eran muy sensibles, mientras que las de mandarino eran muy poco sensibles como en los cultivares Ponkan, Mexican y Persian, y los portainjertos de mandarino eran poco sensibles, excepto Sunki.

En el caso de *Prunus*, y especialmente en almendro, los estudios realizados en California por Ledbetter y Rogers (2009, 2015) revelaron que el almendro cultivado (*P. dulcis*) y el salvaje (*P. webbii*) eran muy sensibles, el melocotonero era moderadamente sensible, y los híbridos de melocotonero x almendro (*P. dulcis* x *P. persica*) eran poco sensibles.

En olivo, al tratarse de una enfermedad prácticamente nueva en este cultivo en campo y de reciente introducción en Europa (en la región de Puglia en 2013), los estudios son más limitados y han sido realizados por el grupo del CIHEAM de Bari, aunque los trabajos de campo siguen todavía en proceso. Como conclusión general se desprende que las variedades Koroneiki, Arbequina y Cellina son muy sensibles; Frantoio, Cima di Melfi, Coratina y Arbosana son moderadamente sensibles, mientras que Leccino y un derivado de Frantoio denominado 'Favolosa' son muy poco sensibles (D. Boscia,

M. Saponari, G. Martelli, P. Saldarelli, CIHEAM).

Saneamiento del material de propagación mediante termoterapia

La termoterapia o tratamiento mediante calor ha sido utilizado con éxito desde hace tiempo para reducir o eliminar fitoplasmas y hongos de la madera en vid, y en otros cultivos leñosos (Gramaje y col. 2014). Aunque no hay muchos estudios en el caso de *Xylella* y de las especies huésped, se puede asumir un efecto similar al de otras bacterias fitopatógenas en sus huéspedes correspondientes.

Las condiciones óptimas de temperatura y tiempo de tratamiento (dosis térmica) se establecen empíricamente, ya que hay que evitar tratamientos que afecten negativamente a la viabilidad del material vegetal (brotación), pero que sean efectivos en la inactivación del patógeno. Por ello se recomiendan unas temperaturas y tiempos de tratamiento que afecten mínimamente al huésped y reduzcan a niveles mínimos la población del patógeno. En el fondo se trata de una pasteurización, que se realiza mediante inmersión en agua caliente. Las condiciones recomendadas para el saneamiento contra *X. fastidiosa* en la mayoría de plantas leñosas son de 30-180 minutos a 45-50 °C (Goheen y col. 1973, Waite y Morton 2007; Melanson y Sunderlin 2015), y la UE recomienda para la vid 45 min a 50 °C (EFSA 2015).

Tratamientos fitosanitarios y nutricionales

Entre las estrategias de control de *X. fastidiosa*, los tratamientos fitosanitarios encaminados a reducir o eliminar la población del patógeno en el xilema (bactericidas) o a reforzar el estado fisiológico de la planta huésped (inductores de defensas, suplementos nutricionales) han sido y son objeto de numerosos estudios, en muchos casos de campo.

Una parte de la información existente se refiere a la enfermedad de Pierce de la vid en trabajos realizados en Estados Unidos, mediante tratamientos foliares con antibióticos (oxitetra-

ciclina, tetraciclina y estreptomina) (Hopkins 1979) o mediante micronutrientes a base de Cu, Mn, Zn (en muchos casos a dosis bactericidas de 100-200 ppm) aplicados mediante drencher (Kirkpatrick 2008, Brady y col. 2010). En otro trabajo se evaluó el efecto de microinyección de antibióticos en el control del acorchado del olmo (Kotska y col. 1985). Sin embargo, en la UE no están autorizados los antibióticos en protección vegetal. Existe además un trabajo muy novedoso realizado en Brasil en cítricos mediante la aplicación de N-acetilcisteína, un conocido fármaco mucolítico con efectos inhibidores de la formación de biopelículas bacterianas, aplicado mediante irrigación en cultivos hidropónicos o en campo (Muranaka y col. 2013).

En Europa, en el caso del olivo se llevan a cabo actualmente numerosos ensayos en la zona demarcada en Italia. Los estudios más relevantes de que se disponen datos son los realizados mediante micronutrientes e inductores de defensa, combinados con poda regenerativa, y aplicados mediante tratamientos aéreos y drencher (Carlucci y col. 2016).

Hay además una serie de compuestos químicos nuevos o que se utilizan en el control de otras enfermedades, que se han evaluado *in vitro* con buenos resultados de control de la bacteria, pero habrá que esperar para ver su efectividad en condiciones de campo.

Son muy escasos los trabajos que aborden la investigación en control biológico de *X. fastidiosa*. El esfuerzo más destacable lo constituye la utilización con un cierto éxito en California y Florida de inoculaciones de cepas de *X. fastidiosa* hipovirulentas (no producen síntomas) para el control de la enfermedad de Pierce en vid realizados en las variedades Flame Seedless y Cabernet Sauvignon (Hopkins 2005). Sin embargo, este sistema tiene el riesgo de posibles recombinaciones genéticas con cepas virulentas, con la consiguiente pérdida de eficacia. Otros esfuerzos en el campo del control biológico están siendo realizados actualmente en diversos proyectos europeos con bacterias endófitas que colonizan el xilema del olivo (Saldarelli, P. XF-Actors POnTE Project 2nd Joint Annual

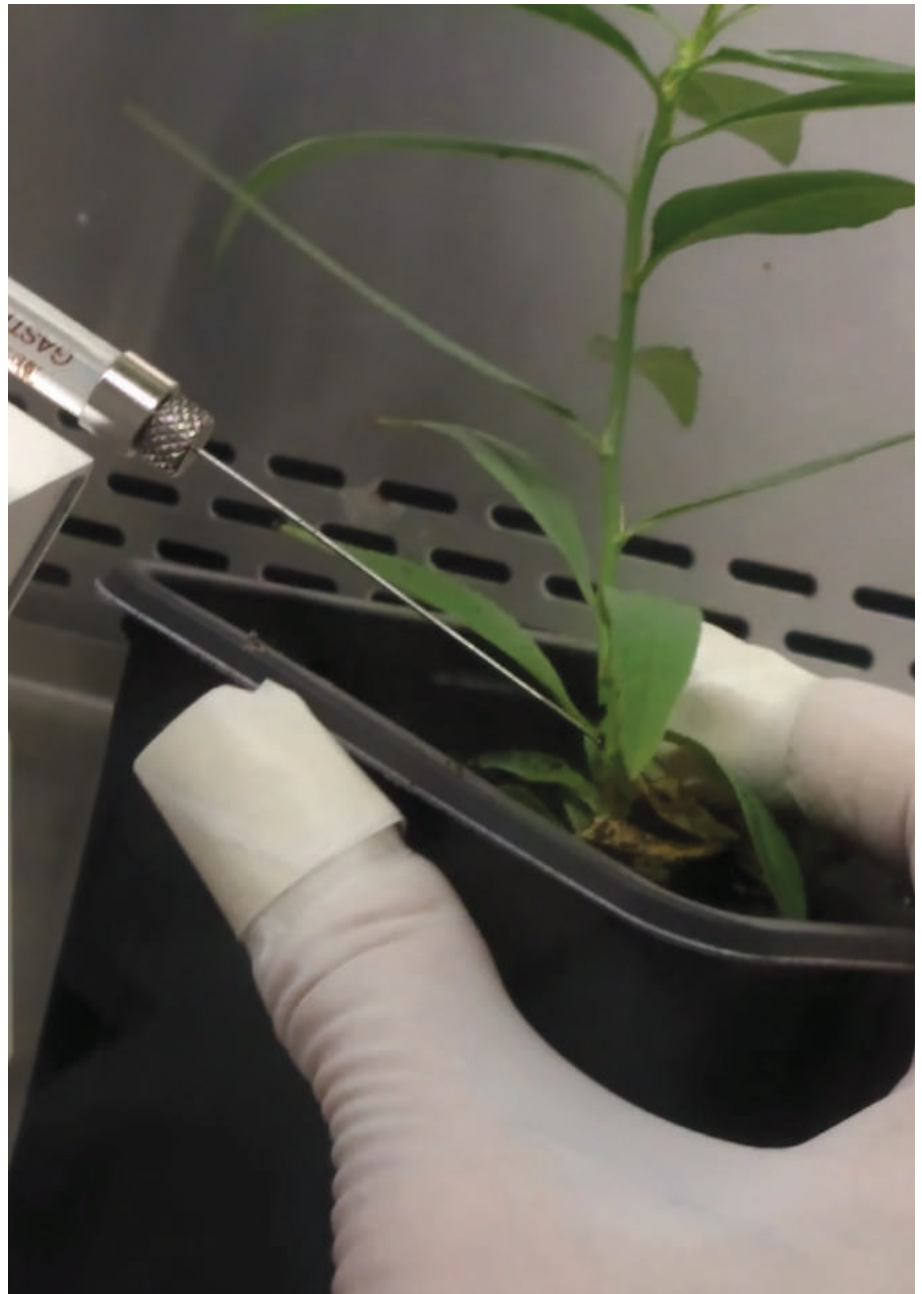


Figura 3. Procedimiento de inoculación y endoterapia mediante inyección de microvolúmenes del patógeno y de los productos bactericidas o inductores de defensas (foto A. Barò).

Meeting, Valencia 2018).

La conclusión general en todos los estudios realizados hasta el momento, tanto de control químico como biológico, es que se revigorizan los árboles y en algunos casos los síntomas de la enfermedad son menos graves, pero se continúa detectando *X. fastidiosa*, de modo que tarde o temprano la enfermedad reaparece al cesar dichos tratamientos.

El problema de la escasa eficacia de los tratamientos contra las enfermedades causadas por *X. fastidiosa* es que, al restringirse el patógeno a los vasos leñosos (xilema), es difícil acceder mediante aplicaciones foliares o

drencher a este compartimento, ya que no hay productos que presenten suficiente sistemía para adquirir concentraciones efectivas en el xilema. En este sentido, la endoterapia (inyección en el tronco) podría resolver el problema, pero todavía requiere de avances tanto tecnológicos como de un mayor conocimiento científico en cuanto a su eficacia, fitotoxicidad o residuos en los productos de la cosecha.

Conviene alertar a los agricultores de la existencia en el mercado de falsos remedios que pretenden curar las enfermedades causadas por *X. fastidiosa*, al igual que otras enfermeda-

des relevantes tanto en agricultura como en ganadería o clínica humana, de nula eficacia probada y sin ninguna base científica. Quiero citar aquí específicamente el caso del dióxido de cloro (MMS) y de numerosos 'biorremedios' pretendidamente milagrosos (<https://www.diarioinformacion.com/benidorm/2017/08/05/xylella-llega-timos/1923840.html>).

Investigación en marcha

La investigación sobre *X. fastidiosa* en Europa viene dificultada por el hecho de que se trate de un patógeno de cuarentena, cuyas enfermedades suponen grandes pérdidas económicas e impacto social, que obliga

a disponer de infraestructuras de contención biológica en laboratorios e invernaderos donde se trabaje con la bacteria viva o con material vegetal infectado. Además, los estudios de campo también vienen complicados por la normativa regulatoria en cuanto a contención y erradicación obligatoria.

Nuestro grupo de investigación participa en diversos proyectos consistentes en el estudio de la patogenicidad de aislados de *X. fastidiosa*, tanto españoles como de otros países, en especial en *Prunus* (almendro) y olivo, a través de los proyectos E-RTA INIA e INTEROLIVO (coordinados por el Dr. Antonio Vicent-IVIA y la Dra. Blanca Landa-CSIC), control de *X.*

fastidiosa mediante endoterapia con péptidos antimicrobianos y elicitores de defensas en el proyecto XF-ACTORS del programa Europeo Horizonte 2020 (In-Kind partner asociado a CSIC coordinado por la Dra. Blanca Landa), y en el control de *X. fastidiosa* en insectos vectores en el proyecto CICYT AGL2017-89604-R, coordinado por el Dr. Alberto Fereres (CSIC).

Los resultados de esta investigación se espera que repercutan a medio-largo plazo en una mayor eficacia del manejo de esta enfermedad que puede comprometer en un futuro la viabilidad de cultivos de clima mediterráneo como la vid, olivo, cítricos, y almendro.

Bibliografía

- !** Brady J., Fasje T., Fasje T. and McGahan D. 2010. Evaluating the impact of nutritional treatments on *Xylella fastidiosa* in grapevine. *Phytopathology*, 100, S16.
- Carlucci A., Ingrosso F., Faggiano S., Raimondo M. L. and Lops F. 2016. Strategie per contenere il disseccamento degli olivi. *L'Informatore Agrario*, 8:58-63.
- Davis, M. J., Purcell, A. H., and Thomson, S. V. 1978. Pierce's disease of grapevines: isolation of the causal bacterium. *Science* 199:75- 77.
- EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health). 2015a. Scientific Opinion on the risk 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.
- EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health). 2015b. Scientific opinion on *Vitis* sp. response to *Xylella fastidiosa* strain CoDiRO. *EFSA Journal* 2015;13(11):4314, 20 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4314.
- EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health). 2016. Scientific opinion on four statements questioning the EU control strategy against *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal* 2016;14(3):4450, 15 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4450.
- García, A. L., Torres, S. C. Z., Heredia, M., and Lopes, S. A. 2012. *Citrus* responses to *Xylella fastidiosa* infection. *Plant Dis.* 96:1245-1249.
- Hopkins D. L. 1979. Effect of tetracycline antibiotics on Pierce's disease of grapevine in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 92:284-285.
- Kirkpatrick B. 2008. A review and critique of current and past cultural and chemical approaches to managing Pierce's Disease. PD/GWSS Board - Resources - Review of PD Management Methods. Presentation. Disponible online: http://www.pdgvss.net/wpcontent/uploads/2012/08/Review_of_managing_PD_Kirkpatrick_SD_PDmtg2008.pdf.
- Kostka S. J., Tattar T. A., and Sherald J. L. 1985. Suppression of bacterial leaf scorch symptoms in American elm through oxytetracycline microinjection. *Journal of Arboriculture*, 11: 54-58.
- Krivanek, A. F., Stevenson, J. F., and Walker, M. A. 2005. Development and comparison of symptom indices for quantifying grapevine resistance to Pierce's disease. *Phytopathology* 95:36-43.
- Ledbetter C. A. y Rogers E. E. 2009. Differential susceptibility of *Prunus* germplasm (subgenus *Amygdalus*) to a California isolate of *Xylella fastidiosa*. *HortScience* 44:1928-1931.
- Muranaka L. S., Giorgiano T. E., Takita M. A., Forim M. R., Silva L. F. C., y col. 2013. N-Acetylcysteine in agriculture, a novel use for an old molecule: Focus on controlling the plant-pathogen *Xylella fastidiosa*. *PLoS ONE* 8(8): e72937. doi:10.1371/journal.pone.0072937.
- Rashed A., Kwan J., Baraff B., Ling D., Daugherty M.P., Killiny N., y col. 2013. Relative susceptibility of *Vitis vinifera* cultivars to vector-borne *Xylella fastidiosa* through time. *PLoS ONE* 8(2): e55326.
- Rogers E. E. y Ledbetter C. A. 2015 Susceptibility to *Xylella fastidiosa* in a first-generation hybrid from a non-traditional peach-almond cross. *HortScience* 50:337-340.
- Tumber, K. P., Alston J. M., Fuller K. B. 2014. Pierce's disease costs California \$104 million per year. *California Agriculture* 68:20-29.