



Figura 1. Brote tierno infestado de adultos, ninfas y huevos de *Diaphorina citri*.

**Pablo Urbaneja-Bernat¹,
Daniel Carrillo² y
Josep A. Jaques¹**

¹ Departament de Ciències Agràries i del Medi Natural, Unitat Associada d'Entomologia UJI-IVIA, Universitat Jaume I, UJI, Castelló de la Plana

² Tropical Research & Education Center, University of Florida, Homestead, Florida (USA)

Susceptibilidad del patrón citrange Carrizo a *Diaphorina citri*, vector del HLB

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es uno de los vectores más importantes de la bacteria causante del huanglongbing (HLB) o *greening*, una enfermedad de gran impacto en la mayoría de las áreas cítricas del mundo. Hasta el momento, ni la enfermedad ni el psílido están presentes en la cuenca mediterránea, donde citrange Carrizo (*Citrus sinensis* Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) es uno de los patrones de cítrico más utilizados. En este trabajo se evaluó la susceptibilidad de este patrón a *D. citri*, así como la de los patrones naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) (susceptible), y trifoliado (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) (resistente). Para evaluar la susceptibilidad de citrange Carrizo a *D. citri*, se realizaron experimentos de puesta por supervivencia y elección. En condiciones de laboratorio, los patrones citrange Carrizo y naranjo amargo tuvieron un mayor índice de puesta que *P. trifoliata*, donde este fue nulo. Los experimentos de semi-campo confirmaron que citrange Carrizo es un patrón extremadamente favorable para el desarrollo y la reproducción de *D. citri*. La información obtenida en este trabajo muestra como el principal vector del HLB podría causar daños muy graves en la citricultura de la cuenca mediterránea.

Introducción

Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (Figuras 1 y 2) es una plaga clave de los cítricos dado su papel como vector de la bacteria que causa el huanglongbing (HLB) o *greening* (Grafton-Cardwell y col., 2013). Además de *D. citri*, esta enfermedad también la transmite otro psílido, el psílido africano de los cítricos *Trioza erythrae* (Del Guercio) (Hemiptera: Triozidae) (Bové, 2006). La mayoría de las regiones donde se cultivan cítricos en todo el mundo ya han sido colonizadas por HLB o al menos uno de sus vectores. Si no se toman medidas, los árboles pueden morir entre cinco y diez años tras la infección (Bové, 2006). La enfermedad del HLB está causada por tres especies de bacteria *Candidatus Liberibacter* (Ca. L.): Ca. L. asiaticus (Las), Ca. L. americanus (Lam), y Ca. L. africanus (Laf). Los síntomas de la enfermedad incluyen la aparición de manchas cloróticas en las hojas, deformaciones y reducción de tamaño en la fruta, además de un sabor agrio en su zumo. Esta enfermedad está causando grandes pérdidas sobre la producción de cítricos de todo el mundo (Wang y col., 2017). La actual dispersión del HLB incluye la mayor parte de las zonas citricolas de Asia, América y África (EPPO 2019a). Sin embargo, esta enfermedad, aún no se ha detectado en las zonas productoras de la cuenca mediterránea y Australia (EPPO 2019a). Las zonas citricolas de Brasil y Estados Unidos detectaron en primer lugar al psílido, *D. citri*, y posteriormente la bacteria (Las) (Wang y col., 2017). Por esta razón, la detección de *T. erythrae* en la península ibérica en 2014 (Pérez-Otero y col., 2015) alarmó a los productores de cítricos de los países de la cuenca mediterránea, sabiendo que el establecimiento de este psílido, o de *D. citri*, es un requisito indispensable para el del HLB (Urbaneja y col., 2020a).

El psílido asiático de los cítricos, *D. citri*, sin presencia aún en Europa, tiene un potencial biótico muy elevado y alta capacidad de adaptación a distintas condiciones climáticas. Este hemíptero está distribuido por todo Asia, América y el nordeste de África (EPPO 2019b). Esto deja a la cuenca mediterránea rodeada por zonas con presencia de este vector del HLB, y con ello, aumenta el riesgo de invasión por *D. citri*.



Figura 2. Ninfas de *Diaphorina citri* alimentándose sobre un brote tierno del patrón citrange Carrizo.

/ *D. citri*, sin presencia aún en Europa, tiene un potencial biótico muy elevado y alta capacidad de adaptación a distintas condiciones climáticas /

Métodos de control de *Diaphorina citri*

Existen distintos métodos de control de la enfermedad del HLB, que incluyen la plantación de árboles libres de la enfermedad en viveros, el control químico del vector, o eliminar árboles infectados para reducir el inóculo de la enfermedad (Grafton-Cardwell y col., 2013; Stansly y col., 2014). Al mismo tiempo, existen otras opciones para curar a los árboles que ya tienen la bacteria *Ca. Liberibacter* spp., las cuales incluyen el uso de inyecciones en tronco de antimicrobianos, la termoterapia y otros compuestos que estimulan las defensas del cítrico (Blaustein y col., 2018).

En cuanto al control del vector *D. citri*, se están poniendo a punto técnicas de aplicación de insecticidas económicamente viables, en la que se intenta mantener la diversidad de los

transferencia tecnológica

| cítricos |

enemigos naturales y una baja toxicidad en el ambiente (Monzo y Stansly, 2017). Estos métodos de control deben ser compatibles con el control biológico (Tena y col., 2017). Sin embargo, en la actualidad la lucha más eficaz contra el HLB en los países donde aún no está presente es la prevención (Urbaneja y col., 2020b).

Patrones de cítricos y *Diaphorina citri*

En la búsqueda de métodos de control, se están investigando los mecanismos de defensa de las plantas contra la enfermedad del HLB y su vector. De hecho, existen algunos trabajos que han demostrado que el patrón trifoliado, *P. trifoliata*, y algunos de sus híbridos, pueden ser tolerantes al HLB (Albrecht y Bowman, 2012). Además, se ha observado que este patrón tiene un efecto repelente para *D. citri* (Hall y col., 2015; Westbrook y col., 2011). Esto podría ser fruto de distintos mecanismos de resistencia (antixenóticos y/o antibióticos), como la presencia de tricomas en las hojas jóvenes, lo que sugiere un tipo de defensa física (Hall y col., 2017). Además, en relación con las tasas reducidas de puesta en patrones trifoliados, se ha pensado que pueden estar involucradas kairomonas o metabolitos secundarios de las plantas (Robbins y col., 2012). El patrón trifoliado se ha utilizado comúnmente como parental en programas de mejora de portainjertos (Westbrook y col., 2011) ya que es resistente al virus de la tristeza de los cítricos (CTV), a *Phytophthora* spp. y el nematodo de los cítricos *Tylenchulus semipenetrans* (Martínez-Alcántara y col., 2013). Como la tolerancia del portainjerto al HLB afecta a la del cultivar injertado, la optimización de las combinaciones de portainjerto y cultivar se considera una táctica útil para gestionar de manera efectiva el HLB (Wang y col., 2017).

Hoy en día, uno de los portainjertos de cítricos más utilizados en Europa es citrange Carrizo (Legua y col., 2018), un híbrido entre la naranja dulce, *C. sinensis*, altamente susceptible a *D. citri*, y *P. trifoliata*. Aunque varios experimentos de campo centrados en la gestión del HLB y sus vectores han incluido en sus estudios distintas variedades injertadas en citrange Carrizo

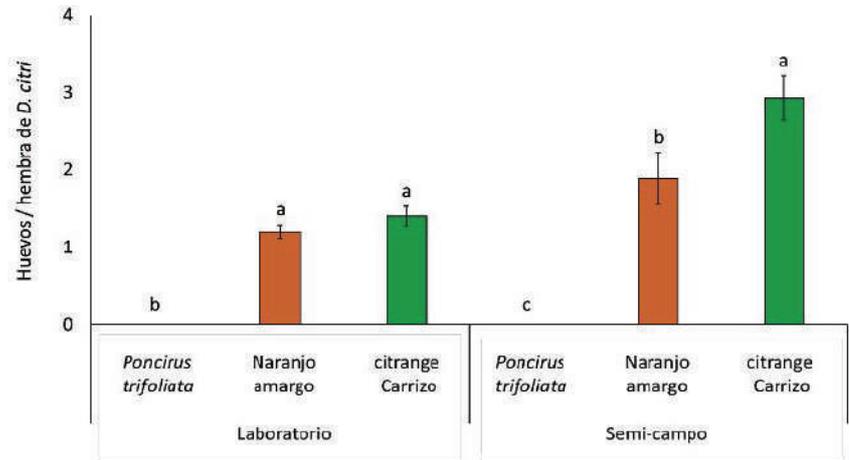


Figura 3. Promedio de huevos puestos por hembra de *D. citri* después de 24 horas sobre cada uno de los patrones estudiados *Poncirus trifoliata* (resistente), naranja amargo (susceptible) y citrange Carrizo. Para cada ensayo (laboratorio y semi-campo), letras distintas indican diferencias significativas entre patrones (Bonferroni, $P \leq 0.05$).

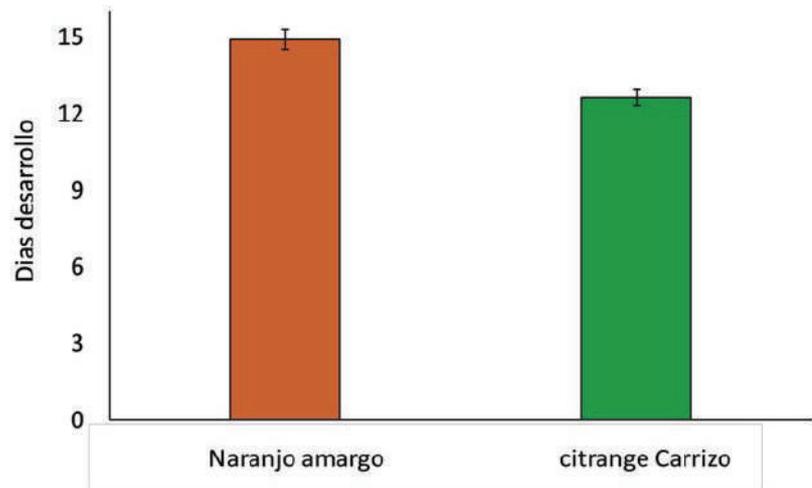


Figura 4. Promedio de días que *D. citri* utiliza para desarrollarse desde el estado de huevo hasta el de adulto sobre naranja amargo y citrange Carrizo. Estos valores son significativamente distintos (t-student, $P \leq 0.05$).

zo (Hall y col., 2017; Monzo y Stansly, 2017), ninguno de estos estudios ha evaluado los efectos de este patrón sobre el comportamiento y la supervivencia de *D. citri*. Por ello, en este trabajo se estudiaron en condiciones de laboratorio y semi-campo la supervivencia, desarrollo, puesta y preferencia de *D. citri* sobre uno de los patrones más utilizados en Europa, citrange Carrizo.

Diaphorina citri sobre citrange Carrizo

Tanto en condiciones de laboratorio como de semi-campo, el porcentaje de individuos muertos de *D. citri* fue más elevado en el patrón *P. trifoliata*

(laboratorio: 39%; semicampo: 52%) que en naranja amargo (laboratorio: 1%; semicampo: 9%) y en citrange Carrizo (laboratorio: 1%; semicampo: 10%). Además, la puesta en el patrón *P. trifoliata* fue nula en ambos experimentos, confirmando la elevada resistencia de este patrón contra el psílido, *D. citri*, que otros estudios ya han demostrado. En cambio, *D. citri* puso el mismo número de huevos en citrange Carrizo que en naranja amargo en condiciones de laboratorio, aunque el patrón más susceptible en condiciones de semi-campo fue citrange Carrizo, con un mayor índice de puesta que en naranja amargo (Figura 3). Otro de los resultados

que confirmó que citrange Carrizo es el patrón más susceptible de los estudiados, fueron los experimentos de desarrollo, en los que se evaluó el tiempo empleado por *D. citri* para completar su desarrollo desde el estado de huevo hasta el de adulto. El psílido necesitó menos días para poder completar su desarrollo sobre el patrón citrange Carrizo (Figura 4). Finalmente, en los experimentos de elección (Figura 5), donde se soltaron cien individuos de *D. citri* en el centro de una jaula, donde el psílido podía elegir entre los tres patrones estudiados. Tras 24 y 48 horas después de la suelta de los psílicos, se observó que el patrón más atractivo para *D. citri* fue citrange Carrizo, seguido del naranjo amargo, y *P. trifoliata* (Figura 6).

Conclusiones

Este trabajo ha demostrado que citrange Carrizo es un patrón altamente susceptible a *D. citri*. Estos resultados son extremadamente importantes para los productores de cítricos de la cuenca mediterránea ya que este patrón es uno de los más utilizados en esta región (Forner-Giner y col., 2011). La adaptación de este psílido a condiciones climáticas de diferentes partes del mundo y sobre distintos huéspedes indican que este insecto puede adaptarse fácilmente a las condiciones climáticas de la cuenca mediterránea. El establecimiento de este psílido en el Mediterráneo podría causar daños devastadores para la citricultura. Por ello, es necesario seguir trabajando sobre patrones alternativos e identificar nuevos patrones potencialmente resistentes a los vectores de la enfermedad del HLB, tanto a *D. citri* como a *T. erytrae*, y que puedan reemplazar al patrón susceptible citrange Carrizo, si fuese necesario.

Agradecimientos

Esta investigación fue parcialmente financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad de España (MINECO) (AGL2011-30538-C03-01 y AGL2014-55616-C3-3-R) y la Universidad de Florida (UF). Los autores agradecen a José M. Alegría y Rita Duncan (UF) por su ayuda en la realización de estos ensayos. PUB recibió una beca predoctoral del Ministerio de Ciencia español y Tecnología (MCINN) (EEBB-I-14-08555).



Figura 5. Distribución de los patrones *Poncirus trifoliata* (a), citrange Carrizo (b) y naranjo amargo (c) utilizados en el experimento de elección. Los árboles estaban dentro de una jaula fabricada con malla anti-insectos.

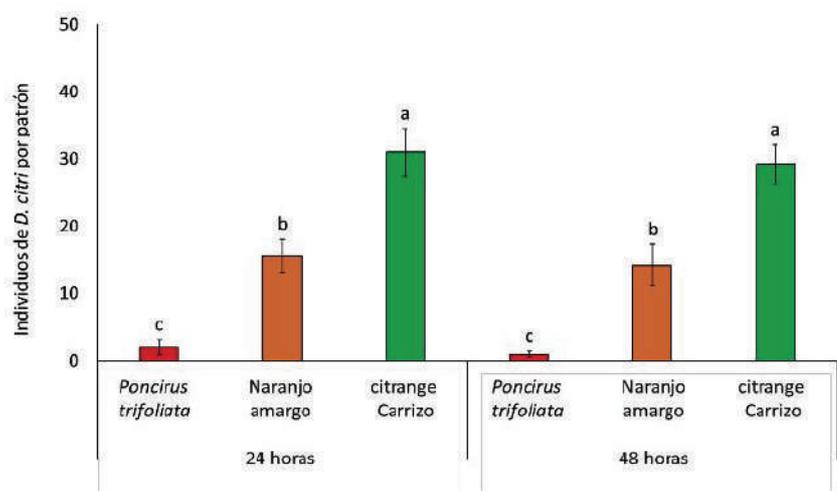


Figura 6. Experimento de elección donde se muestra el promedio de *D. citri* que se encontraron sobre cada uno de los patrones estudiados. 24 y 48 horas después de realizar una suelta de cien individuos de *D. citri* en el centro de la jaula, donde podía elegir entre los tres patrones estudiados. Las distintas letras explican diferencias significativas entre patrones (Bonferroni, $P \leq 0.05$) a las 24 y 48 horas.

Bibliografía

- Albrecht, U., Bowman, K.D., 2012. Tolerance of trifoliolate citrus rootstock hybrids to *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Sci Hortic* (Amsterdam) 147, 71–80.
- Blaustein, R.A., Lorca, G.L., Teplitski, M., 2018. Challenges for managing *Candidatus Liberibacter* spp. (Huanglongbing disease pathogen): Current control measures and future directions. *Phytopathology* 108, 424–435.
- Bové, J.M., 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J plant Pathol* 88, 7–37.
- Cocuzza, G., Urbaneja, A., Hernández-Suárez, E., Siverio, F., Di Silvestro, S., Tena, A., Rapisarda, C., 2017. A review on *Trioza erythrae* (African citrus psyllid), now in mainland Europe, and its potential risk as vector of huanglongbing (HLB) in citrus. *J Pest Sci* (2004) 90, 1–17.
- EPP0 (2019a). EPP0 Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/LIBEAS/distribution>
- EPP0 (2019b). EPP0 Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/distribution>
- Forner-Giner, M.Á., Rodríguez-Gamir, J., Primo-Millo, E., Iglesias, D.J., 2011. Hydraulic and chemical responses of citrus seedlings to drought and osmotic stress. *J Plant Growth Regul* 30, 353–366.
- Grafton-Cardwell, E.E., Stelinski, L.L., Stansly, P.A., 2013. Biology and management of asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. *Annu Rev Entomol* 58, 413–32.
- Hall, D.G., Ammar, E.-D., Bowman, K.D., Stover, E., 2017. Epifluorescence and stereomicroscopy of trichomes associated with resistant and susceptible host plant genotypes of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae), vector of citrus greening disease bacterium. *J Microsc Ultrastruct* 6, 56–63.
- Hall, D.G., George, J., Lapointe, S.L., 2015. Further investigations on colonization of *Poncirus trifoliata* by the Asian citrus psyllid. *Crop Prot* 72, 112–118.
- Legua, P., Martínez-cuenca, M.R., Bellver, R., Forner-giner, M.Á., 2018. Rootstocks and scions impact on lemon quality in southeast Spain. *Int Agophys* 32, 325–333.
- Martínez-Alcántara, B., Rodríguez-Gamir, J., Martínez-Cuenca, M.R., Iglesias, D.J., Primo-Millo, E., Forner-Giner, M.A., 2013. Relationship between hydraulic conductance and citrus dwarfing by the Flying Dragon rootstock (*Poncirus trifoliata* L. Raft var. monstrosa). *Trees* 27, 629–638.
- Monzo, C., Stansly, P.A., 2017. Economic injury levels for Asian citrus psyllid control in process oranges from mature trees with high incidence of huanglongbing. *PLoS One* 12, 1–25.
- Pérez-Otero, R., Mansilla, P., del Estal, P., 2015. Detección de la psila africana de los cítricos, *Trioza erythrae* (Del Gercio, 1918) (Hemiptera: Psylloidea; Triozidae), en la Península Ibérica. *Arq Entomológicos* 13, 19–122.
- Robbins, P.S., Alessandro, R.T., Stelinski, L.L., Lapointe, S.L., 2012. Volatile profiles of young leaves of rutaceae spp. varying in susceptibility to the asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomol* 95, 774–776.
- Stansly, P.A., Arevalo, H.A., Qureshi, J.A., Jones, M.M., Hendricks, K., Roberts, P.D., Roka, F.M., 2014. Vector control and foliar nutrition to maintain economic sustainability of bearing citrus in Florida groves affected by huanglongbing. *Pest Manag Sci* 70, 415–426.
- Tena, A., Stouthamer, R., Hoddle, M.S., 2017. Effect of host deprivation on the foraging behavior of the Asian citrus psyllid parasitoid *Tamarixia radiata*: observations from the laboratory and the field. *Entomol Exp Appl* 1–9.
- Tsai, J.H., Liu, Y.H., 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on Four Host. *J Econ entomolgy* 93, 1721–1725.
- Urbaneja A., Grout T.G., Gravena S., Wu F., Cen Y., Stansly P.A. 2020a. Chapter 16 - Citrus pests in a global world, Editor(s): Manuel Talon, Marco Caruso, Fred G. Gmitter, The Genus Citrus, Science Direct. Woodhead Publishing, Pages 333-348,
- Urbaneja, A., Pérez-Hedo, M., Marco-Noales, E., Urbaneja-Bernat, P., Hernández-Suárez, E., Monzó, C, y Tena, A. 2020b. La prevención es todavía la mejor arma contra el Huanglongbing o greening de los cítricos. *Vida rural*, 50-56.
- Wang, N., Pierson, E.A., Setubal, J.C., Xu, J., Levy, J.G., Zhang, Y., Li, J., Rangel, L.T., Martins, J., 2017. The *Candidatus Liberibacter*–Host Interface: Insights into pathogenesis mechanisms and disease control. *Annu Rev Phytopathol* 55, 451–482.
- Westbrook, C., Stover, E., Duan, Y.P., 2011. Colonization of citrus and citrus- related germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Hortscience* 46, 997–1005.