



**Universidad  
de La Laguna**

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA  
SECCIÓN DE INGENIERÍA AGRARIA

GRADO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y DEL MEDIO RURAL

***‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ y fitoplasmas,  
agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y  
enrojecimientos de la zanahoria”***

Laura González Hernández

San Cristóbal de La Laguna, septiembre 2018



**AUTORIZACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO  
POR SUS DIRECTORES  
CURSO 2017/2018**

DIRECTOR – COORDINADOR: Jalel Mahouachi Mahouachi

DIRECTOR: Felipe Siverio de la Rosa

como Director/es de la alumna Laura González Hernández en el TFG titulado: Control de '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarilleos y enrojecimientos de la zanahoria".

Nº de Ref 6

Doy/damos mi/nuestra autorización para la presentación y defensa de dicho TFG, a la vez que confirmo/confirmamos que el alumno ha cumplido con los objetivos generales y particulares que lleva consigo la elaboración del mismo y las normas del Reglamento de Trabajo Fin de Grado de la Escuela Politécnica Superior de Ingeniería.

La Laguna, a 3 de septiembre de 2018

Fdo:

**SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE TRABAJO FIN DE GRADO**



## **Agradecimientos**

Emprender un trabajo de investigación implica paciencia, trabajo y esfuerzo, pero sin duda se necesita apoyo constante. Por ello, quiero expresar mi más sincero agradecimiento al **Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA)** y al **Laboratorio de Sanidad Vegetal** del Servicio de Sanidad Vegetal de la Dirección General de Agricultura y Desarrollo Rural del Gobierno de Canarias por permitir que haya desarrollado mi Trabajo Final de Carrera en sus instalaciones.

A mis directores **D. Felipe Siverio de la Rosa** quien ha dedicado su tiempo, sus conocimientos, paciencia, positividad, por animarme y confiar en mí en todo momento y a **D. Jalel Mahouachi Mahouachi** por su dirección y por prestarme su ayuda siempre que la he necesitado para llevar a cabo este trabajo.

A **D. Santiago Perera González** (Agente Especialista en Protección de Cultivos en Cabildo Insular de Tenerife) por prestarme su ayuda en este proyecto y su dedicación.

A **Ilenia Martín Alonso** por ser mi mano derecha, por tu apoyo, por adentrarte conmigo en esta aventura y por haberte convertido en una gran amiga.

A mis compañeros del ICIA: **María Quintana González de Chaves** y **Saskia Bastín**, por su interés y apoyo constante en este trabajo, por ser mis guías en los protocolos de laboratorio, por prestarme su ayuda cuando lo he necesitado. A **Diego** por organizar el trabajo en campo, a **Tere** por sus ideas e ingenio, a **Carina** por su constante apoyo y siempre estar pendiente de mí; **Rosita, Estrella, Meri, Ana, Marta, Moneiba, José Ramón, Julita, Pepe, Bruno, Milagros, Polito** y el resto del personal del ICIA por su ayuda y por hacerme sentir como en cas

A **mi familia**, por confiar en mí, por haberme brindado la oportunidad de demostrarles quien soy, por haberme inculcado los valores de fuerza, tesón y valentía, entre otros. En especial a mi **tía Sandra** por ser mi ejemplo a seguir. A **mis amigos** que me han apoyado siempre y sobre todo me han dado ánimos y fuerzas.

Y especialmente a **Sergio**, por ser mi apoyo constante y estar siempre a mi lado, por no fallarme, por levantarme cuando me he caído y no juzgarme. Muchísimas gracias, sin ti esto no hubiera sido posible.

Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto INIA (proyecto E-RTA2014-00008-C04 titulado “Epidemiología de zebra chip, situación de la enfermedad en las principales zonas de productoras de patata en España y detección de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ en otras solanáceas” del Plan Estatal de I+D+I 2013-2016, del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.





**Título: ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y enrojecimientos de la zanahoria”**

**Autores: González L., Siverio F., Mahouachi J.**

**Palabras clave: Psílicos, *Bactericera trigonica*, *Candidatus Liberibacter solanacearum*, perejil, hinojo, cilantro, zanahoria.**

**Resumen:**

‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ es una bacteria parásita obligada de las plantas que hospeda y de sus insectos vectores. En zanahoria causa síntomas de amarillos, enrojecimientos, brotaciones múltiples, emisión abundante de raicillas, y enanismo, ocasionando importantes pérdidas en las producciones. El vector que transmite la bacteria en zanahoria en Canarias es el psílido *Bactericera trigonica*. En el presente trabajo se estudió el efecto de diversos productos en el control de los amarillos y enrojecimientos en zanahoria en campo en dos ensayos, reduciendo la transmisión de la enfermedad por eliminación del vector o debido a su efecto repelente. Los ensayos se realizaron en condiciones controladas en presencia del vector infectado con la bacteria ‘*Ca. L. solanacearum*’ en zonas próximas a cultivos de zanahorias afectadas por la enfermedad. En el primer ensayo se evaluaron: caolín, clorpirifos, imidacloprida, espirotetramato, abamectina, maltodextrina, y dos concentraciones de polisulfuro de calcio y el testigo. En el segundo ensayo se evaluaron: caolín, clorpirifos, mezcla activadores, azufre mojable, aceite parafínico, polvo diatomeas, óxido de silicio y dos testigos, uno de ellos cubierto de malla anti-vector. Los resultados obtenidos con el caolín y malla señalan la importancia del uso de productos con efecto repelente visual o táctil, que aíslen la planta y que dificulten su reconocimiento, la alimentación del adulto y la oviposición, y que puedan reducir la transmisión del patógeno por sus vectores.

Plantas de la misma familia que la zanahoria podrían jugar un papel fundamental en la supervivencia de *B. trigonica* en campo en ausencia de cultivos de zanahoria. En este trabajo se estudió la oviposición y el desarrollo hasta la fase adulta de este psílido en plantas de hinojo, perejil y cilantro, frente a plantas de zanahoria, y se demuestra que es capaz de multiplicarse en todas ellas, aunque en menor proporción que en zanahoria. También se prueba el potencial de estas plantas de servir de hospederos a ‘*Ca. L. solanacearum*’. Al estudiar el ciclo de desarrollo de *B. trigonica* en plantas hospederas

alternativas a la zanahoria se ha comprobado que es capaz de completar su ciclo biológico. La supervivencia de huevos y ninfas en las hospederas alternativas fue de 10,7% en perejil, 8,8% en hinojo; 19,1% en cilantro, frente al con 67,3% en zanahoria.

Por último, se estudió la dinámica de poblaciones de *B. trigonica* en zanahoria sin la aplicación de productos fitosanitarios para su control durante más de un año de cultivo. El estudio se realizó utilizando nueve trampas amarillas pegajosa distribuidas regularmente en la parcela y en él se describe la abundancia del psílido en la parcela durante el desarrollo de las plantas desde su siembra hasta el envejecimiento y recogida, analizando la diferencia entre las capturas en las trampas en función de la orientación de sus caras y entre sus localizaciones. Al estudiar la evolución de la población de psílicos en campos de zanahoria se ha comprobado que el psílido está presente a lo largo de todo el año con picos o incrementos de población durante el verano.

**Title: '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' and phytoplasmas, etiological agents of the disease "yellowing and reddening of the carrot"**

**Autores: González L., Siverio F., Mahouachi J.**

**Key words: Psyllids, *Bactericera trigonica*, *Candidatus Liberibacter solanacearum*, parsley, fennel, coriander, carrots,**

### **Abstract**

'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' is an obligate parasitic bacterium of the plants in which it lives and in its insect vectors. It causes symptoms of leaf curling with yellow, bronze, and purple discoloration, twisting of petioles, stunting of shoots and tap roots, and proliferation of secondary roots in carrots, causing significant losses in production. The vector that transmits the bacterium in carrots in the Canary Islands is the psyllid *Bactericera trigonica*. This work studied the effect of different products in the control of the described symptoms in field carrot in two trials, either by reducing the transmission of the disease by elimination of the vector or due to its repellent effect. The tests were carried out under controlled conditions in the presence of the vector infected with the bacterium '*Ca. L. solanacearum*' near crops of carrots affected by the disease. In the first trial: kaolin, chlorpyrifos, imidacloprid, spirotetramate, abamectin, maltodextrin, and two concentrations of calcium polysulfide and the control were evaluated. In the second trial: kaolin, chlorpyrifos, an activator mixture, wettable sulfur, paraffinic oil, diatomaceous powder, silicon oxide and two controls, one of them covered with anti-vector mesh, were evaluated. The results obtained with kaolin and mesh indicate the importance of using products with a visual or tactile repellent effect, isolating the plant and making it difficult to recognize it, adult feeding and oviposition, that can reduce the transmission of the pathogen by its vectors.

Other apiacea could play a role in the survival of *B. trigonica* in the absence of carrot crops. In this work the oviposition and the development until the adult stage of this psyllid was studied in fennel, parsley and coriander plants were studied, in comparison with carrot plants, and it is demonstrated that the psyllid is able to multiply in all of them, although in a smaller proportion than in carrot. These plants were also able to host '*Ca. L. solanacearum*' with development of characteristic symptoms. When studying *B. trigonica* development in these alternative host plants to carrot, it was verified that the psyllid was able to complete its biological cycle in them. The survival of eggs and nymphs

in the alternative hosts was 10.7% in parsley, 8.8% in fennel; 19.1% in coriander, compared to 67.3% in carrots.

Finally, we studied the dynamics of *B. trigonica* populations in carrots without the application of plant protection products for their control during more than one year of cultivation. The study was carried out using nine sticky yellow traps distributed regularly in the plot and it describes the abundance of the psyllid in the plot during the development of the plants from their seed sown til their aging and recollection, analyzing the difference between the catches in the traps depending on the orientation of their faces and between their locations. When studying the evolution of the psyllid population in carrot fields, it has been verified that the psyllid is present throughout the year with peaks or population increases during the summer.





# Índice

1. Introducción.....	17
2. Objetivos.....	21
3. Revisión Bibliográfica.....	25
3.1. El cultivo de la zanahoria. ....	27
3.1.1. Origen y distribución de la zanahoria.....	27
3.1.2. Taxonomía y descripción botánica de la zanahoria.....	29
3.1.3. Fisiología de crecimiento. ....	30
3.1.4. Requerimientos de cultivo.....	31
3.1.5. Labores culturales.....	32
3.1.6. Plagas, enfermedades y desórdenes de las zanahorias. ....	35
3.2. La enfermedad. ....	43
3.2.1. Enfermedades causadas por el género “ <i>Candidatus Liberibacter</i> ”.....	43
3.2.2. Enfermedades causadas por fitoplasmas. ....	46
3.3. El Patógeno: ‘ <i>Ca. Liberibacter solanacearum</i> ’.....	47
3.4. Vector: <i>Bacteriera trigonica</i> .....	51
3.4.1. Distribución geográfica.....	55
3.4.2. Biología.....	55
3.4.3. Localización y daños.....	56
3.4.4. Control de <i>B. trigonica</i> .....	57
4. Material y Métodos.....	59
4.1. Eficacia de productos para el control de amarillos en zanahoria.....	61
4.1.1. Ubicación del primer ensayo.....	61
4.1.2. Ubicación del segundo ensayo.....	63
4.1.3. Tratamientos.....	64
4.1.4. Diseño Experimental.....	69
4.1.5. Sistema de evaluación.....	71
4.2. Estudio del ciclo biológico <i>Bactericera trigonica</i> en otras plantas hospedadoras.....	78
4.2.1. Ubicación del ensayo.....	78
4.2.2. Diseño experimental.....	79
4.2.3. Preparación y Análisis de las muestras mediante qPCR para la detección de ‘ <i>Ca. L. solanacearum</i> ’.....	81
4.3. Estudio de la dinámica de poblaciones de <i>Bactericera trigónica</i> en zanahoria sin la aplicación de productos fitosanitarios para su control en campo.....	82

4.3.1. Ubicación del ensayo.....	82
4.3.2. Condiciones ambientales .....	83
4.3.3. Diseño experimental y trampas .....	87
5. Resultados y Discusión.....	91
5.1. Eficacia de productos para el control de amarillos en zanahoria.....	93
5.1.1. Conteo huevos y ninfas en zanahorias.....	93
5.1.2. Peso de las zanahorias .....	94
5.1.3. Síntomas de las plantas de zanahoria y eficacia de los tratamientos.....	96
5.1.4. Resultados de los análisis de las muestras mediante qPCR para la detección de ‘ <i>Ca. L. solanacearum</i> ’ en psílicos y zanahoria.....	101
5.1.5. Resultados de los análisis de residuos .....	102
5.2. Estudio del ciclo biológico <i>Bactericera trigonica</i> en otras plantas hospedadoras .....	103
5.2.1. Resultados de las puestas y desarrollo de <i>Bactericera trigonica</i> . .....	103
5.2.2. Resultados de los análisis de las muestras mediante qPCR para la detección de ‘ <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> ’ en psílicos y plantas. ....	107
5.3. Estudió la dinámica de poblaciones de <i>Bactericera trigonica</i> en zanahoria sin la aplicación de productos fitosanitarios para su control en campo .....	110
6. Conclusiones.....	117
7. Bibliografía.....	125

## **1.INTRODUCCIÓN**



El cultivo de la zanahoria (*Daucus carota* L.) ocupa una superficie total de 234 ha en las Islas Canarias con una producción total de 7.504 t, que supone un valor anual de 6.501 € (Servicio de Estadística, Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Medio Ambiente del Gobierno de Canarias, 2018).

En 1999 se citan en Canarias campos comerciales de zanahorias afectados por amarillos y enrojecimientos foliares, proliferación de hojas y raicillas, afilamiento de raíces, reducción del tamaño y envejecimiento prematuro. Estos síntomas se asociaron por primera vez a fitoplasmas transmitidos por el vector *Bactericera trigonica* (Font y col., 1999).

Más tarde, se observó que *Trioza apicalis*, una de las plagas más importantes de la zanahoria en Europa, servía como vector de la bacteria ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’, y producía síntomas parecidos en Finlandia (Munyanza y col., 2010). Ésta fue la primera referencia de *Trioza apicalis* como vector de esta bacteria que sólo había sido detectada anteriormente en solanáceas, transmitida por el psílido *Bactericera cockerelli*.

En Villena (Alicante, España) se realizaron estudios para determinar la causa de amarillos y deformaciones en apio y zanahorias en los que se encontraron mayoritariamente psílicos del género *Bactericera* sp. (Villaescusa y col., 2011). Los potenciales vectores de este patógeno portador de la bacteria y citados en España son *B. trigonica*, *B. tremblayi* y *B. nigricornis*. *Bactericera trigonica* representa el 99% de los psílicos capturados en este cultivo en Canarias, y 75% y 38% en 2011 y 2012 en Villena, respectivamente (Teresani y col., 2015).

En España, se buscaron reservorios de ‘*Ca. Liberibacter*’ en malezas asociadas con cultivos de zanahoria y apio, pero las malas hierbas no parecen jugar un papel epidemiológico en la propagación de este organismo (Alfaro-Fernández y col., 2016). En 2017, se detectó ‘*Ca. Liberibacter*’ en perejil y chirivía. Por un lado, el perejil infectado mostraba síntomas de amarillos, proliferación y enrojecimiento de hojas. Por otro lado, las chirivías que fueron infectadas de la bacteria también mostraron amarillos y proliferación de hojas, así como el retraso en el crecimiento y la proliferación de raíces con senescencia de raíz (Alfaro-Fernández y col., 2017).

En las Islas Canarias (Tenerife, España) *Bactericera trigonica* es una de las plagas más importantes que afecta al cultivo de zanahorias. Este insecto produce daños de dos tipos: directo e indirecto. El daño directo lo ocasionan las ninfas y los adultos al alimentarse de la savia. El daño indirecto, como se mencionó anteriormente, está causado por bacterias del género ‘*Ca. Liberibacter*’ o por fitoplasmas introducidos en el floema por el insecto durante su alimentación. Desde 2012 se tiene la primera referencia de ‘*Ca. L. solanacearum*’ en zanahorias afectadas por psílidos de Tenerife y de este patógeno asociado a *B. trigonica* (Alfaro-Fernández y col., 2012; Teresani y col., 2015).

En 2015 se realizó un ensayo donde se evaluaron la eficacia de distintos tratamientos. El tratamiento con caolín permitió el mejor desarrollo de las zanahorias que presentaron un peso promedio superior al del resto de los tratamientos y 2,3 veces el del control. También fue el más eficaz en la reducción de síntomas, destacando la reducción en los amarillos de un 76,1%, las multibrotaciones de un 60% y los acucharados de un 37% respecto al control. Los tratamientos con clorpirifos, azadiractina, pirimicarb, piretrinas, extracto de ajo, y deltametrina no mostraron diferencias significativas respecto al control para ninguno de los síntomas estudiados.

Debido a la preocupación de los agricultores por las pérdidas causadas por *B. trigonica* en las producciones de zanahorias, que incluso han llevado al abandono del cultivo en la zona Sur de la isla, y teniendo en cuenta que no hay estudios en Canarias, ni referencias bibliográficas a nivel mundial sobre su biología, ecología, fenología, enemigos naturales, daños, distribución y control, excepto las mencionadas anteriormente; es necesario realizar trabajos de investigación que posibiliten el mejor manejo de esta plaga con el desarrollo de herramientas para un adecuado control.

## **2. OBJETIVOS**



Los objetivos de este Trabajo de Fin de Grado son los siguientes:

- a) Estudiar la eficacia de productos fitosanitarios y productos autorizados en agricultura ecológica que puedan servir para el control de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’, agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y enrojecimientos de la zanahoria.
  
- b) Estudiar de la oviposición y el desarrollo hasta la fase adulta de *Bactericera trigonica* en plantas hospedadoras alternativas: hinojo, perejil y cilantro, y determinar si estas plantas pueden servir también de reservorio de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’.
  
- c) Estudiar la dinámica de poblaciones de *Bactericera trigonica* en zanahoria sin la aplicación de productos fitosanitarios para su control en campo.



### **3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

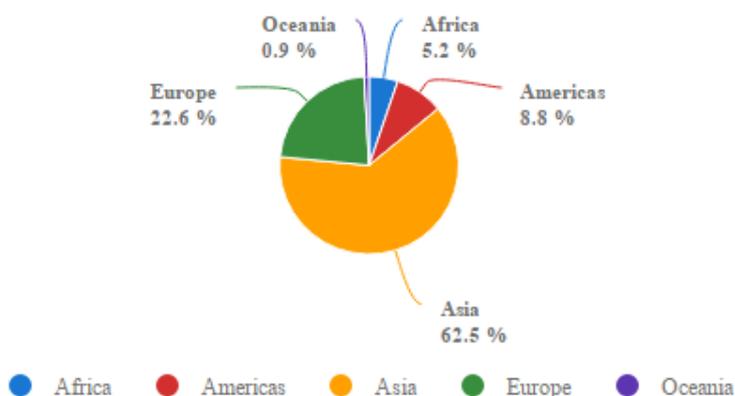


### 3.1. El cultivo de la zanahoria.

#### 3.1.1. Origen y distribución de la zanahoria.

El origen botánico de la zanahoria se localiza en el centro asiático y de la zona este del Mediterráneo donde se puede encontrar de forma espontánea. Los árabes, desde el norte de África, la llevaron a España desde donde fue introducida al resto de Europa. En el siglo XIV había llegado ya a Gran Bretaña, pero tendrían que pasar más de cien años para que el cultivo tomara cierta importancia. Durante estos años se cultivaban variedades moradas, blancas y amarillas. No fue hasta el siglo XVII que los horticultores holandeses produjeron una zanahoria anaranjada (precursora de nuestras variedades actuales) que contenía gran cantidad de caroteno (Vidal y col., 2017).

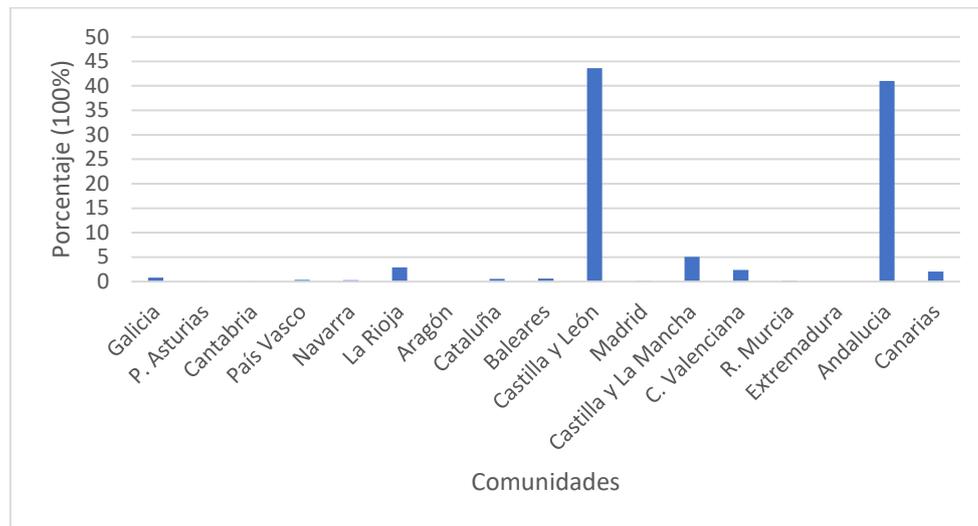
La zanahoria ha experimentado en los últimos años un crecimiento de superficie cultivada y de producción en el mundo.



**Gráfica 1.** Distribución de la producción mundial de zanahoria (FAO, 2015)

En España la superficie de zanahoria cultivada es de 6.692 ha con una producción de 410.865 toneladas (FAO 2015). Actualmente cabe destacar cuatro zonas de producción de zanahoria:

- Castilla y León (principalmente Segovia y Valladolid).
- Andalucía (Cádiz).
- Castilla y La Mancha (Albacete).
- La Rioja



**Gráfico 2.** Porcentaje de producción de zanahoria en las diferentes comunidades de España (FAO, 2015)

El cultivo de la zanahoria en Canarias tiene mayor importancia en las islas de Tenerife y Gran Canaria, siendo la superficie total en las islas de 234 ha en 2016 (Tabla 1) (ISTAC, 2016).

**Tabla 1.** Superficies de cultivo de zanahoria en las Islas Canarias (ISTAC,2016)

Isla	Superficie cultivo de zanahoria (ha)
Lanzarote	5,8
Fuerteventura	-
Gran Canaria	91,6
<b>Total: Provincia de las Palmas de G.C</b>	<b>97,4</b>
El Hierro	5,1
Tenerife	96,2
La Gomera	10
La Palma	25,3
<b>Total: Provincia Sta. Cruz de Tenerife</b>	<b>136,6</b>
<b>Total: Canarias</b>	<b>234</b>

### 3.1.2. Taxonomía y descripción botánica de la zanahoria.

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Apiales
- Familia: Apiaceae
- Género: *Daucus*
- Especie: *Daucus carota*

La zanahoria es una especie bianual con nombre botánico *Daucus Carota L. subsp. sativus* (Hoffm) Arcang., perteneciente a la familia de las Umbelíferas (Sobrino, 1994). Todas las especies de este género poseen el mismo número de cromosomas  $2n=2x=18$ . Esta especie posee una gran variabilidad (Sobrino, 1994).

Presenta un sistema radicular napiforme, de forma y colores variables. Tiene función almacenadora, y también presenta numerosas raíces secundarias que sirven como órganos de absorción. El objeto del cultivo es la producción de esta raíz carnosa, que ofrece diferencias de color, tamaño y forma según la variedad (Maroto, 2002).

Las flores de zanahoria son hermafroditas, pequeñas y blancas, o blancas con tonalidades verdes con largas brácteas en su base, agrupadas en inflorescencias en umbela compuesta, con predominio de polinización cruzada como consecuencia de mecanismos de protandria.



**Foto 1.** Flor de la zanahoria en campo.

Las hojas son bipinnadas o tripinnadas, con segmentos lanceolados, lobulados y puntiagudos. El fruto es un diaquenio soldado por su cara plana, que en el lado libre es convexo con finas costillas, y están guarnecidos de aguijones encorvados que por frotamiento se eliminan con el objeto de facilitar la siembra (Sobrino, 1994).

La zanahoria presenta gran variedad en la forma y en el color de la raíz, existiendo variedades cuya raíz es amarilla y cuya forma suele ser alargada, pero en general las variedades más apreciadas son las de raíces rojo-anaranjadas que se clasifican en función de su longitud en:

- Largas: de longitud superior a los 20-25 cm, como Hicolor, Bercoro, Flacoro, Saint Valery, Scarla, destinadas normalmente a la industria.
- Semilargas: cuya longitud es de 15-20 cm, como Primato, Nantesa, Tip-Top, Forto, Expres, Slendero, Marko, Romosa, que son las más demandadas para consumo en fresco.
- Semicortas: cuya longitud es de 10-12 cm, como Foram, Chantenay, y en las que se incluyen variedades de forma cónica.
- Cortas: con longitud inferior a 10 cm, como Rojo de Nancy, Early French Frame, Corta de Guerande, con formas esféricas y muy precoces (Maroto, 2002).

### **3.1.3. Fisiología de crecimiento.**

La zanahoria es una planta bianual que, en condiciones normales, durante el primer año de cultivo, desarrolla una roseta de hojas y almacena reservas en su propia raíz, hipertrofiándola. Lester et al. (1982) han estudiado los procesos fisiológicos de la acumulación de azúcares en la zanahoria y su relación con otros parámetros de crecimiento, habiendo concluido que las líneas varietales que acumulan mayor contenido en azúcares son las que poseen una madurez fisiológica más tardía, lo que les permite una mayor prolongación de la actividad fotosintética.

Durante el segundo año de cultivo emite el tallo floral, que se expansiona gracias a las reservas acumuladas en el primer año de cultivo. Es una planta de día largo. En general se admite que las semillas más grandes son las que germinan mejor, sobre todo en suelos compactos.

Existen algunos cultivares más resistentes a subida a flor que otros. Según estudios, con una temperatura de crecimiento de 21-27 °C, no se debe producir subida a flor de ninguna planta. Para temperaturas de 15-21 °C el porcentaje es muy pequeño. Sin embargo, si se someten a una temperatura de entre 4-10 °C durante 15 días suben a flor del 100 % de las plantas. La subida a flor prematura hace que la zanahoria pierda su interés comercial por completo, ya que produce una lignificación de los tejidos radiculares (Vidal y col., 2017).

La temperatura juega un papel importante en el color y el tamaño que han de alcanzar las raíces de zanahoria (Maroto,2002).

#### **3.1.4. Requerimientos de cultivo.**

Los buenos rendimientos con alta calidad de la producción dependen, entre otros condicionantes, de una correcta preparación del suelo (Gaviola, 2013), siendo determinante la forma, rugosidad y longitud de la raíz (Maroto, 2002).

Para obtener el máximo desarrollo integral de la zanahoria se requiere un suelo profundo, con una textura franco - arenosa o limosa capaz de mantener bien la humedad y con una porosidad suficiente para conferirle una buena aireación (Maroto, 2002).

El pH del suelo es importante por su influencia en la disponibilidad de nutrientes. En suelos minerales el pH óptimo para zanahoria es de alrededor de 6,5 y en los orgánicos 5,8. En general la zanahoria tolera un amplio rango de pH, entre 5 y 8. En muchas zonas del mundo la zanahoria se cultiva exitosamente en suelos ligeramente alcalinos con pH entre 7 y 7,5 (Gaviola, 2013).

Respecto a las exigencias climáticas, la zanahoria es un cultivo de estación fresca y tolera un rango amplio de temperaturas, por lo que, su producción en algunas regiones es factible a lo largo del año. Temperaturas diurnas medias entre 15 y 21 °C y noches frescas (7 °C), son favorables tanto para el crecimiento del follaje y de raíces, como también para el buen desarrollo de la forma, sabor (mayor acumulación de azúcares), y color de estas (por un mayor contenido de caroteno). Aunque las semillas pueden germinar entre 10 y 35 °C, una emergencia rápida se produce entre 20 y 30 °C. Períodos prolongados con temperaturas inferiores a 10 °C pueden inducir floración prematura (Gaviola, 2013).

En el periodo de acumulación de reservas, las temperaturas frescas provocan el alargamiento y la fuerte pigmentación de la raíz, por el contrario, las temperaturas elevadas, la acortan y la hacen perder su color. Si a partir de una cierta edad de la planta y un determinado número de hojas, generalmente siete, se producen temperaturas frías de forma reiterada, se puede provocar una vernalización que dará como consecuencia la subida a flor.

No es aconsejable hacer fuertes aportes de materia orgánica inmediatos a una siembra de zanahoria que liberen nitrógeno en exceso provocando un fuerte desequilibrio entre las raíces y las hojas a favor de estas últimas y disparen ciertos problemas patológicos. Por el contrario, niveles muy pobres de materia orgánica ocasionan problemas de estabilidad en la estructura de la raíz e indirectamente se provocan problemas de pudrición. Si se requieren aportes de materia orgánica es preferible incorporarlos dentro de la rotación del cultivo, o con una antelación de 5 o 6 meses antes de sembrar (Maroto, 2002). Además de las condiciones básicas descritas, un buen drenaje, nivelación y ventilación sin un exceso de exposición al viento son condiciones igualmente requeridas (Maroto, 2002).

### **3.1.5. Labores culturales.**

#### **3.1.5.1. Preparación del terreno.**

La zanahoria requiere una buena preparación del terreno, de forma que éste se muestre perfectamente mullido en una determinada profundidad, mayor en las variedades largas y semilargas (Maroto, 2002). La preparación del terreno tiene varias etapas, que incluyen la incorporación de rastrojo, la descompactación del suelo (para mejorar la aireación de suelo y el contenido de humedad), la nivelación del suelo para mejorar la eficiencia de riego (especialmente en riego por gravedad), la incorporación de fertilizantes y el control de las malezas (Gaviola, 2013).

#### **3.1.5.2. Siembra.**

En zonas templadas puede sembrarse a lo largo de todo el año, aunque normalmente se suele hacer entre febrero y noviembre. En Andalucía Occidental suelen escalonar las siembras entre finales de agosto y enero. En regiones más frías, como las de Castilla y León en que se cultivan zanahorias de raíces gruesas destinadas a la industria o al mercado interior, las siembras se hacen entre marzo y mayo, para recolectar entre finales de la primavera y mediados del otoño. En esta zona es frecuente el uso de mesetas con distancias de 1-1,10 m, sobre las que se siembran 4-6 líneas (Osset, 1990).

Resulta bastante usual que la siembra se haga en surcos, distanciados entre sí 0,3-0,45m, viniéndose a consumir 2,5 y 4 kg/ha de semillas. La distancia entre plantas se puede variarse entre 8 y 15 cm. A veces se utilizan semillas pildoradas y es relativamente frecuente la utilización de sembradoras de precisión en grandes explotaciones. Con variedades de raíces gruesas para la industria se pueden gastar 20-40 semillas/ ml mientras que en el caso de variedades pequeñas destinadas a la congelación puede llegarse a las 150-200 semillas e incluso más, y cuando se trate de variedades para mercado fresco ( $\varnothing$  de 2,5-4 cm), entre 80 y 140 semillas/ml (PHM, 1985).

En ocasiones para mejorar la germinación se hace uso de la técnica 'priming'. Es una práctica comúnmente usada para mejorar la emergencia a campo en cuanto a la siembra antes de que comience a germinar, para evitar daños en la raíz. La técnica del acondicionamiento osmótico, o imbibición controlada (priming), promueve el inicio de la germinación, sin que haya emergencia de la raicilla. La semilla tratada con este método germina en el campo más rápida y uniformemente que la no tratada (Gaviola, 2013).

A medida que se incrementa la densidad de plantación las raíces son más cilíndricas y menos cónicas, aunque pueden aparecer interacciones con otros factores como el cultivar, la temperatura, el momento de efectuar la recolección, etc. (Stanhill, 1977), en lo que se refiere a los rendimientos.

### **3.1.5.3. Cuidados culturales.**

El problema de las malas hierbas hay que atajarlo desde el principio de cultivo, ya que la zanahoria en sus primeros estadios necesita un periodo de tiempo largo para asentarse y cubrir el suelo, lo que las hace vulnerables a la competencia de adventicias. Existen diferentes métodos para el control de adventicias: las prácticas químicas con la utilización de herbicidas; mecánicas de forma manual o mediante el uso de escardadoras; físicas mediante la solarización y a través de control biológico con biodesinfección (Monserrat, 2003).

### **3.1.5.4. Recolección.**

Las variedades de zanahoria tienen un ciclo de cultivo variable, que cubren entre 75 y 220 días, aunque los ciclos más utilizados varían entre 90 y 130 días (Sobrino,1994). La recolección puede realizarse manualmente o a máquina. Esta última puede ser: máquina arrancadora con reja de ataque localizada, maquina arrancadora alineadora, máquina arrancadora con planchas basculantes de rejilla y elevador de lona y máquina arrancadora

por pinzamiento de hojas. A veces estas máquinas llevan incorporados unos discos dentados para deshojar las raíces, aunque en ocasiones estos discos deshojadores se pasan independientemente sobre la plantación, en cuyo caso, es necesario regularlos bien, con el fin de evitar cortar los cuellos de las raíces. El rendimiento medio de un cultivo de zanahorias puede cifrarse entre 25 y 35 t/ha. (Maroto, 2002). En los cultivos de altos rendimientos en Canarias se puede obtener producciones de hasta 100 t/ha.

### **3.1.5.5. Fertilización.**

El cultivo de la zanahoria tiene preferencia por suelos de textura arenosa (suelos ligeros) muy permeables. El pH ideal está en torno a 5,5-6,5. La zanahoria es un cultivo relativamente sensible a la salinidad del agua de riego. Es por tanto preferible aplicar abonos que salinicen lo menos posible las aguas de riego y del suelo.

En cada etapa de su ciclo la zanahoria tiene necesidades nutritivas diferentes:

- El nitrógeno juega un papel importante en las primeras etapas del desarrollo ya que influye directamente sobre el desarrollo vegetativo de la planta de zanahoria. Sin embargo, un exceso de nitrógeno en las últimas etapas del cultivo puede conducir a un desarrollo excesivo y desequilibrado de las hojas respecto de la raíz, con la consecuente reducción de la calidad de la cosecha (Maroto,2002).
- El fósforo está vinculado principalmente a la fotosíntesis, la respiración y otros procesos metabólicos. Una adecuada nutrición fosfórica está asociada con un incremento del tamaño de la raíz y la maduración temprana (Gaviola, 2013).
- El calcio es tiene un papel importante en la formación de la pared celular, crecimiento y división celular y asimilación de N. La deficiencia de este elemento en zanahoria causa el colapso de los folíolos y de los tejidos cercanos al punto de inserción al pecíolo, los tejidos suculentos se secan o mueren (Gaviola, 2013).
- Otro macroelemento es el magnesio que se requiere en cantidades inferiores al calcio. Se aporta siempre en el agua. Su ausencia provoca una reducción de la capacidad fotosintética (plantas amarillas, de crecimiento ralentizado) (Maroto, 2002).

Los momentos de fertilización principales, aunque no necesariamente críticos, son antes de la plantación y durante el crecimiento (Gaviola, 2013).

Para la mayoría de las condiciones de campo, el manejo de la fertilización recomendado consiste en una aplicación de base de 75 a 150 kg de N/ha, 25 a 125 kg de P/ha y de 0 a 175 kg/ha de K. Estas cantidades son frecuentemente complementadas con un adicional de 75 a 150 kg/ha de N dividido en dos o tres aplicaciones durante el crecimiento del cultivo (Gaviola, 2013).

#### **3.1.5.6. Riego.**

De forma general, un cultivo regado de forma progresiva en función del estado de desarrollo de las raíces produce un aumento del rendimiento con mayores calibres, raíces más lisas con lenticelas menos marcadas y una actividad fotosintética mayor, que se traduce en una mayor tasa de acumulación de azúcares (CTIFL, 1992).

Hay tres períodos críticos para el riego en el cultivo de zanahoria:

- Implantación del cultivo: período que va desde la emergencia hasta que las plantas emiten las dos primeras hojas verdaderas.
- Desarrollo de las hojas y la elongación de la raíz: las necesidades de agua crecen paralelamente al desarrollo del sistema foliar.
- Engrosamiento de la raíz: el aumento de peso es muy rápido y se gana o se pierde el rendimiento del cultivo. Es la fase de acumulación en la raíz del caroteno, cuando adquiere la fuerte coloración anaranjada. La falta de riegos en estos momentos puntuales ocasiona pérdidas irreparables en el rendimiento. Los déficits sostenidos ocasionan la pérdida en rendimientos por raíces más finas, también la depreciación del producto por deformaciones en el grosor o productos endurecidos y menos lisos. El exceso o las variaciones bruscas en los riegos pueden provocar agrietados y pudriciones radiculares (CTIFL, 1992). El sistema de riego utilizado habitualmente en este cultivo es la aspersión.

#### **3.1.6. Plagas, enfermedades y desórdenes de las zanahorias.**

- Plagas

Mosca de la zanahoria (*Psila rosae Fabricius*, 1794): díptero cuyo adulto mide 4,5 mm, presenta cabeza parda y abdomen alargado y negro. Las larvas son de color blanco amarillento brillante, de 7-8 mm de longitud. Las hembras ovopositan en el suelo y a los 10-12 días, salen las larvas que penetran en el interior de la raíz. Más tarde estas galerías serán origen de pudriciones si las condiciones son favorables (CTIFL, 1992). El tiempo

caliente y seco no favorece al insecto y que temperaturas superiores a 22 °C detienen su desarrollo (CTFIL, 1992).

Su control se consigue no plantando zanahorias en la misma parcela dos años seguidos, y evitando la presencia de umbelíferas que favorece la multiplicación de la plaga. Un método efectivo de control biológico es la asociación con otras hortalizas como cebollas, col cerrada, cilantro o puerros. El control mediante lucha química se debe centrar en la desinfección del suelo (CTFIL, 1992). Se puede combatir también mediante pulverizaciones de ciromacina, diazinon, fonofos o aplicaciones al suelo de fonofos, tricloronato, diazinon, pirimifos, etil-bromo, carbofurano, carbosulfán, etc., siempre respetando al máximo los plazos de seguridad establecidos (Maroto, 2002).

Gusano de alambre (*Agriotes obscurus* L., *A. sputator* L., *A. lineatus* L.) son coleópteros de la familia Elateridae cuyas larvas, de cuerpo alargado y cilíndrico, son conocidas como gusanos de alambre. En primavera las larvas atacan a plantas jóvenes mordiendo y tronchando el tallo por debajo del suelo y en verano-otoño se alimentan de las raíces de la zanahoria produciendo galerías que en ocasiones generan podredumbre. Durante el cultivo se pueden emplear cebos o productos insecticidas (Bielza, 2003).

Gusano gris (*Agrotis spp.*), se llaman así a las orugas de color gris de diversas especies de lepidópteros. Se comportan como plagas polífagas que atacan a numerosos cultivos por la noche, alimentándose de hojas bajas y partes subterráneas del cultivo y durante el día se enrollan y entierran a varios centímetros de profundidad. Se pueden controlar mediante pulverizaciones con productos químicos apropiados, aplicando gránulos o utilizando cebos con pesticidas (Bielza, 2003).

Pulgonas (*Cavariella aegopodii* (Scop.), *Aphis fabae* (Scop.), *Myzus persica* (Sulz.), *Dysaphis crataegi* Kalt, *Semiaphis dauci* Fabricius), las plantas de zanahoria se ven atacadas por diversas especies de pulgonas que además del daño directo que ocasionan, son vectores de diversas enfermedades víricas. Los pulgonas se alimentan picando la epidermis, por lo que también producen fuertes abarquillamientos en las hojas que toman un color amarillento.

Existen numerosos depredadores de pulgones como *Coccinella septempunctata* L., *Chrysopa spp.* y algunos parásitos himenópteros que desarrollan sus larvas en el interior del pulgón (Tascón, 2005).

Orugas (*Chrysodeixis chalcites* (Esper.), *Plusia gamma* L., *Spodoptera littoralis* (Boisd), *Papilio Machaon* L., etc). Para su control se puede utilizar *Bacillus thuringiensis* Berliner (Tascón, 2005).

Psila de la zanahoria (*Bactericera trigonica* Hodkinson, 1981), que se describirá y estudiará a lo largo de este trabajo.

- Nematodos

Existen diversas especies de nematodos que pueden causar daños a las zanahorias. El modo de parasitismo determina el tipo de daño y su intensidad. Existen nematodos patógenos ectoparásitos y endoparásitos. Los primeros son nematodos libres del suelo que se alimentan de las células superficiales y no penetran en los tejidos, pero las lesiones que provocan son la puerta de entrada a diversas pudriciones. Los endoparásitos son los que penetran en el hospedante y, si son sedentarios, se fijan en la planta hasta que finaliza su desarrollo. Estas especies inducen en el vegetal la formación de células de transferencia o células gigantes (Agrios, 1995).

Entre ellos podemos encontrar:

*Heterodera carotae*, Jones (1950), a los nematodos de este género se les conoce como “nematodos formadores de quistes”. Los síntomas que producen afectan directamente al rendimiento comercial, ya que disminuyen la alimentación de la planta, y las raíces presentan deformaciones, bifurcaciones y, frecuentemente, una cabellera de raicillas oscuras que impiden su venta. Se recomiendan las rotaciones largas de 5 años, debido a que la población se mantiene por debajo del nivel que ocasiona daños después del cuarto año sin zanahorias o plantas hospederas.

*Meloidogyne spp.*, los nematodos del estado juvenil 2 (J2) son los que causan la infección, desplazándose por el suelo en busca de la planta y penetrando en la raíz a través de la

cofia. Migra entre las células del córtex hacia las zonas de diferenciación fijándose en la periferia de los tejidos vasculares donde induce la formación de 4-6 células gigantes. Esta agalla comienza a desarrollarse 1 o 2 días después de la penetración de la larva J2. La hembra produce alrededor de 500 huevos que quedan en el exterior de la raíz cubiertos por una masa gelatinosa de color castaño. Los síntomas son semejantes a los que causa la *Heterodera carotae*. La presencia de microorganismos del suelo y la ausencia de plantas hospederas o temperaturas demasiado bajas o altas, así como humedad insuficiente y anoxia pueden inhibir la eclosión de los huevos (López-Pérez, 2003).

- Enfermedades fúngicas de las hojas

*Alternaria dauci* ((Khün)Groves y Skolko) (quemadura de las hojas), este hongo se manifiesta como lesiones irregulares en las hojas y pecíolos de color marrón que puede acabar con la hoja entera. También provoca podredumbre en las hojas nuevas (UC, 2009).

Los conidios de *Alternaria* son muy resistentes a la sequía y pueden germinar después de un año en condiciones secas, sus esporas se diseminan a través de las gotas de agua de lluvia o riego. El mejor medio de lucha es la pulverización de fungicidas sobre las hojas.

*Cercosporiosis* (*Cercospora carotae* (Pass.)) aparece inicialmente como una mancha de color marrón oscuro y a menudo se desarrolla un halo clorótico alrededor. La enfermedad progresa produciendo hojas amarillentas con rizado en los márgenes. En los tallos y hojas se producen lesiones alargadas y de color marrón oscuro (UC, 2009). Aparece muy pronto sobre las hojas jóvenes que se vuelven amarillas y se riza el margen al evolucionar la enfermedad. La enfermedad se transmite por semillas, por restos de cultivo infectados o por el suelo (Messiaen, 1975).

Oidio (*Erysiphe umbelliferaum* (Lev), ataca a las hojas más viejas produciendo un crecimiento blanco pulverulento. Las hojas jóvenes desarrollan manchas blancas pequeñas y circulares. Puede evolucionar a una pequeña clorosis o amarillamiento en las hojas (UC, 2009). Se desarrolla entre 13-31°C y altas humedades, el riego por aspersión puede frenar su evolución. Los espolvoreos o pulverizaciones de azufre son efectivos para el control o la prevención.

Mildiu (*Plasmopara nivea* Unger) este oomiceto produce manchas amarillentas en el haz y un micelio afieltrado en el envés (Maroto, 2002). Se puede prevenir con tratamientos de productos a base de cobre, manganeso o zinc, o con productos sistémicos.

- Enfermedades producidas por hongos y oomicetos de las raíces

Cavity spot (*Pythium violae*, es la principal especie que causa esta enfermedad, pero también pueden producirla *P. intermedium*, *P. sulcatum* y *P. rostratum*) (Guba, 1961). Los primeros síntomas que podemos encontrar en la zanahoria son unas lesiones hundidas y elípticas orientadas a través de la anchura de la raíz. Más tarde, observaremos la ruptura de peridermis y una lesión oscura alargada. Estos pueden ocurrir al azar sobre la raíz o pueden ser más densos sobre la mitad superior (R. Michael Davis, 2002). La enfermedad se ve favorecida por excesos de humedad y de abonos nitrogenados. Los tratamientos químicos utilizados para desinfectar el suelo son efectivos (como el uso de Metalaxil 5%), y se recomiendan como medidas preventivas un buen sistema de drenaje, evitar los suelos pesados, realizar rotaciones con otros cultivos y mantener una fertilización nitrogenada equilibrada (Messiaen, 1995).

*Rhizoctonia violacea* (Tull.), la enfermedad producida por este patógeno es poco frecuente y no aparecen síntomas sobre las hojas antes de la muerte de la planta, que raramente alcanza la fase final. La infección comienza alrededor de un mes después de la nascencia, el micelio penetra en los tejidos hasta el cambium y la zona dañada se cubre de una capa punteada de “cuerpos miliares” que forman una red aterciopelada de color púrpura o azulado, e invalida la zanahoria para su comercialización. Este hongo es muy resistente, pudiendo llegar a sobrevivir hasta 20 años en el suelo. Para controlar esta enfermedad se aconseja eliminar plantas enfermas y restos de cultivo, y practicar rotaciones con cereales, que presenten cierta tolerancia al parásito o con especies de *Allium* que favorecen el papel antagonista del suelo frente al parásito (Messiaen, 1995). Existen otras especies de *Rhizoctonia* que atacan a las raíces como *R. solani*, que produce podredumbre del cuello, y *R. carotae* que provoca la podredumbre de color pardo oscura.

Podredumbre negra (*Stemphylium radicinum* (Meier. Neergaard), este hongo causa lesiones de tamaño variable que se sitúan en la parte superior de la zanahoria. Las lesiones están deprimidas y recubiertas de un tapiz de fructificaciones conídicas negras y

aterciopeladas. La parte aérea de la planta también puede verse atacada, incluso la enfermedad puede seguir desarrollándose tras la cosecha durante el almacenamiento. El óptimo de temperatura para esta enfermedad es de 28°C, aunque se desarrolló en un amplio rango de 0-34 °C (Messiaen, 1995).

Enfermedad del anillo (*Phytophthora megasperma* (Drechs.)). El síntoma en la raíz de la zanahoria puede ocurrir en el campo o durante el almacenaje. Las partes infectadas de la raíz principal son marrones oscuros a negras y de una consistencia parecida a la goma. Las lesiones pueden observarse en cualquier parte de la raíz. El micelio blanco del patógeno es a veces evidente sobre las lesiones. Las lesiones se amplían, envejecen y poco a poco se extienden transversalmente alrededor de la raíz formando un anillo, de ahí la procedencia de su nombre.

Para controlar la putrefacción de raíz hay que manejar con cuidado el agua del suelo. Los campos deberían estar preparados con un buen drenaje, suficiente para evitar los períodos prolongados de saturación de agua alrededor de raíces. Debemos de evitar la compactación del suelo. La irrigación debería ser programada para evitar suelos extremadamente mojados o secos. Las zanahorias deberían ser almacenadas a temperaturas cerca de la congelación sin condensación sobre la superficie de raíz (UC, 2009).

Podredumbre blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) (Lib.) de Bary). Es un hongo con un amplio rango de huéspedes. La enfermedad se conoce también como "Putridión Blanda Algodonosa". El hongo sobrevive en el suelo como esclerocio, que son cuerpos negros, duros, de forma irregular y tamaño entre 5-7 mm. La infección a campo es más común, pero la infección en almacenamiento también puede ocurrir debido al uso de contenedores contaminados. *Sclerotinia* es un patógeno de temperaturas bajas, infectando principalmente a temperaturas entre 13-19 °C. En suelos contaminados por este hongo se recomienda tres años de rotaciones con cereales o pasturas (Gramíneas) (Gaviola, 2013).

- Producidas por bacterias y actinomicetos

Bacteriosis americana de la zanahoria *Xanthomonas hortorum* pv. *Carotae* (Kendrick) Vauterin, Hoste, Kesters y Swings. Los síntomas sobre hojas al principio aparecen como

pequeñas manchas amarillas y angulares que se expanden en unos días en lesiones irregulares, marrones, empapadas por agua y rodeadas por un halo amarillo. Los centros de las lesiones se hacen secos y frágiles. Las lesiones comúnmente se observan sobre los márgenes de las hojas, sobre todo en la `V` de la unión formada entre los lóbulos. Es recomendable el tratamiento de las semillas con agua caliente (52°C durante 25 minutos) (Messiaen, 1995).

Sarna común (*Streptomyces scabies*) (Hanson, 1990). La costra se caracteriza por lesiones levantadas o parecidas a un cráter sobre raíces. Los síntomas son similares a los que se observan en papa, produce formaciones horizontales corchosos en relieve sobre las raíces. Los ataques se producen principalmente sobre suelos secos de pH de 5,5 -7,5. Para disminuir la aparición de esta enfermedad es conveniente no sembrar zanahorias después de plantaciones de papa, reducir el pH del suelo y regar por aspersión (Messiaen, 1995).

Podredumbre blanca de la raíz (*Pectobacterium carotovorum*) (Jones, 1901) Walde 1945 esta enfermedad aparece como una podredumbre blanda, babosa y húmeda en las raíces, que desprende mal olor. Con frecuencia se pudre el corazón de la zanahoria dejando la epidermis intacta. Las hojas se amarillean y luego se marchitan. Entra en el vegetal a través de las heridas y las bajas temperaturas inhiben su desarrollo. Su control se basa en prácticas como evitar los encharcamientos, corregir problemas de drenaje y evitar que se produzcan heridas en las raíces. En postcosecha es necesario mantener un adecuado estado sanitario, tratarlas con cuidado para evitar heridas y almacenar en frío (Tascón, 2005).

'Candidatus Liberibacter solanacearum' que se describirá posteriormente en este trabajo.

- Enfermedades producidas por virus

Virus del enanismo abigarrado (CMD, *Carrot motley dwarf*), se trata de un complejo vírico formado por los virus: Carrot mottle virus (CMoV) y Carrot red leaf virus (CtRLV). Este complejo vírico provoca un mosaico amarillo intenso en las hojas jóvenes, acompañado de un enrojecimiento y enroscamiento de las hojas externas. El crecimiento de las raíces se ralentiza, pudiéndose reducir los rendimientos a un tercio de lo normal. El CRLV es transmitido de forma específica por *Cavariella aegopodii*, pulgón ligado a

las umbelíferas (Messiaen, 1995) por el contrario el CMoV puede ser transmitido mecánicamente, pero no por el áfido. Para reducir la aparición de esta enfermedad debemos controlar las poblaciones de pulgón.

Virus de la hoja fina de la zanahoria (CTLV, Carrot thin leaf potyvirus), este virus lo transmite el áfido *Myzus persicae*. Los síntomas que presentan las hojas de la zanahoria son de aspecto retorcido, dando al follaje un aspecto estrecho y deformado. Las plantas pueden tener también un moteado de color amarillo. El virus sobrevive en plantas hospederas infectadas, normalmente del cultivo anterior. Cuando las plantas son infectadas en una edad joven, las hojas pueden ser sumamente delgadas, de ahí el nombre de la enfermedad.

- Desequilibrios y desordenes fisiológicos

Raíces bifurcadas, es el accidente fisiológico más común que se produce en los cultivos de zanahorias. Son diversos los factores que pueden inducir a esta fisiopatía en la que el meristemo apical de la raíz se ve afectado, produciéndose una parada en el crecimiento en longitud, provocando el arranque de raíces secundarias desde el punto dañado. Entre los factores causantes encontramos las condiciones climáticas desfavorables como el frío y la destrucción de la parte terminal de la raíz provocada por nematodos, hongos, exceso de agua, exceso de estiércol fresco, suelos pedregosos o con mala estructura, trasplante y fitotoxicidad de productos químicos como fumigantes (CFTIL, 1992).

Raíces agrietadas, las zanahorias se pueden rajarse durante el desarrollo del cultivo, en la recolección, limpieza o embalaje. Se produce la ruptura de la pared celular de los tejidos de la raíz, relacionada con la presión de turgencia de las células. Las causas pueden ser: cantidad de agua que contienen las raíces, genotipo, siembra temprana, riegos irregulares, suelos arenosos, crecimiento elevado por fertilización nitrogenada, cambios bruscos de temperatura y ataques de organismos como *Pythium* (CFTIL, 1992).

Necrosis foliares, pueden verse necrosis marginales en hojas todavía no desarrolladas totalmente, en el caso de que el cultivo se esté realizando en condiciones climáticas muy favorables. Esta necrosis se atribuye a una mala traslocación del calcio, como ocurre en

los denominados Tipburn, y puede corregirse parcialmente mediante la aplicación foliar de este elemento (Maroto, 2002).

Carencia de boro, provoca manchas gomosas en las raíces, enmarronecimiento de las mismas y descamaciones (Maroto, 2002).

### **3.2. La enfermedad.**

#### **3.2.1. Enfermedades causadas por el género "Candidatus Liberibacter".**

El género 'Candidatus Liberibacter' está formado por bacterias Gram negativas pertenecientes a la familia Rhizobiaceae de la clase Alphaproteobacterias, que viven exclusivamente en el floema de las plantas que hospedan y en el sistema circulatorio (hemolinfa) de algunos psílidos que actúan como vectores (BOVÉ, 2006). Este género está asociado con el Huanglongbing (HLB), ya que disminuye la calidad de la fruta debido a la decoloración del fruto, así como el moteado de las hojas, pudiendo provocar incluso la muerte del cítrico.



**Foto 2.** Brotes amarillos, moteado difuso y clorosis asimétrica en hojas por HLB (IVIA).

Jagoueix et al. (1994) fueron los primeros que describieron dos especies del género 'Candidatus Liberobacter': 'Candidatus Liberobacter asiaticum' y 'Candidatus Liberobacter africanum', que más tarde, fueron renombradas 'Candidatus Liberibacter asiaticus' y 'Candidatus Liberibacter africanus' para ajustarse al Código Internacional de Nomenclatura de Bacteria (Garnier, 2000). En 2004, aparece una tercera especie 'Candidatus Liberibacter americanus', que fue descrita en Brasil (Teixeira, 2005). El término *Candidatus* (Ca.) se utiliza para indicar que estas bacterias no se pueden

conservar hasta el momento en colecciones de microorganismos, porque no se han podido aislar ni mantener en cultivo puro al ser patógenos o endosimbiontes obligados (Murray y Schleifer, 1994). Por tanto, tampoco se ha podido cumplir con los postulados de Köch, necesarios para establecer la relación causal entre un organismo y una enfermedad (BOVÉ, 2006). En conjunto estas tres especies de ‘Candidatus Liberibacter’ sólo han sido encontrados infectando cítricos y otros miembros de la familia Rutaceae. Estas especies son transmitidas por los psílidos *Diaphorina citri* Kumayama y *Trioza erythrae* Del Guercio (Munyaneza, 2010).

Por otro lado, se han descubierto nuevas especies del mismo género como ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’, también conocida como ‘*Ca. Liberibacter psyllaourous*’, en cultivos de solanáceas y umbelíferas (Munyaneza, 2012). ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’ afecta, dentro de las solanáceas, a la papa (*Solanum tuberosum* L.), el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), el pimiento (*Capsicum annuum* L.), la berenjena (*Solanum melongena* L.), el tomatillo (*Physalis spp.*), el tomate de árbol (*Solanum betaceum* L.) y a varias malezas de esta familia (Munyaneza, 2012).

A mediados de los años noventa, se observó una enfermedad aparentemente nueva de papa en México y partes de Centroamérica (De Boher, 1933). Los síntomas foliares se parecían a los causados por los fitoplasmas, incluyendo la rotación hacia arriba de los folíolos, coloración púrpura o amarilla, tubérculos aéreos, quemadura de las hojas y senescencia temprana. Los tubérculos frescos mostraron una decoloración marrón al cortarlas y freirlas para producir papas fritas. La presencia de estas rayas características fue la causante del nombre de esta enfermedad “zebra chip” (ZC) (Munyaneza, 2010).



**Foto 3.** Oscurecimiento del tejido vascular a lo largo de toda la longitud del tubérculo (José Luis Palomo, Salamanca)

Al principio, esta enfermedad se relacionó con el psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc), el cual se creía que inyectaba una toxina o transmitía un patógeno no conocido hasta entonces. (Munyanza, 2007). Más tarde, se asoció ZC con la bacteria ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’ transmitida por el psílido *B. cockerelli* (Munyanza, 2012).

‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’ fue identificada como agente causal de la enfermedad ‘Tomato vein-greening’ en cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.) en Nueva Zelanda (Liefting, 2009). En México en 2009 se observaron plantas que también presentaban los mismos síntomas. Asimismo, también se encontró que la bacteria estaba asociada con el psílido de la papa-tomate *Bactericera cockerelli* en California (Munyanza, 2010).

*Triozia apicalis* (Hemiptera:Triozidae) es una de las plagas que afecta en Escandinavia, Finlandia y en otras partes del Norte y Centro de Europa al cultivo de zanahorias, *Daucus carota* L. subsp. *Sativus*. Los síntomas que muestran las plantas afectadas incluyen el rizamiento de las hojas, amarillos, bronceados y decoloración púrpura de las mismas, así como retraso del crecimiento de los brotes y raíces, aunque también existe la proliferación de raíces secundarias (Munyanza, 2010). Estos datos parecían indicar que hay una fuerte relación entre bacterias del género ‘*Ca. Liberibacter*’ y los psílicos (Munyanza, 2010).

En 2008 se detectaron en Villena (Alicante) anomalías en apio consistentes en falta de desarrollo, amarillos y deformaciones de hojas, excesiva brotación y pencas más delgadas y retorcidas. En las zanahorias se encuentran amarillos y enrojecimientos de hojas, proliferación de hojas en corona, deformación en raíces y una abundante proliferación de raicillas secundarias. (Villaescusa, 2011).

En Canarias, campos de cultivo de zanahoria situados en Tenerife mostraron síntomas de la enfermedad durante los años de 2009 y 2010 donde se encontró una gran población del psílido *Bactericera trigonica*. Anteriormente, síntomas similares habían sido asociados con fitoplasmas Stolbur y Aster Yellows (1997 y 1998) y, posteriormente, a *Spiroplasma citri* (2009 y 2010). Los resultados de las investigaciones confirmaron la presencia de ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’ en las zanahorias y en el psílicos *B. trigonica* (Alfaro-Fernández y Sivero, 2012).

### **3.2.2. Enfermedades causadas por fitoplasmas.**

Los fitoplasmas son microorganismos fitopatógenos transmitidos por insectos vectores que viven como parásitos obligados del floema de las plantas que les sirven de hospederas. Son bacterias de aproximadamente una micra de diámetro, sin pared celular, preiomórficas que no pueden ser cultivadas '*in vitro*'. Desde su descubrimiento por Doy et al. (1967) hasta 1990, en que se propuso el término fitoplasma (Hogenhout, 2008), se las denominó '*mycoplamalike organisms*'-(MLO). En 2004 se definió el grupo taxonómico "*Candidatus Phytoplasma*" para este conjunto único de microorganismos patógenos de plantas (The IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team, 2004).

Se detectó por primera vez en España la presencia de fitoplasmas Stolbur y Aster yellows en plantas de zanahoria y se comprobó que la psila *B. trigonica* era un insecto-vector de los fitoplasma Stolbur (Font., 1999). En las zanahorias que presentaban sintomatología anómala se encontraban presentes pulgones de la especie *Cavariella aegopodii* Scopoli y psilas de la especie *Bactericera trigonica* siendo las poblaciones de estas últimas mayores. Al realizar el estudio, las enfermedades transmitidas por el áfido fueron negativas. Por el contrario, la amplificación del ADN de las plantas de las zanahorias transmitidas experimentalmente por la psila indicó que habían sido infectadas por un fitoplasma (grupo Stolbur) que estaba infectando a las zanahorias enfermas de las que procedían las psilas. También se detectó un fitoplasma incluido dentro del grupo del Aster yellows en zanahorias procedentes de Segovia que presentaban amarillos y proliferación exagerada de hojas y raicillas secundarias (Font, 1999). Los síntomas anteriormente descritos para los dos fitoplasma tienen muchas similitudes con la enfermedad causada por *Candidatus Liberibacter solanacearum*, por lo que no es posible diferenciarlos en campo.

Los fitoplasmas que se transmiten a la zanahoria son:

- Aster yellows: es una procariota sin pared celular, limitado por una membrana plasmática trilaminar. Los fitoplasmas incluidos en el grupo del Aster yellows causan enfermedades de tipo "amarillo", perteneciente al subgrupo ribosomal del 16Sr, I-B. Afecta a un gran número de especies de plantas. Produce amarillo general o clorosis, enanismo, distorsión y deformación de las hojas, esterilidad de

## **‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y enrojecimientos de la zanahoria”**

las flores y malformación de los órganos florales, disminución en cantidad y calidad de la cosecha. En zanahoria comienza con un aclareo de los nervios de las hojas, que evoluciona a un amarilleo de las hojas jóvenes de la corona. Se generan muchos brotes adventicios y las hojas adultas toman coloraciones bronceadas o rojizas. Las zanahorias son pequeñas, ahusadas o con formas anormales y con gran cantidad de raíces secundarias pubescentes. La corona toma forma de cono, se acortan los entrenudos y se producen brotaciones axilares (SEF, Sociedad Española de Fitopatología, 2010). La transmisión de este fitoplasma es por cicadélidos, entre los que cabe destacar *Macrostelus fascifrons* como el vector más importante y *M. quadrilineatus* y *Euscelidius variegatus*, entre otros muchos (SEF, Sociedad Española de Fitopatología, 2010).

- Stolbur: es una procariota sin pared celular, restringido a floema y ocasionalmente en células del parénquima. Pertenece al subgrupo ribosomal del 16Sr XII. Fitoplasma del grupo Stolbur causan enfermedades de tipo “amarilleo”. En zanahorias produce amarillos y enrojecimiento en las hojas adultas, excesiva brotación de las yemas de la corona, deformación de las raíces, reducción del tamaño y envejecimiento prematuro de las mismas. Se trasmite por injerto, propagación vegetativa y diversas especies de cicadélidos. En zanahoria está citada *Bactericera trigonica* como vector de este patógeno (SEF, Sociedad Española de Fitopatología, 2010).

### **3.3. El Patógeno: ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’.**

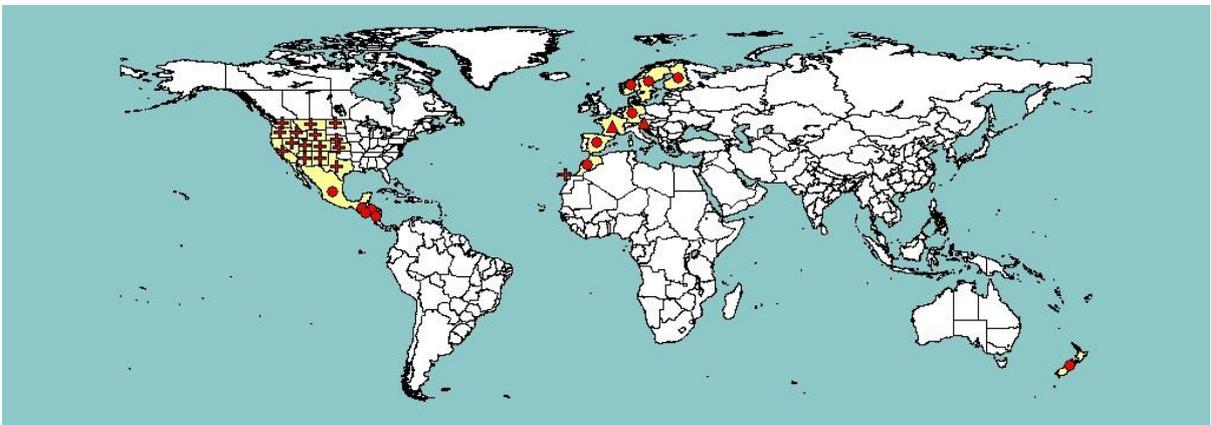
‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ es una bacteria limitada al floema, gram-negativa, incultivable in vitro (Liefting, 2009) que se propaga desde plantas infectadas a plantas sanas mediante vectores psílidos de forma persistente (incluso transovárica, a través del huevo).

Actualmente se han descrito cinco haplotipos de la bacteria:

- Haplotipo A: se encuentra en Norte América, Mexico, Centro América y Nueva Zelanda (Nelson, 2011). Está asociado a la enfermedad zebra chip en papa. El vector conocido es *Bactericera cockerelli* (psílido del tomate/papa) (Nelson,2013).

**‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y enrojecimientos de la zanahoria”**

- Haplotipo B: se encuentra desde el Este México hacia el Norte hasta Texas. También está asociado la enfermedad zebra chip en papa y a enfermedades de otras especies de plantas solanáceas, como es el caso de *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum* y *Nicotiana spp.* Su vector también es *Bactericera cockerelli* (psílido del tomate/papa) (Nelson, 2011).
- Haplotipo C: se han encontrado en Finlandia, Francia, Noruega y Suecia, y está asociado a zanahoria (*Daucus carota*) (MAGRAMA,2017). El vector descrito que lo trasmite es *Trioza apicalis* (Munyaneza, 2010; Nelson, 2011).
- Haplotipo D: se ha encontrado en Marruecos y España (Península e Islas Canarias) y está asociada a la zanahoria (*Daucus carota*). El único vector que se ha demostrado que puede transmitir estos haplotipos en zanahoria es *B. trigonica* (Alfaro-Fernández, 2012). Las especies *B.tremblayi* y *B. nigricornis* están citados como vectores potenciales de la bacteria (Teresani, 2014).
- Haplotipo E: se ha encontrado en Francia, Marruecos y España peninsular. Está asociado con zanahoria, apio y chirivía y recientemente en papa (España). Su propagación también únicamente relacionada con *B. trigonica*.



**Figura 1.** Mapa de la distribución de *Candidatus Liberibacter solanacearum*. EPPO-PQR. (Abril, 2018).

En zanahoria, los síntomas producidos por esta bacteria son amarillos y enrojecimiento de las hojas en corona, deformaciones en raíces y una abundante proliferación de raicillas secundarias.



**Foto 4.** Detalle de hojas con amarillos



**Foto 5.** Hojas de zanahoria con presencia de puntas rojas



**Foto 6.** Presencia de enrojecimientos en hojas de zanahoria



**Foto 7.** Hojas de zanahoria con acucharado



**Foto 8.** Zanahoria con proliferación anómala de nuevos brotes



**Foto 9.** Zanahoria con proliferación abundante de raicillas

Como se ha nombrado con anterioridad los haplotipos de '*Ca. Liberibacter*' C, D y E afectan a las zanahorias y el haplotipo E, también, afecta al apio (Alfaro-Fernández, 2012; Nelson, 2013; Teresani, 2014).

Un estudio realizado por Monger y Jeffries en 2016 muestra como las secuencias del ARN ribosomal de semillas de perejil dan positivo a los halotipos D y E, que son los más comunes para zanahoria y apio en Europa.

En España, se buscaron reservorios de ‘*Ca. Liberibacter*’ en malezas asociadas con cultivos de zanahoria y apio, pero las malas hierbas no juegan un papel epidemiológico en la propagación de este organismo (Alfaro-Fernández y Font, 2016). En 2017, se detectó ‘*Ca. Liberibacter*’ en perejil y chirivía. Por un lado, el perejil infectado mostraba síntomas de amarillos, proliferación y enrojecimiento de hojas. Por otro lado, las chirivías que fueron infectadas de la bacteria también muestran amarillos y proliferación de hojas, así como el retraso en el crecimiento y la proliferación de raíces con senescencia de raíz (Alfaro-Fernández, 2017).

Todo ello aumenta el rango de acogida de ‘*Ca. Liberibacter*’ en la familia de Apiáceas.

### **3.4. Vector: *Bacteriera trigonica***

El insecto vector de ‘*Ca. L. solanacearum*’ en zanahoria en las Islas Canarias es *Bactericera trigonica* (Hodkinson, 1981). Este insecto pertenece a la familia Triozidae Löw que se encuentra dentro de la superfamilia Psylloidea.

Esquema taxonómico:

- Reino: Animal
- Filo: Artropoda Latreille
- Clase: Insecta L.
- Orden: Hemiptera L.
- Suborden: Sternorrhyncha Amyot - Serville
- Superfamilia: Psylloidea
- Familia: Triozidae Löw
- Género: *Bactericera* Puton
- Especie: *Bactericera trigonica* Hodkinson (1981)

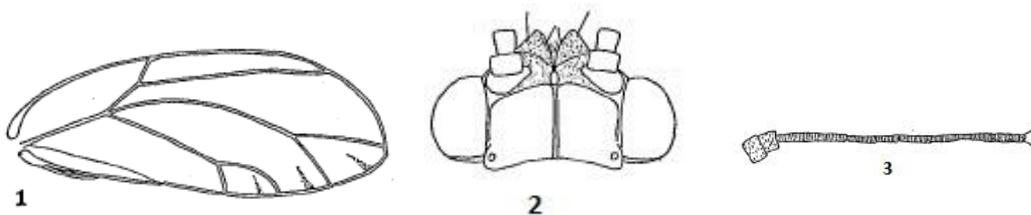
La especie *Bactericera trigonica* fue descubierta por Hodkinson en 1981, debido a que se distinguía de otros miembros del mismo género por la forma de los genitales masculinos y del ala delantera. Su nombre se deriva de la forma triangular del proctigero masculino (Hodkinson, 1981).



**Foto 10.** Vista lateral izquierda de la genitalia masculina de *B. trigonica* (Ouvrard,2012)

La forma de la cabeza del adulto es ligeramente más estrecha que el tórax, curvada con conos genales piramidales más cortos que la mitad de la longitud del vértex en la línea media, inclinados hacia la parte anteroventral.

Las antenas son de 1,58 a 2,07 veces la anchura de la cabeza. Tienen diez segmentos portando un único *rhinarium* en el ápice de los segmentos 4, 6, 8, y 9; dos largas setas apicales presentes en el segmento 10. El tercer segmento de la antena es estrecho de color negro.



**Figura 2.** Morfología de distintas partes de *B. trigonica*. Imagen 1 ala anterior, Imagen 2 Cabeza, Imagen 3 antena. (Hodkinson, 1981)

El tórax no tiene características específicas, sino que es el típico del género *Bactericera*.

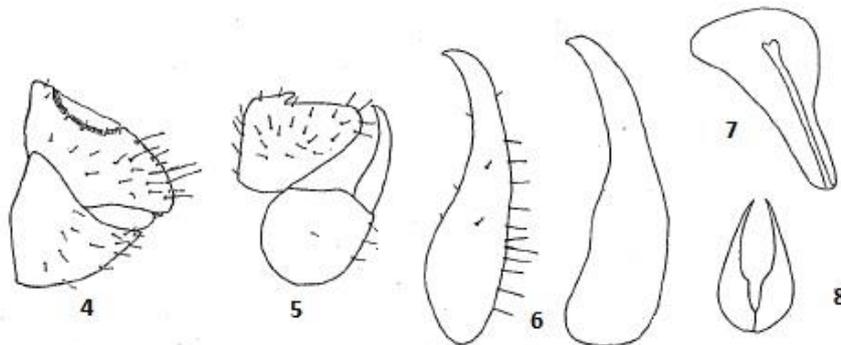


**Foto 11.** Vista lateral de individuos adultos de *B. trigonica*, hembra (derecha) y macho (izquierda)

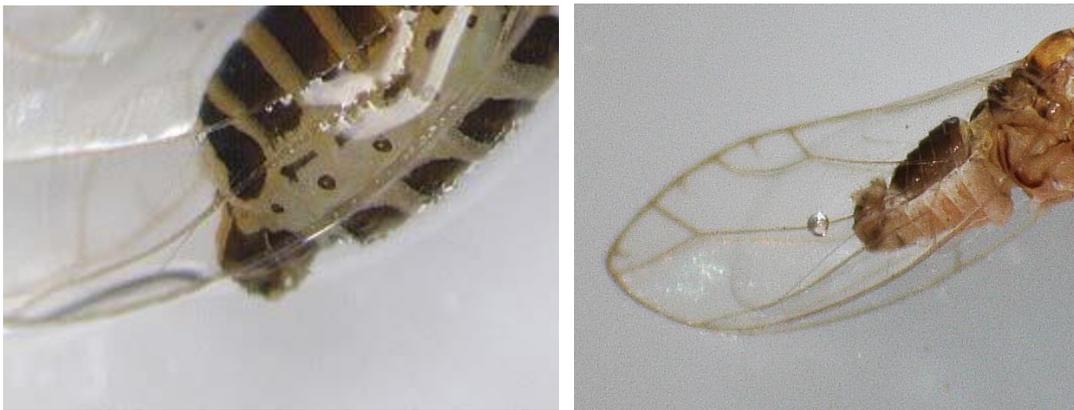
El ala anterior muestra venación típica de Triozinae: estrecha, con su mayor amplitud en el medio, 2,37-2,69 veces tan larga como ancha, 4,24-5,21 veces tan larga como la anchura de la cabeza. En las alas, posee la membrana transparente, sin espínulas superficiales salvo en las áreas del radio en los ápices de las celdas m1, m2 y cu1. Vena Rs débilmente sinuosa. Alas posteriores membranosas.

Patas anteriores y medias simples, patas posteriores saltadoras, con grandes espinas, ápice de la metatibia con 2+1 espinas apicales gruesas y negras; espinas metatarsales basales ausentes.

Genitalia femenina muy corta, 0,53-0,56 veces la longitud del protíger. El proctígero del macho triangular. Parámetro masculino en vista lateral más ancho basalmente, prolongado en un delgado ápice curvado anteriormente; en vista posterior parámetro más estrecho y menos curvado que en otros miembros del género *Bactericera* (Hodkinson, 1981).



**Figura 3.** Genitalia de *B. trigonica*-4, genitalia femenina; 10, genitalia masculina lateral; 11, páramero izquierdo lateral masculino; 13, vértice del pene; 14, vista posterior de parámetros masculinos (Hodkinson, 1981).



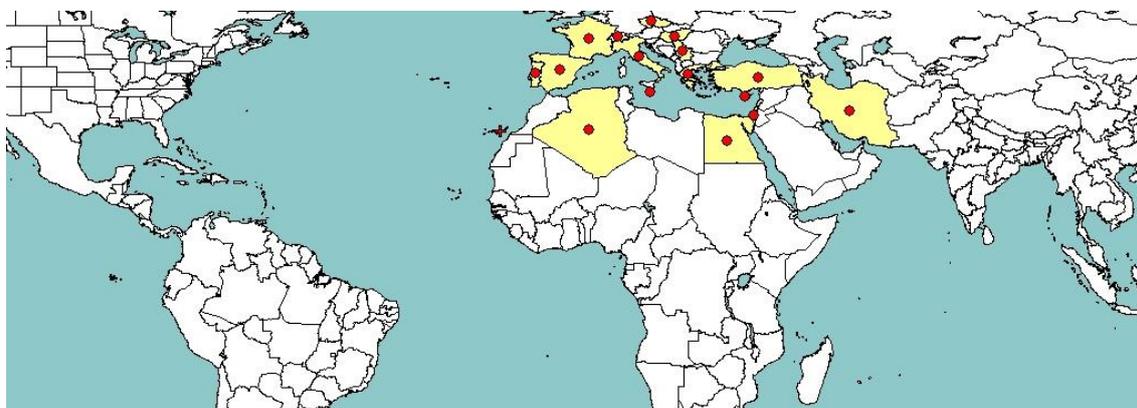
**Foto 12.** Genitalia femenina (izquierda) y Genitalia masculina (derecha))

La coloración, en general, de especímenes jóvenes es naranja-amarillo hasta marrón pálido y con rayas blancas en el dorso del tórax, antenas marrones, con conos genales de color blanco cremoso (Hodkinson, 1981). La coloración en especímenes maduros: vértex de marrón oscuro a negro con un borde naranja, conos genales blanco cremosos, antenas marrones oscuro; dorso del tórax y abdomen de marrón oscuro a negro, con marcas naranjas diseminadas; membranas intersegmentales amarillas o naranjas; genitales marrones; patas naranja amarillas con bandeado marrón; membrana del ala anterior con un tinte amarillo apenas perceptible, venas de amarillo a marrón pálido (Hodkinson, 1981).

Los tamaños de un psílido son los siguientes: anchura de la cabeza ♂ 0,46-0,55 mm, ♀ 0,49-0,54 mm; longitud antenal en ♂ 0,75-1,12 mm; ♀ 0,85-1,02 mm; longitud del ala anterior en ♂ 2,04-2,46 mm, ♀ 2,26-2,63 mm; longitud del proctigero femenino 0,26-0,34 mm; longitud del parámero masculino incluyendo porción dentro de la placa subgenital 0,15-0,19 mm; porción apical de la longitud del pene 0,10-0,12 mm (Hodkinson, 1981).

### 3.4.1. Distribución geográfica

En la actualidad *B. trigonica* se encuentra en el continente Africano (Argelia y Egipto), Asia (Irán e Israel) y Europa (Chipre, República Checa, Francia, Grecia, Hungría, Italia, Malta, Portugal, Serbia, Suiza, Turquía, España incluidas las Islas Canarias).



**Figura 4.** Mapa de la distribución de *Bactericera trigonica*. EPPO-PQR. (Abril, 2018).

### 3.4.2. Biología

La biología de *B. trigonica* no ha sido publicada hasta el momento. Se sabe que el ciclo de vida típico en los psílidos comprende un estado de huevo, cinco estadios ninfales y un estado de adulto que es capaz de reproducirse, con machos y hembras que apenas se desvían de una ratio sexual 1:1. Los ciclos de vida tienden a ser continuos, con muchas generaciones al año.



**Foto 13.** Estados de *B. trigonica* desde huevo (H) hasta adulto (A), con los cinco estadios ninfales (N1, N2, N3, N4 y N5)

Sin embargo, en un trabajo de fin de carrera anterior se estudió los parámetros biológicos de *B. trigonica*. Las condiciones en las que se desarrolló el estudio comprenden una temperatura de 25°C, HR del 60-70% y un fotoperiodo de 14L:10D. Las conclusiones de este trabajo son las siguientes:

1. La duración media del desarrollo preimaginal de *B. trigonica* fue de  $19,63 \pm 0,17$  días; siendo la duración media en días de cada uno de los estadios de: Huevo  $5,50 \pm 0,09$ , N1  $2,93 \pm 0,04$ , N2  $2,83 \pm 0,06$ , N3  $2,75 \pm 0,08$ , N4  $2,55 \pm 0,08$  y N5  $3,08 \pm 0,23$  días. Se han detectado diferencias en la duración del desarrollo de los distintos estadios de hembras y macho (Roldan, 2014).
2. La supervivencia observada para el desarrollo preimaginal fue de 66,67% siendo el estado de huevo el que registra mayor mortalidad (supervivencia del 73,33%) (Roldan, 2014).
3. Aunque las hembras vírgenes viven más que las hembras apareadas, éstas últimas ponen significativamente más huevos a lo largo de su vida,  $2,77 \pm 0,40$  huevos/hembra virgen/día frente a  $10,26 \pm 0,53$  huevos/hembra apareada/día (Roldan, 2014).
4. Los periodos de oviposición son semejantes en las hembras vírgenes y apareadas, siendo significativamente más largo el periodo de pre-oviposición (Roldan, 2014).
5. Al comparar los diferentes parámetros de desarrollo evaluados entre individuo *B. trigonica* procedentes de crías con presencia de la bacteria fitopatógena 'Candidatus Liberibacter solanacearum', se ha observado que la presencia de dicha bacteria ejerce una influencia positiva en el vector, el cual presenta mayor supervivencia (85%) y una menor duración de los estadios de H, N1 y N2 y mayor en N4 (Roldan, 2014)

### **3.4.3. Localización y daños**

Los psílidos se alimentan del floema y sus tejidos asociados o del mesófilo de la hoja, y cuando lo hacen inyectan su saliva y enzimas asociadas. Son capaces de inducir una mayor fitotoxicidad sistémica al hospedero, que da como resultado distorsiones severas del crecimiento, necrosis celular y amarillos de las hojas, consiguiendo la movilización del nitrógeno soluble y aumentando la disponibilidad de nutrientes para los insectos (Hodkinson, 2009).

Numerosos psílicos son conocidos vectores de enfermedades vegetales y por ello son considerados plagas primarias, debido a que aparece en todas las temporadas, se encuentra presente permanentemente en el cultivo y ocasiona una importante merma económica. Desde el punto de vista de los psílicos, la asociación con estas enfermedades puede traer grandes beneficios porque el patógeno es capaz de inducir cambios en el hospedero que hacen a este más aceptable o más nutritivo para el insecto. Los patógenos pueden provocar cambios fisiológicos semejantes a la senescencia prematura o producir niveles reducidos de químicos defensivos (Hodkinson, 2009). La mayor parte de las enfermedades asociadas o transmitidas por psílicos son virus y bacterias, como ‘*Ca. Liberibacter*’ y los fitoplasmas (Villaescusa, 2011). Los microorganismos son ingeridos inicialmente durante la alimentación del psílido, para posteriormente ser reinyectados en otras plantas junto con la saliva.

Los fitoplasmas y ‘*Ca. Liberibacter*’ están restringidos a los vasos cribosos del floema y circulan junto con la savia de la planta, y por eso son candidatos ideales para ser transmitidos por psilas. Dentro del insecto atraviesan las paredes intestinales, se multiplican en la hemolinfa y migran a las glándulas salivales, listos para la transmisión en la saliva. Tanto ninfas como adultos parecen capaces de transmitir fitoplasmas (Hodkinson, 2009).

Los psílicos también pueden beneficiarse del debilitamiento general de la planta causado por la fumagina que se desarrolla en los excrementos ninfales o en la melaza depositada sobre la superficie de la hoja o brote (Hodkinson, 2009).

#### **3.4.4. Control de *B. trigonica***

Las especies de psilas que visitan cultivos de zanahoria, apio y papa en España son *Bactericera trigonica* Hodkinson, *B. temblayi* Wagner y *B. nigricornis* Förster. La especie de *B. trigonica* es predominante y representa más del 99% de las psilas que visitan zanahoria en Canarias y el 75% al 38% de las capturadas en Alicante (Marco-Noales y col., 2016)

No existen medidas específicas de índole cultural para disminuir las poblaciones de psílicos. Como medida cultural principal se recomienda deshacerse de los restos de cosecha después de la recolección y utilizar trampas que capturen a los insectos.

En el caso de *B. cockerelli*, en estudios realizados en papa se indica que la época de siembra influye en la susceptibilidad a las lesiones que causa el psílido, como la infección del ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’, siendo más susceptibles los cultivos tempranos (diciembre-enero), que los cultivos iniciados a mitad de temporada o más tarde (febrero-marzo) (Munyanza, 2012).

Además, ninguno de los tratamientos químicos convencionales que han sido utilizados en ensayos (por personas de Sanidad Vegetal de la comunidad Valenciana en Villena) logró reducir la infección de ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’ a través de *B. trigonica*. Únicamente resultó efectivo el cultivo bajo malla anti-psilas. La prevalencia de la enfermedad fue mucho menor bajo malla, a pesar de emplearse lotes de semilla contaminados, pero evitó la transmisión secundaria por diferentes especies de psilas. Demuestra que una reducción permanente del número de psilas es capaz de impedir la infección de la enfermedad (Marco-Noales y col., 2016) mirar si es este año realmente

Se han estudiado los enemigos naturales de psilas y no se ha encontrado depredación ni parasitismo de *B. trigonica* en Canarias donde es predominante (Marco-Noales y col., 2016)

En un ensayo realizado Tenerife, se utilizó el caolín que presentó la mayor eficacia en el control de los síntomas de amarilleo, acucharado, multibrotaciones y raicillas. A excepción del caolín, ninguno de los restantes productos evaluados, tanto repelentes como insecticidas, obtuvieron una eficacia aceptable en el control de los síntomas de la enfermedad ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’ (Perera y col., 2017).

Los resultados obtenidos con el caolín señalan la importancia del uso de productos con efecto repelente visual o táctil, que dificulten el reconocimiento de la planta, la alimentación del adulto y la oviposición, y que pueden reducir la transmisión del patógeno por sus vectores (Perera y col., 2017).

El caolín podría ser utilizado en programas de manejo integrado de zanahoria para el control de *B. trigonica* con el fin de reducir los daños causados por la enfermedad (Perera y col., 2017).

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**



#### **4.1. Eficacia de productos para el control de amarillos en zanahoria.**

No existen productos que permitan el tratamiento directo de '*Ca. L. solanacearum*', por lo que su control se lleva a cabo actuando sobre el vector usando insecticidas químicos. Por ello es importante evaluar la eficacia de los productos fitosanitarios utilizados actualmente y de los alternativos, debido a la preocupación de los agricultores por las pérdidas causadas por esta enfermedad y al uso indebido de muchos para su control.

##### **4.1.1. Ubicación del primer ensayo**

El ensayo se desarrolló en una finca situada en la Padilla Baja en el Término Municipal de Tegueste dedicada al cultivo de la zanahoria en 2016 (Foto 14).



**Foto 14.** Vista aérea de la zona de cultivo. En azul, situación del ensayo; en verde, la localización de las parcelas cultivadas de zanahorias, durante el ensayo.

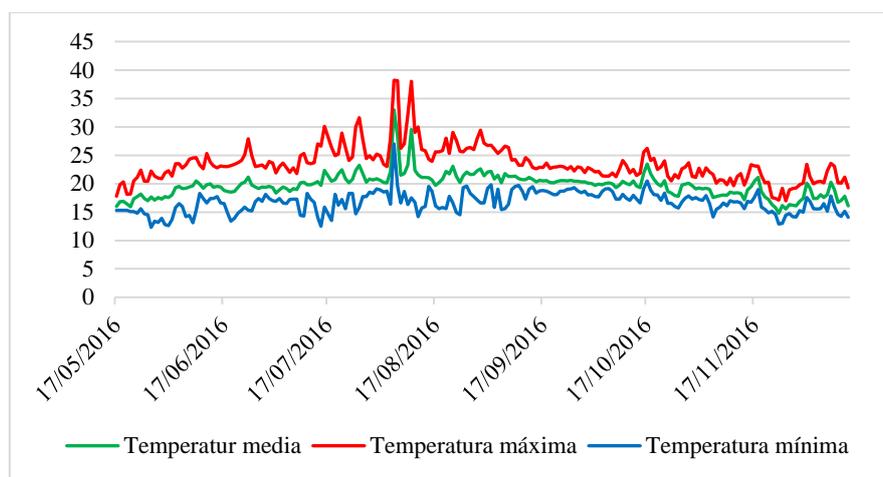
Durante el transcurso del ensayo se trasladaron las macetas a la finca de Isamar en el Término Municipal de San Cristóbal de La Laguna (Foto 15) debido a la recolección de las parcelas de zanahorias adyacentes al ensayo.



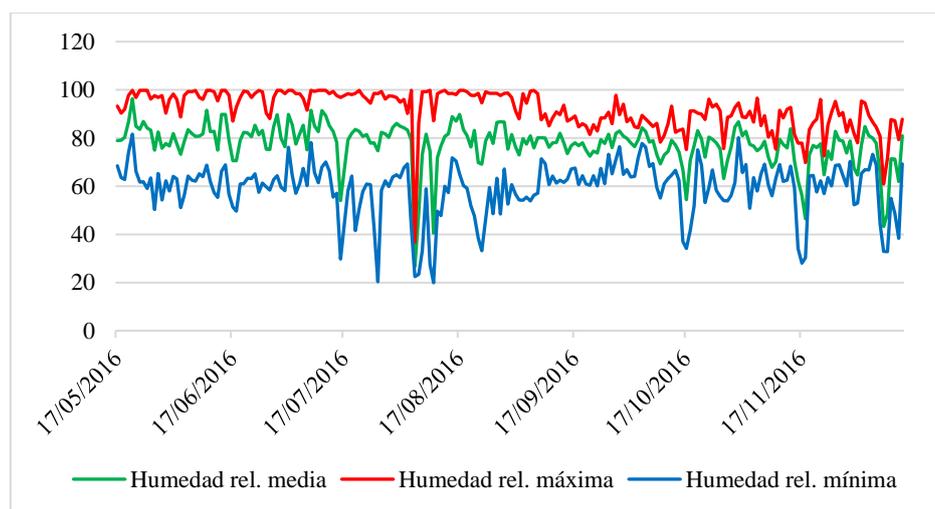
**Foto 15.** Vista aérea de la zona de cultivo. En azul, situación del ensayo; y en verde, la localización de la parcela cultivadas de zanahorias, durante el ensayo.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

Los datos meteorológicos se tomaron de dos estaciones, debido al cambio de ubicación del ensayo. En el primer periodo se tomaron los datos de la estación TEGES situada en La Padilla perteneciente al Cabildo Insular de Tenerife desde el día 17/05/2016 al 7/09/2016. En el segundo periodo se tomaron los datos de la estación TF105 Valle Guerra-Isamar situada en Valle Guerra perteneciente al Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA) durante el periodo del 8/09/2016 al 14/12/2016. En las Gráficas 3 y 4 se muestran los registros de temperatura y humedad relativa medias diarias, respectivamente.



**Gráfica 3.** Tegueste y Valle Guerra 2016 - Registro de temperatura durante el periodo del ensayo



**Gráfica 4.** Tegueste y Valle Guerra 2016 - Registro de humedad relativa durante el periodo del ensayo

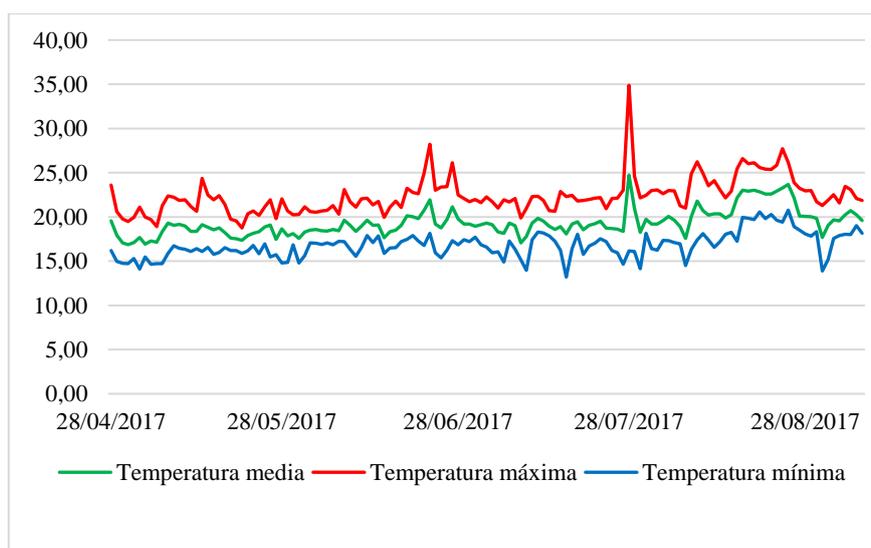
#### 4.1.2. Ubicación del segundo ensayo

El ensayo se desarrolló en la finca Isamar que está situada en Valle de Guerra en el término municipal de San Cristóbal de La Laguna (Foto 16) que pertenece al Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA).



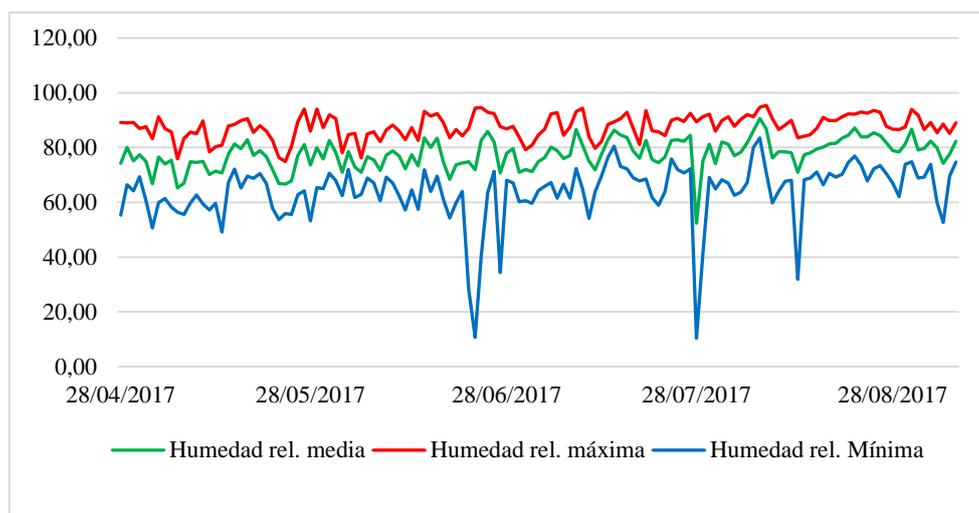
**Foto 16.** Finca Isamar. Vista aérea de la zona de cultivo. En azul, situación del ensayo; y en verde, la localización de la parcela cultivada de zanahoria durante el ensayo

Los datos meteorológicos se tomaron de la estación meteorológica situada próxima a la finca. Se obtuvieron los datos de la estación TF105 Valle Guerra-Isamar, perteneciente al ICIA. En las gráficas se muestran los registros de temperatura y humedad relativa medias diarias durante el periodo del ensayo (Valle Guerra:28/04/2017 al 7/09/2017) (Gráficas 4 y 5).



**Gráfica 4.** Valle de Guerra 2017-Registro de temperatura media diaria durante el periodo del ensayo

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



**Gráfica 5.** Valle de Guerra 2017- Registro de humedad relativa media diaria durante el período del ensayo

### 4.1.3. Tratamientos

#### 4.1.3.1. Tratamientos en el primer ensayo

Los productos evaluados fueron los que se muestran en la tabla 2, que se seleccionaron por estar autorizados en zanahoria o cultivos hortícolas y/o por su acción sobre psila o plagas pertenecientes al mismo orden de insectos como pulgones o mosca blanca. Como control del ensayo se utilizó agua.

**Tabla 2.** Información sobre los productos fitosanitarios evaluados

MATERIA ACTIVA	NOMBRE COMERCIAL	DOSIS EN ETIQUETA	DOSIS EN ENSAYO	OBSERVACIONES
Caolín	Surround	25-50 kg/ha en registro. En catálogo del producto (3,5 a 5 kg/hl)	50 g/l	Producto con registro fitosanitario autorizado en mandarina, naranjo, olivo y peral para mosca, prays y psila (peral). Aplicar en pulverización normal y de forma preventiva. Plazo de seguridad: No procede. Nocivo.
Clorpirifos 48%	Gufos	0,15-0,2%	0,2 %	Autorizado en zanahoria para el control de orugas. Aplicar en pulverización normal. No aplicar mediante nebulizador ni atomizador. En otros cultivos está autorizado para el control de

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

MATERIA ACTIVA	NOMBRE COMERCIAL	DOSIS EN ETIQUETA	DOSIS EN ENSAYO	OBSERVACIONES
				pulgones y mosca blanca. Plazo de seguridad de 21 días. Nocivo.
Imidacloprida 20%	Confidor	0,50-0,75%	7,5 ml/litro	Autorizado en horticolas para el control de pulgones y mosca blanca. Aplicación vía foliar o pulverización. Plazo de seguridad de 7 días. Peligroso para el medio ambiente.
Espirotetramato 15%	Movento	0,04-0,05%	0,5 ml/litro	Autorizado en horticolas para el control de pulgones y mosca blanca. Aplicar en pulverización normal. Plazo de seguridad de 7 días. Nocivo.
Abamectina 1,8%	Vertimec	0,1%	1 ml/litro	Producto autorizado en horticolas y peral para control de ácaro blanca, araña roja, minador y psila (peral). Plazo de seguridad de 10 días. Nocivo
Maltodextrina 59,8%	ER II	2,5%	25 ml/litro	Producto con registro fitosanitario autorizado para todo tipo de horticolas para ácaros, mosca blanca y pulgones. Aplicar mediante pulverización normal.
Polisulfuro de calcio 18,5%	Sulfocal	10%	100 ml/litro	Autorizado en frutales de hoja caduca y en parrales de vid contra ácaros, cochinillas, oídio y piojo rojo de San José.
			200 ml/litro	

#### 4.1.3.2. Tratamientos en el segundo ensayo

Los productos evaluados en el ensayo fueron los que se muestran en la tabla 3. Se utilizaron productos destinados a confirmar los resultados obtenidos anteriormente (caolín y clorpirifos) y productos alternativos que pudieran ejercer algún efecto insecticida o repelente sobre el vector. Asimismo, se incluyó un complejo de productos nutricionales y fertilizantes Bioknock, Yoda, Kryptonite y Maximo, de la marca BlueHeron distribuidos en canarias por Nuvecan todos ellos de la marca

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

. En estos ensayos se utilizaron dos controles: 1, tratamiento con agua como en el primer ensayo; y 2, tratamiento de plantas cubiertas con malla 20 x 10 hilos/cm<sup>2</sup> que impedía la entrada de psílicos. La malla se montó en una estructura de hierro de 1,0 x 1,0 x 0,7 m (Foto 17).



**Foto 17.** Montaje de la estructura metálica alrededor de la bandeja (izquierda) y estructura finalizada con malla (derecha).

**Tabla 3.** Información sobre los productos fitosanitarios evaluados

MATERIA ACTIVA	NOMBRE COMERCIAL	DOSIS EN ETIQUETA	DOSIS EN ENSAYO	OBSERVACIONES
Caolín	Surround	25-50 kg/ha en registro. En catálogo del producto (3,5 a 5 kg/hl)	50 g/l	Producto con registro fitosanitario autorizado en mandarina, naranjo, olivo y peral para mosca, prays y psila (peral). Aplicar en pulverización normal y de forma preventiva. Plazo de seguridad: No procede. Nocivo.
Clorpirifos 48%	Gufos	0,15-0,2%	2 ml/l	Autorizado en zanahoria para el control de orugas. Aplicar en pulverización normal. No aplicar mediante nebulizador ni atomizador. En otros cultivos está autorizado para el control de pulgones y mosca blanca. Plazo de seguridad de 21 días. Nocivo.
Mezcla BlueHeron	Bioknock	0,25%	2,5 ml/l	Su efecto por contacto, con acción secante, altera y dificulta el establecimiento y desarrollo de algunas plagas de insectos y ácaros. En

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

MATERIA ACTIVA	NOMBRE COMERCIAL	DOSIS EN ETIQUETA	DOSIS EN ENSAYO	OBSERVACIONES
				mezcla, posee acción complementaria para reforzar la eficacia de acaricidas e insecticidas en la prevención y control de ciertas plagas. Aplicar en pulverización normal.
	Yoda	0,25%	2,5 ml/l	Es un complejo nutricional de doble acción y alta eficacia, conteniendo Zinc y Manganeso solubles, dificulta el establecimiento de ciertas plagas y enfermedades, minimizando los daños y el estrés producidos por estas. Uso en hortícolas. Aplicar en pulverización normal.
	Kryptonite	0,12%	1,2 ml/l	Es un fertilizante bioactivo de origen vegetal con propiedades protectoras y bio-estimulantes, cuya aplicación es reconocida como una señal endógena de activación general del metabolismo primario y secundario de los vegetales. La aplicación se realiza por pulverización normal.
	Maximo	0,25%	2,5ml/l	Es un fertilizante complejo conteniendo Cu complejo por aminoácidos, micro-péptidos y otras moléculas orgánicas procedentes de extractos bio-marinos diseñado para facilitar una correcta nutrición en las plantas, estimular el desarrollo vegetativo, y minimizar la incidencia de fisiopatías y enfermedades. Aplicar en pulverización normal.
Azufre mojable 80%	Sufrevit	0,2-0,25%	2,5 ml/l	Autorizado en hortícolas para el control de ácaros, araña roja, oidiopsis y oídio. Aplicar en pulverización normal.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

MATERIA ACTIVA	NOMBRE COMERCIAL	DOSIS EN ETIQUETA	DOSIS EN ENSAYO	OBSERVACIONES
Aceite Parafina 83%	Ovitex	0,75-1,5%	10 ml/l	Producto con registro fitosanitario autorizado en cerezo, cítricos, frutales de hueso/pepita, olivo y platanera para cochinillas, mosca blanca (cítricos) y pulgones (platanera). Aplicar en pulverización normal.
Polvo diatomeas	SILyCAL-Flow	1%	10g/l	De origen orgánico, se utiliza como insecticida, plaguicida y funguicida preventivo. En líneas generales controla ácaros, moscas, pulgones entre otros. Se puede aplicar por pulverización normal.
Óxido de silicio 30%	Strensil	0,25%	2,5 ml/l	Protege a las plantas contra ataque de los microorganismos patógenos ya que la acumulación de silicio en los tejidos de la epidermis permite proteger y fortalecer mecánica y bioquímicamente los tejidos de la planta. Se puede aplicar en todo tipo de cultivos por pulverización normal.

#### 4.1.4. Diseño Experimental

El diseño de los dos ensayos fue en bloques al azar con nueve tratamientos y cuatro repeticiones. La unidad experimental fue una bandeja multipots de 15 alvéolos de 27 x 42,5 cm y con una altura de 30 cm con orificios de sección cuadrada de 9 x 9 cm en los que caben 1,5 litros de sustrato por orificio. Se utilizó como sustrato un volumen 1:1:1 (tierra: arena de picón: turba). Se sembraron entre 6-8 semillas de la variedad Bangor (Bejo Ibérica) por alvéolo en 8 de los 15 alveolos de cada bandeja multipots (Foto 18). Al mes de la siembra se entresacaron las plántulas dejando dos por orificio.



**Foto 18.** Bandeja con los ocho alvéolos y las zanahorias.

Las bandejas se colocaron en campo próximas a parcelas de cultivo de zanahorias con síntomas característicos de la enfermedad confirmado mediante análisis de laboratorio (muestras positivas de '*Ca. L. solanacearum*'). Se situaron a una distancia de 2 m entre bloques (orientación norte-sur) y con una separación de 1 m entre las bandejas de cada bloque (orientación este- oeste). Se instaló un gotero tipo microtubo por alvéolo con un caudal de 4 l/h. Se regó tres veces por semana en días alternos durante 10 min. La orientación de las bandejas se mantuvo después del cambio de ubicación en el primer ensayo.

Para confirmar la presencia de vectores y que éstos eran portadores de la bacteria se efectuaron capturas en bandeja de color amarillo con agua situada en el borde de la zona del ensayo y a la altura del cultivo.

Las aplicaciones de los fitosanitarios se realizaron cada 10 días con un pulverizador manual desde el momento de la emergencia de las semillas hasta 10 días antes de la recolección. y se efectuaron un total de 20 tratamientos en el primer ensayo y de 11 tratamientos en el segundo

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

Las fechas de siembra y recolección de cada uno de los ensayos se muestran en la tabla 4 y se muestran imágenes del ensayo en las fotos 19 y 20. Después de un mes de germinadas, se dejaron sólo dos plantas por orificio. A partir de ese momento, se eliminaron las plantas que esporádicamente germinaban de manera tardía. En el segundo ensayo, se retiró aleatoriamente una planta de uno de los orificios de cada bandeja en tres ocasiones durante el ensayo. Estas plantas se utilizaron para observar la presencia de psílidos (huevos, ninfas y adultos).

**Tabla 4.** Fechas siembra y recolección de las zanahorias en los ensayos.

Finca	Siembra	Recolección
La Padilla Baja- Finca Isamar	17/05/2016	24/12/2106
Isamar	28/04/2017	7/09/2017



**Foto 19.** Vista general en campo La Padilla-Baja, Tegueste (izquierda) y Finca Isamar, Valle de Guerra(derecha)



**Foto 20.** Vista general del ensayo bandejas en campo Isamar

#### 4.1.5. Sistema de evaluación

##### 4.1.5.1. Peso y síntomas de la enfermedad

Se registró el peso de cada zanahoria, y se observó y anotó la presencia/ausencia de los siguientes síntomas: amarillos, enrojecimientos, puntas rojas, acucharados, multibrotaciones de hojas y emisión abundante de raicillas (Foto 21a, 21b, 21c, 21d, 21e, y 21f). Para evaluar la eficacia de los tratamientos se empleó la fórmula de Abbot tomando el porcentaje de plantas afectadas respecto al control.

$$ABBOT: \%Eficacia = \left(1 - \frac{\text{Porcentaje de plantas afectadas}}{\text{Porcentaje plantas testigo}}\right) 100$$



**Foto 21a.** Acucharado



**Foto 21b.** Amarillos



**Foto 21c.** Raicillas



**Foto 21d.** Multibrotaciones



**Foto 21e.** Hoja roja



**Foto 21f.** Puntas Rojas

#### **4.1.5.2. Identificación y preparación de los insectos para su análisis**

Los psílidos capturados se identificaron y contaron a la lupa binocular (modelo Nikon SMZ645) y se conservaron en tubos Eppendorf con glicerol al 5% en etanol hasta su análisis.

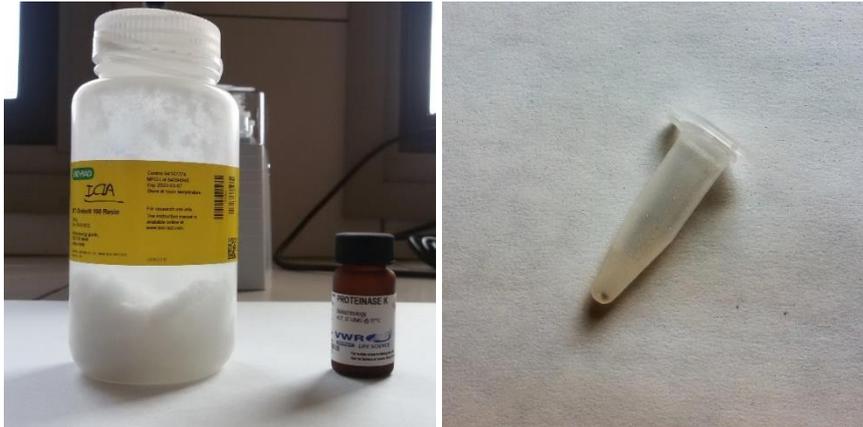
Se analizaron 20 adultos de *B. trigonica* (10 machos y 10 hembras) para la detección de 'Ca. L solanacearum'. El Chelex 100 es una resina intercambiadora de iones que funciona realizando una limpieza de los iones metálicos polivalentes para evitar que estos actúen como inhibidores de la PCR al catalizar la ruptura de ADN a altas temperaturas. El chelex funciona removiendo cualquier catión presente en una solución atrayéndolos y pegándolos a la superficie de sus gránulos del chelex. Este enlaza los iones de Mg, los cuales las nucleasas necesitan para digerir el ADN, protegiendo así que el ADN no sea digerido por la contaminación de las nucleasas en las células. (Bio-rad laboratories, 2000).

El método simplificado de extracción de ADN mediante Chelex 100 es el siguiente: se colocó el insecto sobre papel de filtro para eliminar el exceso de la solución de glicerol en etanol, separamos con cuidado su cabeza con pinzas limpias y colocamos todo el insecto en un tubo Eppendorf de 1,5 ml. A continuación, se añadieron 5  $\mu$ l de etanol al 95%.

Para la limpieza de las pinzas se limpiaron en papel y se sumergieron en alcohol de 96% y se quemaron en un mechero de alcohol para destruir todo el tejido y ADN restantes. Los tubos se colocaron en el termociclador (Applied Biosystems StepOnePlus) y se

programó para que calentara a 35°C durante 30 min para asegurar que todo el etanol se evapore de los tubos.

Preparamos Chelex al 10% en agua en un agitador magnético hasta que se quedó homogéneo. Introdujimos 10 µl de Proteínasa K en cada tubo Eppendorf, asegurando que todo el insecto quedara sumergido en ella. Posteriormente, se incluyeron 150 µl de la solución de resina de Chelex al 10%.



**Foto 22.** Resina de Chelex y proteínasa K (izquierda) e insecto en tubo Eppendorf para posterior uso en PCR

Por último, los tubos se introdujeron en el horno a 55°C durante 24 h. Al día siguiente se guardaron a -20°C hasta su uso.

#### **4.1.5.3. Preparación del extracto vegetal para la detección de 'Ca L. solanacearum'**

Para la preparación de los extractos vegetales se utilizaron hojas de zanahoria,. Estas hojas se introdujeron en bolsas de extracción Bioreba, las cuales poseen una malla en su interior que permite la filtración del extracto vegetal, y se trituraron con el homogeneizador manual (BIOREBA homogenizer hand model Art. No. 400014). Se pesaron todas las muestras y se añadió una cantidad de tampón de extracción (tampón fosfato salino, PBS; pH 7,2-7,4 compuesto por: 8,0 g de NaCl; 2,4g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O; 0,2 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,2g de KCl; y 1 l de agua) de manera proporcional al peso del triturado (10 ml de tampón de extracción por cada g de material vegetal). El extracto crudo se utilizó después de su homogenización o se conservó en tubos Eppendorf de 1,5 ml a -20°C hasta su uso.



**Foto 23.** Bolsa BIOREBA (izquierda) después del triturado con el homogeneizador de rodamientos a bolas (izquierda) y muestras de extracto crudo en tubos Eppendorf de 1,5 ml (derecha)

#### **4.1.5.4. Preparación de las muestras de plantas para su análisis**

El protocolo del método del bromuro de cetil-trimetil amonio (CTAB) fue elaborado por Murray y Thompson en 1980 (Murray y Thompson, 1980) y publicado posteriormente, en 1987, por Wagner y sus colaboradores (Wagner et al., 1987). El método es adecuado para extraer y purificar ADN de vegetales y alimentos derivados de vegetales y está especialmente indicado para eliminar los polisacáridos y los compuestos polifenólicos, que, de otro modo, alterarían la pureza y calidad del ADN:

La primera etapa de la extracción del ADN tiene por objeto la rotura de la membrana celular y nuclear, para lo cual los extractos vegetales se tratan primero con el tampón de extracción (tampón CTAB), que contiene EDTA, Tris-HCl y CTAB {bromuro de hexadeciltrimetilamonio,  $(C_{16}H_{33})N(CH_3)_3Br$ }. Para ello, se introducen 400  $\mu$ l de buffer CTAB en un Eppendorf de 1,5 ml y, posteriormente, se añaden 200  $\mu$ l del extracto vegetal. En este método, el detergente (CTAB) contenido en el tampón de extracción provoca la lisis de la membrana. Dado que la composición de los lípidos y del detergente es similar, el componente de CTAB del tampón de extracción captura los lípidos que integran la membrana celular y nuclear (Somma, sf): Los tubos se agitaron y se introdujeron en bloques calefactores (Selecta Multiplace N°Serie: 0390109). a una temperatura de 65°C durante 15 minutos, se voltearon y se volvieron a mantener otros 15 min más a la misma temperatura. Posteriormente, se centrifugan a 3.000 rpm durante 5 min.



**Foto 24.** Añadiendo alcohol cloroformo en los nuevos tubos Eppendorf

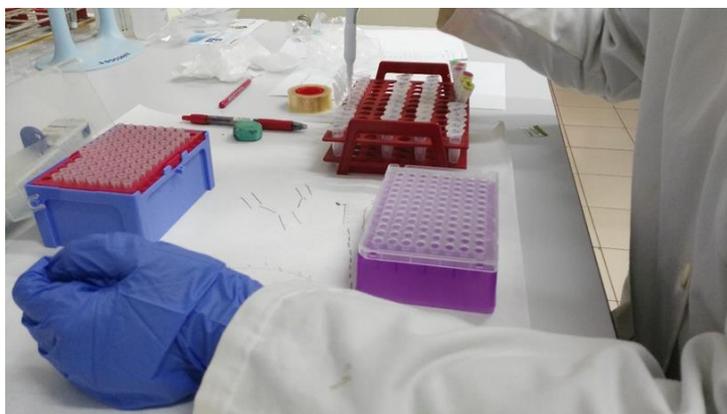
Se tomaron nuevos tubos Eppendorf de 1,5 ml y añadimos 400  $\mu$ l de cloroformo/alcohol isoamílico (proporción 24/1) a los que se añadieron 400  $\mu$ l del sobrenadante del centrifugado anterior. Los tubos se invirtieron para obtener una emulsión y se centrifugaron a 14.000 rpm durante 5 min. En esta etapa de extracción se separan los complejos formados por los ácidos nucleicos y el CTAB de los polisacáridos, los compuestos fenólicos, las proteínas y los demás lisados celulares disueltos en la solución acuosa. El cloroformo desnatura las proteínas y facilita la separación de las fases acuosa y orgánica. La fase acuosa suele constituir la fase superior. (Somma,sf).

En la última etapa de precipitación se separan los ácidos nucleicos del detergente. Para ello, se tomaron 200  $\mu$ l de la fase superior del centrifugado anterior y se pasaron a tubos Eppendorf de 1,5 ml y se añadieron 120  $\mu$ l de isopropanol. En estas condiciones, el detergente, que es más soluble en alcohol que en agua, puede eliminarse por lavado, mientras que los ácidos nucleicos precipitan (Somma, sf). Se voltearon los tubos y se mantuvieron durante 30 min a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente se centrifugaron a 14.000 rpm durante 20 min y se descartó el sobrenadante. Añadimos 1 ml de etanol al 70%, volteamos los tubos y centrifugamos a 14.000 rpm durante 10 min. El posterior tratamiento con etanol al 70 % permite una mayor purificación o elución de los ácidos nucleicos de la sal residual (Somma, sf). A continuación, eliminamos el sobrenadante y dejamos secar los tubos durante 1 o 2 horas a temperatura ambiente. Por último, añadimos 100  $\mu$ l de agua estéril ultrapura y utilizamos inmediatamente para los análisis o conservamos a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización

**4.1.5.5. Análisis de las muestras mediante qPCR para la detección de 'Ca. L. solanacearum'**

La preparación de los reactivos y controles (PlantPrint Diagnòstics, S.L. ref: CaLsol/100) suministrados se realizó en tres etapas. Primero se preparó el "master mix" para PCR a tiempo real, añadiendo 450 µl de agua destilada estéril libre de ADN/ARNasas en el vial que contiene el "master mix" liofilizado (Foto 24). Con cada vial de "master mix" se pueden realizar 50 amplificaciones de PCR. Estos viales se agitaron en el vórtex durante un minuto, se les dio un pulso de centrifuga y se mantuvieron en hielo hasta su utilización. El "master mix" utilizado contiene iniciadores específicos, sonda TaqMan, sales de magnesio, polimerasa y nucleótidos. Una vez preparado puede ser almacenado en congelador a -20°C hasta su uso.

Para la preparación del control positivo y del control negativo, se añadieron 100 µl de agua destilada libre de ADN/ARNasas en cada uno de los tubos que contenía los liofilizados de los controles positivo y negativo. Se agitaron rápida y vigorosamente durante 5-10 segundos, se dio un pulso de centrifuga y se mantuvieron en hielo hasta su utilización.



**Foto 25.** Transferencia de muestras a pocillos de la microplaca

Una vez preparados los reactivos y los controles, se procedió a realizar el protocolo de amplificación por PCR a tiempo real: se transfirieron 9 µl de "master mix" para la amplificación de "Ca. Liberibacter solanacearum" a cada pocillo de la microplaca de PCR (Applied Biosystems MicroAmp Fast 96-Well Reaction Plate (0,1 ml)) y, a continuación, se añadieron 3 µl de cada extracto de ADN de las muestras.

Después se selló herméticamente la microplaca con una lámina adhesiva (Applied Biosystems. Optical Adhesive Covers) y se introdujo en el termociclador para PCR a tiempo real (Applied Biosystems StepOnePlus).

#### **4.1.5.6. Análisis de residuos de productos fitosanitarios**

Para el análisis de residuos se separaron ejemplares de raíces de las cuatro repeticiones de cada tratamiento hasta completar un kg de zanahorias por cada uno de ellos (ocho muestras). Los análisis multi-residuos GC-MS/MS (99 materias activas) y LC-MS/MS (57 materias activas) se realizaron en el Laboratorio de Residuos Fitosanitarios de Canarias, gestionado por el Instituto Tecnológico de Canarias (ITC).

En el primer ensayo se recogieron muestras el 14/10/2016 antes de la aplicación del siguiente tratamiento. Por el contrario, en el segundo ensayo se recogieron las muestras después del levantamiento el 7/09/2017.

#### **4.1.5.7. Análisis estadístico**

Las diferencias entre los tratamientos fueron estudiadas mediante un análisis de varianza unifactorial ANOVA unido a un test de rango múltiple de Tukey ( $P < 0,05$ ). En el caso de los porcentajes de plantas afectadas por síntomas se realizó una transformación previa de los datos  $\sqrt{x}$  y  $\log+1$ . Todos los análisis estadísticos se realizaron empleando el paquete Statistix versión 10.0.

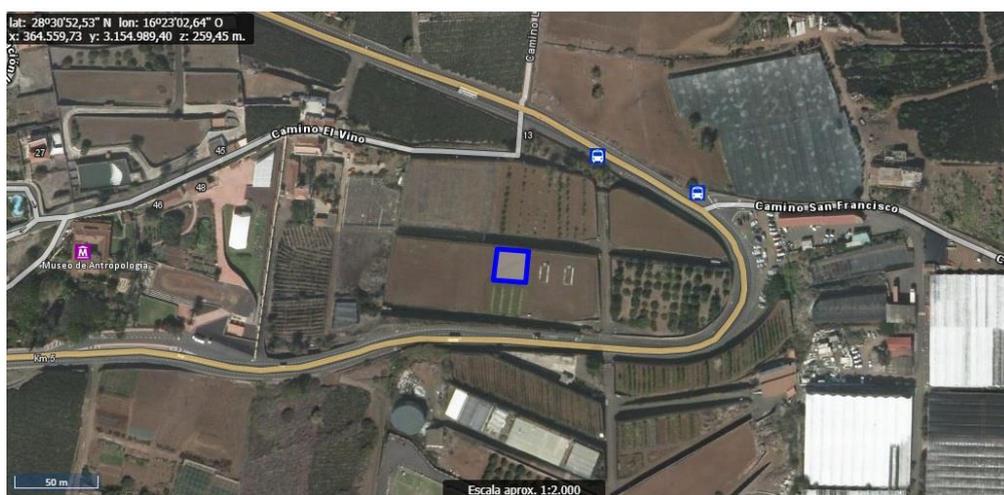
## 4.2. Estudio del ciclo biológico *Bactericera trigonica* en otras plantas hospedadoras

Actualmente existen cinco haplotipos de la enfermedad producida por ‘*Ca. L. solanacearum*’ (A, B, C, D y E). Los haplotipos C, D y E afectan principalmente a los cultivos de especies de la familia de las apiáceas como la zanahoria (*Daucus carota*), apio (*Apium graveolens*), chirivía (*Pastinaca sativa*), perejil (*Petroselinum crispum*), hinojo (*Foeniculum vulgare*), perifollo (*Anthriscus cerefolium*). Por ello, se hace necesario saber si *B. trigonica*, en ausencia de zanahoria es capaz de completar su ciclo biológico en otras especies de plantas y capaz de transmitirles la bacteria.

### 4.2.1. Ubicación del ensayo

El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Protección Vegetal del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias.

Para la realización del ensayo se recogieron insectos, utilizando una manga de malla fina, que deslizamos por la superficie superior del follaje de las zanahorias, dando varias pasadas por la parcela. Posteriormente capturaron los psílidos del interior de la malla con el chupóptero. Estos insectos proceden de un cultivo de zanahorias situado en la finca Isamar, que está situada en Valle de Guerra en el término municipal de San Cristóbal de La Laguna (Foto 26).



**Foto 26.** Ubicación de la finca donde se realizó la recolección de insectos

Después de la recolección de psílidos en campo, son llevados al laboratorio e introducidos en jaulas de cría (Foto 27) con plantas de zanahoria donde se mantienen hasta su utilización en los ensayos.



**Foto 27.** Jaulas de cría de *B. trigonica*

#### 4.2.2. Diseño experimental

Para este ensayo se utilizaron cuatro tipos de plantas pertenecientes a la familia de las Apiáceas: zanahoria, hinojo, cilantro y perejil. Las zanahorias e hinojo proceden de semilleros del ICIA, mientras que el cilantro y perejil que se utilizaron fueron obtenidos de Viveros Guamasa. Todas ellas fueron trasplantadas, individualmente, a vasos plásticos de recogida de muestras de 100 ml (Foto 28), modificados para el drenaje del agua y rellenos de sustrato.



**Foto 28.** Material utilizado para la elaboración del tubo donde se realizará la cría de insectos (izquierda) y Montaje piloto finalizado (derecha).

A cada uno de los vasos plásticos de muestra se les incorporó una base de papel de filtro situada en la parte superior del vaso, con la finalidad de cubrir el sustrato y localizar los psílicos muertos con mayor facilidad. Utilizamos vasos de tubo (Foto 28), situados en la parte superior del sustrato, cubriendo la planta y creando un espacio limitado donde el psílido pueda vivir. Estos vasos de tubo se perforaron en su parte superior para una mejor

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

transpiración durante la cría. En la parte superior del vaso de tubo se coloca un tul blanco para prevenir la huida del insecto por el orificio abierto en su parte superior y tapa transparente para una mejor sujeción. Las plantas se colocaron en bandejas plásticas blancas para facilitar su manejo y se introdujeron para la cría en un fitotrón. (Marca Sanyo, modelo MLR-351H, Versatile environmental Test Chamber.)

Se realizaron 15 repeticiones con cada una de las especies de plantas hospederas, en las que se introdujeron una pareja de *B. trigonica*. Al quinto día se extrajeron, con un chupóptero, cada una de las parejas y se depositaron individualmente en tubos Eppendorf con una solución de glicerol al 5% en etanol absoluto. Los tubos se conservaron en nevera a 5°C hasta su análisis posterior.



**Foto 29.** Tubos de cría con hinojo, zanahoria, perejil y cilantro con adultos.

Se realizaron lecturas de huevos, ninfas y adultos, de cada una de las plantas los días 3, 7, 14, 21 y 30 después de la introducción de los adultos. El estudio se realizó a 25 °C, 60-70% de humedad relativa y con un fotoperiodo de 14:10 h (L:O).



**Foto 30.** Fitotrón con macetas en su interior.

## **'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

Pasados los 30 días, se recogieron todos los adultos emergidos del estudio y se colocaron individualmente en tubos Eppendorf como se indicó anteriormente. Después de retirar los insectos, todas las plantas fueron tratadas con Confidor 20 LS de la marca Bayer (Imidacloprida 20%) con una dosis 7,5 ml/litro, con el fin de matar todos los huevos y ninfas que pudieran quedar vivos en la planta. Las macetas se colocaron en una jaula y se marcaron las últimas hojas en brotar de las plantas, para poder localizar posteriormente los brotes nuevos, que se analizaron posteriormente para saber si se había transmitido '*Ca. L. solanacearum*' durante el desarrollo de la cría.



**Foto 31.** Plantas después de 30 días. De arriba debajo de izquierda a derecha, plantas de perejil, hinojo, zanahoria y cilantro.

### **4.2.3. Preparación y Análisis de las muestras mediante qPCR para la detección de '*Ca. L. solanacearum*'**

La preparación de las muestras de plantas se ha llevado a cabo por el método CTAB e insectos por el método de Chelex. Para la extracción del ADN de las muestras de plantas e insectos se añadieron 100 µl de agua destilada libre de ADN/ARNasas en cada tubo Eppendorf que las contenía, se agitó rápido y vigorosamente, se dio un pulso de centrifuga y se mantuvo en hielo hasta su amplificación. La detección de *Ca. L. solanacearum* en muestras se realizó utilizando el kit de la empresa PlantPrint Diagnostics, S.L. (ref: Calsol/100) y se utilizó el termociclador para PCR en tiempo real Applied Biosystems StepOnePlus. Estos tres procedimientos han sido explicados con detalle anteriorme

### 4.3. Estudio de la dinámica de poblaciones de *Bactericera trigónica* en zanahoria sin la aplicación de productos fitosanitarios para su control en campo

#### 4.3.1. Ubicación del ensayo

El ensayo se desarrolló durante un año y cuatro meses en dos fincas simultáneamente, en el norte y el sur de Tenerife. Por un lado, la finca Isamar que está situada en Valle de Guerra en el término municipal de San Cristóbal de La Laguna (Foto 32). Por otro lado, la finca La Planta que se encuentra en el término municipal de Güímar (Foto 33). Ambas fincas pertenecen al Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA).

Se utilizó en el cultivo la variedad Bangor F1 de tipo ‘Nantesa’, de la casa comercial Bejo Zaden. La siembra se realizó el 22 de abril 2016 en Valle Guerra y el 14 de abril de 2016 en Güímar, ambas con una sembradora mecánica (BS056), que sitúa las semillas a una profundidad de unos 7 mm, en líneas dos a dos, separadas 7 cm entre sí y con una separación entre plantas de 8 cm, resultando una densidad de siembra unas 180 plantas/m<sup>2</sup>. Tras la siembra se regó el mismo día. Los riegos se realizaron en función de la demanda hídrica del cultivo. Se instaló un sistema de riego por goteo con las líneas separadas 30 cm entre sí y los goteros dispuestos cada 30 cm, la dosis de riego se ajustó según la demanda del cultivo.

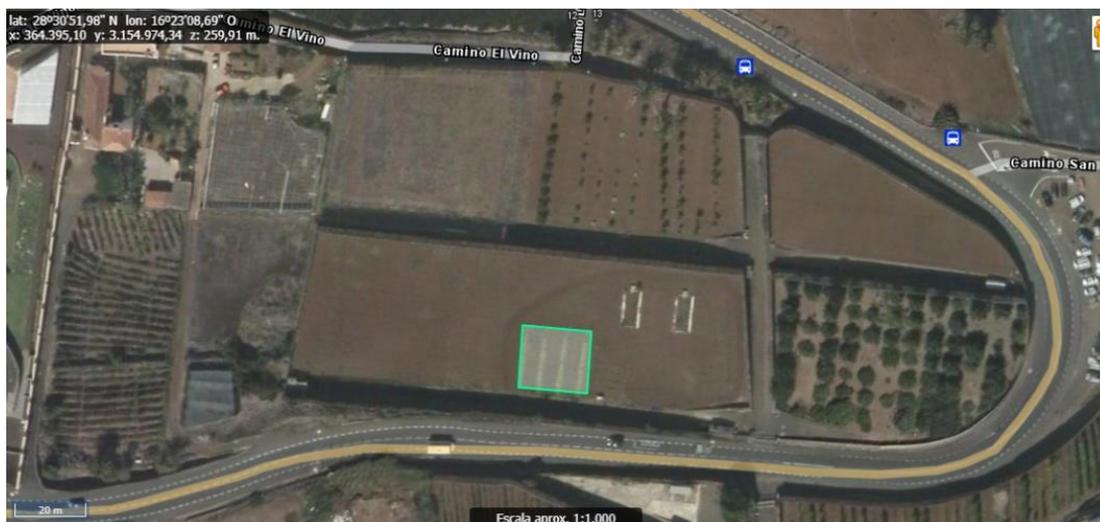


Foto 32. Vista aérea de la zona de cultivo en Valle de Guerra.



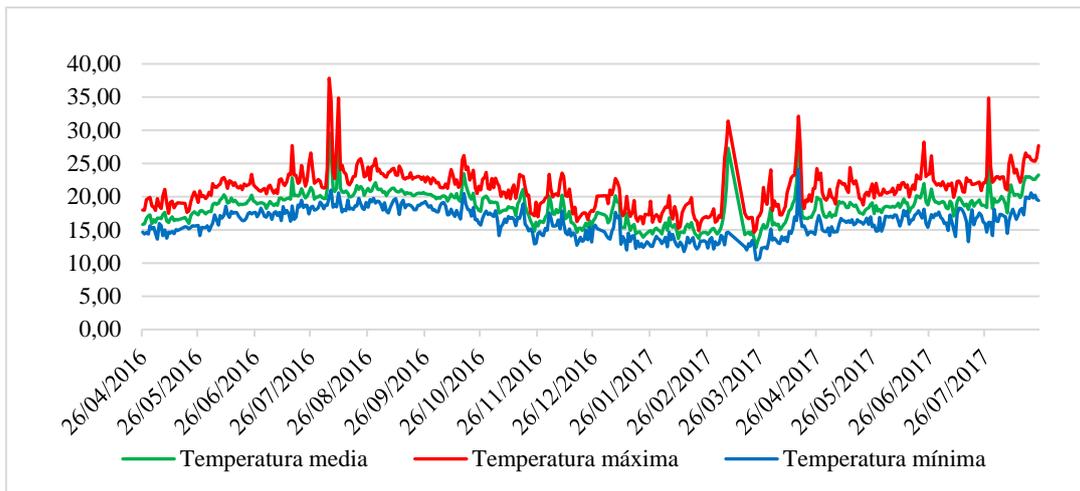
**Foto 33.** Vista aérea de la zona de cultivo en Güímar.

#### **4.3.2. Condiciones ambientales**

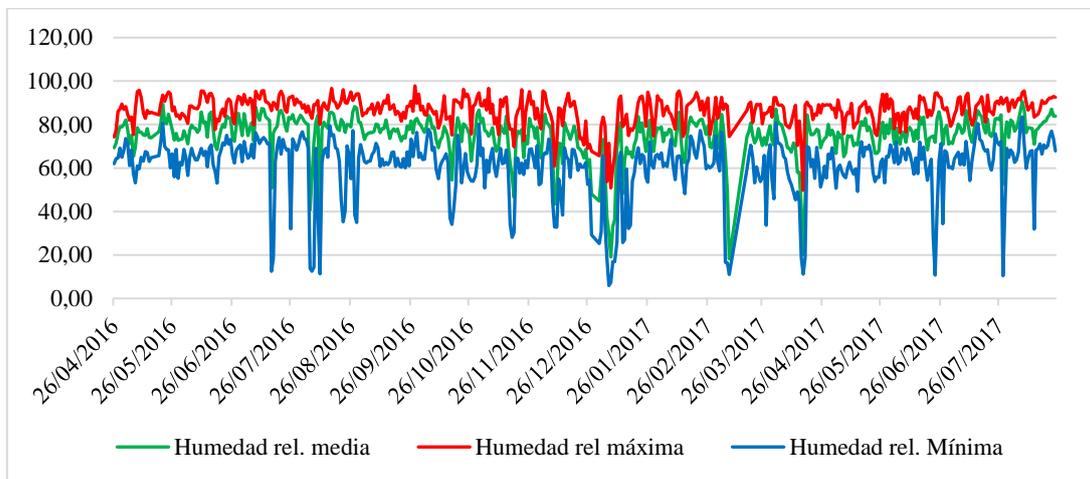
Los datos meteorológicos se tomaron de las estaciones correspondientes a la ubicación de cada una de las fincas. Para la finca de Valle Guerra se obtuvieron los datos de la estación TF105 Valle Guerra-Isamar y para la finca de La Planta se tomaron los datos de la estación TF03 Valle de Güímar-Planta, ambas pertenecientes al ICIA. En las gráficas se muestran los registros de temperatura y humedad relativa medias diarias durante el periodo del ensayo.

En Valle de Guerra la temperatura media fue de 18,5 °C, teniendo unas temperaturas máximas de 37,8 °C y mínimas de 10,5 °C (Gráfica 6). Las precipitaciones durante este periodo no fueron abundantes, siendo el mes de noviembre de 2016 donde hubieron más precipitaciones (Gráfica 9). La humedad relativa media fue del 75%, con máximas de 97,8% y mínimas de 5,9% (Gráfica 7). La velocidad media del viento fue de 1,3 m/s y la velocidad máxima que alcanzó fue de 9,9 m/s en el mes de enero de 2017 (Gráfica 8).

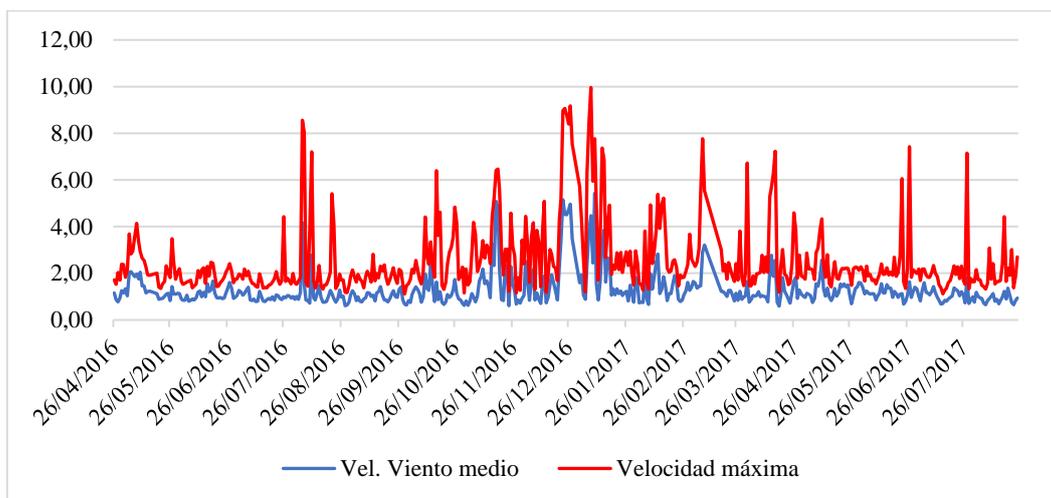
**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



**Gráfico 6.** Registro de temperatura media diaria durante el periodo del ensayo en Valle Guerra.

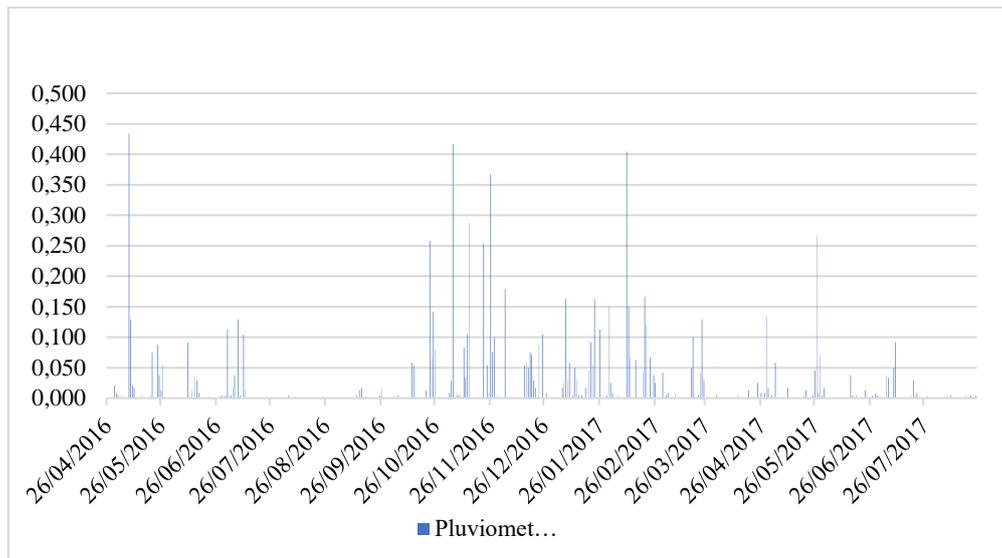


**Gráfico 7.** Registro de humedad relativa media diaria durante el periodo del ensayo en Valle Guerra.



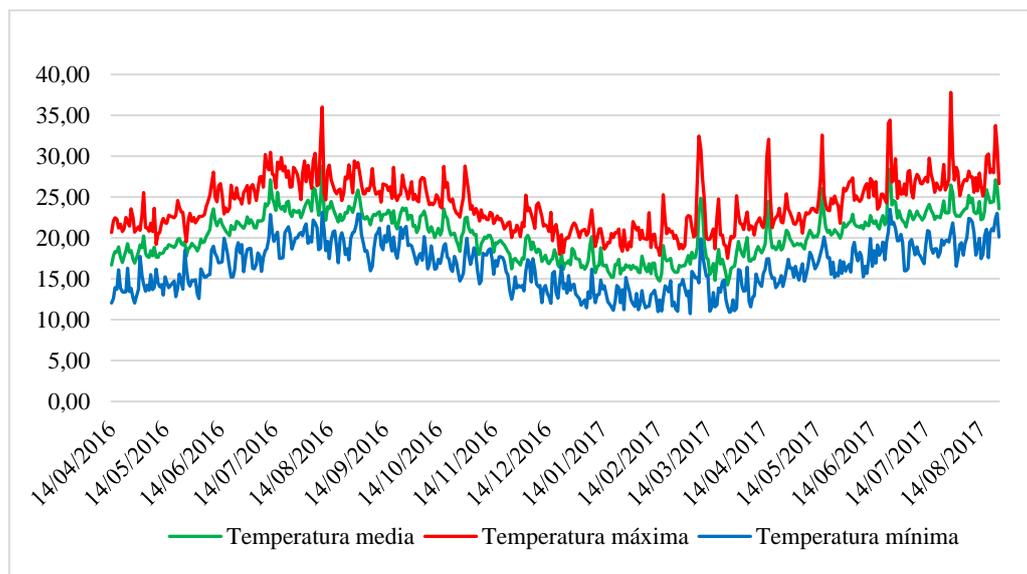
**Gráfico 8.** Registro de velocidad del viento media diaria durante el periodo del ensayo en Valle Guerra.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



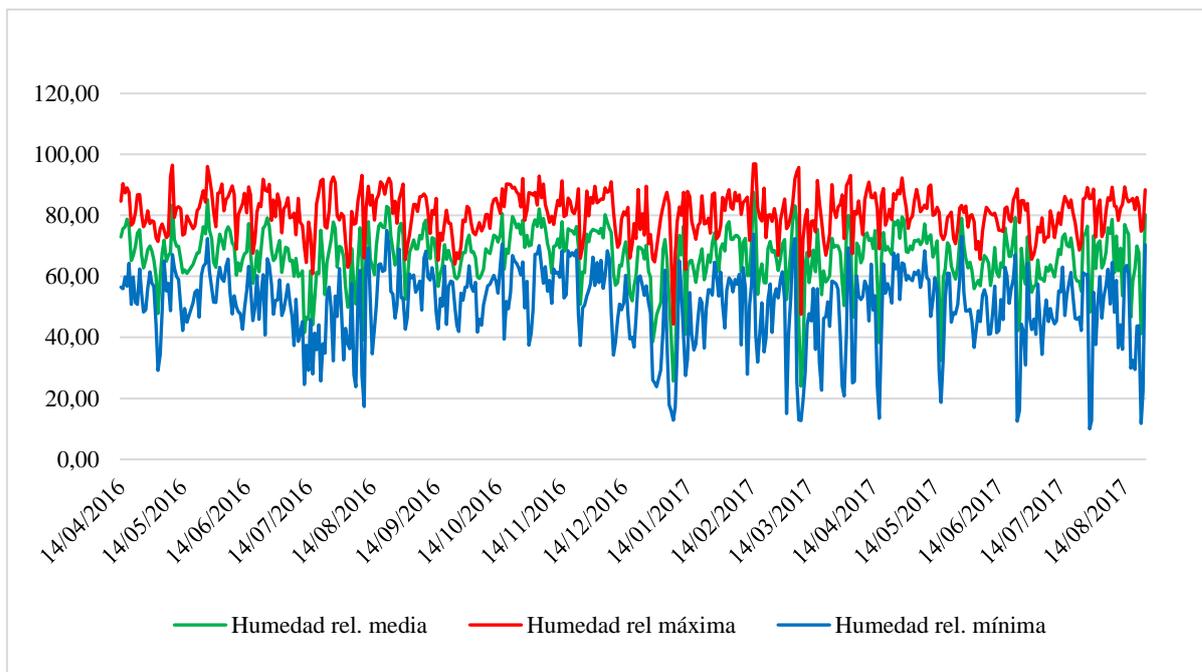
**Gráfico 9.** Registro de las precipitaciones medias diarias durante el periodo del ensayo en Valle Guerra.

En Güímar, alcanzamos una temperatura media de 20,4°C, con máximas de 37,8°C y mínimas de 10,7°C (Gráfica 10). Las precipitaciones medias de esta localización también fueron débiles, registrándose mayor abundancia el mes de noviembre de 2016, durante todo el transcurso del ensayo (Gráfica 13). La humedad relativa media fue de 66,5%, registrándose como máximas de 96,90% y mínimas de 10% (Gráfica 11). La velocidad media registrada fue de 2 m/s, con velocidades máximas de 7,7 m/s en el mes de marzo y 7,6 m/s en el mes de junio, ambos del año 2017, que impidieron la recogida de las trampas por las fuertes rachas registradas. (Gráfica 12).

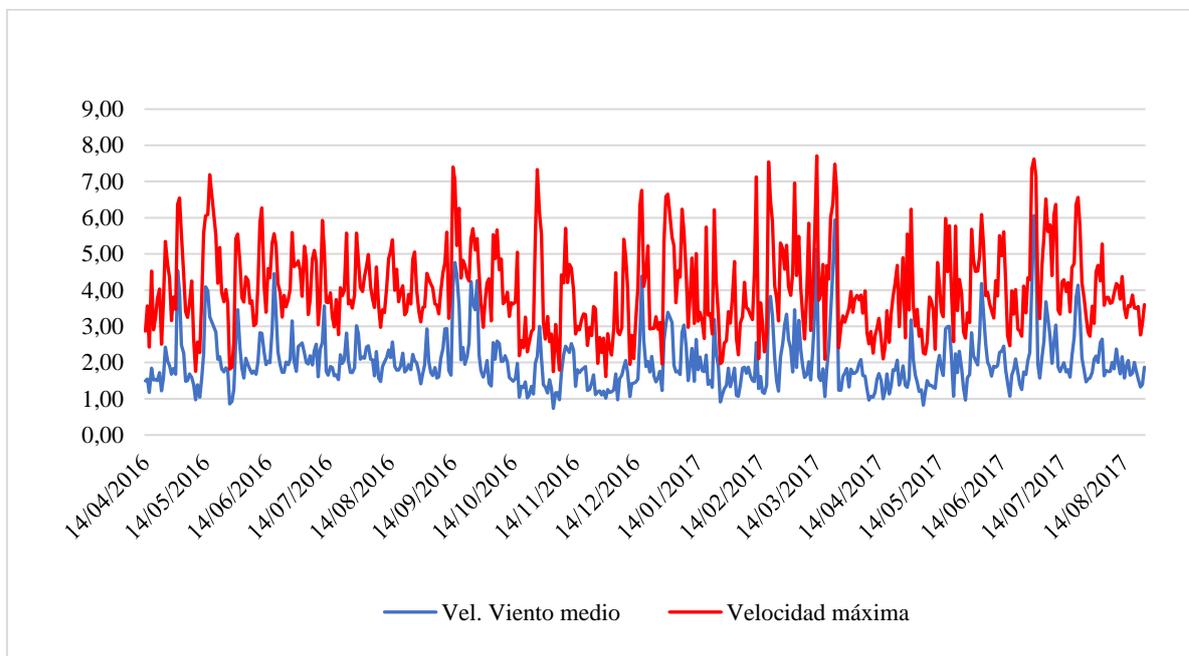


**Gráfico 10.** Registro de temperatura media diaria durante el periodo del ensayo en Güímar.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



**Gráfica 11.** Registro de humedad relativa media diaria durante el periodo del ensayo en Güímar.



**Gráfica 12.** Registro de la velocidad del viento media diaria durante el periodo del ensayo en Güímar.



**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



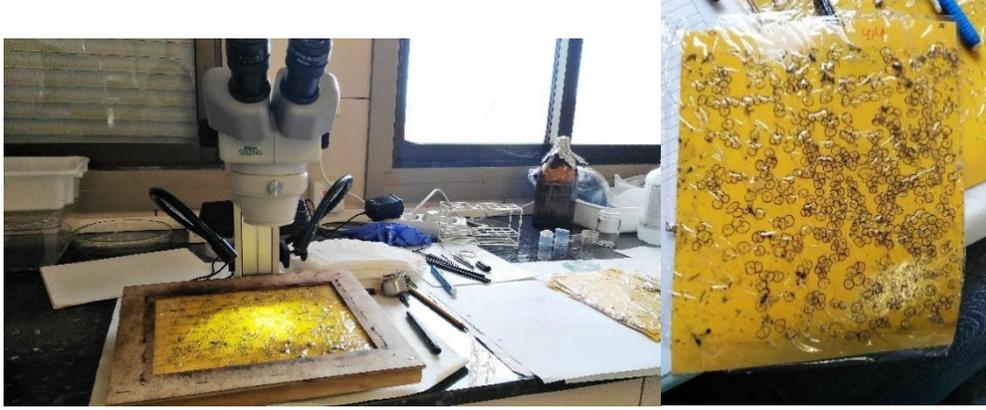
**Figura 6.** (a la izquierda). Esquema tipo de soporte para trampa amarilla pegajosa con Dimensiones (Quintana, 2014); **Foto 35.** Soporte de trampa amarilla pegajosa colocado en campo.

Las trampas fueron recogidas y repuestas semanalmente utilizando un soporte de plástico con casilleros individuales para cada trampa (Foto 36), que evitaba el contacto entre ellas o con otra superficie que pudiera dañar la estructura de los psílicos y complicar después su identificación. Una vez en el laboratorio se cubrieron con film transparente para facilitar su lectura impidiendo que el adhesivo de la trampa dificultara su manipulación. Se contabilizó el número de hembras y machos en la cara norte y sur de la trampa bajo la lupa binocular modelo Nikon SMZ645. Para ello, se diseñó un marco de madera con separadores que facilitaba el manejo y el conteo (Foto 37).



**Foto 36.** Soporte para el transporte de trampas amarillas pegajosas.

**'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



**Foto 37.** Marco para la manipulación y lectura de las trampas amarillas sobre la lupa.



## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## **5.1. Eficacia de productos para el control de amarillos en zanahoria.**

### **5.1.1. Conteo huevos y ninfas en zanahorias**

Los resultados de los conteos de huevos en las plantas tomadas al azar se realizaron sólo en el segundo ensayo y se muestran en la tabla 5. En general, el número de huevos encontrados en las cuatro plantas enteras recogidas por tratamiento (una planta por bandeja y bloque) en tres momentos del ensayo fueron bajos. En todas las plantas de todos los tratamientos se encontraron huevos de *B. trigonica*, salvo las plantas que se encontraban bajo malla. Las plantas tratadas con clorpirifos y la mezcla de BlueHeron son las que tuvieron en promedio mayor número de huevos que el resto de los tratamientos, no presentando diferencias significativas entre ambos tratamientos y si con el óxido de silicio y con el control de malla.

**Tabla 5.** Resultados del número medio de huevos encontrados por tratamientos en zanahorias.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Nº HUEVOS MEDIO EN ZANAHORIA ± ERROR ESTÁNDAR</b>
Malla	0,0±0,0 c
Testigo	5,5±0,65 ab
Caolín	4,3±1,3 ab
Clorpirifos 48%	11,25±2,2 a
Mezcla de BlueHeron	11,5±4,2 a
Azufre mojable 80%	7,5±1,3 ab
Aceite Parafina 83%	5,5±0,5 ab
Polvo de diatomeas	6,3±1,3 ab
Oxido de silicio 30%	3,5±0,95 b
p	0,0

Valores medios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos han sido sometidos para su análisis estadístico a una transformación de  $\log+1$ .

Los resultados de los conteos de ninfas se muestran en la tabla 6. Se detectó menos de una ninfa en promedio por planta estudiada. Estos resultados no permiten obtener conclusión alguna sobre el efecto de los tratamientos mayor presencia de ninfas en los tratamientos de caolín y mezcla de BlueHeron, no presentando diferencias significativas

entre ambas. En este caso, hay presencia de ninfas en la bandeja cubierta por malla, mostrando el menor número medio de ninfas respecto al resto de tratamientos, pero no presentando diferencias significativas entre ellas. La presencia de ninfas en la malla puede ser debido a la rotura de esta como consecuencia de temporal de viento que se produjo durante el ensayo.

**Tabla 6.** Resultados estadísticos del número medio de ninfas en zanahorias.

TRATAMIENTO	N° NINFAS MEDIO EN ZANAHORIAS ± ERROR ESTÁNDAR
Malla	0,25±0,25 a
Testigo	0,5±0,3 a
Caolín	2,0±1,1 a
Clorpirifos 48%	1,0±0,7 a
Mezcla de BlueHeron	2,0±1,4 a
Azufre mojable 80%	1,7±1,2 a
Aceite Parafina 83%	0,5±0,5 a
Polvo de diatomeas	2,0±0,9 a
Oxido de silicio 30%	1,3±0,6 a
p	0,69

Valores medios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos han sido sometidos para su análisis estadístico a una transformación de  $\log+1$ .

## 5.1.2. Peso de las zanahorias

### 5.1.2.1. Peso de las zanahorias en el primer ensayo

Los resultados de Valle Guerra 2016 se muestran en la tabla 7. Las zanahorias tratadas con caolín y clorpirifos tuvieron mayor peso medio que el resto de los tratamientos, no presentando diferencias significativas entre ambas. Las aplicaciones de caolín permitieron el desarrollo de las zanahorias hasta alcanzar un peso superior al resto de tratamientos, pero sólo teniendo diferencias significativas respecto a los tratamientos: control y maltodextrina. Los tratamientos de clorpirifos, imadacloprida, abamectina, espirotretramato y ambas dosis de polisulfuro de calcio no mostraron diferencias significativas respecto al control.

El incremento del peso en las plantas tratadas con caolín puede ser una consecuencia indirecta de la disminución de los daños causados por el psílido y la bacteria o a que reduce el estrés térmico e hídrico y los golpes de sol, al disminuir la temperatura en las hojas (Glenn, 1999; Glenn, 2001; Jifon y Syvertsen, 2003).

**Tabla 7.** Resultado estadístico del peso medio de la zanahoria en cada tratamiento.

TRATAMIENTO	PESO MEDIO DE LA ZANAHORIA ± ERROR ESTÁNDAR (g/UNIDAD)
Caolín 95% (Surround)	66,2±4,8 a
Clorpirifos 48% (Gufos)	58,9±4,5ab
Imidacloprida 20% (Confidor)	49±6,3ab
Espirotriamato 15% (Movento)	51,6±2,8ab
Abamectina 1,8% (Vertimec)	46,3±3,3ab
Maltodextrina 59,8% (ERII)	42,8±3,7b
Polisulfuro de calcio 18,5% (Sulfocal) 10	50,01±3,3ab
Polisulfuro de calcio 18,5% (Sulfocal) 20	56,6±4,3ab
Testigo	44,9±3,1b
p	0,0117

Valores medios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.2.2. Peso de las zanahorias en el segundo ensayo

Los resultados del ensayo de Valle Guerra 2017 se muestran en la tabla 8. Las zanahorias tratadas con azufre mojable tuvieron mayor peso medio que el resto de los tratamientos. Las aplicaciones de azufre mojable permitieron el desarrollo de las zanahorias hasta alcanzar un peso superior al resto de tratamientos, pero sólo teniendo diferencias significativas respecto a los tratamientos de: óxido de silicio amorfo, polvo de diatomeas y caolín. Los tratamientos de malla, clorpirifos, mezcla de BlueHeron y aceite de parafina no mostraron diferencias significativas respecto al control.

**Tabla 8.** Resultado estadístico del peso medio de la zanahoria en cada tratamiento en la finca Isamar

TRATAMIENTO	PESO MEDIO DE LA ZANAHORIA ± ERROR ESTÁNDAR (g/UNIDAD)
Malla	40,7±6,9ab
Caolín 95% (Surround)	34,3±3,0b
Clorpirifos 48% (Gufos)	42,9±1,2ab
BlueHeron	43,3±1,6ab
Azufre mojable 80% (Sufrevit)	59,3±13,7a
Aceite de parafina 83% (Ovitex)	38,9±4,3ab
Polvo de diatomeas (SilyCal-Flow)	29,4±2,2b
Oxido de silicio amorfo 30% (Strensil)	30,1±2,3b
Testigo	40,20±2,8ab
p	0,0347

Valores medios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos han sido sometidos para su análisis estadístico a una transformación de  $\log+1$ .

### 5.1.3. Síntomas de las plantas de zanahoria y eficacia de los tratamientos

#### 5.1.3.1. Síntomas de las plantas de zanahoria y eficacia del primer ensayo

Los resultados de Valle Guerra 2016 se muestran en la tabla 9. Los síntomas más observados en el ensayo son amarilleo, acucharado y la abundante producción de raicillas. Todas las zanahorias de todos los tratamientos presentaban dichos síntomas, pero las tratadas con caolín se mostraban en menor proporción. Se observaron muy pocas plantas con puntas rojas por lo que este síntoma no permitió establecer diferencias entre los tratamientos. Las multibrotaciones también se encontraron en un amplio espectro de las plantas recogidas en el ensayo, siendo las tratadas con caolín e imidacloprida las que menor porcentaje de síntomas presentaban.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

**Tabla 9.** Resultado estadístico del porcentaje de plantas afectadas con síntomas

SÍNTOMAS TRAT.	AMARILLO	ACUCHARADO	MULTIBROTACIONES	RAICILLAS	PUNTAS ROJAS
Testigo	93,8±2,6abc	98,4±1,6a	74,8±11,9ab	96,8±3,1ab	6,5±4,4a
Caolín 95% (Surround)	78,1±6,4c*	92,2±5,9a	35,9±8,9b*	77,3±12,2a	1,6±1,6a
Clorpirifos 48% (Gufos)	100±0,0a	100±0,0a	95,3±1,6a	100±0,0a	7,8±5,9a
Imidacloprid 20% (Confidor)	90,6±4,0bc	98,4±1,6a	68,6±8,7ab	100±0,0a	1,7±1,7a
Spirotetramato 15% (Movento)	100±0,0a	100±0,0a	82,5±5,4a	93,75±4,4a b	3,1±1,8a
Abamectina 1,8% (Vertimec)	98,4±1,6ab	100±0,0a	90,6±4,0a	100±0,0a	4,7±4,7a
Maltodextrina 59,8% (ERII)	98,4±1,6ab	96,8±1,8a	72,2±7,2ab	98,4±1,6a	8,3±3,2a
Polisulfuro de calcio 18,5% (Sulfocal) 10	100±0,0a	96,9±3,1a	87,2±7,7a	100±0,0a	12,5±7,2a
Polisulfuro de calcio 18,5% (Sulfocal) 20	100±0,0a	100±0,0a	82,5±7,8a	98,4±1,6a	23,6±13,0a
p	0	0,1167	0,0005	0,0041	0,2143
%CV	7,58	6,68	17,13	9,2	109,74

Valores medios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los datos han sido sometidos para su análisis estadístico a una transformación de  $\arcsen \sqrt{x}$

La eficacia de los productos se muestra en la tabla 10. El tratamiento con caolín es el más eficaz destacando la reducción de síntomas respecto al control en puntas rojas con 75,8%, multibrotaciones con un 51,6%, raicillas con un 20,4% y amarillos en un 16,9%. Además, el caolín junto con la maltodextrina y el polisulfuro de calcio fueron los únicos

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

tratamientos que mostraron con alguna eficacia en la reducción del acucharado de las hojas.

**Tabla 10.** Porcentaje de eficacia de los tratamientos respecto al control.

SINTOMAS TRAT.	AMARILLO	PUNTAS ROJAS	ACUCHARADO	MULTIBROTACIONES	RAICILLAS
Caolín 95% (Surround)	16,9	75,8	6,3	51,6	20,4
Clorpirifos 48%(Gufos)	0*	0*	0*	0*	0*
Imidacloprid 20% (Confidor)	3,3	75,4	0*	8	0*
Spirotetramato 15%(Movento)	0*	51,6	0*	0*	3,1
Abamectina 1,8%(Vertimec)	0*	27,4	0*	0*	0*
Maltodextrina 59,8%(ERII)	0	0	1,6	2,8	0
Polisulfuro de calcio18,5% (Sulfocal) 10	0	0	1,6	0	0
Polisulfuro de calcio18,5% (Sulfocal) 20	0	0	0	0	0

\*Presentaba porcentajes de eficacia negativos respecto al control.

### 5.1.3.2. Síntomas de las plantas de zanahoria y eficacia del segundo ensayo

Los resultados de Valle Guerra 2017 se muestran en la tabla 11. La producción abundante y anómala de raicillas fue el síntoma observado con más frecuencia en las zanahorias obtenidas en el ensayo. Todas las zanahorias de todos los tratamientos presentaban dicho síntoma. Entre los síntomas descritos para la enfermedad y observados en este ensayo, el amarillo y multibrotaciones se presentaron en un amplio intervalo de frecuencias, fueron fácilmente distinguibles en las plantas afectadas y permitieron establecer diferencias entre tratamientos. La anomalía de acucharado en las hojas fue un síntoma observado con más frecuencia en las zanahorias obtenidas en el ensayo, aunque el acucharado es un síntoma difícil de distinguir, especialmente en plantas ya cosechadas, por ello no es un síntoma adecuado para valorar los efectos de los tratamientos sobre la enfermedad.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

En este ensayo se observaron con mayor frecuencia plantas con puntas rojas por lo que este síntoma permitió establecer diferencias entre tratamientos. Sólo las plantas cubiertas por la malla mostraban menos síntomas de amarilleo, acucharado, multibrotaciones, raicillas y puntas rojas que el resto de los tratamientos, presentando diferencias significativas respecto al control.

**Tabla 11.** Resultado estadístico del porcentaje de plantas afectadas con síntomas en la finca de Isamar (Valle Guerra)

SINTOMAS TRAT.	AMARILLO	ACUCHARADO	MULTIBROTACIONES	RAICILLAS	PUNTAS ROJAS
Malla	56,8±21,2b*	45,4± 22,1b*	31,7±23,2b*	86,4±9,7a	0±0,0d*
Testigo	93,6±4,4ab	93,3±4,7a	84,2±11,8a	100±0,0a	11,1±3,9c
Caolín 95% (Surround)	72,4±7,6ab	94,1±3,4a	64,5±19,4ab	97,1±2,9a	7,5±2,8cd
Clorpirifos 48%(Gufos)	98,4±1,6a	98,4±4,4a	84,4±13,6a	100±0,0a	37,5±4,4ab
BlueHeron	89,1±6,9ab	100±0,0a	79,7±14,8a	96,9±1,7a	49,5±7,1a
Azufre mojable 80% (Sufrevit)	96,1±3,9ab	93,4±6,6a	87,8±10,6a	100±0,0a	57,3±2,9a
Aceite de parafina 83% (Ovitex)	95,7±2,7ab	100±0,0a	78,9±13,4a	98,6±1,4a	21,6±3,2bc
Polvo de diatomeas (SilyCal-Flow)	69,6±9,5ab	93,9±3,5a	86,6±11,3a	97,1±2,9a	7,5±2,8cd
Oxido de silicio amorfo 30% (Strensil)	77,6±10,4ab	98,3±1,7a	85,9±8,9a	98,4±1,6a	11,3±3,0c
p	0,0128	0,0064	0,0009	0,1495	0
%CV	21,39	18,23	18,97	8,67	28,35

Valores medios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los datos han sido sometidos para su análisis estadístico a una transformación de arcosen  $\sqrt{x}$

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

La eficacia de los productos en Valle Guerra 2017 se muestra en la tabla 12. Las zanahorias cubiertas por malla fue el más eficaz, destacando la reducción de síntomas respecto al control en amarilleo 44%, puntas rojas con un 100%, acucharado en un 51,1%, en multibrotaciones con un 80,1% y raicillas en un 13,9%. Además, la malla junto con el caolín, son los únicos tratamientos que muestran alguna eficacia en amarilleo, puntas rojas, multibrotaciones y raicillas, a excepción del acucharado.

**Tabla 12.-**Porcentaje de eficacia de los tratamientos respecto al control en Valle Guerra 2017.

SINTOMAS TRAT.	AMARILLOS	PUNTAS ROJAS	ACUCHARADO	MULTIBROTACIONES	RAICILLAS
Malla	44,0	100	51,1	80,1	13,8
Caolín 95% (Surround)	22,3	32,9	0*	24,1	3,0
Clorpirifos 48%(Gufos)	0*	0*	0*	0*	0*
BlueHeron	4,6	0*	0*	4,6	3
Azufre mojable 80% (Sufrevit)	0*	0*	1,58	0*	0*
Aceite de parafina 83% (Ovitex)	0*	0*	0*	6,5	1,5
Polvo de diatomeas (SilyCal-Flow)	25,5	31,9	0*	0*	3,0
Oxido de silicio amorfo 30% (Strensil)	17,2	0*	0*	0*	1,6

\*Presentaba porcentajes de eficacia negativos respecto al control.

Diversos autores han citado la utilidad del caolín para el control de psílicos en otros cultivos debido a varios mecanismos de acción. Pasqualini *et al.* (2003) describen cómo dos aplicaciones de caolín en febrero y marzo causaban una reducción del 99-100% de huevos y ninfas de *Caspsylla pyri* en el norte Italia. En un estudio de la eficacia del caolín frente a la psila del pistacho *Agonosцена pisticiae* se observó que su uso reducía las poblaciones e interrumpía el inicio de nuevas generaciones (Saour,2005). También se

observó que aplicaciones mensuales de caolín (Surround WP) durante un año producían una reducción del 78% de *Diaphorina citri* en hojas maduras de cítricos con respecto a hojas no tratadas y que en el número de adultos de ninfas y huevos por brote se reducía en un 85 y 78%, respectivamente (Hall, 2007). Peng et al. (2010) estudiaron la repelencia del caolín sobre *B.cockerelli* en tomate bajo condiciones de campo y laboratorio concluyendo que a pesar de que los adultos de este insecto podían permanecer en plantas tratadas con caolín cuando no había elección, la puesta de huevos se reducía. En el caso de ensayos de elección, *B.cockerelli* evitaba las plantas tratadas en condiciones de laboratorio y campo. En el caso de las poblaciones de adultos de *D.citri* reducidas con la aplicación de caolín, Puterka et al. (2000,2005) conjeturaron que la reducción en la oviposición podría estar causada por la incapacidad de las hembras del insecto de sujetarse a la superficie de la planta tratada con caolín. Además, la modificación que el caolín produce en la superficie de la hoja variando el color y la textura podrían indicar al insecto que está frente a un pobre hospedero.

Estudios anteriores, demuestran que el uso de tratamientos químicos convencionales no logra reducir la infección, únicamente resulta efectivo el uso de la malla anti-psila, en el cultivo de zanahoria (Marco-Noales y col., 2016). La prevalencia de la enfermedad fue mucho más reducida bajo malla, aunque recomienda el uso de aceites minerales de uso hortícola que reduzcan la infección natural al tratarse de barreras físicas. Por ello en un ensayo realizado en Canarias, se utilizó caolín como barrera física, obteniendo mayor eficacia en el control de síntomas de amarilleo, acucharado, multibrotaciones y raicillas. A excepción del caolín, ninguno de los repelentes e insecticidas utilizados, obtuvieron una eficacia aceptable en el control de síntomas de la enfermedad (Perera y col., 2017).

Por otro lado, en este ensayo se utilizó aceite de parafina o polvo de diatomeas, debido a la capa protectora que se crea en las hojas y funciona de barrera natural para el ataque de psílicos. En este caso el polvo de diatomeas mostró una eficacia de un 31,87% en puntas rojas y un 25,5 en amarillos en el ensayo de Valle Guerra, siendo ineficaz el uso de aceite de parafina.

#### **5.1.4. Resultados de los análisis de las muestras mediante qPCR para la detección de ‘Ca. L. solanacearum’ en psílicos y zanahoria**

Se detectó ‘Ca. L. solanacearum’ en adultos de *B. trigonica* (machos y hembras) analizados, y también en plantas con síntomas de la enfermedad. Estos resultados

permitieron confirmar la presencia del patógeno tanto en las plantas como en los vectores en las parcelas del ensayo.

### **5.1.5. Resultados de los análisis de residuos**

#### **5.1.5.1. Resultados de los análisis de residuos del primer ensayo**

Se detectaron residuos de imidacloprida a una concentración superior de 0,17 mg/kg al límite máximo de residuos (LMR) permitido de 0,5. Los productos clorpirifos, espirotetramato, abamectina, maltodextrina y polisulfuro de calcio no se detectaron en los análisis de residuos de las zanahorias sometidas a tratamientos cada diez días.

#### **5.1.5.2. Resultados de los análisis de residuos del segundo ensayo**

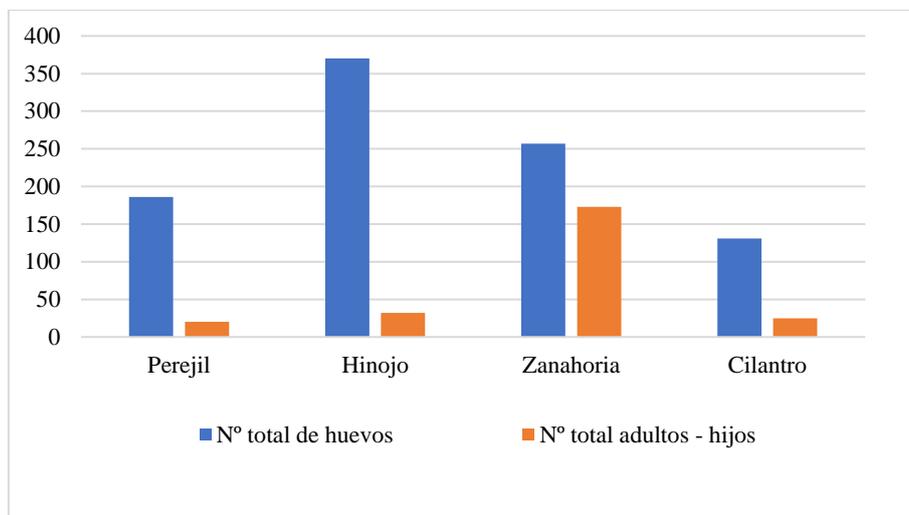
Los resultados de los análisis de residuos detectaron residuos de clorpirifos a una concentración superior al límite máximo de residuos (LMR) permitido. El clorpirifos superó el LMR un 0,1 en los ensayos, siendo una concentración en de 1,01 mg/kg, teniendo en cuenta que no se respetaron los plazos de seguridad para este producto que es de 21 días. El resto de los productos de ambos ensayos no se detectaron en los análisis de residuos de las zanahorias sometidas a tratamientos cada diez días.

## 5.2. Estudio del ciclo biológico *Bactericera trigonica* en otras plantas hospedadoras

### 5.2.1. Resultados de las puestas y desarrollo de *Bactericera trigonica*.

Se realizaron los conteos de huevos, ninfas y adultos en cada una de las plantas con lecturas a los 3, 5, 7, 14, 21 y 30 d después de la introducción de las parejas en los tubos con las plantas.

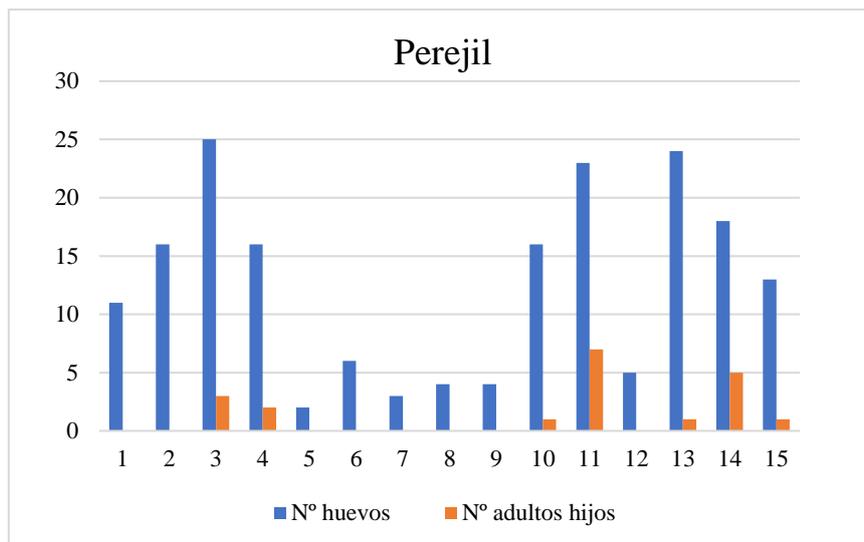
Los resultados de las puestas se muestran en la gráfica 14. Las puestas fueron variables en cada una de las plantas. Las puestas de huevos en hinojo fueron superiores al resto con un valor de 370 huevos, 257 huevos en zanahoria, 186 huevos en perejil y 131 en cilantro.



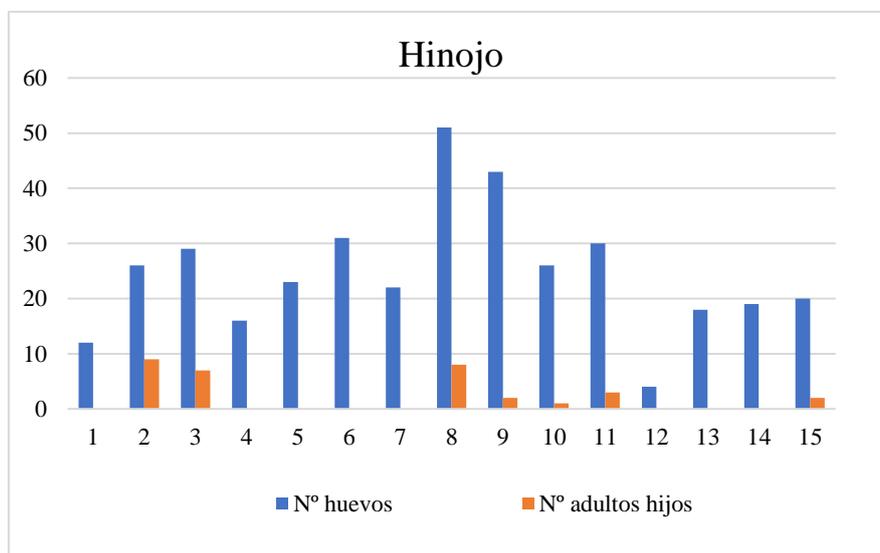
**Grafica 14.** Número de huevos y adultos obtenidos en la cría con cada una de las especies en todas las plantas del ensayo.

Tras 30 días en fitotrón, se realizó el conteo de adultos hijos emergidos de los huevos. El resultado de los hijos se muestra también en la gráfica 14. En este caso, los 173 hijos desarrollados en las plantas de zanahorias fueron muchos más que los de hinojo, cilantro y perejil, en los que se desarrollaron hasta la fase adulta 32, 25 y 20 individuos, respectivamente.

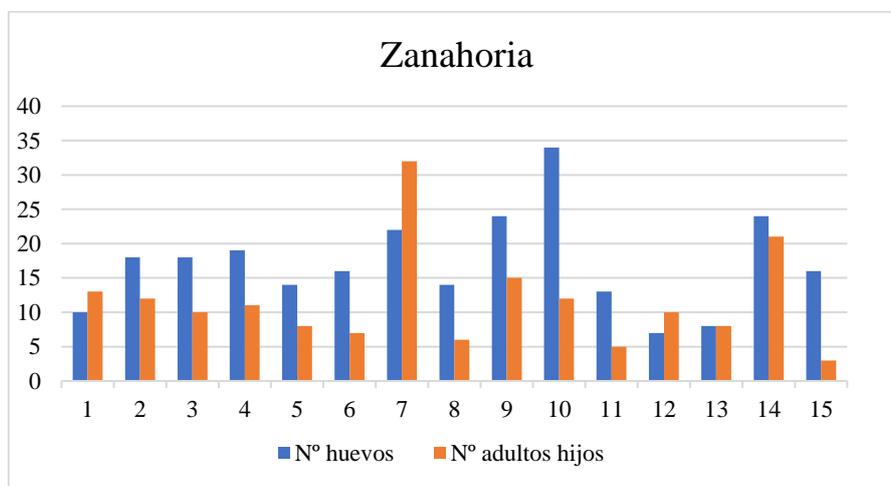
La relación entre el número de adultos y huevos en cada una de las plantas de cada especie se muestra en las gráficas 15, 16, 17 y 18. En las fotos 38, 39, 40 y 41. se pueden observar puestas de huevos y ninfas en las distintas plantas hospedadoras.



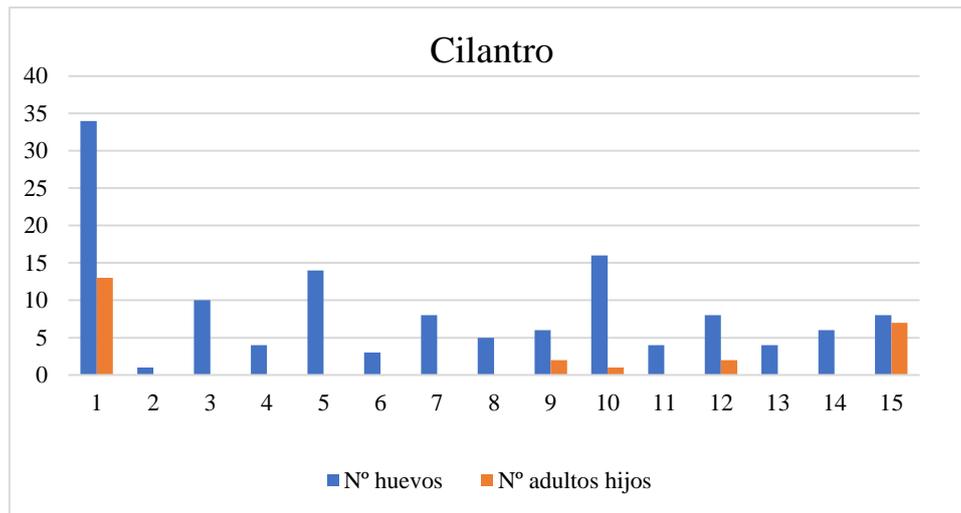
**Gráfica 15.** Conteo de huevos y adultos por cada planta en perejil.



**Gráfica 16.** Conteo de huevos y adultos por cada planta en hinojo.



**Gráfica 17.** Conteo de huevos y adultos por cada planta en zanahoria.



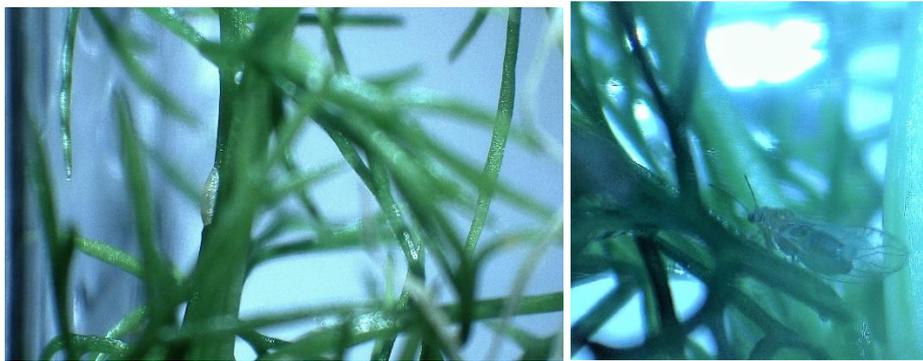
**Grafica 18.** Conteo de huevos y adultos por cada planta en cilantro.

Los porcentajes de supervivencia entre plantas fueron: perejil con 10,7%, hinojo con 8,8%, zanahoria con 67,3% y cilantro con un 19,1%. La alta mortalidad de *B. trigonica* en las plantas de hinojo, cilantro y perejil se debe a que el insecto no se encuentra en su planta hospedera habitual. Diversos autores han realizado ensayos en *Diaphorina citri* en otras plantas hospederas alternativas a los cítricos en los que se desarrolla habitualmente, teniendo en cuenta la supervivencia y tiempo de desarrollo de los insectos en las plantas (Alves y col., 2014). El desarrollo de *D. citri* está relacionado con la composición nutricional de la planta hospedera, principalmente en la calidad de la savia y la concentración de aminoácidos disponibles (Teck, 2011). Por tanto, los resultados obtenidos en este estudio remarcan las diferencias nutritivas entre las especies utilizadas, lo que influye en la elección de la hembra de la planta adecuada para realizar las puestas y el desarrollo posterior de huevos y ninfas de *B. trigonica*. Esta circunstancia provocó la alta mortalidad observada en hinojo, cilantro y perejil en condiciones de no elección. Plantas de la misma familia pueden jugar un papel fundamental en la supervivencia del insecto, y este ensayo demuestra que este psílido es capaz de desarrollarse, aunque en menor proporción, y sobrevivir en campo si no existen plantaciones de zanahorias próximas. Por lo tanto, estas plantas pueden ser un reservorio para *B. trigonica*. Se puede observar como el insecto es capaz de realizar puestas y desarrollarse en las distintas plantas hospederas en las fotos 38, 39, 40 y 41.

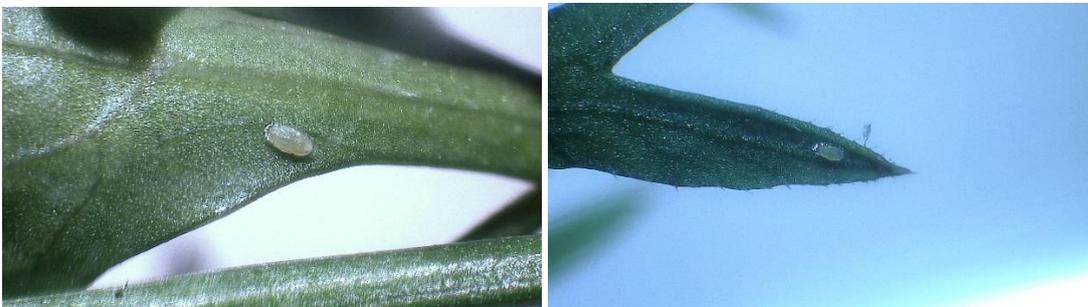
**'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



**Foto 38.** Ninfas en crecimiento en planta de perejil (izquierda) y detalle de puesta de huevo en perejil (derecha).



**Foto 39.** Desarrollo de ninfa en hinojo (izquierda) y adulto hijo recién emergido de su última fase ninfal en hinojo (derecha).



**Foto 40.** Detalle de ninfas y huevo en plantas de zanahoria.



**Foto 11.** Adulto emergido de su última fase ninfal en cilantro (izquierda) y ninfa en cilantro (derecha).

### 5.2.2. Resultados de los análisis de las muestras mediante qPCR para la detección de 'Candidatus Liberibacter solanacearum' en psílidos y plantas.

Se analizaron los 120 individuos adultos padres (machos y hembras) después de retirados de las cuatro especies de plantas tras cinco días en ellas para determinar si los ejemplares utilizados en el ensayo eran portadores de 'Ca. L. solanacearum'. Los psílidos portadores de la bacteria podían transmitirla a las plantas en las que se alimentaron mientras realizaban el apareamiento y las puestas. También se analizaron una selección al azar de 15 adultos hijos obtenidos de cada una de las especies plantas.

Con posterioridad a la retirada de insectos y del tratamiento insecticida de las plantas, se marcó la última hoja en emerger para poder seleccionar hojas nuevas desarrolladas después del periodo de cría del insecto, con el objetivo de poder analizar hojas que no hubieran estado en contacto con psílidos potenciales portadores de la bacteria. A consecuencia del desplazamiento de las plantas desde el fitotrón al invernadero donde se mantuvieron en jaula de malla y la consecuente aclimatación, muchas plantas no sobrevivieron. Algunas de las plantas desarrollaron los síntomas característicos de la enfermedad en las hojas nuevas como se muestra en las fotos 42, 43, 44 y 45. La tabla 13 muestra los resultados de los análisis de insectos y plantas.

Todos los insectos adultos padres fueron positivos en los análisis de detección de la bacteria por lo que todas las plantas pudieron ser infestadas con la bacteria. Del mismo modo, todos los adultos hijos analizados de perejil y zanahoria, y el 66% y el 86% de hinojo y cilantro fueron positivos en los análisis de detección de la bacteria.

**Tabla 13.** Resultados de los análisis de 'Candidatus Liberibacter solanacearum' (CaLso).

CaLso \ Hospedero	Perejil	Hinojo	Zanahoria	Cilantro
Nº plantas positivas /analizadas	9/13	6/15	10/11	2/4
Nº padres positivos/analizados	30/30	30/30	30/30	30/30
Nº total adultos-hijos positivos/analizados	15/15	10/15	15/15	13/15

**‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y enrojecimientos de la zanahoria”**

Los resultados de los análisis detectan también la presencia de la bacteria ‘*Ca. L. solanacearum*’ en las cuatro especies de plantas de distinta proporción y tanto en plantas sintomáticas como asintomáticas. Las semillas de las plantas de zanahoria e hinojo fueron analizadas para la detección de la bacteria, dando resultados negativos. Sin embargo, no se analizaron las plantas de vivero utilizadas en los ensayos de perejil y cilantro. Es por ello por lo que no podemos confirmar fehacientemente que la bacteria detectada en las plantas de cilantro y perejil fue transmitida por el insecto durante la cría, aunque sí que la bacteria pudo desarrollarse en estas plantas en hojas que no habían estado en contacto con el insecto vector y que, por tanto, la bacteria puede desarrollarse en ellas y causar síntomas. Existen estudios anteriores que han analizado las semillas de la familia de las Apiaceae, en las que se encontraban: alcaravea (*Carum carvi*) comino (*Cuminum cyminum*), cilantro, eneldo (*Anethum graveolens*), hinojo y perejil, que demuestran la presencia de la bacteria en semillas de perejil (Monger y Jeffries, 2016).



**Foto42.** Síntomas de amarillos y puntas rojas en perejil.



**Foto 43.** Síntomas de puntas rojas en hinojo.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



**Foto 44.** Multibrotaciones y amarillos en zanahoria.



**Foto 45.** Acucharado y multibrotaciones en cilantro

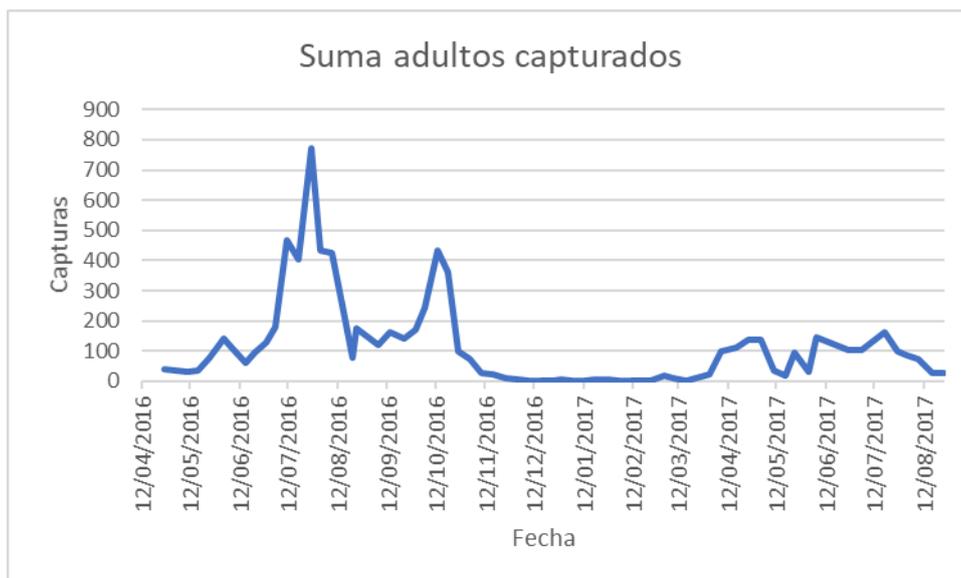
### **5.3. Estudió la dinámica de poblaciones de *Bactericera trigonica* en zanahoria sin la aplicación de productos fitosanitarios para su control en campo**

En el trabajo de fin de grado realizado por Sicilia (2013) en el que comparaba diferentes métodos de muestreo para el monitoreo de *B. trigonica* en un cultivo de zanahoria, la trampa amarilla adhesiva resultó ser el método más sencillo de manejar y el que más ejemplares capturaba por unidad de superficie. Por dicho motivo se seleccionó la trampa amarilla para el seguimiento de las poblaciones en este ensayo.

La especie de psílido identificada con más frecuencia en todo el estudio fue *B. trigonica*, criada en la misma parcela de cultivo de zanahoria del ensayo, aunque también se capturaron abundantemente ejemplares de la psila africana de los cítricos, *Trioza erytrae*, debido a la presencia de cítricos en la proximidad del cultivo. La población de psílicos no estuvo supeditada a la utilización de productos con actividad insecticida, porque no se utilizaron. Durante el año y cuatro meses que duró el seguimiento de las dos parcelas de ensayo de este trabajo se recogieron 578 trampas amarillas adhesivas en la finca Isamar (norte de Tenerife) en las que se detectaron 7.339 ejemplares de *B. trigonica* y 3.371 de *Trioza erytrae*, 69 y 31 % de los psílicos capturados, respectivamente. En el ensayo de La Planta (sur de Tenerife) se recogieron 589 trampas en las que se detectaron 17.302 adultos de *B. trigonica* y 440 de *Trioza erytrae*, 98 y 2% de los psílicos capturados, respectivamente.

La evolución de la suma de adultos capturados en cada parcela se muestra en las gráficas 19 y 20. En Güímar se detectó un incremento de las capturas de psílicos en los meses de verano con dos picos de capturas el 13/07/2016 y el 3/08/2016 con 1.816 y 2.143 capturas, respectivamente; que se repiten al año siguiente el 4/07/2017 y el 1/08/2017 con 748 y 670 ejemplares, respectivamente. En la finca Isamar en el norte de Tenerife se detectó un pico el 26/07/2016 con 770 ejemplares y un segundo pico, ya en otoño, el 13/10/2016 con 433 ejemplares. En 2017 se observó un incremento de la población sin picos claros, con capturas semanales inferiores a los 200 ejemplares.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



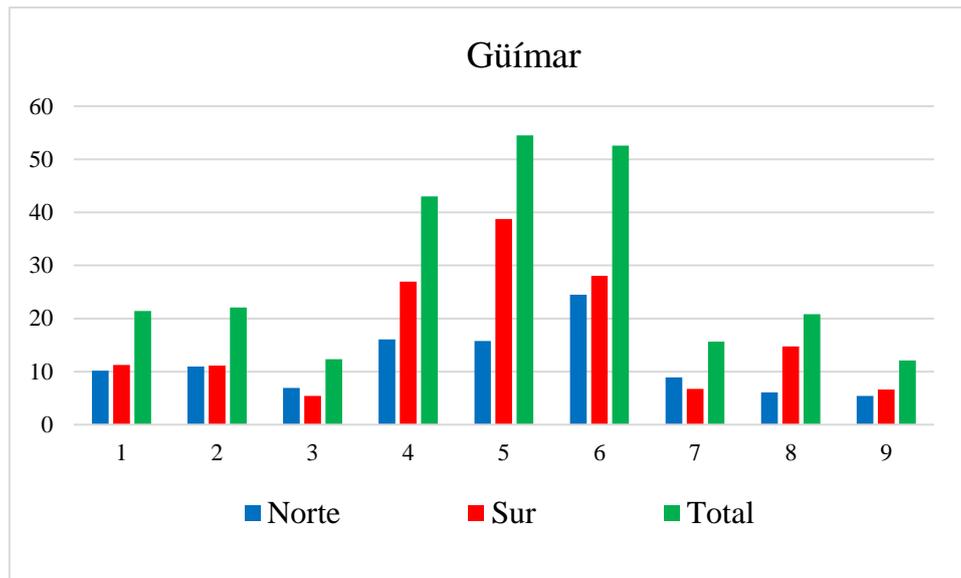
**Gráfica 19.** Evolución en el tiempo de las capturas totales en las nueve trampas amarillas adhesivas durante el ensayo en la finca Isamar (Valle Guerra)



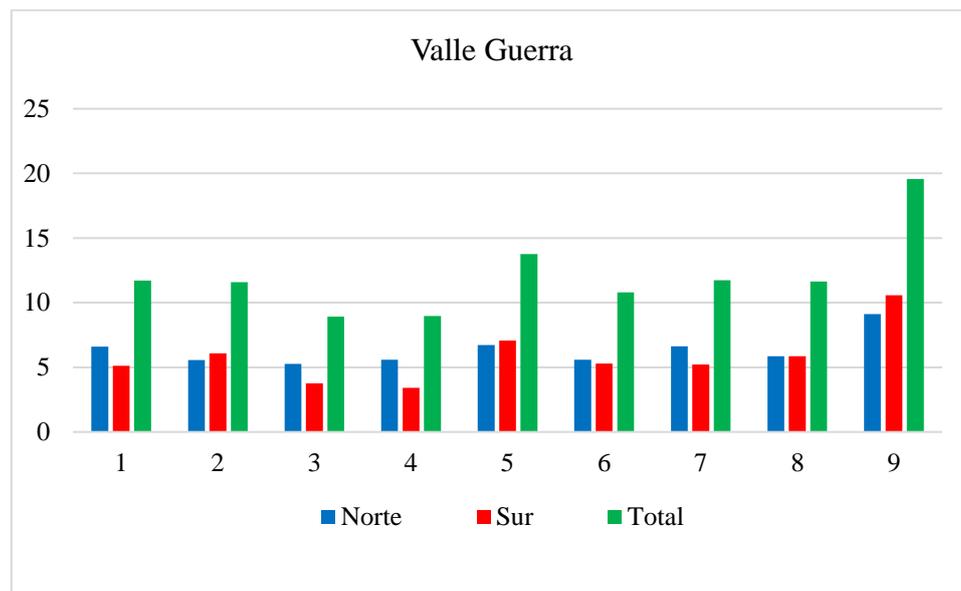
**Gráfica 20.** Evolución en el tiempo de las capturas totales en las nueve trampas amarillas adhesivas durante el ensayo en la finca La Planta (Güímar)

En Güímar (Gráfica 20) las trampas números cinco obtuvieron mayor valor de capturas frente al resto de trampas, siendo la cara sur de esta la que más número de psílicos tenía. Los resultados estadísticos se muestran a continuación.

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**



**Gráfica 21.** Diferencias de capturas promedio entre la cara norte y sur en las nueve trampas durante todo el ensayo en la finca La Planta (Güímar)



**Gráfica 22.** Diferencias de capturas en cara norte y sur de la trampa en Valle Guerra

En ensayos realizados anteriormente por otros autores (Sicilia, 2014; Teresani, 2014) se observó cómo al principio del cultivo, cuando se aplicaban tratamientos insecticidas regularmente, el número de psíldos capturado fue siempre bajo comparativamente, y a partir de la aplicación del último tratamiento fue cuando aumentaron progresivamente los psíldos capturados hasta alcanzar valores comparativamente muy altos. En nuestro caso, el condicionante principal del desarrollo de las poblaciones es la climatología que

favorece el desarrollo de la plaga durante el verano y el estado de desarrollo del cultivo con mayor o menor abundancia de hojas en buen estado que puedan permitir la oviposición por las hembras y el desarrollo del psílido.

Las plantas después de 3 meses empezaron a mostrar claros síntomas de amarillos y esporádicos enrojecimientos. Progresivamente, se empezaron a observar síntomas de multibrotaciones con el avance del cultivo, aunque no se estimaron los daños ni la evolución en el tiempo de los mismos. Después de octubre de 2016 el cultivo mostraba síntomas generalizados de amarillos con esporádicas nuevas brotaciones en las zanahorias ya establecidas. Las capturas en las caras norte y sur de las trampas amarillas presentaron diferencias significativas entre sí (gráficas 21, 22, 23 y 24), también las capturas en las nueve trampas situadas en distintas localizaciones de la parcela (gráficas 21 y 22). Las variaciones entre las dos caras de las trampas pudieron ser debidas a el efecto del viento y/o a la situación de las trampas más o menos próximas a los bordes de la parcela. También este último factor pudo ser determinante de las variaciones entre las trampas, así como las diferencias en la distribución de la población en el cultivo. La justificación de dichas diferencias no se analiza en este trabajo. Ya en trabajos anteriores Sicilia (2013) y Quintana (2014) se observaron diferencias en las capturas entre las dos caras de las trampas adhesivas con orientación norte/sur.

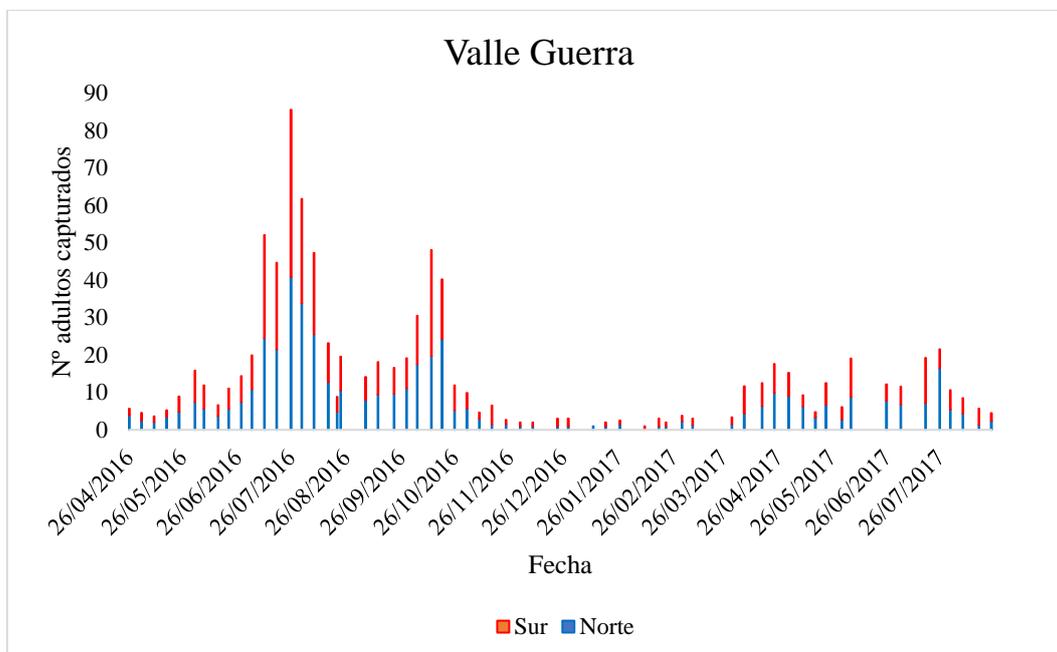
El uso de trampas amarillas adhesivas es ampliamente utilizado en estudios de diferentes especies de psílicos, como *Bactericera cockerelli* (Walker, 2011), que indican que este tipo de trampa da buenos resultados. Al-Jabr y Cranshaw (2007) estudiaron diferentes alturas de colocación de trampas y colores en cultivos de tomate para *B. cockerelli*. En este estudio, el color amarillo resultó el más atrayente para psílicos y la altura de la trampa por encima del dosel del cultivo, la más efectiva.

Este tipo de método de muestreo es ampliamente utilizado en el seguimiento de diferentes especies de plagas de psílicos, entre los que podemos destacar *Bactericera cockerelli* (Walker, 2011) para la que se han realizado estudios que indican que este tipo de trampa da buenos resultados. Al-Jabr y Cranshaw (2007) evaluaron diferentes colores y alturas de colocación de trampas en cultivos de tomate para *B. cockerelli*, resultando el color amarillo el más atrayente para psílicos y que la altura de la trampa por encima del dosel del cultivo es la más efectiva.

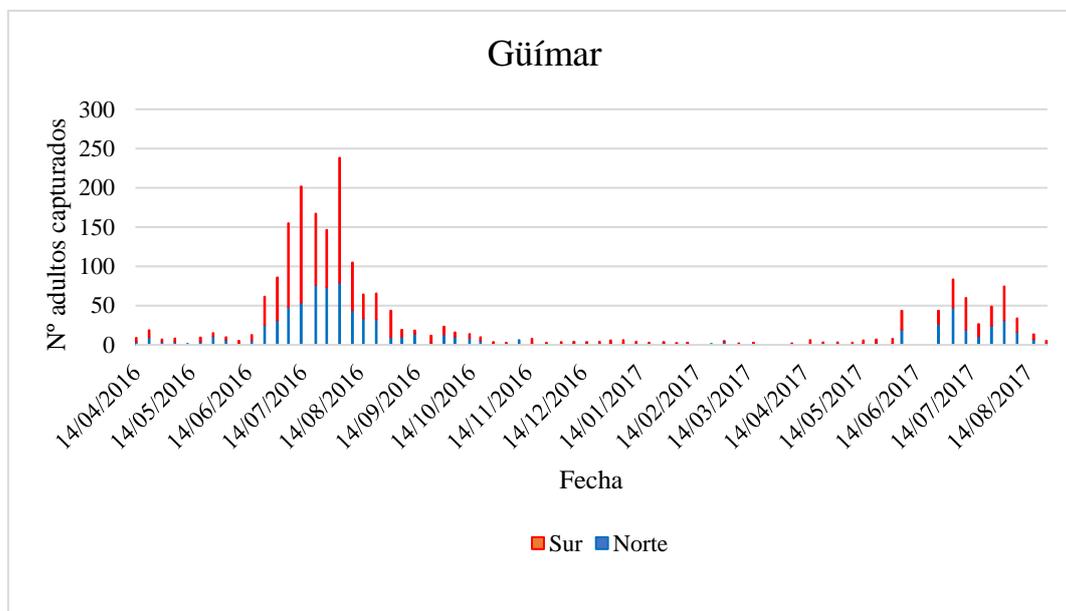
Hall & Hentz (2001) evaluaron la orientación de trampas para el psílido *Diaphorina citri*

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

Kuwayama en cítricos obteniendo diferencias no significativas entre la colocación de las trampas al este y al oeste de los árboles, al igual que en nuestro ensayo no se obtuvieron diferencias significativas a lo largo del periodo del ensayo, aunque las capturas por el sur son siempre un poco más altas que por el norte.



**Gráfica 33.** Evolución durante el desarrollo del ensayo de las diferencias de capturas promedio entre la cara norte y sur en la finca Isamar (Valle de Guerra).



**Gráfica 44.** Evolución durante el desarrollo del ensayo de las diferencias de capturas promedio entre la cara norte y sur en la finca La Planta (Güímar)





## **6. CONCLUSIONES**



6.1. Se han capturado abundantemente ejemplares del psílido *Bactericera trigonica* en las plantas de zanahoria de los ensayos con productos, en las que se han desarrollado síntomas de: amarillos, multibrotaciones, emisión abundante y anómala de raicillas, acucharado de hojas, puntas rojas y enrojecimientos en las hojas. Se ha detectado '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' tanto en el psílido como en las plantas sintomáticas. Los amarillos y multibrotaciones fueron los síntomas que permitieron distinguir mejor entre tratamientos por la frecuencia con la que aparecieron en los ensayos.

6.2. La proximidad a la zona de ensayo de la parcela afectada por *Bactericera trigonica* y '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' durante todo el ensayo no permitió establecer diferencias entre tratamientos de una manera clara. Sin embargo, los resultados obtenidos con el caolín y malla señalan la importancia del uso de productos con efecto repelente visual o táctil, que dificulten el reconocimiento de la planta, la alimentación del adulto y la oviposición, y que puedan reducir la transmisión del patógeno por sus vectores.

6.3. La malla que evitaba la exposición a los psílicos de las plantas no obtuvo los resultados en peso de las zanahorias esperado, pudiendo ser el sombreado causado por la misma un impedimento para el mejor desarrollo de la planta.

6.4. A excepción del caolín y la malla, ninguno de los productos evaluados, tanto repelentes como insecticidas, obtuvieron una eficacia aceptable en el control de los síntomas de la enfermedad. El caolín y el uso de malla podría ser utilizado en programas de manejo integrado de zanahoria para el control de *Bactericera trigonica* con el fin de reducir los daños causados por la enfermedad que trasmite.

6.5. Al estudiar el desarrollo de *Bactericera trigonica* en hinojo, perejil y cilantro como plantas hospederas alternativas a la zanahoria, se ha comprobado que es capaz de completar en ellas su ciclo biológico.

6.6. La supervivencia de los huevos y ninfas en las hospederas alternativas se reduce a lo largo del ensayo en perejil si lo comparamos con la zanahoria, siendo de 10,7% en perejil 8,8% en hinojo, 19,1% en cilantro y 67,3% en zanahoria.

6.7. El hinojo, el perejil y el cilantro pueden desarrollar síntomas característicos de la enfermedad causada por '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' en las zanahorias, y se pueden detectar bacterias en ellos.

6.8. Al estudiar la evolución de la población de psílicos en campos de zanahoria se ha comprobado que el psílido está presente a lo largo de todo el año con picos o incrementos de población principalmente durante el verano.

6.9. Durante el año y cuatro meses que duró el seguimiento de las dos parcelas de ensayo de este trabajo mantenidas en las mismas condiciones se capturaron en la zona sur 2,3 veces los ejemplares capturados en la zona norte.

6.10. Teniendo en cuenta el escaso número de estudios publicados a nivel mundial sobre *Bactericera trigonica* y los patógenos que transmite en zanahoria es necesario realizar trabajos de investigación que posibiliten el desarrollo de métodos para su control.

6.1. Symptoms of leaf curling with yellow, bronze, and purple discoloration, twisting of petioles, multibrotations, stunting of shoots and tap roots, and proliferation of secondary roots have been developed in the presence of the psyllid *Bactericera trigonica*, vector of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in the carrot plants of the trial. The yellowing and multibrotations were the easily distinguishable symptoms and allowed to establish differences between treatments.

6.2. The proximity to the source of *Bactericera trigonica* and 'Candidatus Liberibacter solanacearum' during the whole trial did not allow to establish clear differences between treatments. However, the results obtained with the kaolin and the mesh indicate the importance of the use of products with visual or tactile repellent effect, which hinder the recognition of the plant, adult feeding and oviposition, and that can reduce the transmission of the pathogen by the vectors.

6.3. The mesh that avoided the exposure to the psyllids of the plants did not obtain the expected weight of carrots. This decrease in weight may be caused by shading on developing plants.

6.4. With the exception of the kaolin and the mesh, none of the evaluated products, both repellents and insecticides, obtained an acceptable efficacy in the control of the symptoms of the disease. The kaolin and the use of mesh could be used in programs of integrated management of carrot for the control of *Bactericera trigonica* in order to reduce the damages caused by the disease that it transmits.

6.5. Studying the development cycle of *Bactericera trigonica* in alternative host plants to carrot (fennel, parsley and coriander), it has been proven that the psyllid lays eggs that hatch and completes the nymphal stage until adults emerge from them.

6.6. The survival of the eggs and nymphs of *Bactericera trigonica* in the alternative hosts is reduced compared to their usual host, being 10.7% in parsley, 8.8% in fennel; 19.1% in coriander, and 67.3% in carrots.

6.7. Fennel, parsley and cilantro can develop characteristic symptoms of the disease caused by 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in carrots, and bacteria can be detected in them.

6.8. The evolution of the population of psyllids in carrot fields has shown that the psyllid is present throughout the year with peaks or population increasing during the summer.

6.9. Specimens captured in the assay located in the warmer South of Tenerife were 2.3 times the specimens captured in the assay located in the North.

6.10. Considering the scarce number of studies published worldwide on *Bactericera trigonica* and on the pathogens it transmits in carrots, it is necessary to carry out more research works that enable the development of methods for its control.





## **7. BIBLIOGRAFÍA**



**‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y enrojecimientos de la zanahoria”**

- AGRIOS G. N. 1995. Fitopatología. Editores: Editorial Limusa S.A., Uteha y Grupo Noriega Editores. 2ª Edición. Méjico., D.F. 838 pp.
  
- ALFARO-FERNÁNDEZ, A., SIVERIO, F., CEBRIAN, M.C., VILLAESCUSA, F.J., FONT, M.I. 2012. "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" associated with *Bactericera trigonica* - affected carrots in the Canary Islands. *Plant disease*, 96(4), pp. 581.3-581.3.
  
- ALFARO-FERNÁNDEZ A., VERDEGUER M., RODRÍGUEZ F., IBÁÑEZ M. I., HERNÁNDEZ D., TERESANI G., BERTOLINI E., CAMBRA M. Y FONT M.I. 2016. Search for reservoirs of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ and mollicutes in weeds associated with carrot and celery crops. *Eur.J.PlantPathol.* doi: 10.1007/s10658-016-0984-9.
  
- ALFARO-FERNÁNDEZ A., HERNÁNDEZ D.; FONT M.I. 2017. Haplotypes of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ identified in Umbeliferous crops in Spain. *Eur.J.PlantPathol.* doi: 10.1007/s10658-017-1172-2.
  
- AL-JABR AHMED M., CRANSHAW WHITNEY S. 2007. Trapping Tomato Psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae), in Greenhouses. *Southwestern Entomologist*. Vol.32.Nº 1.
  
- BIELZA P., TORRES VILA L. M., LACASA A. 2003. **Plagas de la zanahoria.** En: Bello A., López-Pérez J.A., García Álvarez a.2003. Biofumigación en agricultura extensiva de regadío. Editores: Fundación rural Caja Alicante y Ediciones Mundi-Prensa. Alicante. 257-274.
  
- BIOREBA AG. 2012. (En línea) Available at: [http://www.bioreba.ch/popup.php?docFile=http://www.bioreba.ch/files/Product\\_Info/Disposables/Extraction\\_bags.pdf](http://www.bioreba.ch/popup.php?docFile=http://www.bioreba.ch/files/Product_Info/Disposables/Extraction_bags.pdf) [Último acceso: 30/08/2018]

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

- BOVÉ, J.M., LÓPEZ, M.M., DURAN-VILA, N. 2006. **Evitar el Huanglongbing (HLB), un reto para la supervivencia de la citricultura española.** *Levante Agrícola*, 383, pp. 385-390.
- CTIFL. 1992. **La Carotte: guide pratique**, Vol. I y II. Ed: Sileban. París. 229,227.
- DOY, Y.; TERENAKA, M.; YORA, K., Y ASUYAMA, H; 1967. **Mycoplasma or PLT-group-like organisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows or paulownia witches' broom'**. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 33 (4): 259–266.
- EPPO, 2017. *European and Mediterranean Plant Protection Organization*. [En línea]: [https://www.eppo.int/RESOURCES/eppo\\_databases/global\\_database](https://www.eppo.int/RESOURCES/eppo_databases/global_database) [Último acceso: 30/08/2018].
- FAO (s.d.). 2015. [En línea]: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Consulta: 15/04/2018].
- FONT M.I., ABAD P., ALBIÑANA M., ESPINO A. I., DALLY E. L., DAVIS R. E., JORDÁ C. 1999. **Amarillos y enrojecimientos en zanahoria: Una enfermedad a diagnóstico.** *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas*, 25 (3): 405-415.
- GARNIER, M., JAGOEIX-EVEILLARD, S., CRONJE, P. R., LE ROUX, H. F., BOVÉ, J. M. 2000. **Genomic characterization of a liberibacter present in an ornamental rutaceous tree, Calodendrum capense, in the Western Cape province of South Africa. Proposal of 'Candidatus Liberibacter africanus subsp. capensis'.** *Int J Syst Evol Microbiol* 50, 2119–2125.
- GAVIOLA C. 2013. **Manual de producción de zanahoria.** [En línea]: <https://inta.gob.ar/documentos/manual-de-produccion-de-zanahoria> [Consulta: 16/08/2018)

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

- GLENN, D.M., PUTERKA G.J., DRAKE, S., UNRUH, T., KNIGHT, A., BAHERLE, P., PRADO, E., BAUGHER T. 2001. **Particle film application influences apple leaf physiology, fruit yield, and fruit quality.** Journal of the American Society for Horticulture Science, 126: 175-181.
- GLENN, D.M., G.J. PUTERKA, T. VANDERZWET, R.E. BYERS, C. FELDHAKE. 1999. **Hydrophobic particle Films: a new paradigm for supression of arthropod pests and plant disease.** Journal of Economic Entomology, 2: 759-771.
- GOBIERNO DE CANARIAS. CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, PESCA Y AGUAS, 2018. **Estadística Agraria de Canarias.** Santa Cruz de Tenerife: Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas.
- HALL, D.G., LAPOINTE, S.L., WENNINGER, E.J. 2007. **Effets of a particle film on biology and behaviour of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and its infestations in citrus.** Journal of Economic Entomology. 100 (3): 847-854.
- HALL DAVID G., HENTZ MATTHEW G. 2001. **Sticky trpa and stem-tap sampling protocols for the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae).** United States Departament of Agriculture. Agricultural Research Serice, U.S. Horticultural Research Laboratory.
- HODKINSON I. D. 1981. **Status and taxonomy of the Trioza (*Bactericera*) nigricormis Förster complex (Hemiptera: Triozidae).** Bulletin of entomological research, 71, pp. 671-679.
- HODKINSON I.D. 2009. **Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insecta: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis.** Journal of natural history. Vol. 43. N° ½. P:65-179

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

- HOGENHOUT, S.A., OSHIMA, K., AMMAR, E-D., KAKIZAWA, S., KINGDOM, H.N.Y NAMBA, S.; 2008. **"Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects"**. *Molecular Plant Pathology* 9 (4): 403–423.
- IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team- Phytoplasma taxonomy group, 2004. **'Candidatus Phytoplasma' a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects.** *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, pp. 1243-1255.
- JAGOUÉIX, S., BOVÉ, J. M. & GARNIER, M. 1994. **The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the a subdivision of the Proteobacteria.** *Int J Syst Bacteriol* 44, 379–386.
- JIFON, J.L., J.P. SYVERTSEN, 2003. **Kaolin particle film applications can increase photosynthesis and water use efficiency of "Ruby Red" grapefruit leaves.** *Journal of the American Society for Horticulture Science*, 128: 107-112.
- LESTER, G.E. 1982. **Physiology of sugar accumulation in carrot breeding lines and cultivars.** *J. Amer.Soc. Hort. Sci.*, 107 (3), pp. 381-387.
- LIEFTING, L.W., WEIR, B. S., PENNYCOOK, S.R., CLOVER, GERARD, R.G., 2009. **'Candidatus Liberibacter solanacearum' associated with plants in the family solanaceae.** *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, pp. 2274-2276.
- LÓPEZ-PÉREZ J. A., BELLO A., SANZ R., GARCÍA ÁLVAREZ A. 2003. **Agroecología del nemátodo formador de nódulos *Meloidogyne incognita*.** En: Bello A., López-Pérez J. A., García Álvarez A. 2003. *Biofumigación en agricultura extensiva de regadío.* Editores: Fundación Caja Rural Alicante y Ediciones Mundi-Prensa. Alicante.
- MARCO-NOALES E., M. LOPEZ M, MARTINEZ M. C., SIVERIO F., SANJUAN S. Y CAMBRA M. 2016. **'Candidatus Liberibacter solanacearum'**

**‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad “amarillos y enrojecimientos de la zanahoria”**

- **en zanahoria y otras apiáceas y riesgo para solanáceas. Estrategias de control.** Tierra Agrícola (Dossier) 236: 102-109.
- MAROTO, J. V. 2002. **Horticultura herbácea especial.** Edición Mundi-Prensa. 5º Edición. Madrid. 702 pp.
- MESSIAEN C. M., BLANCARD D., ROUXEL F., LAFON R. 1995. **Enfermedades de las hortalizas.** Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 576 pp.
- MONGER W. A. Y JEFFRIES C.J. 2016. **First report of ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ in parsley (*Petroselinum crispum*) seed.** New Disease Reports 34, 31.
- MONSERRAT DELGADO A. 2003. FLORA ARVENSE EN CULTIVOS HORTÍCOLAS. EN: BELLO A., LÓPEZ-PÉREZ J. A., GARCÍA ÁLVAREZ A. 2003. **Biofumigación en agricultura extensiva de regadío.** Editores: Fundación Caja Rural Alicante y Ediciones Mundi-Prensa. Alicante. 275-310.
- MUNYANEZA, J.E., CROSSLIN, J.M., UPTON, J.E., 2007. **Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "Zebra Chip" a new potato disease in southwestern United States and Mexico.** *Journal of Economic Entomology*, 100(3), pp. 656-663.
- MUNYANEZA, J. E., FISHER, T. W., SENGODA, V. G., GARCZYNSKI, S.F., NISSINEN, A., LEMMETTY, A., 2010. **Association of ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ with the psyllid *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe.** *Journal of Economic Entomology*, 103(4), pp. 1060-1070.
- MUNYANEZA, J. E., 2012. **Zebra Chip disease of potato: biology, epidemiology and management.** *American Journal of Potato Research*, 89, Issue 5, pp 329-350
- MUNYANEZA, J. E., SENGODA, V. G., BUCHMEN, J. L., FISHER, T. W., 2012. **Effects of Temperature on ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’**

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

- **and zebra chip potato disease symptom development.** *Plant Disease*, Issue 96, pp. 18-23.
- MUNYANEZA, J. E. Y SENGODA, V., 2009. **First Report of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in Pepper Plants in México.** *Plant Disease*, 93(10), p. 1076.
- MURRAY R.G.E., SCHLEIFER K.H., 1994. **Taxonomic notes: a proposal for recording the properties of putative taxa of prokaryotes.** *International Journal of Systemic Bacteriology* 44: 174-176.
- NELSON W., FISCHER T. Y MUNYANEZA J. 2011. **Haplotypes of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' suggest long-standing separation.** *Eur.J.PlantPathol.* 130, 5–12. doi: 10.1007/s10658-010-9737-3
- NELSON W., SENGODA V., ALFARO-FERNÁNDEZ A., FONT M.I., CROSSLIN J. Y MUNYANEZA J. 2013. **A new haplotype of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' identified in the Mediterranean region.** *Eur.J.PlantPathol.* 135, 633-639. doi: 10.1007/s10658-012-0121-3
- LÓPEZ-PÉREZ J. A., BELLO A., SANZ R., GARCÍA ÁLVAREZ A. 2003. **Agroecología del nemátodo formador de nódulos *Meloidogyne incognita*.** En: **Bello A., López-Pérez J. A., García Álvarez A. 2003. Biofumigación en agricultura extensiva de regadío.** Editores: Fundación Caja Rural Alicante y Ediciones Mundi-Prensa. Alicante.
- OSSET, S. 1990. **La zanahoria en Segovia.** HF6:24-29.
- OUVRARD D. 2012. **Primer registro de la cebolla psílido *Bactericera tremblayi* (Wagner, 1961) (Insecta: Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea) y nuevos síntomas en los cultivos de puerro en Francia.** Department of Life Sciences, The Natural History Museum. Cromwell Road, Londres, Reino Unido

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

- PASQUALINI, E., CIVOLANI, S., CORELLI GRAPPADELLI, L. 2002. **Particle film technology: approach for a biorational control of *Cacopsylla pyri* (Rhynchota: Psyllidae) in Northern Italy.** Bulletin of Insectology. 55, 39-42
- PEREA S., MOLINA J. Y SIVERIO F. 2016. **Ensayo de eficacia de productos para el control de amarillos en zanahoria. Cabildo Insular de Tenerife.** [En línea]: [http://www.agrocabildo.org/publicaciones\\_detalle.asp?id=604](http://www.agrocabildo.org/publicaciones_detalle.asp?id=604) [Consulta: 14/05/2017].
- PENG, L., TRUMBLE, J.T., MUNYANEZA, J.E., LIU, T.X. 2011. **Repellency of a kaolin particle film to potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae), on tomato under laboratory and field conditions.** Pest Management Science, 67: 815-824.
- P.H.M. 1985. **Carottes: Les differents problemes culturaux ont ete examines aux Journees de Meynes (Gard).** Pep. Hort. Mar., n° 253, pp. 59-61.
- PUTERKA, G.J., GLENN, D.M., PLUTA, R.C. 2005. **Action of particle films on the biology and behavior of pear psylla (Homoptera: Psyllidae).** Journal of Economic Entomology. 98: 2079-2088.
- QUINTERO M. 2014. **Estudio de la distribución de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria", de su agente etiológico "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" y del psílido vector *Bactericera trigonica*.** Proyecto Fin de Carrera. Ingeniero Agrónomo. Escuela Técnica Superior de Ingeniería. Universidad de La Laguna. 129 pp.
- ROLDAN A. 2014. **Parámetros biológicos de *Bactericera trigonica* (Hemiptera: Trioziidae) y posibilidades para su control biológico.** Proyecto Fin de Carrera. Ingeniera técnico agrícola en hortofruticultura y jardinería. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Universidad de La Laguna. 79 pp

- SAOUR, G. 2005. **Efficacy of kaolin particle film and selected synthetic insecticides against pistachio psyllid *Agonoscena targionii* (Homoptera: Psyllidae) infestation.** Crop Protection. 24. 711-717.
- SEF, SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA, 2010. En: ***Patógenos de plantas descritos en España***. Segunda edición ed. s.l.:Gobierno de España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino., pp. 327-328.
- SICILIA A. 2013. **Control de *Bactericera trigonica* Hodkinson (1981) en zanahoria.** Proyecto Fin de Carrera. Ingeniero Agrónomo. Escuela Técnica Superior de Ingeniería. Universidad de La Laguna. 138 pp.
- SOBRINO ILLESCAS E., SOBRINO YESPERINAS E. 1994. **Tratado de horitulcultura herbácea.** Vol III. Ed. Aedos. Barcelona. 313 pp.
- SOMMA, M., s.f. **Análisis de la presencia de organismos genéticamente modificados en muestras de alimentos.** s.l.:JRC European Comission.
- STANDHILL. 1977. Citado por: **CTIFL**, 1992.
- TASCÓN C. 2005. **Métodos alternativos de desinfección de suelos en el cultivo de zanahorias.** Proyecto Fin de Carrera. Ingeniero Agrónomo. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Universidad de La Laguna. 227 pp.
- TEIXEIRA, D. C., SAILLARD, C., EVEILLARD, S., DANET, J. L., IGNACIO DA COSTA, P., AYRES, A. J. Y BOVE', J. 2005. **'Candidatus Liberibacter americanus', associated with citrus huanglongbing (greening disease) in Saõ Paulo State, Brazil.** Int J Syst Evol Microbiol 55, 1857–1862.
- TERESANI, G.R, BERTOLINI E., ALFARO-FERNÁNDEZ A., MARTÍNEZ C., TANAKA F.A.O. Y KITAJIMA E.W. 2014. **Association of 'Candiadtus**

**'Candidatus Liberibacter solanacearum' y fitoplasmas, agentes etiológicos de la enfermedad "amarillos y enrojecimientos de la zanahoria"**

- **Liberibacter solanacearum' with have vegetative disorder of celery in Spain and development of a Real-Time PCR method for its detection.** *Phytopathology* 104,804–811.doi: 10.1094/phyto-07-13-0182-r
- TERESANI, G.R, HERNÁNDEZ E., BERTOLINI E., SIVERIO F., MARROQUÍN, C., MOLINA, J., HERMOSO DE MENDOZA, A., CAMBRA, M. 2015.**Search for potencial vectors of 'Candidatus Liberibacter solanacearum': population dynamics in host crops.** Spanish Journal of Agricultural Research, Volume 13, Issue 1, e10-002, 11pp.
- VIDAL A., SANJUAN J., FERRÁNDIZ J.C., CAMAÑEZ M.C., MUÑOZ P., BARTALOMÉ P., DOMENE R Y SANJUAN S. 2017. **Cultivos hortícolas al aire libre: Zanahoria.** Editores: Fundación Cajamar Caja Rural. Alicante.
- VILLAESCUSA F.J., SANJUÁN S., CEBRIÁN M.C., ALFARO-FERNÁNDEZ A., FONT M.I. FERRÁNDIZ J.C., HERMOSODE MENDOZA A. 2011. **Prospección de posibles vectores (Hemiptera: Cicadellidae, Aphididae y Psylloidea) de patógenos en apio y zanahoria.** Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas, 37: 163-171.
- UC, I. 2009. University of California Agriculture & Natural resources. Statewide Integrated Pest Management Program. [En línea]: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r102100811.html> [Consulta: 3 marzo de 2018].
- WALKER G.P., MACDONALD F.H., LARSEN N.J., WALLACE A.R. 2011. **Monitoring *Bactericera cockerelli* and associated insect populations in potatoes in South Auckland.**

