

### Nueva herramienta de diagnóstico para la detección rápida de las tres especies de *Liberibacter* asociadas al HLB: RPA-universal-HLB

Félix Morán<sup>1</sup>, Silvia Barbé<sup>1</sup>, Mario Herrero-Cervera<sup>1</sup>, Bryant Davenport<sup>2</sup>, Ester Marco-Noales<sup>1</sup>

(1) Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Carretera CV-315 km 10,7, Valencia, España

(2) Agdia Inc, Research Scientist, County Road 1, Elkhart, Estados Unidos

El Huanglongbing (HLB) es la enfermedad más devastadora de los cítricos que se conoce, y compromete seriamente la supervivencia de la citricultura mundial. Se asocia a tres especies de bacterias fitopatógenas no cultivables: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus*, que son transmitidas por insectos vectores de la familia Psyllidae. El HLB se encuentra ampliamente distribuido en Asia, América y África, pero hasta el momento no se ha detectado en Europa, aunque sí uno de los vectores. Dado que el HLB no tiene cura, prevenir su diseminación es imprescindible para proteger nuestra citricultura. El uso de técnicas de detección precisas, sensibles y específicas es fundamental para evitar la introducción y el avance de la enfermedad. Actualmente, la qPCR es la técnica estrella para la detección del HLB, pero tiene limitaciones en cuanto a tiempo de análisis y equipamiento especializado. El objetivo de este estudio ha sido desarrollar una nueva herramienta diagnóstica molecular, basada en la amplificación isotérmica mediante el uso de recombinasas (RPA), que permita la detección in situ de las tres especies bacterianas asociadas al HLB. Los resultados demuestran que se obtiene amplificación de estas especies en menos de 30 minutos, sin necesidad de extracción de ADN ni de equipamiento costoso, con una muy buena especificidad, equiparable a los métodos basados en qPCR, y una sensibilidad de hasta 5 bacterias/ $\mu$ L de extracto. Por tanto, RPA-universal-HLB constituye una herramienta muy útil para el diagnóstico in situ de esta grave enfermedad de los cítricos.