



**Avispas sueltas
en los naranjales**

Emplean insectos para eliminar al transmisor del greening, una de las enfermedades más graves de los cítricos

Marcos de Oliveira

Están empezando a surgir nuevas soluciones para la más cruel enfermedad de la citricultura brasileña, conocida por un complicado nombre en chino: *huanglongbing*, o *greening* en inglés, que ha mostrado ser más agresiva que otras dolencias de los naranjales, tales como el cancro cítrico o la clorosis variegada de los cítricos. Estas nuevas formas de combate resultan muy bienvenidas, pues la prescripción actual consiste sencillamente en arrancar las plantas de cuajo y efectuar intensas fumigaciones con insecticidas. Así es como fueron erradicados alrededor de 14 millones de naranjos entre 2005 y 2011.

Pero la más reciente solución tendiente a contener esta epidemia agrícola prevé librar un duro combate contra el insecto transmisor de la bacteria *Liberibacter*, que causa la enfermedad. Conocido como psílido (*Diaphorina citri*), su población podría ser diezmada mediante el manejo ecológico que involucra el empleo de una especie de avispa, la *Tamarixia radiata*, que no ocasiona daños a la agricultura ni tampoco al hombre. Estas avispas parasitan a los psílicos cuando aún son jóvenes —mientras se encuentran en la fase de ninfa y no vuelan—, al depositar sus huevos en el cuerpo del insecto transmisor de la enfermedad. Posteriormente, las avispas que salen de esos huevos destruyen a los parasitados. El ciclo de reproducción de la *Tamarixia* y el del psílido constituyeron el objeto de estudio de un equipo del profesor José Roberto Postali Parra, de la Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq) de la Universidad de São Paulo (USP). En el marco de estudios realizados en el municipio paulista de Araras, se soltaron avispas en naranjales de la zona, y el resultado arrojó entre un 51% y un 72% de eliminación de las ninfas del insecto agresor.

El dominio de esta técnica se concluyó en 2011, mediante estudios desarrollados por el equipo de entomología de la Esalq, que cuenta con 10 investigadores, en el marco de un proyecto financiado por el Fondo de Defensa de la Citricultura (Fundecitrus), una entidad solventada por los productores. En la actualidad, para sostener este experimento, se producen entre 60 mil y 100 mil avispas por mes en la Esalq. Las mismas se liberan en el campo, en áreas con densas poblaciones de *Diaphorina citri*, a razón de 400 avispas por hectárea.

El problema de este tipo de manejo, ya verificado en estudios preliminares del profesor Parra, que cuenta también con la colaboración del Instituto Agronómico (IAC), el Instituto Biológico de São Paulo y la Universidad de California en

El naranjo enfermo exhibe hojas amarillentas y frutos que no maduran



El psílido, el insecto transmisor del greening, fue detectado en Brasil por primera vez en la década de 1940

Davis, Estados Unidos, reside en que la avispa migra y termina por morirse en áreas donde se aplican productos químicos destinados al control de la plaga. Por este motivo, mientras se siga concretando la aplicación masiva de insecticidas en áreas comerciales, las liberaciones se están realizando en áreas de mirto o naranjo jazmín (*Murraya paniculata*), una planta ornamental que se emplea para erigir las llamadas cercas vivas, perteneciente a la misma familia de los cítricos y también huésped de la enfermedad, en naranjales abandonados y en áreas de plantaciones orgánicas de cítricos.

“En función de los resultados de la investigación, es posible recomendar en calidad de táctica de control del psílido, la aplicación de insecticidas únicamente durante el período de reposo vegetativo (el lapso de tiempo de menor actividad metabólica de la planta, con caída de las hojas) de los árboles cítricos”, dice Parra. La implementación de esta técnica permite que la liberación de la *Tamarixia radiata* pueda realizarse también en áreas donde se efectúa la aplicación de insecticidas, actuando de manera complementaria a la acción de estos productos.

Un conjunto de alternativas destinadas a eliminar al psílido todavía se encuentra en fase inicial de estudio. “Una de éstas es el uso de bacterias que interfieren en el comportamiento y en la bio-

logía de los insectos, además de hongos que pueden usarse como agentes de control”, dice Parra. Este tipo de control biológico se lleva a cabo de manera de análoga a aquello que se hace con los insecticidas industriales, mediante la aplicación de hongos mezclados con agua sobre los insectos y en las plantaciones. El hongo es inocuo para los vegetales y el hombre, pero parasita tanto al insecto adulto como a las ninfas, dejándolos secos como si estuviesen momificados. El equipo de Parra tiene en la mira también el posible aislamiento de feromonas sexuales, sustancias secretadas por la hembra para atraer a los insectos machos, que podrían usarse en trampas, con el objetivo de disminuir la población del psílido.

En los guayabos reside otra posible solución destinada a detener la embestida del transmisor de la bacteria. “Los guayabos producen algunas sustancias volátiles que repelen al insecto, tal como se observó inicialmente en Vietnam, donde se plantan guayabos y naranjos en los mismos lugares, de manera intercruzada”, dice el agrónomo José Belasque Júnior, investigador del Fundecitrus. Esta investigación se encuentra en su fase de detección química de los compuestos repelentes contra los psílicos. Estudios

Una de las alternativas para eliminar al insecto es el uso de bacterias y hongos

destinados a la identificación y síntesis de dichas sustancias volátiles del guayabo se llevan a cabo en el Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología (INCT) de Semioquímicos en Agricultura, financiados por la FAPESP y por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, cuya sede se encuentra en la Esalq, y que cuenta con la coordinación del profesor Parra. “La idea es producir en el futuro esas sustancias en los propios naranjos, mediante técnicas de transgenia, con el objetivo de repeler al insecto”, explica.

El *huanglongbing* (HLB) fue detectado en Brasil por primera vez en 2004 por investigadores del Centro de Citricultura Sylvio Moreira, vinculado al Instituto Agronómico (IAC), y del Fundecitrus. La rápida propagación de la enfermedad fue registrada en el marco de un experimento a cargo del equipo del agrónomo Marcos Machado, director del Centro de Citricultura, como parte de un proyecto financiado por la FAPESP entre 2005 y 2008, con la colaboración del Fundecitrus, destinado al estudio de la bacteria

en lo que hace al diagnóstico, la biología y la forma de combatirla. El investigador Renato Bassanezi, del Fundecitrus, aisló un naranjal nuevo en Araraquara con 10 mil árboles sin HLB, rodeado por plantaciones de caña de azúcar y ubicado a un kilómetro de cualquier otro naranjal.

Se efectuó el control químico con insecticidas, con diferentes tipos de aplicación. Al cabo de tres años, el 15% de las plantas tenía la enfermedad. La conclusión arrojó que, aun con el intenso control químico realizado dentro del naranjal, no fue posible evitar la entrada de insectos contaminados provenientes de otras áreas. “La situación no es para nada sencilla, dado que es posible que hayan llegado allí varios insectos, pero, aunque hubiese sido uno solo contaminado, la transmisión de la enfermedad podría concretarse”, dice Machado. En 2009, el naranjal completo había sido diezariado por el HLB.

Su nombre en chino, *huanglongbing*, es traducido por enfermedad del dragón amarillo o enfermedad de los brotes amarillos, porque deja a las hojas amarillentas y los frutos quedan verdes, de-

formados e inservibles para el consumo o para su procesamiento industrial. “La infección es severa. De nada sirve cortar las ramas: hay que arrancar el árbol, incluso con su raíz, con una máquina, para que no vuelva a brotar”, dice Machado.

Actualmente, existen alrededor de 160 millones de árboles cítricos en el estado de São Paulo, y la etapa productiva de cada uno es de hasta 20 años. En 2011, de acuerdo con el Fundecitrus, el *greening* estaba presente en el 53,38% de los naranjales (cada uno con un promedio de 2 mil plantas) paulistas. Otras enfermedades importantes, como la clorosis variegada, atacaba al 40,3% del parque citrícola, en tanto que el cancro cítrico, lo hacía con el 0,99% de las plantas. El HLB también está presente en municipios de Minas Gerais y de Paraná. Estos tres estados son responsables por casi el 90% de la producción nacional de frutas cítricas y por el 60% de la producción mundial de jugo concentrado congelado, el producto más importante del sector, que rindió 2 mil millones de dólares en exportaciones en 2010.

Desde el siglo XIX existen informes de la enfermedad en Asia, el continente de

origen de los cítricos. Fue primeramente descrita en China, y posteriormente se le puso también el nombre *greening* en Sudáfrica, apelativo que se refiere a los frutos, que no maduran, quedan verdes. A Brasil, según Machado, el HLB puede haber llegado a través de material de propagación vegetativa hace más de diez años. El insecto que disemina la bacteria es un viejo conocido de los agricultores brasileños. Este psílido fue registrado en Brasil por primera vez a comienzos de la década de 1940, y habría llegado probablemente en medio de plantas infestadas. Se adaptó bien al clima, pero no era considerado una plaga, pues no producía daños, aunque estuviese relacionado con la transmisión de la bacteria causante del HLB en China y en otros países de Asia. El parecer de los citricultores brasileños con relación al *Diaphorina citri*, que mide entre 2 y 3 milímetros de longitud, sólo cambió con la confirmación del HLB en São Paulo. Éste contrae y transmite las bacterias provenientes de plantas enfermas cuando se alimenta en los vasos del floema, el sistema de circulación de la savia de la planta.

La importancia de este vector en lo atinente a la enfermedad enseguida preocupó a Parra, quien ya en 2004 presentó un proyecto sobre el insecto ante la FAPESP. “Hasta aquel momento, el insecto no había sido estudiado profundamente. Su nivel poblacional no justificaba estudios o un control mayor por parte de los productores”, dice. “Con ese proyecto temático, logramos conocer mejor al *Diaphorina* y apuntar medidas biológicas y comportamentales, recomendando el uso de insecticidas en forma racional, sin desequilibrar el medio ambiente y sin matar a sus enemigos naturales, como lo son algunas pequeñas avispas”, explica. “Detectamos que el insecto se desarrolla mejor en otros árboles, fundamentalmente en el mirto.”

La hembra pone sus huevos en los brotes de esas plantas. En los cítricos pone un promedio de 160 huevos, mientras que, en otras plantas, llega a poner hasta 348. “Establecimos parámetros climáticos y zonas en aquellos lugares donde la plaga se manifiesta más intensamente. La mayor prevalencia se da en los municipios de São Carlos, Bariri, Botucatu, Lins y Araraquara”. El profesor Parra realiza investigaciones con insectos ligados a la agricultura hace más de 40 años, y per-



La enfermedad deja al fruto deformado e impropio para el consumo industrial o in natura

Avispas para combatir al psílido

La USP produce *Tamarixia radiata* en laboratorio



cibe que el reto de entender y combatir al *greening* es grande: quizá sea el más grande de su carrera. “El insecto es de difícil manejo en la cría. Existe también el problema de las poblaciones, que son variables a lo largo del año, de las estaciones y al respecto de las condiciones de temperatura y lluvia, lo que nos ha impedido establecer modelos de su presencia en el campo”, dice.

Y si el insecto es complicado, las bacterias no lo son menos. Fueron identificadas en un laboratorio de Francia en 1970, en el grupo del profesor Joseph Bové, del Instituto Nacional de Investigación Agronómica. En la actualidad todavía no se cuenta con una identificación taxonómica o un nombre científico definitivo, pues existen dificultades para cultivarlas en medios de cultivo en los laboratorios. Por eso reciben la denominación de *Candidatus Liberibacter* (*Ca.L.*) y tres especies están asociadas al HLB: la *Ca. L. asiaticus*, responsable por más del 90% de la enfermedad en Brasil y causante de la infección más deletérea, la *Ca. L. afri-*

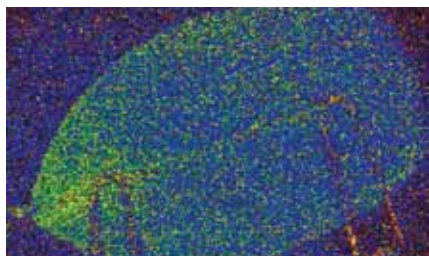
canus, más benigna y ausente en los pomares brasileños, y la *Ca. L. americanus*, muy poco presente en el país.

Para cultivar la *Liberibacter*, se requiere de un caldo que le guste a la bacteria, y esto se hace por medio de series de ensayo y error”, dice Elliot Kitajima, docente de la Esalq y experto en microscopía electrónica. Él y Francisco Tanaka, también profesor de dicha escuela, tomaron imágenes de la *Liberibacter* en un floema de la vinca de Madagascar [*Catharanthus roseus*], una planta ornamental usada como huésped alternativo de la bacteria. “La concentración en el naranjo es muy baja, y no es posible tomar imágenes como las que se obtienen con la vinca”, dice. “No existe una relación entre la cantidad de bacterias y el estrago en el floema”, dice Machado. De todos modos, esas pocas bacterias secretarían toxinas que perjudican la funcionalidad del floema. “Rápidamente, al cabo de alrededor de media hora desde que el insecto portador de la bacteria pica a la planta, ésta queda

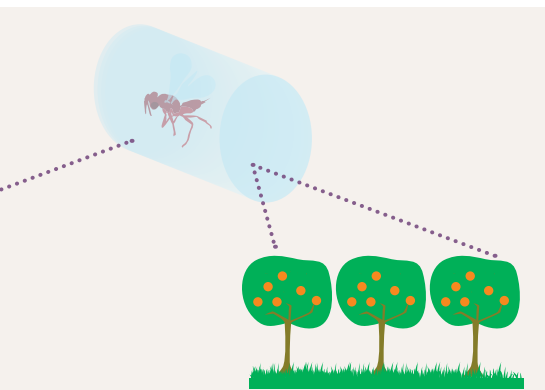
infectada; pero la evolución es lenta y los síntomas pueden manifestarse hasta un año después”, dice Parra.

El combate contra el HLB también contará en el futuro con el conocimiento del genoma de la bacteria. La secuenciación genética de la *Ca.Liberibacter asiaticus* se concluyó en 2008, en un trabajo a cargo del Departamento de Agricultura de Estados Unidos. La especie asiática posee un genoma pequeño, con alrededor de 1.200.000 pares de bases, en tanto que la bacteria *Xylella fastidiosa*, que causa la clorosis variegada, tiene 2.400.000 pares, y la *Xanthomonas axonopodis citri*, causante del cancro, posee 4.500.000 pares.

Ese menor genoma de la *Liberibacter* significa que ésta es aún más especializada que las otras. Puede indicar que el parasitismo de la bacteria con relación a la planta es obligatorio, pues sería incapaz de vivir libre”, dice Machado. El investigador coordina también el recientemente creado Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología (INCT) en Genómica para el Mejoramiento de Cítricos, que abarca a institutos y universidades de São Paulo, Bahía, Paraíba y Florida, en Estados Unidos. Ese estado norteamericano también es atacado por el *greening*, y allí la enfermedad fue detectada en 2005. Florida, con sus más de 60 millones de naranjos, es el segundo productor mundial, detrás de São Paulo, que cuenta con casi el 78% del total de esos frutales en Brasil. Florida y São Paulo, sumados, son responsables por alrededor del 80% de la producción mundial de jugo.



Fotos digitales de la hoja con greening expuesta a la luz de LEDs, que revelan alteraciones captadas mediante fluorescencia



Se suelta a las avispas entonces en los naranjales. Para reproducirse, ponen sus huevos en las ninfas de los psílidos, eliminándolos

FONTE: JOSÉ ROBERTO PARRA E ALEXANDRE JOSÉ FERREIRA DINIZ/ESALQ

Los propios agricultores deben combatir la enfermedad. En Brasil, una ley federal los obliga a eliminar los árboles enfermos, cosa que no siempre se hace. “La mitad de los citricultores, fundamentalmente los pequeños, no fumigan las plantaciones con insecticidas. Si bien es fácil de hacerse, este procedimiento no es barato”, dice Armando Bergamin Filho, docente de la Esalq-USP y coordinador de otro proyecto financiado por la FAPESP que aborda la infestación del *greening*, iniciado en 2008. “El control debe ser regional: de nada sirve que un productor fumigue con insecticidas y que su vecino no lo haga.”

Para Bergamin, la enfermedad es controlable cuando en una región amplia existe una colaboración entre los agricultores con miras a erradicar las plantas enfermas, fumigar y hacer las inspecciones en los naranjales, de preferencia mensualmente. En el marco del proyecto, Bergamin y su grupo, que incluye a investigadores de la Fundecitrus, estudiaron la propagación de la enfermedad en función del tiempo, la rapidez con que la infección afecta a las plantaciones y el insecto, averiguando los hábitos de vuelo del psílido, que puede ser transportado por el viento a centenares de metros, todo con base en análisis moleculares realizados en las distintas etapas de la enfermedad.

LEDs EN LAS HOJAS

Uno de los problemas de los agricultores consiste en detectar al HLB por sus síntomas, pues éstos se asemejan mucho a los

de otras enfermedades de los cítricos. Una inspección más eficaz y segura podrá estar disponible en breve, tal como lo muestran investigaciones realizadas con sistemas de detección fotónica que se encuentran en desarrollo a cargo de dos grupos de investigadores de São Carlos. Los experimentos se valen del principio de la fluorescencia que utiliza la emisión de luz de las hojas luego de haber sido iluminadas con diodos emisores de luz (Led) o con láser.

Un estudio es llevado adelante por Luís Gustavo Marcassa, docente del Instituto de Física de São Carlos de la USP, como una secuencia de otro en el cual investigadores emplearon láser para detectar el cancro cítrico (*lea* en Pesquisa FAPESP n° 80). “Ahora con el *greening* no uso el láser, que requiere más cuidados y es más caro, sino LEDs (diodos emisores de luz) de alta potencia. Al analizar las hojas, llegamos a un acierto del 90% de las muestras verificadas con exámenes moleculares”, dice Marcassa.

Este estudio consiste en iluminar a la hoja con la luz de un LED y captar con una cámara fotográfica la fluorescencia alterada por la bacteria. Los datos enviados a una computadora muestran en un gráfico la posibilidad de que la planta esté infectada. Además de hacerlos en São Paulo, Marcassa, en colaboración con Reza Ehsani, docente del Centro de Investigación y Educación en Cítricos (Crec, por sus siglas en inglés), de la Universidad de Florida, realizó estudios también en plantaciones de naranjas de aquel estado norteamericano. “Pero las pruebas en Florida revelaron resultados diferentes y el índice de acierto allá fue del 61%. Los colegas de Estados Unidos creen que la diferencia obedece a las condiciones ambientales de los árboles, tales como el abono y los distintos nutrientes, con respecto a São Paulo”, dice Marcassa.

Un segundo experimento es llevado adelante por la investigadora Débora Milori, de Embrapa Instrumentación Agrícola, división de la Empresa Brasileña de Investigación Agropecuaria con sede en la localidad paulista de São Carlos, que estudia el uso de haces de láser y LEDs para diagnosticar precozmente el HLB. Milori y su equipo inventaron un aparato portátil que emite un haz de luz sobre las hojas y logra diagnosticar el *greening* y la clorosis variegada con un índice de acierto del 95%. En el caso del HLB, el artefacto efectúa el diagnóstico

positivo aún durante la fase asintomática. Este sistema contó con un depósito de patente en Brasil y en el exterior, y en 2011 fue licenciado para la empresa Opto Eletrônica, también de São Carlos, que en colaboración con los investigadores de Embrapa desarrolla el primer prototipo para su uso en el campo.

“En la actualidad, la inspección visual puede desembocar en errores de entre el 30% y el 60%, e incluso llevar a confundirla con otras enfermedades que tienen síntomas similares”, dice Milori. “En laboratorio, calibrando el aparato para cada variedad de cítrico, los índices de acierto son elevados y el resultado sale en pocos segundos. El reto ahora es probarlo en campo”. Este estudio cuenta con apoyo del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq) y del Centro de Investigación en Óptica y Fotónica de São Carlos, uno de los centros de Investigación, Innovación y Difusión de la FAPESP. ■

Los proyectos

1. Bioecología y establecimiento de estrategias de control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), el vector de la bacteria causante del *greening* en los cítricos – n° 2004/ 14215-0 (2005-2009); **Modalidades** Proyecto Temático; **Coordinadores** José Roberto Postali Parra – USP; **Inversión** R\$ 462.875,46.
2. Estudios de la bacteria *Candidatus Liberibacter spp.*, el agente etiológico del *huanglongbing* (ex *greening*) de los cítricos: diagnóstico, biología y manejo – n° 2005/ 00718-2 (2005-2010); **Modalidades** Proyecto Temático; **Coordinadores** Marcos Antonio Machado – IAC; **Inversión** R\$ 1.418.367,25.
3. Epidemiología molecular y manejo integrado del *huanglongbing* (asiático y americano) en el estado de São Paulo – n° 2007/ 55013-9 (2007-2012); **Modalidades** Proyecto Temático; **Coordinadores** Armando Bergamin Filho – USP; **Inversión** R\$ 1.175.226,06.
4. Centro de Investigación en Óptica y Fotónica de São Carlos (subproyecto: Óptica aplicada a la agricultura y al medio ambiente) – n° 1998/ 14270-8 (2000-2012); **Modalidades** Centro de Investigación, Innovación y Difusión (Cepid); **Coordinadores** Débora Milori – Embrapa; **Inversión** R\$ 38.622.748,13.
5. Imagen de fluorescencia aplicada en enfermedades de cítricos en el campo – n° 2010/ 16536-9 (2010-2012); **Modalidades** Ayuda Regular al Proyecto de Investigación; **Coordinadores** Luís Gustavo Marcassa – USP; **Inversión** R\$ 85.260,51.

Artículo científico

Bassanezi, R.B. et al. Epidemiologia do *huanglongbing* e suas implicações para manejo da doença. **Citrus Research & Technology**. v.31, n.1, p. 11-23, 2010.

De nuestro archivo

La lucha contra el dragón amarillo, Edición n° 162 – agosto de 2009.