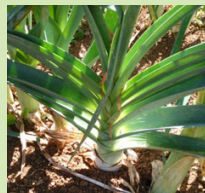
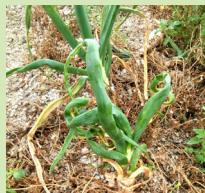




INFORME TÉCNICO

Muestreo para la detección de *Bactericera tremblayi* y síntomas asociados a este psílido en puerro y cebolla en Tenerife



La psila del puerro, *Bactericera tremblayi* (Wagner), se encuentra en cultivos de puerro y cebolla donde desarrolla su ciclo de vida. Se han citado daños graves en cultivos de estas especies en Irán en 2006, Francia en 2011 y actualmente en la península ibérica, que han ocasionado pérdidas económicas a los agricultores. Los síntomas observados en las plantas pueden ser: hojas retorcidas, marchitas, con las puntas amarillas o secas, con coloraciones anómalas como verdes azulados u oscuros, hojas dispuestas en forma de abanico, plantas con franjas amarillas desde las hojas hasta la raíz, emergencia de las raíces entre las vainas de las hojas o hacia arriba. Estos daños se han asociado a poblaciones abundantes de *B. tremblayi* en los cultivos, aunque se desconoce si existe algún microorganismo nocivo que pueda ser el causante de los mismos.

Se realizaron prospecciones en campos de cebolla y puerro en Tenerife con el fin de determinar presencia y abundancia de la psila del puerro en estos cultivos, y buscar plantas con síntomas similares a los descritos en la península y otros países asociados a este insecto para su análisis en el laboratorio. Se visitaron 18 parcelas con producciones de puerros, cebollas o cebollinos en las que se recogieron 42 muestras. En siete de las parcelas se detectaron psílicos, aunque sólo en una plantación de cebollinos se observaron daños importantes en el cultivo ligados a poblaciones altas de la psila del puerro. En los análisis realizados en psílicos y en plantas no se detectaron bacterias del género '*Candidatus Liberibacter*' y sólo en una muestra de plantas se detectaron fitoplasmas.

Palabras clave: *Allium porrum*, *Allium cepa*, cebollino, psila del puerro.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	[pg-3]
OBJETIVO	[pg-5]
MATERIALES Y MÉTODOS.....	[pg-5]
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	[pg-10]
CONCLUSIONES.....	[pg-17]
AGRADECIMIENTOS.....	[pg-17]
BIBLIOGRAFÍA.....	[pg-18]

Muestreo para la detección de *Bactericera tremblayi* y síntomas asociados a este psílido en puerro y cebolla en Tenerife

INTRODUCCIÓN

La psila del puerro, *Bactericera tremblayi* (Wagner), descrita por primera vez en 1961, ha sido citada principalmente en cultivos de puerro, cebolla, cebollino y ajo, entre otras especies (Ouvrard y Burckhardt, 2018) (Figura 1). Este psílido no había supuesto un problema para estos cultivos hasta que en el año 2000 se detectó asociado a pérdidas económicas importantes en puerro en Francia (Ouvrard, 2012). *Bactericera tremblayi* forma parte del llamado 'grupo nigricornis' incluido dentro de la familia Triozidae, junto con las especies *B. trigonica* y *B. nigricornis*.

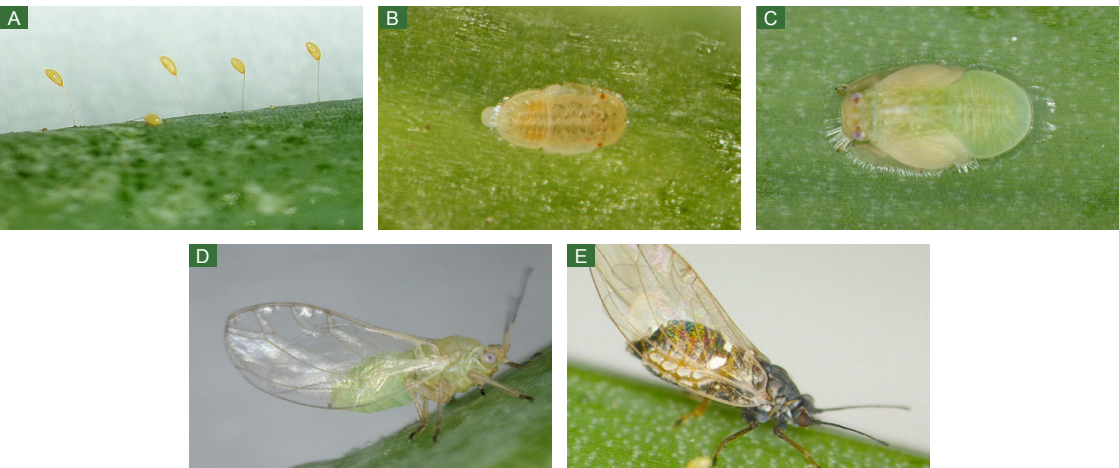


Figura 1. *Bactericera tremblayi*. A, huevos; B, ninfa de primeros estadios; C, ninfa de últimos estadios; D, adulto recién emergido; E, hembra adulta.

En España comenzaron a notarse pérdidas en campos de cultivo de puerro en la zona de Villena (Alicante) en el año 2010. Los cultivos de puerro presentaban síntomas como hojas retorcidas, de colores oscuros y abanicadas o tallos con franjas amarillas dispuestas longitudinalmente (Figura 2). Estos daños se asociaron a un aumento importante de las poblaciones de *B. tremblayi*. Se cree que estas anomalías podrían estar relacionadas con algún tipo de toxina, bacteria o fitoplasma transmitido por el psílido. Muchos psílidos causan daños directos en las plantas que hospedan como *B. cockerelli*, *Trioza apicalis* o *T. erytrae*



y otras especies del mismo género como *B. trigonica* pueden ser transmisoras de bacterias como *Candidatus Liberibacter solanacearum* o de fitoplasmas (Haapalainen, 2014; Font y col., 1999). Sin embargo, no ha podido determinarse el origen de las anomalías observadas hasta el momento en el caso de los síntomas asociados a la psila del puerro (Vidal-Matas y col., 2014).



Figura 2. Fotos de síntomas asociados a *Bactericera tremblayi*. A, puerro con hojas en abanico; B, cilindro interno del puerro de color amarillo; C, hojas retorcidas en cebolla; D, emergencia de las raíces entre las vainas de las hojas hacia arriba. (Fuente: Isabel Font, IAM-UPV).

En Canarias se tiene constancia de la presencia de este psílido en cultivos de puerro y cebolla en poblaciones muy bajas desde el año 2009. En la isla de Tenerife se dedicaron 78,8 ha al cultivo del puerro durante el año 2017, que produjeron 1.443 t (ISTAC, 2017). La producción se destina al consumo local: venta directa, minoristas y abastecimiento de algunas cadenas de supermercados. La Dirección General de Agricultura del Gobierno de Canarias en colaboración con el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias ha publicado recientemente una hoja divulgadora: ‘Psila del puerro, desarreglos vegetativos en el puerro’ (Bastin y col., 2017). Dicha publicación pretende dar a conocer este insecto a los agricultores de Canarias y los problemas que se le asocian en cultivos de la península. Se ha considerado de interés realizar una prospección en cultivos de especies de *Allium* de Tenerife para estudiar esta plaga y sus posibles daños.

OBJETIVOS

Comprobar si en los cultivos de Amarilidáceas de Tenerife, principalmente puerro y cebolla, se encuentran la psila del puerro (*Bactericera tremblayi* (Wagner)) y los daños detectados en otras zonas productoras asociados a este psílido, y analizar para la detección de posibles patógenos que pudieran ser responsables de dichos daños.

MATERIALES Y MÉTODOS

Prospección

Utilizando los datos aportados por el Servicio de Estadística de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas del Gobierno de Canarias se elaboró una tabla donde se mostraba la superficie dedicada al cultivo de puerro y cebolla por municipio en la isla con datos de 2016. Siguiendo esta tabla se estudió la distribución de las superficies de cultivo y se eligieron los municipios de mayor interés (Tabla 1). Para la realización de este trabajo se contó con la colaboración del Servicio de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo de Tenerife y los agentes de diversas Agencias de Extensión Agraria que participaron en la localización de agricultores y parcelas, y en las visitas a campo.

Tabla 1. Distribución de las superficies de cultivo de puerros y cebollas en municipios de Tenerife					
Municipio	Superficie Puerro (ha)	Superficie Cebolla (ha)	Superficie total (ha)	Nº Parcelas visitadas	Nº Muestras Recogidas
Arico	5	25,5	30,5	1	3
Arona	2	2,5	4,5	4	17
Granadilla	5	14	19	3	6
Güímar	12	3	15	2	2
Icod de los Vinos	8	2,6	10,6	3	7
La Laguna	6	12	18	1	2
La Matanza de Acentejo	0	2	2	1	1
Tacoronte	5	5	10	1	1
Tegueste	4	3	7	1	2
Vilaflor	1	5	6	1	1



En las parcelas se realizó un análisis visual para determinar el estado del cultivo. Se inspeccionaron los bordes de las parcelas y entre las plantas, intentando abarcar toda la superficie cultivada (las parcelas de estos cultivos en Tenerife son, en general, pequeñas). Cada diez pasos, aproximadamente, se observaron plantas para detectar psílicos en sus distintas fases de desarrollo (huevos, ninfas o adultos) (Figura 3A, B). Durante el recorrido realizado se pudo determinar la presencia de plantas con síntomas.

A continuación, se llevó a cabo un manguero con manga entomológica de malla fina, dando pasadas a la altura del cultivo mientras se avanzaban diez pasos en zigzag. Los individuos de interés capturados en la malla se recogieron con un aspirador manual que permitió guardar directamente los insectos en un tubo de muestra (Figura 3C).



Figura 3. A, observación de cebollas en el campo; B, hembra de *Bactericera tremblayi* poniendo huevos en puerro en campo; C, muestras de psílicos en tubo.

Si en las parcelas visitadas se detectaban plantas con síntomas, se recogían como muestras, conservándolas en una bolsa de plástico marcada con la fecha, la finca y un número de orden. Si en las parcelas no habían plantas que mostraran daños, se eligían tres muestras asintomáticas al azar. Los síntomas buscados fueron: hojas retorcidas y cruzadas, hojas en forma de abanico, coloraciones amarillas, entrenudos cortos y raíces emergentes. Se recogieron entre 1 y 3 muestras de plantas en cada una de las parcelas visitadas. Las muestras se desplazaron el mismo día al laboratorio de ICIA para su análisis o se conservaron refrigeradas a 5°C hasta su análisis.

Una vez en el laboratorio las muestras se fotografiaron y se observaron a la lupa para detectar cualquier ejemplar de insecto

de interés. Tanto los ejemplares de psílicos recogidos en campo como los encontrados en las observaciones a la lupa en el laboratorio se guardaron en tubos en una solución de etanol absoluto con glicerol al 5% en nevera a 5°C.

Preparación de las plantas y extracción de ADN

Las muestras foliares recogidas en campo se limpiaron de restos de suciedad y productos fitosanitarios. Se introdujeron en una bolsa de extracción BIOREBA hasta completar aproximadamente 1 g de material vegetal donde se trituró con un homogeneizador manual (Bioreba homogenizer hand model Art. No. 400014). A continuación, se añadieron 10 ml/g de tampón de extracción PBS (tampón fosfato salino). Los extractos de las hojas mezclados con el tampón se homogeneizaron. El extracto de la muestra se congeló en tubos Eppendorf de 1,5 ml a -20°C si no se iba a utilizar inmediatamente y para su conservación. Para la extracción del ADN de los triturados de las muestras se utilizó una modificación del método de bromuro de cetil-trimetil amonio (CTAB) formulado por Murray y Thompson (1980). Los extractos de ADN obtenidos se analizaron o se congelaron a -80°C hasta su uso.

Preparación de los psílicos y extracción de ADN

Para la extracción de ADN de los insectos se utilizó la técnica Chelex (Bio-Rad laboratories). Para llevar a cabo este procedimiento, se eligieron los insectos a utilizar, se separó la cabeza del cuerpo utilizando dos agujas entomológicas y se colocaron ambas partes en un tubo Eppendorf de 1,5 ml. Se añadieron 10 µl de proteinasa K y 150 µl de una solución de Chelex-100 al 10% en cada tubo y se incubaron en un calefactor a 55 °C durante una noche. Los extractos así obtenidos se analizaron inmediatamente o se congelaron hasta el momento de su análisis.

Detección de *Ca. L. spp.* mediante PCR en tiempo real

Para la detección de *Ca. L. spp.* se utilizó un kit específico de la marca Plant Print Diagnostics citado en la norma que describe la *European and Mediterranean Plant Protection Organization* (EPPO, 2019). Este kit es capaz de detectar distintas especies del género *Candidatus Liberibacter* y se utiliza especialmente para la



detección de las tres especies que causan el huanglongbing de los cítricos. Para la PCR en tiempo real se utilizó un equipo Applied Biosystems StepOnePlus programado como recomendaba el fabricante del kit, controlado por el programa StepOne 2.0.

DetECCIÓN DE FITOPLASMAS

Para la detección de fitoplasmas mediante PCR en tiempo real se utilizó el protocolo descrito por Hren y col. (2007) empleando el equipo citado anteriormente.

Cría en condiciones controladas

Se recogieron muestras de plantas con puestas de huevos para confirmar la especie del psílido en casos en los que no se hallaron adultos. Las plantas con huevos se colocaron en evolucionarios a temperatura ambiente, que se revisaron hasta que los ejemplares alcanzaron la fase adulta. Los adultos obtenidos se observaron a la lupa y en preparaciones al microscopio para confirmar su pertenencia a la especie *B. tremblayi*. Algunos de estos ejemplares se llevaron a jaulas de cría de 100x50x50 cm y de 50x50x50 cm donde se estableció una población permanente en plántulas de puerro con el objetivo de estudiar su comportamiento y obtener individuos para distintos ensayos y pruebas (Figura 4). Se hizo un seguimiento visual a lo largo de las semanas, observando las variaciones de la población y el estado de los puerros. Con la cría de los psílidos se pudo comprobar sus efectos sobre las plantas en desarrollo.

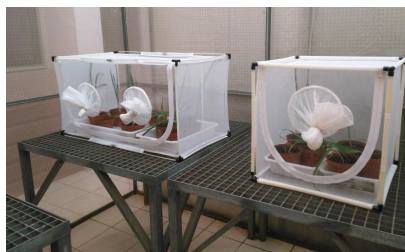


Figura 4. Jaulas de cría de *Bactericera tremblayi* en plántulas de puerro.

Con los insectos obtenidos capturados en campo o de la cría se realizaron análisis de PCR en tiempo real para la detección de la bacteria y fitoplasmas, y se llevaron a cabo disecciones y montajes para su caracterización e identificación.

Identificación de los psílicos

Para la disección de los psílicos, se eligieron diez machos y diez hembras y se procesaron siguiendo las pautas dadas por Hodkinson y White (1979). Si los ejemplares a utilizar se encontraban aún vivos, se introdujeron previamente en un tubo con etanol al 96% durante unos minutos para matarlos de forma rápida. Los adultos se colocaron en un tubo con hidróxido de potasio al 15% durante 24 horas. Después del tratamiento con potasa se lavaron en agua destilada dos veces durante treinta minutos. A continuación, se deshidrataron utilizando etanol en concentraciones crecientes: 30%, 50%, 70%, 90% y 100%, manteniendo los ejemplares cinco minutos en cada concentración de etanol, cambiando dos veces la solución para cada una de ellas, con mucho cuidado de no dañar los insectos. Por último, se aclararon en aceite de clavo y se guardaron en un recipiente de plástico hasta su utilización.

Para el montaje, se recogió con un pincel el insecto conservado en el aceite de clavo, se dejó unos segundos sobre papel de filtro para retirar el aceite y se pasó a un portaobjetos plano de cristal en el que previamente se habían colocado unas gotas de bálsamo de Canadá. Una vez puesto el insecto sobre esta mezcla, se separó la cabeza con las antenas intactas y se colocó en un portaobjetos con la parte ventral de la cabeza hacia arriba. Se separaron las dos alas y se dispusieron enfrentadas entre sí debajo de la cabeza. A continuación, se separó la genitalia, que es la estructura del insecto que permite diferenciar los machos de las hembras. En el caso de los machos, la genitalia debe estar estirada y bien situada de forma lateral para poder ver bien sus estructuras. Por último, se separaron las patas del tórax y se colocaron por pares a un lado.

Una vez acabada la disección, los portaobjetos se dejaron en la estufa a 45-50 °C durante ocho semanas. Después de haber pasado las primeras 24 horas, se colocaron los cubres en el portaobjetos sobre los insectos para garantizar que la capa de bálsamo era suficiente para cubrir y conservar los insectos. Esto permite manipularlos y observarlos posteriormente a la lupa y al microscopio sin riesgo de que se estropeen. Posteriormente, se



hicieron fotografías de los ejemplares y se tomaron medidas de cada insecto: longitud y ancho de las alas, longitud de las antenas, ancho de la cabeza, y la longitud del parámetro en machos y la longitud del proctígero en hembras, utilizando un microscopio NIKON Eclipse 80i con el programa NIS-Elements D.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de la prospección en puerro

Durante las visitas a campo se recogieron muestras de puerro, cebolla y cebollino y de cualquier planta que pudiera estar asociada a *B. tremblayi*. Se visitaron 18 parcelas en las que se recogieron 42 muestras (Figura 5). En 7 de las parcelas se detectó la presencia de psílidos y en 8 se detectaron síntomas (Tabla 2-página 12-13).



Figura 5. Mapa de Tenerife con la distribución de las parcelas muestreadas.

En parcelas con síntomas se recogieron las plantas sintomáticas enteras para poder realizar análisis de la parte aérea y del bulbo. Los síntomas más observados fueron amarilleos con un 35,7% (Figura 6A dcha. y B), hojas deformadas y retorcidas hacia dentro con un 19,0 % (Figura 6A izq. y 6C), enanismo con un 14,38 % y hojas en forma de abanico con un 7,1% (Figura 6D y E).



Figura 6. A, puerro con deformaciones en hojas (izq.) y amarilleos (dcha.); B, cebollino con amarilleos en las puntas; C, cebolla con hojas deformadas en campo; D, cebolla con hojas en abanico y puesta de huevos; E, puerro con hojas en forma de abanico.

La PCR en tiempo real no dio ningún resultado positivo para la detección de *Ca. L. spp.* ni en las muestras de plantas ni en las de insectos. Sólo en una planta de puerro se detectaron fitoplasmas con el protocolo utilizado, que no permite identificar la especie. Los resultados de los análisis se muestran en la tabla 2.

Cría de *B. tremblayi*

Los adultos obtenidos en los evolucionarios de las plantas con huevos recogidas en campo se introdujeron en las jaulas de cría con plántulas de puerro y se siguió su desarrollo. Se observó que, con la llegada del verano y el aumento de la temperatura, el número de huevos por puesta crecía y que el tiempo de desarrollo de huevos y ninfas era más corto (Figura 7A). Con el aumento de la población en las jaulas, las plántulas para la cría se deterioraron con mucha rapidez. En periodos de mucho calor fue necesario reponer con frecuencia con plantas nuevas. Las plántulas situadas en el interior de las jaulas y expuestas al desarrollo masivo de la cría se secaban con rapidez y morían (Figura 7B), mientras que las plántulas con el mismo tiempo de desarrollo y situadas en el exterior crecían con normalidad. Las plántulas situadas en el exterior de las jaulas no se pueden considerar objetivamente como testigos del ensayo, al no encontrarse en el interior de una jaula de cría. Sin embargo, todo apunta a que la causa del

Tabla 2. Resultados de las prospecciones *																
Parcela	Municipio	Fecha	Nº código	Especie	Tipo	Huevo	Ninfa	Adulto	Deformación	Abanico	Enanismo	Amarilleo	CaLspp	Fitoplasma		
1	La Laguna	14/03/2017	1	Puerro	Hoja	+	-	-	-	-	-	+	ND	ND		
		21/03/2017	3	Puerro	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	ND	ND		
2	Tacoronte	30/03/2017	2	Cebolla	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	ND	ND		
3	Icod	04/04/2017	4	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	ND	ND		
4	Granadilla	20/04/2017	5	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	ND	ND		
5-7	Icod	04/05/2017	6	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			7	Puerro	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			8	Puerro	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			9	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			10	Puerro	Hoja	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
11	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
8	Arico	10/05/2017	12	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			13	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			14	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
9-10	Güímar	16/05/2017	15	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			16	Puerro	Hoja	-	-	-	-	+	+	-	-	-		
11	La Matanza	26/06/2017	17	Cebolla	Hoja	-	-	-	+	-	-	+	ND	ND		
12	Tegueste	11/04/2018	18	Cebolla	Hoja	-	-	-	+	-	-	-	-	-		
			19	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
13-14	Arona	12/04/2018	20	Cebollino	Hoja	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
			21		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			22	Cebollino	Hoja	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	
			23		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			24	Cebollino	Hoja	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	
			25		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			26	Cebollino	Hoja	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
			27	Cebollino	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
			28	Cebollino	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
			29	Cebollino	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
30	Cebollino	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-				
31	Cebollino	Hoja	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-				
32		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
15	Granadilla		33	Cebolla	Hoja	-	-	-	+	-	-	-	-			
			34		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			35	Cebolla	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-			
			36		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			37	Cebolla	Hoja	-	-	-	+	-	-	-	+	-		
			38		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			39	Cebolla	Hoja	-	-	-	-	+	-	-	+	-		
			40		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			41	Cebolla	Hoja	-	-	-	+	-	-	-	-	-		
			42		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
16-17	Arona	14/05/2018	43	Puerro	Hoja	-	-	-	-	+	+	-	-			
			44		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			45	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-			
			46		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			47	Cebollino	Hoja	+	-	-	-	-	-	-	+	-		
			48		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			49	Cebolla	Hoja	-	-	-	+	-	-	-	-	-		
			50		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
			51	Puerro	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			52		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-			
53	Cebolla	Hoja	-	+	-	+	-	-	-	+	-					
54		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-						
55	Papa	Hoja	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
56	Cebolla	Hoja	+	-	+	+	-	+	-	-	-					
57		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-	-						
18	Vilafior		58	Cebolla	Hoja	-	-	-	-	-	-	-				
			59		Bulbo	-	-	-	-	-	-	-				

* “+”, resultado positivo;“-”, resultado negativo; “ND”, no se determinó. En algunas muestras se analizaron las hojas y el bulbo por separado.

Municipios en los que se detectó *Bactericera tremblayi*

Estadio de *Bactericera tremblayi* detectados en la muestra

Síntoma detectado en la muestra

Resultado positivo en el análisis de la muestra



deterioro de los puerros en las jaulas es la abundante población de psílidos, ya que las plantas se desarrollaban con normalidad hasta su introducción. En cualquier caso, es necesario realizar en el futuro ensayos en jaulas con y sin psílidos en paralelo para poderlo confirmar.

Después de dos meses desde el inicio de la cría se observó que casi todos los adultos habían muerto y en las jaulas solo quedaron los huevos de la última puesta y algunas ninfas. Esto coincide con la descripción de Hosseini y col. (2008), que determinaron que el ciclo de vida de la primera generación finaliza al cabo de unas 6 semanas, dependiendo de las condiciones climáticas, y comienza uno nuevo. Durante los meses de invierno la cría se mantuvo estable, aunque el número de individuos bajó drásticamente debido a las bajas temperaturas y al acortamiento de los períodos de luz.

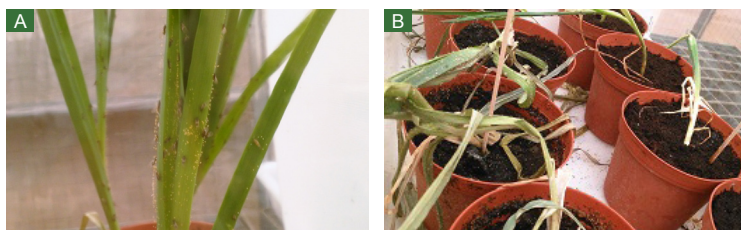


Figura 7. A, adultos, huevos y ninfas de *B. tremblayi* en una hoja de puerro dentro de la jaula; B, plántulas de puerro marchitas a causa de *B. tremblayi*.

Se analizaron para la detección de *Ca. L. spp.* y fitoplasmas ejemplares de insectos adultos recogidos en campo y de la cría, y ninguno resultó positivo.

Disección de insectos

Una vez realizadas las disecciones de los insectos seleccionados se tomaron las medidas que se muestran en las tablas 3 y 4.

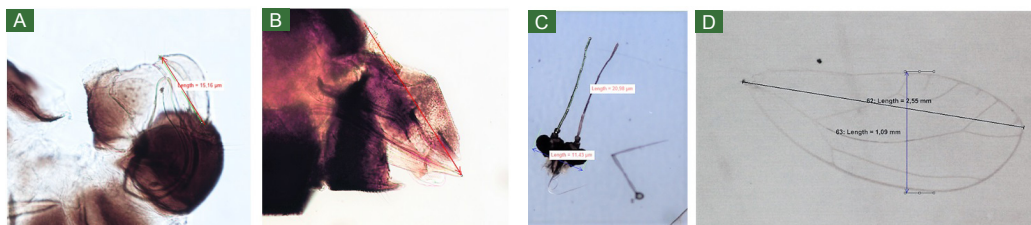


Figura 8. A, medida del parámetro del macho; B, medida del proctígero de la hembra; C, medida del ancho de la cabeza y el largo de la antena; D, medida del largo y ancho del ala.

Tabla 3. Medidas de las hembras de *B. tremblayi*

Nº mues- tra	Ancho ca- beza (mm)	Longitud an- tenas (mm)	Longitud alas (mm)	Ancho alas (mm)	Longitud proc- tígero (mm)
1	0,54	0,97	2,71	1,13	0,26
2	0,53	1	2,73	1,19	0,32
3	0,56	1,04	2,93	1,24	0,31
4	0,54	0,97	2,73	1,1	0,33
5	0,55	1,02	2,89	1,23	0,3
6	0,56	1,01	2,87	1,2	0,32
7	0,52	1,04	2,92	1,34	0,32
8	0,58	1,12	2,62	1,31	0,34
9	0,56	0,97	2,96	1,14	0,3
10	0,56	1,3	2,91	1,22	0,27
Promedio	0,55	1,04	2,82	1,21	0,31
Desviación	0,014	0,06	0,10	0,05	0,01

Tabla 4. Medidas de los machos de *B. tremblayi*

Nº muestra	Ancho ca- beza (mm)	Longitud an- tenas (mm)	Longitud alas (mm)	Ancho alas (mm)	Longitud del parámetro (mm)
1	0,54	1,09	2,28	1,13	0,14
2	0,54	1,06	2,39	1,16	0,13
3	0,48	1,05	2,48	1,07	0,16
4	0,55	1,08	2,28	1,16	0,16
5	0,52	0,9	2,5	1,07	0,18
6	0,55	0,95	2,55	1,09	0,16
7	0,52	0,97	2,48	1,04	0,12
8	0,55	1,04	2,53	1,06	0,16
9	0,55	1,02	2,59	1,2	0,13
10	0,54	1,04	2,54	1,03	0,12
Promedio	0,53	1,02	2,46	1,1	0,14
Desviación	0,01	0,04	0,08	0,04	0,018

Ver también figura 8 (página anterior). Las medidas tomadas fueron comparadas con las recopiladas por Hodkinson (1981) y Bastin (2014) y se comprobó que estaban dentro de los valores descritos para la especie.



Detección de *B. tremblayi* en cebollino

La Agencia de Extensión Agraria de Valle San Lorenzo, situada en el municipio de Arona, dio un aviso de la posible presencia de psila del puerro en un invernadero de cebollino. Las poblaciones encontradas en este invernadero, emplazado a poca altitud y cerca del mar, eran muy superiores a las encontradas en otras localizaciones de la isla en cultivos de puerro o cebolla. En todas las plantas observadas se encontraron adultos, ninfas o huevos. Las filas más cercanas a la entrada del invernadero registraban la mayor concentración de huevos y ninfas (Figura 9A). Las plantas presentaban falta de vigor, un color verde más oscuro del habitual y coloraciones amarillas que empezaban en la punta de la hoja e iban avanzando hacia la base (Figura 9B).

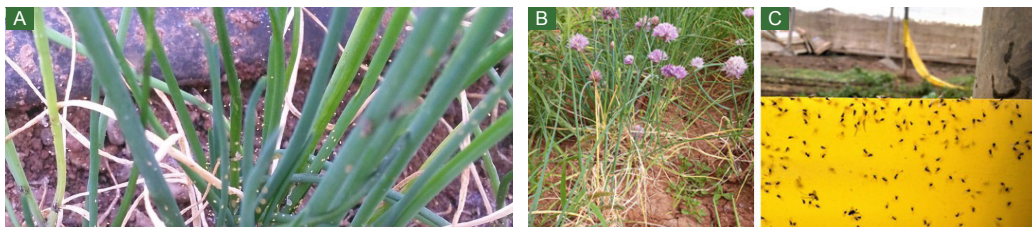


Figura 9. A, huevos de *B. tremblayi* en cebollino; B, planta de cebollino con amarilleos; C, detalle de trampa adhesiva amarilla con capturas de *B. tremblayi*.

Teniendo en cuenta que el cebollino es un cultivo del que se consumen las hojas frescas, los métodos que se pueden emplear para el manejo de una plaga son limitados. Los productos autorizados para tratamientos fitosanitarios están restringidos por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, entre ellos cipermetrina, deltametrina y aceite de parafina. Los agricultores utilizaban también bandas adhesivas amarillas y azules, siendo las amarillas las que daban mejores resultados (Figura 9C).

Éste es el único cultivo visitado durante la realización del trabajo en el que se encontraron daños en una plantación asociados a altas poblaciones de *B. tremblayi*. Se recogieron muestras de insectos adultos y 4 plantas enteras. En el laboratorio, se pudo confirmar que las características de los insectos correspondían con las de *B. tremblayi*. No se detectó *Ca. L. spp.* ni fitoplasmas en los análisis realizados a plantas e insectos.

CONCLUSIONES

En las prospecciones realizadas en cultivos de puerro, cebolla y cebollino en la isla de Tenerife se encontraron psílicos de la especie *Bactericera tremblayi* (Wagner) en el 38,9% de las parcelas muestreadas. En el 35,6% de las parcelas visitadas se observaron síntomas similares a los asociados al psílido como: amarilleos (35,7%), hojas deformadas (19,0%), enanismo (14,4%), y hojas abanicadas (7,1%), y en el 27,8% de las parcelas se detectaron síntomas y psílicos.

Las poblaciones de *B. tremblayi* encontradas en las parcelas visitadas fueron siempre muy bajas, salvo en una plantación de cebollinos en invernadero en la que se observaron daños importantes con poblaciones muy altas del psílido.

En los análisis realizados de las muestras de puerro, cebolla o cebollino y de *B. tremblayi* no se detectó *Candidatus Liberibacter* spp. y sólo se detectó un positivo a fitoplasmas en puerro (planta sin síntomas y sin psílicos) cuya especie no se determinó.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a los Agentes de Extensión Agraria y Desarrollo Rural de Tenerife: David Hernández (La Laguna), Zoilo García (Tacoronte), Vicente Melián (Icod), Carlos Rodríguez (Granadilla), Óscar Saavedra (Güímar), Carlos Díaz (Arico) y Catalina Tascón (Valle San Lorenzo) por su ayuda. A todos los agricultores que permitieron visitar y recoger muestras e información en sus parcelas. A los técnicos de la Cooperativa Las Vistas y a los técnicos de la Cooperativa Bethengara por toda la ayuda prestada. A Antonio González Hernández como responsable del Servicio de Sanidad Vegetal de la Dirección General de Agricultura del Gobierno de Canarias por permitir la realización de parte de los análisis incluidos en este trabajo en el Laboratorio de Sanidad Vegetal. A Moisés Botella Guillén del Laboratorio de Sanidad Vegetal por su ayuda en las detecciones de 'Ca. L. solanacearum' y fitoplasmas en muestras de psílicos y plantas. Este trabajo ha sido cofinanciado por el proyecto INIA E-RTA2014-00008-C4-01, titulado "Epidemiología de zebra chip, situación de la enfermedad en las principales zonas 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.

BIBLIOGRAFÍA

- Bastin, S. (2014). Etude de la distribution, de l'évolution et caractérisation de *Bactericera trigonica* (Hodkinson, 1981), vecteur de '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', dans des champs de carotte commerciale. Proyecto fin de carrera. Ingeniero Agrónomo. Institut Supérieur Industriel Huy-Gembloux.
- Bastin, S., Martín, I., Hernández, E. y Siverio, F. (2017). La psila del puerro. Desarreglos vegetativos del puerro. Dirección General de Agricultura. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas. Gobierno de Canarias. Pp. 12.
- Estadística Agraria de Canarias (ISTAC). (2017) Santa Cruz de Tenerife: Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas. (2018). [En línea] <http://www.gobiernodecanarias.org/istac/> [Consulta: 03/10/2018].
- EPPO, (2019). European and Mediterranean Plant Protection Organization. [En línea]: https://www.eppo.int/RESOURCES/eppo_databases/global_database [Último acceso: 30/04/2019].
- Font, M.I., Abad, P., Albiñana, M., Espino, A. I., Dally, E. L., Davis, R. E. y Jordá, C. (1999). Amarillos y enrojecimientos en zanahoria: Una enfermedad a diagnóstico. Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas, 25 (3): 405- 415.
- Haapalainen, M. (2014). Biology and epidemics of '*Candidatus Liberibacter*' species, psyllid-transmitted plant-pathogenic bacteria. *Annals of Applied Biology* 165(2), 172-198.
- Hodkinson, I.D. (1981). Status and taxonomy of the *Trioza* (*Bactericera*) *nigricornis* Foester complex (Homoptera: Triozidae). *Bulletin of entomological research*, 71, 671-679.
- Hodkinson, I.D. y White, I.M. (1979). Homoptera Psylloidea. Handbooks for the Identification of British Insects, Vol. 2. *Royal Entomological Society of London*, London. Pp. 1-98.

- Hossein, M., Mashhadi, K. y Mashhadi, M. (2008). Laboratory Investigation of the Biology of *Bactericera tremblayi* Wag. (Homoptera: Triozidae) a new pest in onion fields of Iran. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 3(4), 686-688.
- Hren, M., Boben, J., Rotter, A., Kralj, P., Gruden, K. y Ravnikar, M. (2007). Real-time PCR detection systems for *Flavescence dorée* and *Bois noir* phytoplasmas in grapevine: comparison with conventional PCR detection and application in diagnostics. *Plant Pathology*, 56, 785-796.
- Murray, M.G. y Thompson, W.F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* 8, 4321-4325.
- Ouvrard, D. y Burckhardt, D. (2012). First record of the onion psyllid *Bactericera tremblayi* (Wagner, 1961) in France (Insecta: Hemiptera: Sternorrhyncha: Psylloidea), new symptoms on leek crops and reassessment of the *B. nigricornis*-group distribution. *Bulletin OEPP/EPPO*, 42(3), 585-590.
- Ouvrard, D. (2018). Psilid list. [En línea] <https://www.hemiptera-databases.org/psyllist/> [Último acceso: 26/01/2018].
- Vidal-Matas, A., Sanjuan-Vidal, S. y Ferrándiz, J.C. (2014). Los psílidos, una nueva amenaza para la horticultura. *Phytoma España*, 257, 47-52.





AUTORES:

Ilenia Martín Alonso

Ingeniera Agrícola y del Medio Rural

Saskia Bastin

Ingeniera Agrónoma, contratada predoctoral ICIA

Santiago Perera González

Ingeniero Agrónomo. Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife

Felipe Siverio de la Rosa

Investigador ICIA y Técnico Superior de la Sección de Laboratorio de Sanidad Vegetal

PUBLICACIÓN FINANCIADA POR:

Dirección General de Agricultura. Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca

Gobierno de Canarias

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y FEDER

(Proyecto E-RTA2014-00008-C4-01)

COLABORA:

Gestión del Medio Rural de Canarias, SAU

Área de Agricultura – División de Proyectos

© del texto: Los autores

© de las imágenes: Autores de la publicación y autores citados

Noviembre 2019





INFORME TÉCNICO

Muestreo para la detección de *Bactericera tremblayi* y síntomas asociados a este psílido en puerro y cebolla en Tenerife

