



# Sanidad vegetal

**AVANCE**  
AGROINDUSTRIAL

Presentamos en esta sección cinco aportes para el cuidado sanitario de nuestras plantaciones, enfocados desde distintos ángulos: avances en el conocimiento de enfermedades de cultivos experimentales (chía), adopción de alternativas para la reducción del impacto ambiental del control de plagas y enfermedades (cochinilla roja en cítricos), síntesis informativas que facilitan una rápida caracterización de enfermedades frecuentes en caña de azúcar (roya marrón) o en maíz (pudrición de la espiga) y un informe especial acerca de la labor de la EEAOC respecto al diagnóstico de HLB, enfermedad que simboliza hoy con preocupante énfasis la importancia de nuestra actitud y capacidad para la prevención de daños evitables.

# HLB. El enfoque fitopatológico. Situación del Noroeste Argentino

Gabriela M. Fogliata\*, M. Eugenia Acosta\*\*, C. Valeria Martínez\*, Alejandro Rojas\*, M. Lorena Muñoz\*\*\* y L. D. Ploper\*\*\*\*

\*Ing. Agr., \*\*Lic. en Biotecnología, \*\*\*Técnica Fitosanitarista, \*\*\*\*Ing. Agr. Ph.D., Sección Fitopatología, EEAOC.  
gfogliata@eeaoc.org.ar

## Programas de prevención

Desde 2004, el Laboratorio de Fitopatología de la EEAOC es Laboratorio Reconocido de la Red del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (Senasa) para diagnóstico de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (cancrosis de los cítricos) y *Guignardia citricarpa* (mancha negra de los cítricos). En 2006, se incorpora a este registro el diagnóstico de HLB. Hoy opera, respecto de esta enfermedad, como uno de los laboratorios de referencia de la Red Nacional del Senasa en el marco del Programa Nacional de Prevención del HLB.

La experiencia creciente de la EEAOC en la materia comienza en el momento de la primera detección de la enfermedad en América del Sur (San Pablo, Brasil) en 2004, cuando la necesidad de proteger de la epidemia a la región del Noroeste Argentino (NOA) hizo imprescindible la concepción de un programa de acciones, que permitiera la evolución de nuestros conocimientos en materia de monitoreo, el reconocimiento de síntomas en la planta y del insecto vector, alternativas de control y técnicas de diagnóstico. Esa primera y rápida reacción operativa permitió al equipo de Zoología Agrícola de la EEAOC realizar, en 2005, la primera detección del insecto vector en la región (Salta y Jujuy).

Primero, la implementación del Programa de Prevención Regional -impulsado por la Asociación Fitosanitaria del NOA (Afinoa), la Asociación Tucumana del Citrus (ATC) y la EEAOC- y luego, la

creación del Programa Nacional de Prevención de HLB del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (Resolución Nro. 517/09 de la ex Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación) permitieron ampliar sustantivamente el área de inspección, multiplicar la cantidad de muestras observadas y desarrollar gradualmente mejoras metodológicas y prácticas para el perfeccionamiento del diagnóstico molecular de la enfermedad.

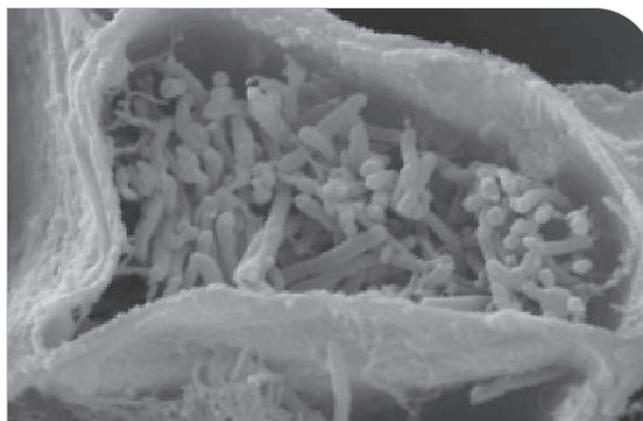
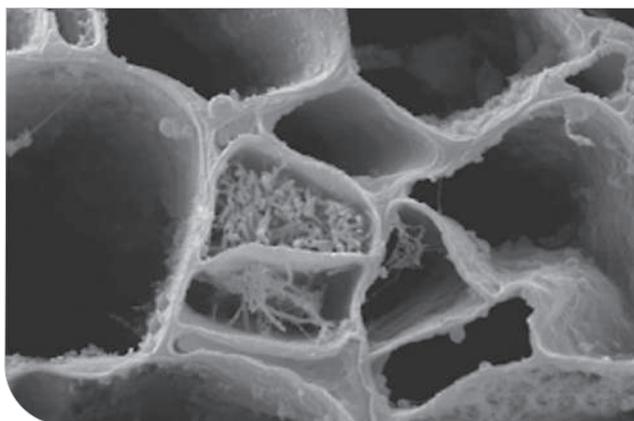
## Ajuste de técnicas

El Laboratorio de Fitopatología de la EEAOC cuenta actualmente con un sistema de diagnóstico basado en ocho técnicas moleculares de diferente sensibilidad y especificidad. La técnica de rutina es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real (qPCR) con sonda TaqMan seleccionada por su eficiencia, ya que además de tener alta sensibilidad y especificidad, permite la detección de dos o tres



formas de la bacteria en un solo análisis. Las otras técnicas forman parte de una marcha de análisis que, en el caso de muestras dudosas o positivas, permiten confirmar resultados. Para ello se realiza, en primer lugar, qPCR con SybrGreen y Nested-qPCR, que son de similar o mayor sensibilidad que qPCR-TaqMan. Finalmente, ante un resultado positivo, se incluye PCR convencional, lo cual permite





(además de una confirmación adicional) obtener un fragmento de ADN apropiado para su posterior secuenciación. La secuenciación es la última prueba de confirmación y permite, además, determinar la especie de la bacteria detectada.

#### Monitoreo y análisis de muestras

El personal de la EEAOC capacitado en el reconocimiento de síntomas de HLB realiza la inspección de plantas cítricas u ornamentales que pudieran ser hospederas de la enfermedad y/o el vector. Se recorren lotes comerciales de cítricos, plantaciones de uso familiar, arbolado urbano y viveros. Ante la presencia de síntomas sospechosos se recolectan muestras de hojas para analizar en laboratorio. En caso de detectar el insecto vector, se

recolecta el adulto y las ninfas del 4° y 5° estadio (fases en las que puede adquirir la bacteria). Las localidades inspeccionadas hasta el presente se encuentran ubicadas en las áreas cítricas más significativas de Tucumán, Salta y Jujuy.

Durante las inspecciones realizadas hasta el presente, se han recolectado muestras tanto de cítricos como de mirto. Se observó que **los cítricos presentan en muchos casos síntomas que pueden confundirse con los de HLB, pero que están asociados a otras causas**, predominantemente desórdenes nutricionales y enfermedades, como las causadas por *Phytophthora* sp., entre otras.

**Esto sucede debido a que los síntomas son en realidad**

#### resultados de la obstrucción de los vasos cribosos del floema.

Se han recolectado, asimismo, muestras de insectos en Salta y Jujuy y también en el foco urbano detectado en Tucumán, en 2011. En cada caso se extraen muestras de hojas de las plantas en las que se ha encontrado al insecto.

El total de muestras analizadas desde el inicio del Programa Nacional hasta el presente es de 11.937. Este valor incluye las muestras recolectadas por la EEAOC, más las remitidas por personal del Senasa y por particulares. Un 50% correspondieron a muestras cítricas, un 46% a muestras del insecto y el 4% restante a muestras de mirto. En cuanto a la procedencia, un 34% fueron de Tucumán, menos del 1% de Catamarca y Santiago del Estero y el 4% restante de Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Chaco y Formosa. Cabe destacar que las muestras del Noreste Argentino (NEA) son remitidas a la EEAOC únicamente por el Senasa, debido a que deben ser manejadas con un estricto protocolo de seguridad.

#### Muestras remitidas por particulares

En caso de que un particular precise enviar muestras dudosas para ser analizadas en el Laboratorio de la Sección Fitopatología de la EEAOC, su envío se coordina con personal autorizado del laboratorio, ya que debe realizarse siguiendo un



instructivo riguroso. Esto sobre todo si las muestras proceden de otras provincias, debido a la situación especial de Tucumán como territorio hasta hora libre tanto de HLB como del insecto vector.

### Resultados de los análisis

Todas las muestras del NOA analizadas resultaron negativas. Hasta el presente, no hay evidencias de que *Candidatus Liberibacter asiaticus* y *americanus* se encuentren en el NOA.

### Plantas con HLB en la Argentina

En junio de 2012, se detectaron 15 árboles cítricos con HLB en la provincia de Misiones, siendo este el primer reporte de la enfermedad en la Argentina. Nuevos focos de HLB fueron detectados en 2013 también en la provincia de Misiones, dando un total de 51 árboles infectados. Estas detecciones se lograron durante monitoreos y análisis realizados en el marco del Programa Nacional de Prevención de HLB del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. El Laboratorio de Fitopatología de la EEAOC, como parte de la Red de laboratorios del Programa Nacional, analizó muestras de algunas de estas plantas, a fin de confirmar los diagnósticos. En estas muestras se detectó la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, resultado confirmado mediante secuenciación.

La detección se realizó en hojas y



frutos con síntomas característicos de HLB, y también en hojas con síntomas que respondían más a deficiencias nutricionales y clorosis no características. Es por ello que, **ante la presencia de una planta sospechosa o bien ante plantas que se encuentren en zonas donde se haya detectado un positivo, resulta fundamental recolectar hojas con diferentes tipos de sintomatologías y también asintomáticas, de distintas partes de las plantas, así como también frutos -en caso de estar presentes- y analizar todo este material en laboratorio.**

Debido a la caída de las hojas afectadas y a la expresión diferencial de los síntomas, las hojas con síntomas característicos no están siempre presentes en las plantas enfermas, por lo que es necesario recolectar hojas que muestren deficiencias nutricionales y clorosis no características, para

someterlas a pruebas moleculares que comprueben la presencia o no del patógeno. En esto coinciden numerosos investigadores, que demostraron que las técnicas moleculares de PCR en tiempo real permiten detectar la bacteria aun antes de que se manifiesten los síntomas de la enfermedad.

### Interlaboratorio

Desde el inicio del Programa Nacional de Prevención se ha trabajado con el objetivo de armonizar las tareas relacionadas al diagnóstico de HLB con las de los laboratorios de la Red Senasa. Los responsables de estos laboratorios pertenecientes al Senasa, al Instituto Nacional de Semillas (Inase), al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y a la EEAOC se reunieron en 2012 en Bella Vista y en 2014 en Córdoba, a fin de intercambiar experiencias, analizar los resultados y evaluar propuestas para la mejora del sistema. ]

**JDG**  
neumáticos



TUCUMÁN: Autopista J. D. Perón y Circunvalación - Tel.: (0381) 4280909  
YERBA BUENA: Rubén Darío 99 (Alt. Av. Aconquija 900) - Tel.: (0381) 4258100  
SALTA: Av. Paraguay 2727 - Tel.: (0387) 4270500

