

Posibilidades del uso de sustancias de origen natural para el control biológico de la Verticilosis del olivo en Andalucía

La Verticilosis del olivo (VO) se considera actualmente la enfermedad más importante que afecta al olivar en Andalucía. Hasta la fecha, no existe un tratamiento efectivo para su control, por lo que el manejo integrado de la enfermedad mediante el empleo de métodos culturales, físicos y biológicos es la estrategia más aconsejable para reducir tanto su incidencia como su dispersión. Dentro de este contexto, el uso de sustancias de origen natural como método de control biológico está adquiriendo una mayor importancia en los últimos años. Así, este método de control destaca como una de las alternativas más viables y potencialmente eficaces para el control de la Verticilosis, debido principalmente a cuatro factores: i) el aumento de superficie de olivar en producción ecológica en los últimos años, ii) la compatibilidad de los métodos de control biológico con las técnicas del manejo del cultivo del olivo, iii) la concienciación sobre el uso de productos respetuosos con el medio ambiente, y iv) la ineficacia de productos químicos frente a esta enfermedad. Ante la carencia de productos de control biológicos eficaces frente a la Verticilosis en el olivar, desde 2011, el grupo Patología Agroforestal viene desarrollando una línea de investigación sobre control biológico de la VO.

El objetivo general de esta línea ha sido inicialmente abordar una selección masiva de un total de 210 productos de origen natural en condiciones controladas y, posteriormente, evaluar los más efectivos en condiciones naturales de campo frente a la VO, con el fin de seleccionar aquellos potencialmente eficaces en el control de la enfermedad para el futuro desarrollo de formulados comerciales. Los compuestos de origen natural evaluados se dividen en los cuatro grupos siguientes: i) microorganismos antagonistas (hongos, bacterias y sus extractos), ii) enmiendas orgánicas (residuos de animales y de la industria agroalimentaria), iii) aceites esenciales y extractos vegetales, y iv) bioestimulantes e inductores de resistencia. En este trabajo se resumen los estudios realizados y los resultados obtenidos dentro de esta línea, describiendo los tratamientos más eficaces frente a la enfermedad evaluados hasta el momento, así como el estado actual de esta línea de investigación y las perspectivas futuras en el desarrollo de formulados comerciales aptos para su uso tanto en olivares convencionales como en olivares certificados de producción ecológica.

De entre un total de 60 compuestos microbianos evaluados, varios aislados no patogénicos del hongo *Fusarium oxysporum*, una cepa de *Gliocladium roseum*, dos mezclas de microorganismos y un formulado comercial a base de *Trichoderma asperellum* y *T. gamsii* redujeron al 100% la densidad de inóculo de *V. dahliae* en suelo naturalmente infestado. De todos los microorganismos evaluados, el aislado no patogénico de *F. oxysporum* FO12 fue el más eficaz cuando se aplicó por riego, reduciendo al 100% la incidencia de la enfermedad.

Por otro lado, se evaluó el efecto de 66 enmiendas orgánicas frente a la VO. Las enmiendas utilizadas procedían de residuos agroindustriales de diferente naturaleza, como diversos alperujos, orujos de vid o estiércoles, o bien residuos de industrias lácticas, de corcho o de plantas depuradoras de aguas. Con respecto al efecto sobre el crecimiento micelial, el estiércol de gallinaza inhibió el crecimiento de *V. dahliae* en un 100%, mientras que el residuo de lácteos y un compost de orujo de vid lo redujeron en un 60%. Los tratamientos más eficaces en la reducción de inóculo en suelo naturalmente infestado fueron distintos compost de orujo de vid, residuos lácteos y mezclas de compost de alperujo con gallinaza y estiércol de vaca que redujeron el inóculo en un 100%. En cuanto al desarrollo de la enfermedad en plantas de olivo, el compost de orujo de vid CGR03 fue el tratamiento más efectivo, consiguiendo una reducción de la incidencia de la enfermedad del 100%. El compost de alperujo mejorado con microorganismos fue también efectivo, reduciendo la incidencia de la enfermedad en un 80%.

De los 210 compuestos evaluados, 84 fueron extractos vegetales y aceites esenciales procedentes de especies vegetales, tanto herbáceas como leñosas, comunes en las regiones de clima mediterráneo. Por lo general, los aceites esenciales fueron más efectivos que los extractos vegetales en la inhibición del crecimiento micelial. Los aceites esenciales de tomillo (*Thymus* sp.), cítricos (*Citrus* sp.), *Malaleuca cajeputi*, *Satureja* sp. y *Verbena officinalis* inhibieron al 100% el crecimiento micelial. Con respecto a los extractos vegetales, sólo el extracto de tomillo y el extracto de cítricos inhibieron al 100% el crecimiento a la dosis más alta. Varios aceites esenciales a base de tomillo y el aceite esencial de *V. officinalis* redujeron de manera significativa la densidad de inóculo de *V. dahliae* en suelo. En cuando al desarrollo de la enfermedad, sólo un aceite esencial de tomillo preparado en laboratorio y un aceite comercial de esta misma planta mostraron una reducción significativa de la enfermedad.

Como último paso para evaluar el potencial real de los distintos compuestos de origen natural frente a la enfermedad, era esencial realizar estudios en condiciones naturales de campo. Para ello, de entre todos los compuestos de origen natural evaluados, se eligieron los mejores candidatos para su evaluación en condiciones de campo. Hasta el momento, se han completado tres experimentos en campos localizados en diferentes regiones representativas del olivar en Andalucía con diferentes características edafoclimáticas y densidades de inóculo del patógeno en suelo: i) campo 1: experimento en condiciones semicontroladas (Almodóvar del Río, Córdoba); ii) campo 2: nueva plantación en un campo experimental con alta densidad de inóculo (Villanueva de la Reina, Jaén); y iii) campo 3: replantación de un olivar gravemente afectado por la enfermedad y con baja densidad de inóculo (Peal de Becerro, Jaén).

El ensayo situado en Almodóvar del Río (campo 1) se realizó en condiciones semicontroladas. La densidad de inóculo inicial del patógeno fue de 5,5 propágulos/g de suelo. Después de 24 meses desde el establecimiento del ensayo, se observó una reducción significativa del nivel de inóculo en el suelo para los tratamientos con la cepa no patogénica de *F. oxysporum* FO12 y con el aceite esencial de tomillo en un 80 y 66%, respectivamente.

El ensayo situado en Villanueva de la Reina (campo 2), se estableció en un campo comercial con una tradición en el cultivo de algodón de más de 50 años, con una densidad de inóculo del

patógeno en el suelo elevada (35 propágulos/g). No se encontraron diferencias significativas en la reducción de la enfermedad de las plantas tratadas con respecto a los testigos sin tratar al final del experimento. Sin embargo, tras 19 meses, los tratamientos más efectivos en la reducción del inóculo del patógeno en el suelo fueron la cepa no patogénica de *F. oxysporum* FO12, el compost de orujo de vid CGR03, una mezcla de microorganismos y un producto cúprico (COPP01), con una reducción del 96, 95, 94.5 y 70%, respectivamente.

El tercer experimento, se realizó en rodales gravemente afectados por VO dentro de una plantación intensiva de olivar de 30 años. En los rodales se reemplazaron las plantas enfermas y muertas por plántulas de olivo jóvenes de la variedad susceptible 'Picual', y por árboles adultos sanos procedentes de otras zonas de la propia finca libre del patógeno. En este ensayo se evaluaron dos de los tratamientos más prometedores, la cepa no patogénica de *F. oxysporum* FO12 y el compost de orujo de vid CGR03. Ambos tratamientos fueron capaces de reducir de manera significativa la incidencia de la enfermedad en los olivos tratados con respecto a los olivos sin tratar (control), mostrando valores finales de incidencia de 33, 53 y 80% para el compost de orujo de vid (CGR03), *F. oxysporum* FO12 y control, respectivamente.

En 2016, se incluyó en la línea de control biológico de la VO un nuevo grupo de productos naturales para su evaluación. Se trata de los bioestimulantes o inductores de resistencia que fueron agrupados en base a su mecanismo de acción, en lugar de a su naturaleza. En este sentido, actualmente se está evaluando el posible efecto en la inducción de resistencia frente a la VO de un total de 23 compuestos, incluyendo algunos de los microorganismos evaluados anteriormente y otros nuevos recientemente aislados (cepas de *Aureobasidium* sp., *Bacillus* sp., *Phoma* sp.); así como bioestimulantes o inductores de resistencia. Actualmente se está continuando con el proceso de evaluación en campo de los compuestos más prometedores con el objetivo de seleccionar aquellos más eficaces para, posteriormente, desarrollar estrategias de control adecuadas según la naturaleza de cada producto.

En base a los resultados ya obtenidos durante los primeros procesos de selección, la cepa no patogénica de *F. oxysporum* FO12, y el orujo de vid CGR03, fueron los candidatos más prometedores. Actualmente se están desarrollando dos proyectos cuyo objetivo principal es desarrollar dos formulados pre-comerciales de microorganismos que resultaron eficaces contra la VO en condiciones controladas, uno de ellos basado en varias cepas de bacterias extremófilas y el otro basado en la cepa no patogénica de *F. oxysporum*, para optimizar tanto su modo de aplicación como su eficacia en condiciones de campo.

Los resultados obtenidos en los últimos años en nuestra línea de investigación sobre el control biológico de la VO suponen un avance significativo en el control de esta grave enfermedad del olivar. Aunque es necesario seguir investigando para lograr un control efectivo de esta enfermedad, ya existe una selección de compuestos naturales altamente eficaces en el control de la VO, los cuales podrían estar disponibles en un futuro próximo como formulados comerciales dentro del marco de una agricultura sostenible, libre de residuos y respetuosa con el medio ambiente.