



saludolivar

Grupo Operativo Supraautonómico

El Grupo Operativo Supraautonómico “Enfermedades y Plagas en Olivo: Desarrollo de soluciones para biocontrol (Salud Olivar)” está cofinanciado por la Unión Europea al 80% con cargo a FEADER y al 20% con cargo al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, siendo la autoridad de gestión encargada de la aplicación de la ayuda FEADER y su parte nacional correspondiente la Dirección General de Desarrollo Rural, Innovación y Formación Agroalimentaria (DGDRIFA). El presupuesto total del proyecto es de 384.830,06 €.

Los organismos responsables del contenido de este díptico son los miembros beneficiarios del Grupo Operativo Salud Olivar.



Unión Europea

Fondo Europeo Agrícola
de Desarrollo Rural

Europa invierte en las zonas rurales



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN



PNDR

Programa Nacional
de Desarrollo Rural
2014-2020

Introducción

El Grupo Operativo Supra-autonómico Salud Olivar “Desarrollo de estrategias innovadoras para el control de enfermedades endémicas y emergentes en olivo en España” tiene como objetivos principales el control de enfermedades endémicas (como la Verticilosis) y emergentes (como la *Xylella fastidiosa*) del olivo y la reducción del uso de fitosanitarios mediante el empleo de soluciones biológicas y sistemas automatizados de detección y monitorización.

El Grupo Operativo está integrado por el fabricante de productos para la industria agroalimentaria DOMCA (Granada), como representante del consorcio, por el mayor productor mundial de aceite de oliva DCOOP (Málaga), la empresa de I+D agrícola NEVAL (Valencia), la empresa de base tecnológica Visiona IP (Madrid), el Centro Tecnológico AINIA (Valencia) y la asociación de fabricantes de soluciones de biocontrol, IBMA España.

Este proyecto está cofinanciado en un 80% con el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) de la Unión Europea, y en un 20% por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación en el marco del Programa Nacional de Desarrollo Rural 2014-2020.

Objetivos

- Desarrollo de estrategias innovadoras para tratamiento de enfermedades endémicas (Verticilosis) y emergentes (*X. fastidiosa*) en olivo, para mejorar los resultados económicos y sostenibilidad de las explotaciones olivareras.
- Desarrollo de estrategias preventivas (bioestimulantes), correctivas y de detección temprana para combatir la Verticilosis en olivo.
- Desarrollo de estrategias correctivas para combatir el Síndrome del decaimiento rápido del olivo.
- Contribuir al progreso de la industria olivarera y la industria oleícola mejorando la productividad de las explotaciones de olivar mediante el desarrollo de estrategias de control de enfermedades endémicas (Verticilosis) y emergentes (*X. fastidiosa*) en olivo.

Resultados por empresa

DOMCA

El rol de DOMCA en el proyecto ha consistido en proveer soluciones de origen natural con efecto bioestimulante y/o antimicrobiano para el control y prevención de enfermedades endémicas y emergentes del olivo como la Verticilosis o el síndrome de decaimiento súbito por *Xylella fastidiosa*. Para conseguir este objetivo general se han planteado dos enfoques rentables y ambientalmente sostenibles. Por un lado, el desarrollo de extractos vegetales con efecto funcional y por otro, el empleo de microorganismos de control biológico o sus metabolitos con actividad antagonista.

Extractos Vegetales

En relación a los extractos vegetales, se ha estudiado en profundidad el efecto bioestimulante de derivados de aliáceas tanto *in vitro* como en plántulas en condiciones controladas y en ensayos de campo en fincas experimentales, observándose una mejora en la floración y otros parámetros productivos. Además, se ha demostrado su actividad antifúngica, evaluándose su eficacia *in vitro* frente a cepas salvajes de *Verticillium dahliae* y otros hongos del suelo como *Fusarium*, *Rhizopus* y *Phytophthora*, responsables de síndromes similares a la Verticilosis en olivo.

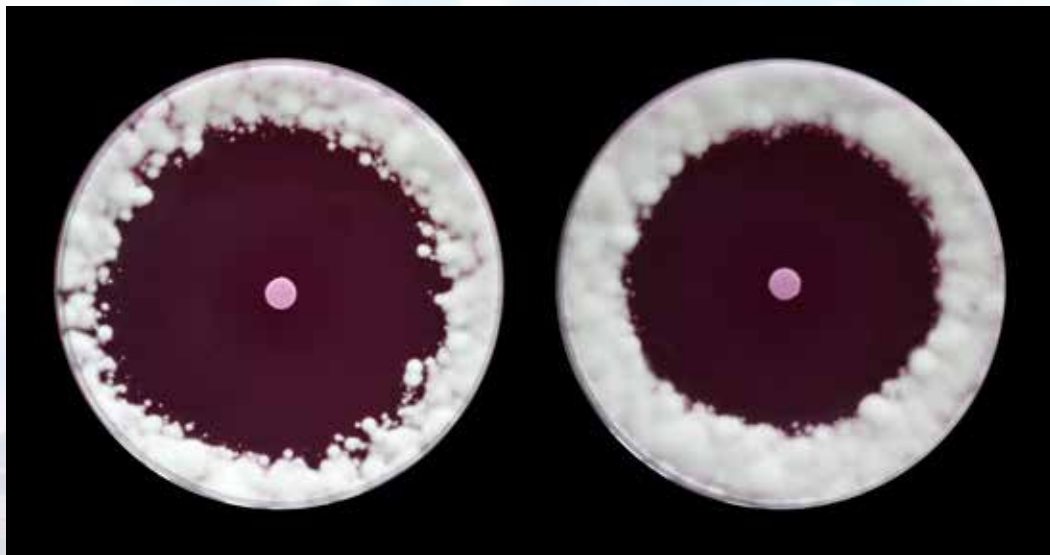


Figura 1. Placas de agar que muestran los halos de inhibición del crecimiento producidos por los extractos botánicos frente a dos aislados de *Verticillium dahliae*.

Además, se han llevado a cabo ensayos de higienización de suelos previamente inoculados con *Verticillium*, observándose una reducción significativa de la carga fúngica tras la aplicación de los extractos vegetales. Estos resultados, sugieren el potencial uso como tratamiento preventivo o higienizante de suelos. Finalmente, para completar los ensayos de eficacia, se ha realizado la inoculación experimental de plántones de olivo con una variante defoliante del hongo, observándose un efecto protector al producir menor severidad de la enfermedad en las plantas que recibieron el extracto mediante el riego. El área relativa bajo la curva de progreso de la enfermedad (RAUDPC) se consideró el parámetro principal para evaluar la intensidad de la enfermedad.

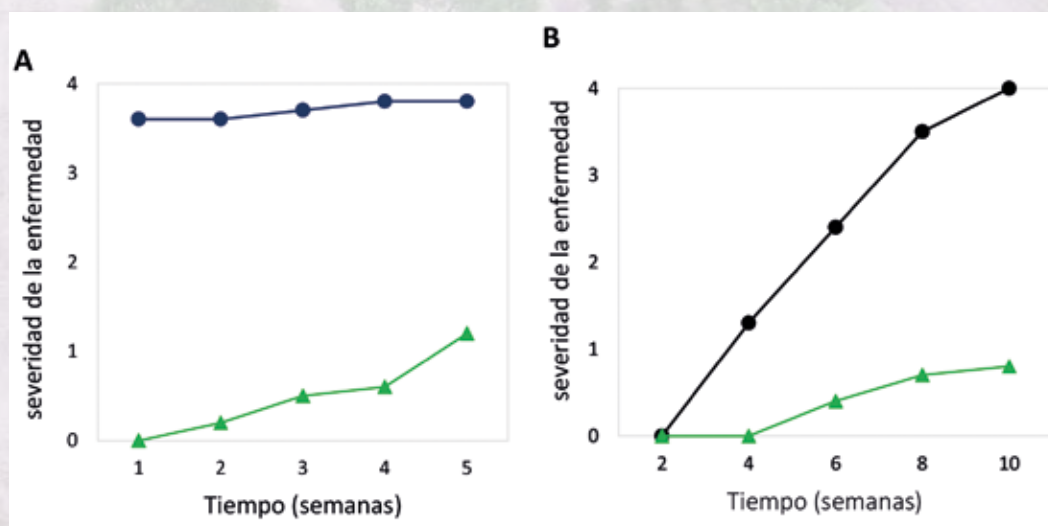


Figura 2. Evolución de la severidad de los síntomas a lo largo del tiempo en plantas de olivo desafiadas con *Verticillium dahliae* (V-136 1A) A) plantas de 5 meses de edad en condiciones controladas B) plantas de 18-20 meses de edad en condiciones ambientales. [●] Control, [▲] Extracto vegetal (500 ppm).

Microorganismos de Control Biológico

El departamento de Microbiología de DOMCA en colaboración con AINIA ha realizado un *screening* de diferentes cepas de control biológico con potencial efecto antagonista frente a *Verticillium* y otros hongos fitopatógenos. A partir de más de 200 aislados se han seleccionado dos cepas en base a su mayor espectro de inhibición frente a los diferentes patotipos de *Verticillium*. Estas cepas han demostrado actividad antagonista tanto *in vitro* como en plántones de olivo inoculados con el hongo, representando un enfoque prometedor de control biológico en el manejo integrado de esta enfermedad.

Además de microorganismos viables, DOMCA en colaboración con AINIA ha trabajado en el desarrollo de endolisinas de fagos como alternativa prometedora en el control de *X. fastidiosa*, una de las principales amenazas para el sector agrícola español.

Desarrollo de formulados

Finalmente, se han desarrollado dos formulados prototipo para su validación en campos con alta incidencia de Verticilosis. Estos productos serían compatibles con agricultura ecológica y con otros métodos de control integrado de plagas, aportando un efecto fortificante y de protección adicional frente a fitopatógenos del olivo como *Verticillium*.

DCOOP

El papel de DCOOP en el proyecto Salud Olivar ha sido doble. Por un lado, ha participado con DOMCA y AINIA en la realización de análisis metagenómicos de muestras de suelo y brotes jóvenes de olivos para determinar la incidencia de Verticilosis en las fincas de la cooperativa y también en el aislamiento de las cepas patógenas responsables de la enfermedad.

Por otro lado, ha actuado como validador de los productos para el control de la Verticilosis y productos bioestimulantes que ha desarrollado DOMCA en el transcurso del proyecto. Para ello, se han tomado muestras de suelo y de brotes jóvenes, antes y después de aplicar el tratamiento en las fincas de DCOOP, con el fin de comprobar en campo la eficacia de los tratamientos para el control de la Verticilosis. Además, se ha llevado a cabo a lo largo del tiempo un conteo de brotes, flores y frutos para determinar, junto con Neval, el poder bioestimulante de los productos desarrollados.



Figura 3. Aplicación del producto con poder bioestimulante desarrollado por DOMCA para el control de la Verticilosis en una de las fincas de olivos de DCOOP.



Figuras 4 y 5. Recogida de muestras de suelo (izquierda) y de brotes jóvenes de olivos (derecha) en una de las fincas de olivos de DCOOP.

NEVAL

El rol de NEVAL en el proyecto ha consistido en aportar una visión científica y normalizada para la realización de evaluaciones que permitan medir objetivamente la acción de los extractos vegetales de DOMCA sobre las enfermedades endémicas y emergentes del olivo como la Verticilosis. Para conseguir este objetivo general se han planteado dos enfoques basados en normativas Europeas según la legislación de fitosanitarios (European Plant Protection Organization) y Nacionales según legislación para Fertilizantes con microorganismos. Bajo los protocolos definidos por NEVAL se han desarrollado los ensayos a gran escala en las fincas de DCOOP y a modo complementario NEVAL ha llevado a cabo las comparaciones entre la aplicación foliar y vía riego.

Estas evaluaciones nos permiten, por un lado, aportar información sobre la posible recuperación de árboles decaídos por enfermedades. Por otro lado, evaluaciones basadas en el porcentaje de cuajado demuestran si se consigue tener una recuperación de cosecha.



Figura 6. Estado de los olivos defoliados previos al tratamiento (control).



Figuras 7, 8 y 9: De izquierda a derecha: control sin tratamiento, tratamiento foliar y tratamiento por riego.

Los resultados concluyen en un aumento de nº brotes/m² superior al 60% cuando el tratamiento se aplica vía riego frente a la aplicación foliar y un aumento general de la elongación de los brotes, tanto en riego como aplicado vía foliar, de un 50%.

Tabla 1. Tabla de resultados de la aplicación de tratamientos via foliar y por riego.

Fecha de Evaluación				25 de mayo de 2021		22 de junio de 2021	
Tipo de Evaluación				Longitud brotes		nº brotes/m ²	
Unidad de medida				cm		número	
nº trat.	Tratamiento	Dosis	Unidad	1	2	3	4
1	Control			473 c (100%)	5,7 b (100%)	5,6 b (100%)	8,3 c (100%)
2	Extracto de Aliáceas (vía foliar)	2,5	ml/l	5,51 b (116,3%)	12 b (211,8%)	6,37 b (113,8%)	15,3 b (184%)
3	Extracto de Aliáceas (riego)	20	ml/L	6,39 a (134,9%)	14,3 a (252,9%)	8,59 a (153,5%)	20,7 a (248%)
LSD P=.05				0,45	2,45	1,616	4,69
Desviación Estándar				0,199	1,08	0,713	2,07
Coeficiente de Variación				3,58	10,13	10,4	14,0
Prueba de Bartlett's X2^				0,763	2,171	0,369	1,034
P(Bartlett's X2)				0,683	0,338	0,831	0,596
Asimetría				0,4908	-0,2405	-0,1413	0,1966
Curtosis				-0,8474	-0,3149	-1,3424	-0,7736
Replicate F				11,497	0,286	3,55	1,974
Replicate Prob(F)				0,022	0,7656	0,1299	0,2533
Tratamiento F				52,047	51,714	14,253	26,831
Tratamiento Prob(F)				0,0014	0,0014	0,0151	0,0048

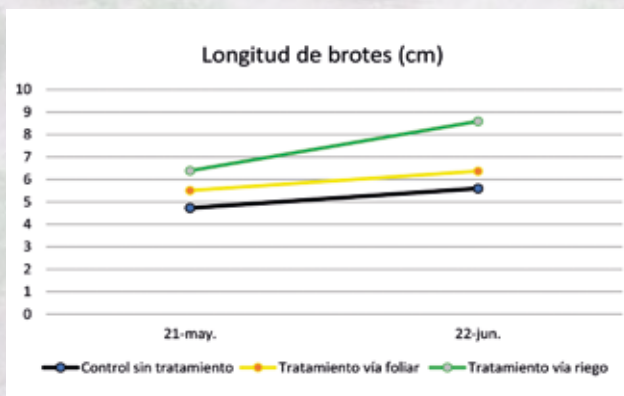


Figura 10. Diferencias en la longitud de brotes según el tratamiento aplicado.

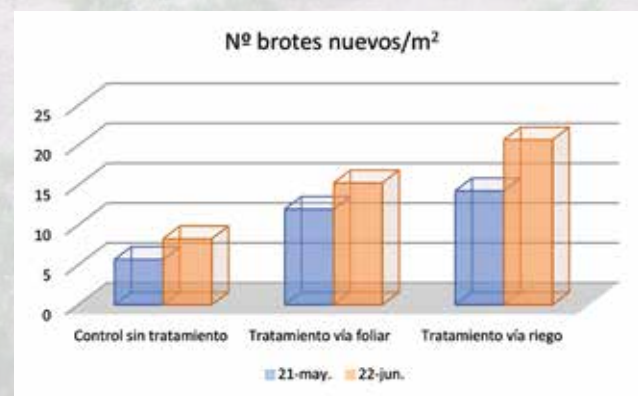


Figura 11. Diferencias en el número de brotes nuevos/m² según el tratamiento aplicado.

AINIA

Microorganismos de Control Biológico

AINIA ha realizado de la mano de DOMCA el desarrollo de dos estrategias biotecnológicas para la prevención y tratamiento de enfermedades del olivo, concretamente las causadas por *V. dahliae* y *X. fastidiosa*.

En primer lugar, se ha llevado a cabo la selección de un microorganismo en base a su potencial actividad como bioestimulante y su actividad antagonista frente a *V. dahliae* de entre los microorganismos disponibles en la Colección de Recursos Biológicos y Genéticos de AINIA.

Tabla 2. Resultados de la evaluación de la actividad antifúngica y bioestimulante de los aislados seleccionados.

Aislado	Fijación N2	Sideróforos	Solubilización P	Ácido indolacético	Act. <i>V. dahliae</i>	Score
GOS-01	1,000	1,000	1,000	0,130	++	0,783
GOS-02	1,000	0,398	1,000	1,000	0	0,850
GOS-03	1,000	0,223	1,000	0,000	0	0,556
GOS-04	1,000	0,387	1,000	0,000	++	0,597
GOS-05	1,000	0,223	0,500	0,098	++	0,455
GOS-06	1,000	0,282	1,000	0,000	++	0,570
GOS-07	1,000	0,000	1,000	0,108	0	0,527
GOS-08	1,000	0,000	1,000	0,000	0	0,500
GOS-09	1,000	0,000	1,000	0,000	0	0,500
GOS-10	1,000	0,000	1,000	0,000	0	0,500
GOS-11	1,000	0,000	1,000	0,065	0	0,516
GOS-12	1,000	0,000	1,000	0,083	0	0,521
GOS-13	1,000	0,000	0,500	0,000	+	0,375
GOS-14	1,000	0,000	0,500	0,000	+	0,375
GOS-15	1,000	0,000	0,500	0,000	0	0,375

Atendiendo a la tabla anterior, los aislados GOS-01, GOS-04, GOS-05 y GOS-06 han sido los seleccionados para continuar con su evaluación a escala de laboratorio de los parámetros de crecimiento, ya que son aquellos que han presentado una mayor actividad bioestimulante al mismo tiempo que presentan actividad frente al patógeno.

Tras la selección del microorganismo con mayor potencial, se ha llevado a cabo el estudio del proceso fermentativo de este a escala de laboratorio, y posteriormente a escala de biorreactor de 1 litro para su optimización y posterior escalado.

En segundo lugar, se ha llevado a cabo el desarrollo de una cepa de *Escherichia coli* modificada genéticamente, capaz de producir endolisinas recombinantes con potencial actividad frente a *X. fastidiosa*. Para ello se ha llevado a cabo la búsqueda de secuencias génicas correspondientes a un gen codificante de una endolisina específica frente a *X. fastidiosa*, procedente del virus bacteriófago XFa53. Esta secuencia ha sido adaptada mediante la incorporación de un péptido catiónico en C-terminal para la disrupción de la membrana externa de bacterias Gram negativas para dar acceso a la pared de peptidoglicano.

Estudios metagenómicos de la microbiota del suelo

Además, AINIA ha participado junto con DCOOP en el aislamiento de cepas de *V. dahliae*, con el objetivo de aislar e identificar aquellas cepas patógenas presentes en los campos de olivos seleccionados por DCOOP, y en el análisis de la microbiota del suelo del olivar antes y después de la aplicación de las soluciones desarrolladas en el marco del proyecto de Salud Olivar.

IBMA

La asociación de fabricantes de soluciones de biocontrol, IBMA (International Biocontrol Manufacturers Association) España, se ha encargado de dar difusión al proyecto a través de publicaciones en revistas del sector especializadas.

Socios



DCOOP Sociedad Cooperativa Andaluza
Contacto: Silvia López Feria
Teléfono: 952841451
Email: silvia.lopez@dcoop.es
Website: www.dcoop.es



DOMCA Innovative Food Solutions
Contacto: Alberto Baños Arjona
Teléfono: 958576486
Email: abarjona@domca.com
Website: www.domca.com



NEVAL GRUPO FAMALENT S.L.
Contacto: Kristell Santander Tarín
Teléfono: 610345356
Email: laboratorio@ne-val.com
Website: www.ne-val.com



IBMA España. International Biocontrol Manufacturers Association
Contacto: Estefanía Hinarejos Esteve
Teléfono: 650454369
Email: ibma@mathex.es
Website: www.ibma-global.org



VISIONA INGENIERÍA DE PROYECTO S.L.
Contacto: iago Fernández-Cedrón
Teléfono: 669845838
Email: ifdezcedron@visiona-ip.es
Website: www.visiona-ip.es



centro tecnológica

AINIA Centro Tecnológico
Contacto: Ana Torrejón Cabello
Teléfono: 961366090
Email: atorrejon@ainia.es
Website: www.ainia.es

www.salud-olivar.es



Unión Europea
Fondo Europeo Agrícola
de Desarrollo Rural
Europa invierte en las zonas rurales



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN



PNDR
Programa Nacional
de Desarrollo Rural
2014-2020