



AGROALNEXT ARAGÓN

Alternativas sostenibles de producción agraria y herramientas que contribuyen a la reducción de la intensificación y de los insumos de origen químico

Control de plagas y enfermedades con agentes de biocontrol y biopesticidas en Almendro

Promovido y financiado por

Iniciativa impulsada por:



Creado dentro del Plan Complementario de Agroalimentación AGROALNEXT en el marco del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia y financiado por la Unión Europea – NextGenerationEU

URL: <https://hdl.handle.net/10532/7982>

Año 2025

Autores: V. González García, M. J. Rubio Cabetas

Departamento de Sistemas Agrícolas, Forestales y Medio Ambiente (SAFMA) / Departamento de Ciencia Vegetal

Promovido y financiado por

Iniciativa impulsada por:



Creado dentro del Plan Complementario de Agroalimentación AGROALNEXT en el marco del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia y financiado por la Unión Europea – NextGenerationEU

AGROALNEXT  **Plan de Recuperación,
Transformación
y Resiliencia**

 **Financiado por
la Unión Europea**
NextGenerationEU

 **GOBIERNO
DE ESPAÑA**
MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES

 **GOBIERNO
DE ARAGON**



Contenido

Protocolo de realización de bioensayos de protección.....	3
Introducción.....	5
Metodología para la prospección de microorganismos de interés	5
Ensayos de de protección en laboratorio.....	6
Bioensayos en material de propagación.....	8
Conclusiones.....	¡Error! Marcador no definido.





Protocolo de realización de bioensayos de protección

Introducción

En la actualidad, no existen medidas completamente efectivas para la eliminación y/o el control de numerosos agentes etiológicos que causan enfermedades fúngicas en planta joven y adulta de almendro (podredumbres radiculares, de madera, de órganos aéreos, etc.). Al retirarse de los registros oficiales numerosas materias activas de origen químico habitualmente efectivas contra estos agentes etiológicos, el contexto actual de Gestión Integrada de Plagas (GIP) impone aunar esfuerzos investigadores en aspectos como la mejora de la calidad sanitaria del material de propagación, las técnicas de manejo del cultivo, o el desarrollo y aumento en el uso de agentes de control biológico. Junto al empleo de estos antagonistas microbianos, los extractos naturales se presentan asimismo como una de las mejores alternativas a los fungicidas químicos. No tienen procedimientos de extracción complicados, y son eficientes y seguros para el medio ambiente ya que el proceso de degradación es rápido. Por todo esto, en el marco del proyecto Biodiversa, en el CITA, se está estudiando la prospección de microorganismos antagonistas y sustancias vegetales básicas de interés, y la evaluación preliminar de su potencial para el control y mitigación de las principales enfermedades fúngicas emergentes en el almendro, con especial incidencia al tratamiento del material vegetal de partida.

Metodología para la prospección de microorganismos de interés

En el periodo 2023-2024 se han llevado a cabo prospecciones en material sintomático y asintomático de diferentes variedades comerciales y locales de almendro para, a partir del procesamiento de todo tipo de tejidos y órganos vegetales (hojas, ramas, raíces, corteza, etc.) e incluso de materiales adyacentes (suelo desnudo de plantación, suelo rizosférico y sustrato de propagación en vivero), aislar, purificar y caracterizar (mediante métodos morfológicos y moleculares) microorganismos nativos de almendro con potencial para su exploración como agentes de biocontrol (habitualmente descritos como tales en la literatura especializada disponible) frente a algunos de los patógenos más relevantes del cultivo, en especial aquellos que afectan a las plantaciones en los primeros años tras su establecimiento. Los aislamientos se efectuaron mediante el empleo de protocolos de microbiología básica habituales, basados en la esterilización superficial en el caso de los tejidos vegetales, o la siembra

de diluciones seriadas de los materiales edáficos, y posterior incubación en medios axénicos nutritivos. La caracterización molecular de especies se llevó a cabo mediante la comparación de secuencias nucleotídicas de la región ITS ribosomal. Además, se seleccionaron una serie de extractos naturales de plantas para ensayar su potencial para la inhibición del crecimiento micelial a distintas dosis, solos o en combinación con coadyuvantes.

Ensayos de protección en laboratorio

Para la realización de ensayos de protección a escala de placa en laboratorio, se seleccionaron una serie de cepas de la especie *Trichoderma harzianum* Rifai (*Hypocreales*, *Acomycota*), aisladas a partir de muestreos en almendro, bien nativas como endófitos de la planta, bien a partir de suelo y/o sustrato asociado al cultivo. En el caso de los extractos naturales de planta, se ensayaron entre otros, en placa de cultivo, extractos vegetales de Ajenjo (*Artemisia absinthium* L.), Tomillo salsero (*Thymus zygis* L.), corteza de Alcornoque (*Quercus suber* L.) o Sauco (*Sambucus nigra* L.). Ambos tipos de ensayos tuvieron el objetivo de comprobar la capacidad de estos microorganismos y/o sustancias básicas para producir inhibición del crecimiento de 2 patógenos del almendro seleccionados por su interés e importancia creciente en el cultivo, *Neofusicoccum parvum* y *Phytophthora* spp. (*P. megasperma*, *P. cactorum*). Los enfrentamientos de los aislados **antagonistas y los patógenos** se realizaron empleando la técnica de cultivo dual (Fig. 1) en placas Petri de 9 cm de diámetro con agar de dextrosa de patata (PDA) como medio nutritivo. La evaluación del efecto antagonístico *in vitro* se calculó mediante la fórmula de Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR).

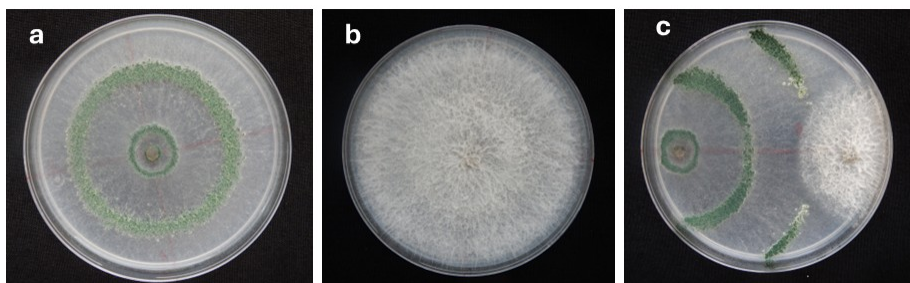


Figura 1.- Enfrentamientos duales de patógenos de almendro (*Neofusicoccum parvum*) frente a *Trichoderma harzianum* en placa. **a:** *T. harzianum*; **b:** *N. parvum*; **c:** enfrentamiento *T. harzianum* / *N. parvum*.

Para el caso de los **extractos naturales**, la actividad antifúngica se evaluó utilizando el método de dilución en agar, incorporando alícuotas de soluciones madre en placas que contenían PDA para proporcionar un rango de concentraciones finales en el medio. A las placas del mencionado medio con concentraciones crecientes de los extractos seleccionados se incorporaron inóculos de los patógenos provenientes de cultivos frescos, determinando el poder inhibitorio a través del crecimiento radial del micelio frente a los controles sin extracto alguno (Fig. 2). Además, las propiedades de inhibición del crecimiento fúngico de algunos de los extractos vegetales fueron comparadas con las que produjeron en ensayos similares en placa, diferentes fungicidas comerciales de referencia.

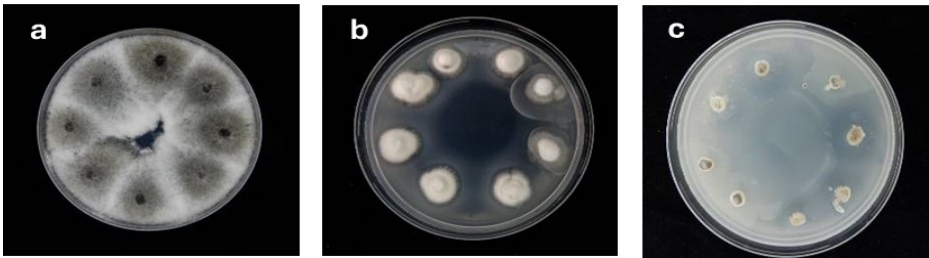


Figura 2.- Crecimientos radiales de *Neofusicoccum parvum* en presencia de extracto esencial de *Thymus zygis* a diferentes concentraciones. **a:** control; **b:** extracto al 0.5%; **c:** extracto al 10%.

Bioensayos en Portainjertos

Se evaluó la eficacia del tratamiento con diversos extractos vegetales en material vegetal de propagación. Como ejemplo, se evaluó la efectividad del extracto de corteza de alcornoque frente a *Phytophthora cactorum* mediante la inoculación artificial de tallos jóvenes de portainjerto sano de 'Garnem' (*Prunus amygdalus* x *P. persica*) extirpados en condiciones controladas. Tras la esterilización superficial de los tallos, la inmersión de los mismos en soluciones acuosas de extracto a diferente concentración, y la separación de la corteza para dejar accesible el cambium, la inoculación se realizó mediante la colocación de tacos de agar frescos con micelio del patógeno. La eficacia de los tratamientos se evaluó midiendo la longitud de

los chancros desarrollados en los sitios de inoculación en comparación con los controles sin tratar.

Conclusiones

- 1.- Han sido seleccionados varios extractos naturales de plantas para su ensayo como bioestimulantes y bioprotectores frente a algunos de los principales patógenos vegetales del cultivo del almendro (*Neofusicoccum*, *Phytophthora*) y en comparación con fungicidas comerciales de síntesis química.
- 2.- Estos bioensayos han permitido identificar las potencialidades como fungicida natural de algunas de estas sustancias de origen vegetal obtenidas a base de extractos de plantas como el sauco, corteza de alcornoque, ajenojo, etc.
- 3.- Se ha creado una colección de microorganismos endófitos de almendro de origen fúngico (géneros *Trichoderma*, *Aureobasidium*, *Epicoccum*) y bacteriano (pertenecientes mayoritariamente al género *Bacillus*). De entre estos, el género *Trichoderma* ha mostrado mayor potencialidad en base a sus capacidades y variedad de mecanismos de acción para el control biológico de los mencionados patógenos.
- 4.- Se han probado in vitro sus capacidades para su empleo como antagonistas microbianos con potencial para el control biológico de conservación.



Creado dentro del Plan Complementario de Agroalimentación AGROALNEXT en el marco del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia y financiado por la Unión Europea – NextGenerationEU

