INNOVACIÓN TECNOLÓGICA APLICADA A LA SV DEL CULTIVO

BIOSTOP®: Biofertilizante anti estrés biótico en el olivo

Khalid Akdi Elaroussi (Director de I+D+i y Bioprocesos).
Francisco Pérez Barrera (Presidente de TRICHODEX S.A.).

BIOSTOP® es un biofertilizante líquido que actúa como potenciador de los cultivos gracias al aporte de PGPR. BIOSTOP® facilita el enraizamiento y promueve el crecimiento de las plantas, incrementando la biodisponibilidad de nutrientes y otras sustancias estimulantes. BIOSTOP® activa las autodefensas de la planta, protegiéndola de posibles agentes bióticos. Para determinar el efecto de BIOSTOP® en olivar, se realizaron ensayos con plantones inoculados con *Verticillium dahliae*. La aplicación de BIOSTOP® mejoró el estado fisiológico de las plantas (brotes secundarios y SPAD), biomasa foliar (36,3%) y radicular (129,2%). Además, BIOSTOP® activó el mecanismo de defensa de las plantas consiguiendo reducir la enfermedad un 81% (severidad) con respecto al control, en niveles de enfermedad cercanos al 60% de plantones control.

PALABRAS CLAVE: Olivo, BIOSTOP®, Biofertilizante, *Verticillium dahliae*, *Pseudomonas putida*, estrés biótico.

INTRODUCCIÓN

Las rizobacterias, también conocidas como PGPR, son bacterias beneficiosas para las plantas, gracias a su capacidad de colonizar las raíces, promover el crecimiento y controlar enfermedades (Kloepper y Schroth, 1978). Las PGPR se asocian con muchas especies de plantas y están comúnmente presentes en ambientes variados. Entre los géneros PGPR, *Pseudomonas* y *Bacillus* han sido los más estudiados. *Pseudomonas putida* es capaz de sintetizar sideróforos, los cuales mejoran la asimilación de hierro por las plantas, disminuyen los niveles de inhibición del crecimiento del etileno en los tejidos vegetales y la capacidad de secretar IAA (Patten y Glick, 2002), (Li y Ramakrishna, 2011), (Kenneth, 2017). La producción de sideróforos es una de las actividades con más interés a nivel de protección indirecta de la planta, ya que éstos actúan quelando la mayor parte del Fe^{+3} presente en la rizosfera de las plantas, disminuyendo así su disponibilidad para otros microorganismos (entre los que se encuentran los patógenos). Con ello, se facilita, no sólo la asimilación por parte de la planta de los nutrientes, sino que disminuye la concentración de organismos patógenos, cumpliendo la doble función de nutrir y proteger (Kenneth, 2017).

Otro de los mecanismos de protección frente a patógenos, es la producción de biotensioactivos por parte de la bacteria, los cuales causan la lisis de las zoosporas de los hongos oomicetos, como es el caso de *Phytophthora capsici* (Kruijt y col., 2009). Todas estas cualidades hacen a *Pseudomonas putida* un importante candidato para su utilización como biofertilizante y bioprotector, incorporado como materia activa en BIOSTOP®.

El objetivo de este ensayo fue determinar la capacidad promotora de crecimiento que presenta BIOSTOP® en plantones de olivo de la variedad picual y su actividad indirecta en la protección contra *Verticillium dahliae*.

Materiales y métodos

Antes de comenzar los ensayos, se realizó la caracterización del microorganismo *Pseudomonas putida* y pruebas inhibición *in vitro* para determinar su eficacia frente a *Verticillium dahliae*.

En plantas, se realizaron dos ensayos en paralelo. El primero consistió en la aplicación de BIOSTOP®, un referente biológico del mercado y un control sin tratar, en plantones de olivo de la variedad Picual con un año de edad y una sola guía. Los plantones poseían unos 30 cm de longitud y se sembraron en macetas de 700 ml con arena:turba (2:1 v/v). BIOSTOP® se aplicó a 10 l/ha. Se realizaron un total de tres repeticiones en cuatro bloques. Al final del ensayo se determinó: número de brotes laterales, SPAD (SPAD 502 plus, Konica Minolta®) y peso fresco y seco foliar y radicular.

Un segundo ensayo se realizó con las mismas variantes, diseño y condicio-

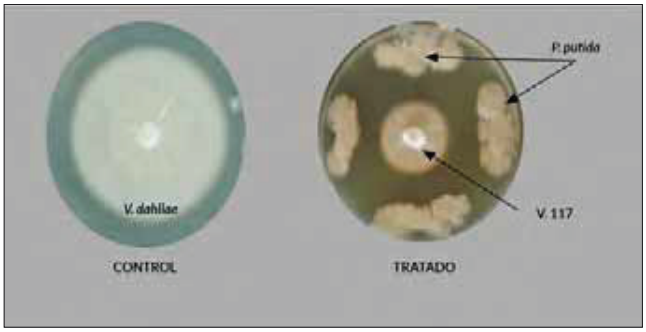

Foto 1. Inhibición radial del crecimiento del hongo fitopatógeno *Verticillium dahliae* cepa V117 (cepa virulenta defoliante) con *Pseudomonas putida* componente de BIOSTOP®.

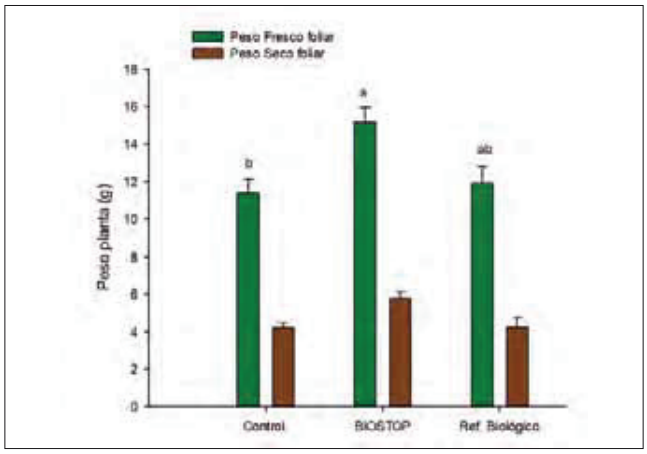

Figura 1. Peso fresco y seco foliar ± error estándar en los diferentes tratamientos. Diferencias estadísticas se indican con distinta letra para cada parámetro (ANOVA, Tukey *p<0.05*).

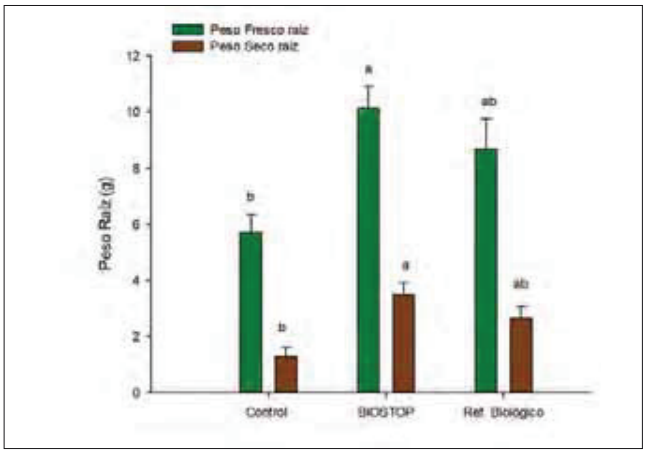

Figura 2. Peso fresco y seco radicular ± error estándar en los diferentes tratamientos. Diferencias estadísticas entre tratamientos se indican con distinta letra para cada parámetro (ANOVA, Tukey *p<0.05*).

nes que el anterior. Los plantones se inocularon con un aislado de *Verticillium dahliae* procedente de olivo infestado a una concentración de 10^8 UFC/ml. Las aplicaciones de BIOSTOP® se realizaron previo a cada inoculación a 10 l/ha. A los cuatro días de la segunda aplicación del inóculo, aparecieron los primeros síntomas de la enfermedad, que se evaluó según el número de plantas afectadas (incidencia) y por el porcentaje de afección de los plantones (severidad). Las medidas de enfermedad se expresaron en eficacia de severidad e incidencia con respecto al testigo aplicando la fórmula de Abbott. Todos los datos se analizaron con el programa IBM SPSS Statistics 22, aplicando el análisis de la varianza (ANOVA) y test de Tukey ($p<0.05$) de separación de medias o test de Student-n (segundo ensayo).

Resultados y discusión

En la Foto 1 se muestra fotografía donde se observa la inhibición de *Verticillium dahliae* frente a *Pseudomonas putida*.

En el primer ensayo en olivos, se observó que los tratados con BIOSTOP® mostraron plantas con mayor porte con respecto al resto de tratamientos, presentando un gran número de ramificaciones laterales (Foto 2). Los plantones tratados con BIOSTOP® mostraron un mayor incremento de biomasa tanto foliar (36,3%) como radicular (129,2%), con respecto al control (Figura 1).

Los valores SPAD mostraron que los plantones tratados con BIOSTOP® poseían niveles de clorofila mayores que el control, con diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$).

Finalmente, en el ensayo de enfermedad se observó que, durante su desarrollo, los plantones no tratados mostraron una buena evolución de la enfermedad, alcanzando porcentajes de severidad del 50% a partir de los 51 DAI2 (Días a inoculación 2). En esta misma evaluación se determinaron diferencias estadísticas significativas entre los plantones testigo y los plantones tratados con BIOSTOP®, con porcentajes de severidad de 51,2% y 8,75%, respectivamente. Evaluando la enfermedad como número de plantones afectados del total se registraron valores de incidencia del 66,7% en los plantones testigo. Entre los tratamientos se observaron diferencias significativas a partir de 31 DAI2. En esta evaluación, y durante todo el desarrollo del ensayo, BIOSTOP® mostró un porcentaje de olivos afectados significativamente inferiores al observado en

Foto 2. Detalle ramificaciones laterales de plantas tratadas con BIOSTOP®.

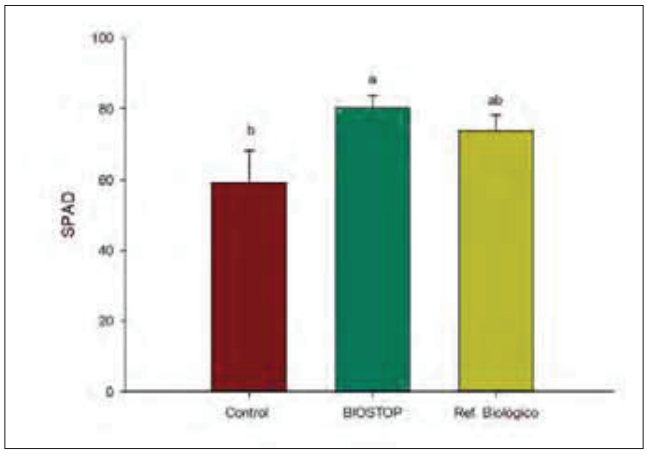

Figura 3. Valores SPAD ± error estándar en los diferentes tratamientos. Diferencias estadísticas entre tratamientos se indican con distinta letra (ANOVA, Tukey *p<0.05*).

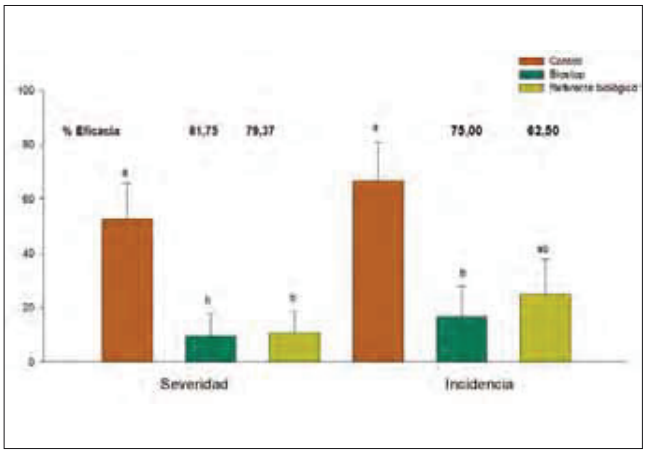

Figura 4. Severidad e incidencia ± error estándar de los plantones inoculados con *Verticillium dahliae* en los distintos tratamientos (según fórmula de Abbott) al final del ensayo (66 DAI2). Diferencias estadísticas entre tratamientos se indican con distinta letra (ANOVA, Tukey *p<0.05*).

los plantones sin tratar y al referente biológico empleado. Al final de ensayo (66 DAI2) los plantones inoculados y tratados con BIOSTOP®, obtuvieron una eficacia del 81,7% para las medidas de severidad respecto al control y de un 75% en la incidencia. En ambos parámetros, BIOSTOP® obtuvo diferencias estadísticas con el control sin tratar.

Conclusiones

La aplicación de BIOSTOP® a 10 l/ha en plantones de olivo protege a la planta frente a estrés biótico. Cumple una doble función: estimulación de la planta (radicular y foliar) y mejora de su estado fisiológico, obteniéndose plantas más fuertes y mejor nutridas, las cuales consiguen hacer frente a patógenos tan virulentos como es *Verticillium dahliae*.

BIOSTOP® es un biofertilizante de máxima calidad, además de un bioprotector de alta efectividad.

Foto 3. Foto comparativa de los plantones inoculados con *Verticillium dahliae* con los distintos tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

Kloepper J.W., Schroth, M.,N. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. Proceedings of IVth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. 879–882.

Li, K., Ramakrishna, W. 2011. Effect of multiple metal resistant bacteria from contaminated lake sediments on metal accumulation and plant growth. J. Hazard. Mater. 189:531-539

Patten, C., L., Bernard, R., G. 2002. Role of Pseudomonas putida Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System. Appl. Environ. Microbial. 3795:3801

Kenneth, C., O. 2017. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Bioprotectant bioinoculant for Sustainable Agrobiology. A Review Int. J. Adv. Res. Biol. Sci. 4(5): 123-142

Kruijt1, M., Tran1, H., Raaijmakers1, J., M. 2009. Functional, genetic and chemical characterization of biosurfactants produced by plant growth-promoting Pseudomonas putida 267 The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology 107: 546–556