

Epidemiología y control integrado de enfermedades bacterianas y fúngicas en frutales

Emilio Montesinos, Isidre Llorente, Concepció Moragrega, Anna Bonaterra, Jesús Francés, Esther Badosa, Jordi Cabrefiga, Lúdia Ruz, Isabel Mora, Laura Montesinos, Núria Daranas, Gerard Morales

Grupo de Patología Vegetal. Instituto de Tecnología Agroalimentaria-CIDSAV-XaRTA de la Universidad de Girona

emilio.montesinos@udg.edu

www.udg.edu/cidsav



Foto de grupo. El Grupo de Patología vegetal.

El grupo de Patología Vegetal de la Universidad de Girona constituye el Centro de Innovación y Desarrollo en Sanidad Vegetal (CIDSAV), integrado en la red TECNIO de transferencia de tecnología de la Generalitat de Cataluña. El embrión del grupo actual se creó en 1986, estudiando los daños por heladas tardías en la zona de producción de pera de Lleida y Girona, inducidos por bacterias nucleadoras de hielo como *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. La

actividad del CIDSAV actualmente consiste en dar respuesta a la necesidad creciente de una agricultura más respetuosa con el medioambiente, desarrollando herramientas y productos más ecológicos para el control de enfermedades de las plantas causadas por hongos y bacterias. El principal objetivo se centra en la minimización del uso de antimicrobianos convencionales (fungicidas y bactericidas) mediante el desarrollo de nuevos bioplaguicidas y biofertilizantes

microbianos, así como de sus metabolitos, y de péptidos funcionales (antimicrobianos y estimuladores de defensas en las plantas). Este objetivo se complementa con el desarrollo de modelos de predicción de riesgo de infección y su aplicación para el guiado del momento y lugar de aplicación de los tratamientos. El grupo trabaja en varios proyectos de investigación, asumiendo el liderazgo o colaborando, con financiación tanto pública a través de convocatorias competitivas, como privada mediante contratos con empresas y administraciones.

BIOPLAGUICIDAS Y BIOFERTILIZANTES MICROBIANOS

El grupo inició la línea de investigación y desarrollo en bacterias beneficiosas para las plantas hace 20 años, y actualmente investiga en la obtención, caracterización, mejora y producción de microorganismos para su utilización como bioplaguicidas o biofertilizantes. Ha realizado numerosos estudios de prospección en diversos ecosistemas y de caracterización de microorganismos que le han permitido confeccionar una extensa y variada colección de bacterias de los géneros *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc*, y *Streptomyces*. Numerosas cepas han sido seleccionadas por su capacidad de biocontrol de diversos hongos y bacterias fitopatógenos, o causantes de toxiinfecciones alimentarias a través de productos vegetales frescos, pero especialmente contra bacterias fitopatógenas de cuarentena. Varias cepas han sido objeto de diversas patentes de aplicación, algunas en explotación. Actualmen-

te el grupo concentra sus esfuerzos en cepas productoras de péptidos antimicrobianos o funcionales, implicados en los mecanismos de control biológico. Se han desarrollado métodos para la producción y formulación de dichas cepas, así como técnicas moleculares para la detección y cuantificación específica de éstas. Además, se han desarrollado métodos de mejora fisiológica mediante osmoadaptación y refuerzo nutricional, con el fin de incrementar su aptitud ecológica y en definitiva su eficacia en el control de enfermedades. Asimismo, el grupo realiza bajo contrato ensayos de control de enfermedades con agentes de biocontrol y productos de última generación (estimulación de defensas en plantas), tanto en condiciones controladas de invernadero como en campos experimentales. Actualmente dispone de un invernadero de bioseguridad con control total del clima y con las autorizaciones correspondientes para patógenos de cuarentena presentes en la UE y para OGMs.

PÉPTIDOS FUNCIONALES ANTIMICROBIANOS Y ESTIMULADORES DE DEFENSA

El grupo también trabaja desde hace 15 años en una línea de investigación focalizada en el desarrollo de péptidos antimicrobianos para el control de enfermedades de plantas. Ha acumulado una notable experiencia junto con el grupo LIPPSO de la Universidad de Girona que se dedica a química de péptidos, con el que forma una plataforma para el diseño-descubrimiento, mejora, análisis de la actividad biológica y optimización de procesos para su producción, tanto por síntesis química como biotecnológica. Actualmente se dispone de varios péptidos selectos, algunos con actividad bactericida frente a bacterias fitopatógenas o fungicida contra hongos fitopatógenos foliares y de post-cosecha, y otros que son estimuladores de mecanismos de defensa en las plantas. Varios péptidos han superado las pruebas toxicológicas preliminares y ensayos de concepto en diversos patosistemas en condiciones de invernadero, y en algunos casos en ensayos de control de enfermedades en campo (fuego bacteriano, mancha marrón del peral). En colaboración con centros de investigación nacionales y extranjeros, se han desarrollado métodos de producción de varios péptidos derivados de BP100 utilizando semillas de arroz transgénico como biofactoría. La producción biotecnológica permite reducir los costes del sistema de producción convencional que utiliza síntesis química en fase sólida. Varios péptidos han sido objeto de diversas patentes, algunas en explotación.

EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL DE ENFERMEDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS DE LOS FRUTALES

Tanto las cepas de bacterias constituyentes de bioplaguicidas microbianos, como los péptidos funcionales sintéticos o de origen natural (antimicrobianos o estimuladores de defensas) que el grupo ha desarrollado se implementan en estrategias de control integrado de enfermedades de



Figura 1. Huella dejada por una hoja de peral en la superficie del agar nutritivo en una placa de Petri. Se pueden observar las colonias de microorganismos que la colonizan.

los frutales. Las enfermedades en las que se ha trabajado en diversos proyectos han sido la necrosis de yemas de flor (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) y mancha marrón (*Stemphylium vesicarium*) del peral, el fuego bacteriano de los frutales de pepita (*Erwinia amylovora*), la bacteriosis del nogal (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*), la bacteriosis de los frutales de hueso (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) y la bacteriosis del kiwi (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*), entre las más destacables. Además, dentro de la línea de epidemiología y control, el grupo ha desarrollado y validado modelos empíricos de predicción de riesgo de infección para su implementación en Estaciones de Avisos Fitosanitarios. Concretamente se han construido modelos de predicción de riesgo para la mancha marrón del peral causada por el hongo *Stemphylium vesicarium* y para la bacteriosis del nogal causada por *X. arboricola* pv. *juglandis*. Dichos sistemas están siendo utilizados en la práctica en estrategias de manejo integrado de éstas enfermedades, en distintas zonas de la Península Ibérica y de países de Europa.

PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO

- Badosa E, Moiset M, Montesinos L, Talleda M, Bardají E, Felíu L, Planas M, Montesinos E.** (2013) Derivatives of the antimicrobial peptide BP100 for expression in plant systems. *PLoS ONE* 8: 1-12.
- Badosa E, Ferré R, Planas M, Felíu L, Besalú E, Cabrefiga J, Bardají E, Montesinos E.** (2007). A library of linear undecapeptides with bactericidal activity against phytopathogenic bacteria. *Peptides* 28: 2276- 85.
- Badosa E, Ferré R, Francés J, Bardají E, Felíu L, Planas M, Montesinos E.** (2009). Sporidial activity of synthetic antifungal undecapeptides and control of *Penicillium*-rot of apples. *Appl Environ Microbiol* 75: 5563-9.
- Bonaterra A, Badosa E, Rezzonico F, Duffy B, Montesinos E.** (2014) Phenotypic comparison of clinical and plant beneficial strains of *Pantoea agglomerans*. *Int Microbiol* 17: 81-90.
- Bonaterra A, Mari M, Casalini L, Montesinos E.** (2003). Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. *Int J Food Microbiol* 84: 93-104.
- Bundó M, Montesinos L, Izquierdo E, Campo S, Mieulet D, Guiderdoni E, Rossignol M, Badosa E, Montesinos E, San Segundo B, Coca M.** (2014) Production of cecropin A antimicrobial peptide in rice seed endosperm. *BMC Plant Biology*. 104.
- Cabrefiga J, Francés J, Montesinos E, Bonaterra A.** (2011) Improvement of fitness and efficacy of a fire blight biocontrol agent via nutritional enhancement combined with osmoadaptation. *Appl Environ Microbiol* 77: 3174-81.
- Cabrefiga J, Montesinos E.** (2005). Analysis of aggressiveness of *Erwinia amylovora* using disease-dose and time relationships. *Phytopathology* 95: 1430-7.
- Llorente I, Montesinos E.** (2006). Brown spot of pear. An emerging disease of economic importance in Europe. *Plant Disease* 90: 1368-75.
- Llorente I, Vilardell A, Vilardell P, Patteri E, Bugiani R, Rossi V, Montesinos E.** (2010). Control of brown spot of pear by reducing the overwintering inoculum through sanitation. *Eur J Plant Pathol* 128: 127-41.
- Montesinos E, Vilardell P.** (1991). Relationships among population levels of *Pseudomonas syringae*, amount of ice nuclei, and incidence of blast of dormant flower buds in commercial pear orchards in Catalunya, Spain. *Phytopathology* 81: 113-9.
- Montesinos E, Bonaterra A.** (1996). Dose-response models in biological control of plant pathogens. An empirical verification. *Phytopathology* 86: 464-72.
- Montesinos E.** (2007). Antimicrobial peptides and plant disease control. *FEMS Microbiol Lett* 270: 1-11.
- Montesinos E, Moragrega C, Llorente I, Vilardell P, Bonaterra A, Ponti I, Bugiani R, Cavanni P, Brunelli A.** (1995) Development and evaluation of an infection model for *Stemphylium vesicarium* on pear based on temperature and wetness duration. *Phytopathology* 85: 586-92.
- Mora I, Cabrefiga J, Montesinos E.** (2015) Cyclic lipopeptide biosynthetic genes and products, and inhibitory activity of plant-associated *Bacillus* against phytopathogenic bacteria. *PLoS ONE*, 10, e0127738.
- Moragrega C, Matias J, Aletà N, Montesinos E, Rovira M.** (2011). Apical necrosis and premature drop of Persian (English) walnut fruit caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. *Plant Disease* 95: 1565-70.
- Pujol M, Badosa E, Manceau C, Montesinos E.** (2006). Assessment of the environmental fate of the biological control agent of fire blight *Pseudomonas fluorescens* EPS62e on apple by culturable and real-time PCR methods. *Appl Environ Microbiol* 72: 2421-7.
- Puig M, Moragrega C, Ruz L, Montesinos E, Llorente I.** (2014). Post-infection activity of synthetic antimicrobial peptides against *Stemphylium vesicarium* in pear. *Phytopathology* 1024: 1192-200.
- Roselló, G, Bonaterra A, Francés J, Montesinos L, Badosa E, Montesinos E.** (2013). Biological control of fire blight of apple and pear with antagonistic *Lactobacillus plantarum*. *Eur J Plant Pathol* 137: 621-33.
- Trias R, Bañeras L, Badosa E, Montesinos E.** (2008). Bioprotection of Golden Delicious apples and Iceberg lettuce against foodborne bacterial pathogens by lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 123: 50-60.