



Cultivo de Pimiento cv. Lamuyo bajo invernadero en Murcia.

**Anna Botta,
Cándido Marín,
Elisabet Borda,
Núria Sierras**

Plant Health Division,
BIOIBERICA, S.A.U.

**Javier F. de la Mata,
Ángel Abarca Pascual**

Centro de Apoyo a
la Investigación en
Química. Universidad
de Alcalá (Madrid).

Bioestimulantes orgánicos: un enfoque a su caracterización y manejo dentro de una estrategia agrícola integrada, sostenible y competitiva

En el siguiente artículo se muestran los resultados de un estudio comparativo exhaustivo tanto de caracterización analítica como de eficacia agronómica de cuatro productos bioestimulantes a base de aminoácidos de diferentes fuentes de materia prima (origen animal y vegetal) y métodos de obtención (hidrólisis química o enzimática). En cuanto a la caracterización analítica, los resultados muestran un mayor grado de hidrólisis (mayor cantidad de aminoácidos libres) y un perfil aminoacídico más completo y equilibrado del bioestimulante Terra-Sorb® en comparación a otros productos de origen vegetal e hidrólisis química. El elevado grado de racemización de los bioestimulantes de origen vegetal también es indicativo de que en algún punto del proceso ha habido un tratamiento químico (hidrólisis ácida), mientras que el producto Terra-Sorb® (hidrólisis enzimática) es el único que mantiene una alta proporción de L- α -aminoácidos. Por otro lado, en la comparativa de la eficacia agronómica realizada bajo un modelo de ensayo en pimiento y estrés salino, se hace evidente cómo la calidad variable en función del origen y método de obtención condiciona la eficacia agronómica de los bioestimulantes basados en aminoácidos. El ensayo revela como el mayor rendimiento productivo del bioestimulante Terra-Sorb® en condiciones salinas es debido al contenido en aminoácidos libres del producto y no a un simple aporte de nitrógeno. Además, equiparando dosis de aplicación según el porcentaje de aminoácidos libres, se revela que otros compuestos bioactivos del producto Terra-Sorb® potenciarían esta mayor tolerancia al estrés observada en las plantas tratadas.

Producto	Según Etiqueta				Según Análisis			
	Origen	Método	Origen	Método	Origen	Método	Origen	Método
ASP	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
GLU	Vegetal	Hidrólisis química	Vegetal	Hidrólisis química	Vegetal	Hidrólisis química	Vegetal	Hidrólisis química
SER	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
HIS	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
GLY	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
ARG	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
ALA	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
TYR	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
VAL	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
MET	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
PRO	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química	Animal	Hidrólisis química
TOTAL								9,31g

Tabla 1. Productos y su catalogación en cuanto al origen de la proteína y el método de obtención (hidrólisis) según etiqueta comercial y resultado analítico.

Parámetro	Terra-Sorb	Prod1	Prod2	Prod3
Materia orgánica	13,31	24,6	55,7	27,7
N total	2	7,7	7,5	5,0
N orgánico	2	4,3	3,5	4,0
Cloruros (Cl)	0,06	1,4	0,3	0,06
Sulfatos (SO ₂)	2,1	0,75	6,3	5,5
AA libres	9,31	1,55	13,7	0,73
AA totales	11,22	24,2	18,9	28,9
Grado de hidrólisis	83	6,4	72,5	2,5
PM promedio (Da)	380	600	316	767

Tabla 2. Resumen de principales resultados analíticos de los cuatro productos bioestimulantes. Materia orgánica, nitrógeno total y orgánico, aniones (Cl, SO₂), aminoácidos totales y libres expresados en (%p/p), grado de hidrólisis (%AA libres/AA totales) y peso molecular promedio (Da).

En los últimos años, la presencia de bioestimulantes ha crecido notoriamente en el mercado agrícola, aunque su regulación sigue viéndose dificultada debido probablemente a la variabilidad de materias activas y mecanismos de acción. Tanto el origen de la materia prima como el método de obtención de los compuestos bioactivos son factores clave para determinar la calidad y eficacia de un producto bioestimulante. Por ejemplo, mientras que un proceso de hidrólisis enzimática conduce a una preservación de las formas biológicamente activas, la forma L de los aminoácidos, la hidrólisis química es inespecífica, produce racemización (conversión a forma D), y puede contener iones no deseables (sodio, sulfatos o cloruros). Ambos factores merman la calidad del bioestimulante e incluso pueden tener efectos deletéreos en el metabolismo vegetal (Sánchez-Hernández, 2013).

Material y métodos

Caracterización físico-química de los productos bioestimulantes

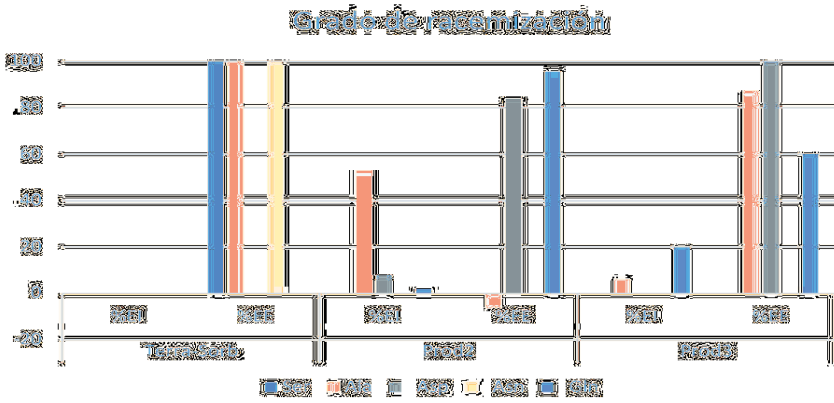
Para la caracterización de los bioestimulantes se ha procedido a seleccionar y analizar cuatro productos de diferentes orígenes (animal y/o vegetal) y métodos de obtención (hidrólisis química o enzimática). Sobre ellos se ha realizado en primer lugar un análisis físico-químico estándar para determinar, por ejemplo, aniones indicadores de hidrólisis química. Paralelamente, se determinó el perfil aminoacídico (aminograma) y la distribución de pesos moleculares de los bioestimulantes para conocer el grado de hidrólisis y el contenido y proporción de los diferentes aminoácidos. Se efectuó también un análisis PCR para

AA LIBRES	TERRA-SORB	PROD1	PROD2	PROD3
ASP	0,43	0,00	1,23	0,05
GLU	0,05	0,00	0,00	0,00
SER	0,34	0,00	0,00	0,14
HIS	0,00	0,00	0,00	0,00
GLY	1,89	0,60	0,06	0,02
ARG	0,37	0,00	0,00	0,10
ALA	0,00	0,00	1,30	0,00
TYR	0,15	0,00	0,00	0,00
VAL	0,07	0,00	0,00	0,00
MET	0,14	0,00	0,00	0,00
PRO	0,00	0,00	0,00	0,00
ILE	0,29	0,00	0,00	0,00
LEU	0,50	0,00	0,00	0,00
LYS	0,42	0,00	0,00	0,08
TRP	0,00	0,00	0,00	0,00
PRO	0,27	0,36	0,18	0,00
TOTAL	9,31	1,55	13,7	0,73

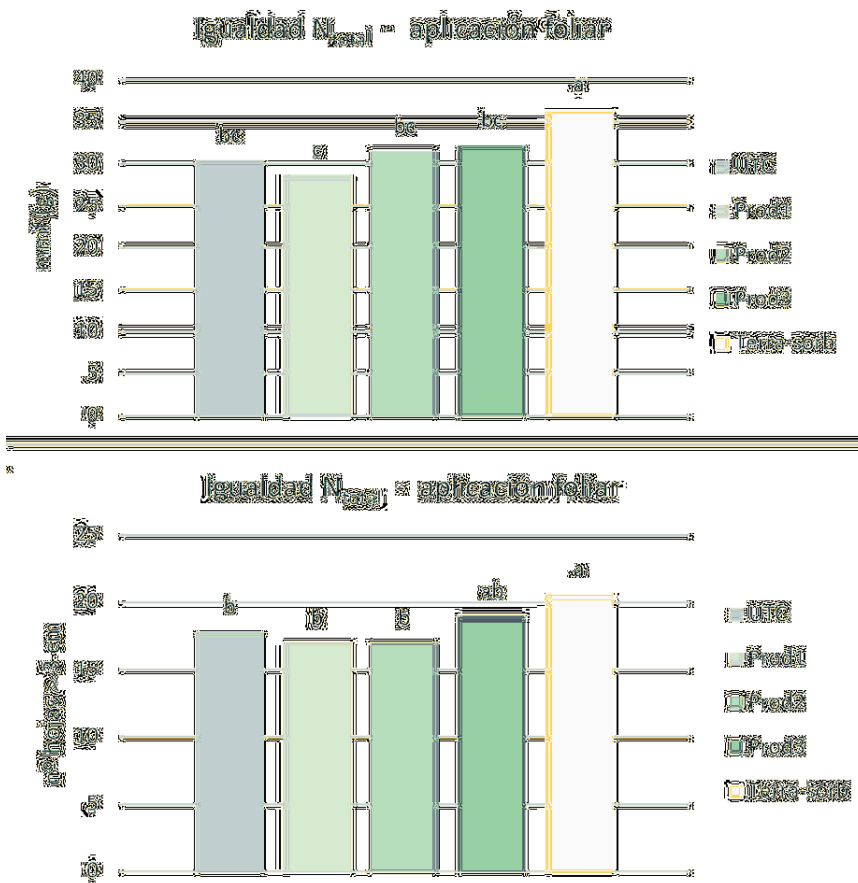
Tabla 3. Aminograma (% de cada aminoácido en peso/peso) de los cuatro bioestimulantes analizados.

Producto	PCR animal	PCR soja	PCR trigo	PCR maíz	PCR guisante
Prod1	+				
Prod2	-	+	-	-	
Prod3	-	-	-	-	-

Tabla 4. Resultados del análisis de PCR realizado para animal (Lahiff, 2001), soja, trigo, maíz y guisante en los bioestimulantes estudiados.



Gráfica 1. Porcentaje de pureza (%EE, Forma L) e impureza (%EI, Forma D) enantiomérica por algunos de los aminoácidos mayoritarios de los bioestimulantes evaluados. Siendo %EE: Enantiomeric Excess % = $[(AL-AD)/(AD + AL)] \times 100$ y %EI: Enantiomeric Impurity % = $[(AD)/(AD + AL)] \times 100$.



Gráfica 2 y 3. Masa fresca foliar en gramos (mmf) y número de hojas superiores a 3cm de longitud en los tratamientos por igualdad de nitrógeno total aportado por aplicación foliar. Test LSD ($\alpha=0,05$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.

determinar el origen animal y/o vegetal de la materia orgánica del producto. Por último, se realizó un análisis de enantiómeros de los aminoácidos mayoritarios de cada producto y cuyo método analítico estaba puesto a punto para poder discernir entre formas L y D, determinando el grado de racemización (pureza enantiomérica, Forma L). Los productos selecciona-

dos son referentes en el mercado y se muestran en la siguiente tabla (Tabla 1), así como su catalogación en función de los resultados del análisis.

Evaluación de la eficacia agronómica en condiciones de estrés

La calidad de un bioestimulante va a determinar la efectividad agronómica,

especialmente en condiciones de estrés vegetal donde la planta ve mermado su rendimiento productivo en beneficio de invertir los recursos en resistir y superar la condición de estrés. Para la evaluación de la respuesta agronómica de los cuatro productos analizados, se ha llevado a cabo un ensayo modelo en pimiento cv. Lamuyo en macetas de 3L de capacidad y bajo condiciones de estrés salino debido a la conductividad del agua de riego (6 S/cm). Se han probado las dosis de los diferentes bioestimulantes igualando el contenido de nitrógeno total e igualando el contenido en aminoácidos libres, con el objetivo de dilucidar si el efecto de los productos es por la acción del nitrógeno o por el contenido en aminoácidos libres. En total se han realizado tres tratamientos y un control. En el caso de igualar por contenido de nitrógeno, se han realizado dos tratamientos (foliar y radicular), mientras que en la dosificación por igualdad de contenido de aminoácidos libres el tratamiento ha sido sólo vía foliar. Las aplicaciones foliares se efectuaban semanalmente durante la duración del ensayo (ocho aplicaciones), mientras que vía riego se realizaron ocho aplicaciones de los quince riegos efectuados en total.

Resultados

Resultados analíticos

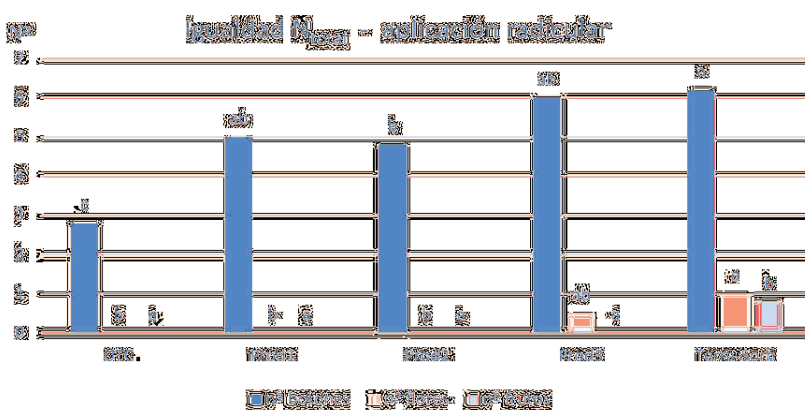
En un primer lugar, destaca el bajo contenido de aminoácidos libres, y muy diferente del contenido expresado en etiqueta, de aquellos bioestimulantes en los que se especifica que son de origen vegetal (Prod1, Prod2 y Prod3) (Tabla 2). Observamos también cómo el bioestimulante Terra-Sorb® contiene un alto contenido de aminoácidos libres (9,31% p/p), un elevado grado de hidrólisis (>80%) y un peso molecular promedio de sus compuestos peptídicos pequeño (380Da). Estos parámetros son indicativos del método de obtención por hidrólisis enzimática por el cual se obtienen los compuestos bioactivos del Terra-Sorb®, cuya mayor fracción es en base a L- α -aminoácidos. En el análisis de los principales parámetros estándares, observamos la variabilidad entre los diferentes productos y, en especial, la falta de veracidad de lo que se especifica en etiqueta (Tablas 1 y 2). Por

otro lado, destaca un contenido residual de sulfatos bastante alto de los bioestimulantes estándares vegetales (Prod2 y Prod3), lo que es indicativo de un tratamiento químico en el método de obtención (hidrólisis química con sulfúrico).

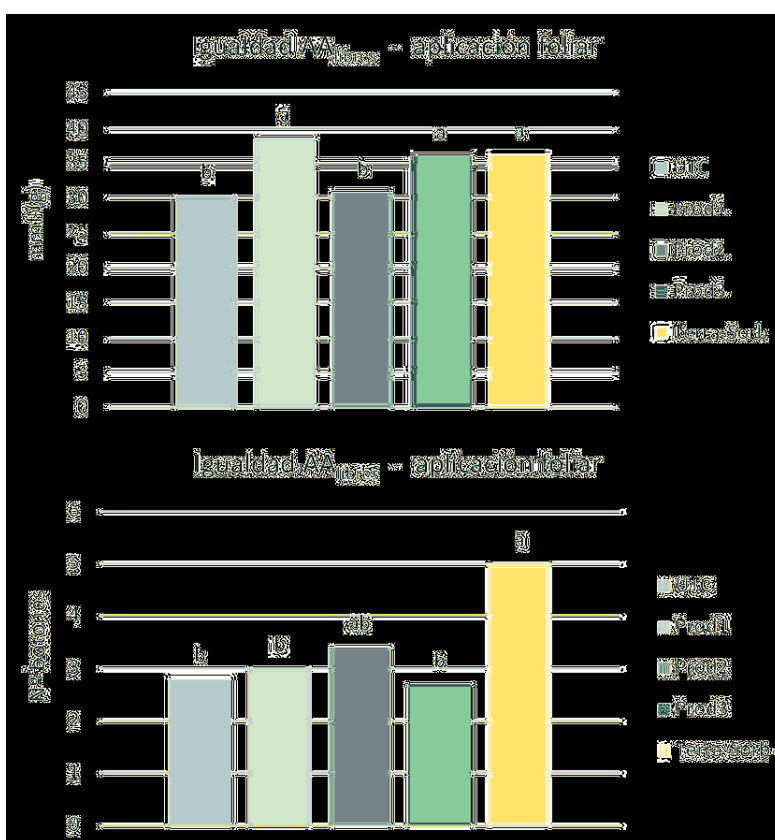
Además, si obtenemos el perfil aminoacídico de cada bioestimulante (Tabla 3), observamos que Terra-Sorb® presenta un perfil de aminoácidos balanceado, con presencia de cada uno de ellos, en comparación a los aminoagramas de los otros bioestimulantes, donde hay muchas carencias. Por otro lado, también se ve cómo el alto contenido en aminoácidos libres del Producto 2 es básicamente por un alto contenido de ácido glutámico (GLU: 10,62%), el cual indicaría que no proviene de la fuente de soja, sino que se ha añadido de síntesis a posteriori.

Si el DNA no está muy hidrolizado, la técnica de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) permite discernir entre el origen animal o vegetal de la materia prima del bioestimulante. En la Tabla 4 se resumen los resultados de detección del origen, el cual no siempre se ha podido determinar debido a la degradación del DNA en algún producto. Sin embargo, sí se ha podido determinar cómo uno de los estándares que se especificaba en etiqueta como vegetal contiene en realidad una fuente animal (Prod1), muy probablemente proveniente de colágeno por los contenidos de Hidroxiprolina (HYP) y Prolina (PRO) analizados (Tabla 3).

Por último, la determinación del grado de racemización mediante técnicas de cuantificación de la pureza e impureza enantiomérica de los aminoácidos (enantiómeros L y D) resulta un potente indicador sobre el proceso de obtención del bioestimulante en base a aminoácidos. Mientras que un proceso de hidrólisis enzimática conduce a una preservación de las formas biológicamente activas, (los L-aminoácidos), la hidrólisis química es inespecífica, tiende a dejar residuos no deseables (sodio, sulfatos o cloruros) y produce racemización (conversión a forma D). Por lo tanto, la presencia de D-aminoácidos en este tipo de bioestimulantes puede ser considerada como un indicador negativo de la calidad del bioestimulante (Sánchez-Hernández, 2013). Si observamos la Gráfica 1, por



Gráfica 4. Número de botones florales, número de flores y número de frutos en los tratamientos control (UTC) y en los diferentes bioestimulantes testados vía radicular. Test LSD ($\alpha=0,05$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.



Gráficas 5 y 6. Masa fresca foliar en gramos (mmf) y número de botones florales por los distintos tratamientos control y tipos de bioestimulantes foliares. Test LSD ($\alpha=0,05$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.

los aminoácidos mayoritarios analizados, el bioestimulante Terra-Sorb® es el único que tiene un 100% de pureza enantiomérica en todos los aminoácidos, lo que garantiza que el proceso de obtención (hidrólisis enzimática) es específico y respetuoso con la integridad de las moléculas de aminoácidos, evitando la racemización (cambio de forma L por D) y preservando la actividad biológica.

Resultados de eficacia agronómica

En la comparativa de eficacia agronómica bajo condiciones de estrés, los resultados muestran una fuerte afectación del rendimiento de las plantas por condiciones de estrés salino; aun así, la respuesta de las plantas es diferencial según el bioestimulante aplicado. Primeramente, en la comparativa por igualdad de nitrógeno total aplicado y aplicación foliar, las plantas tra-

tadas con Terra-Sorb® consiguen una significativa mayor biomasa vegetativa (masa fresca foliar y nº de hojas) que el resto de los tratamientos (Gráficas 2 y 3). La reducción de biomasa foliar resulta ser uno de los principales síntomas de afectación por estrés salino, en especial en variedades de pimiento sensibles como el Lamuyo.

En la aplicación radicular de los bioestimulantes (Gráfica 4), observamos cómo aquellas plantas tratadas con Terra-Sorb® consiguen entrar antes en la fase reproductiva, consiguiendo significativamente mayor número de botones florales, mayor número de flores y mayor número de frutos en comparación al resto de tratamientos y al control no tratado (UTC). Estos resultados son indicativos de que es el aporte de aminoácidos libres de calidad y rápidamente asimilables por la planta, y no la acción del nitrógeno

aportado, el que ayuda a mitigar la afectación por el estrés salino.

Por último, en la comparativa de tratamientos bioestimulantes foliares y equiparando por contenido en Aminoácidos libres se observa cómo, en general, a nivel de masa vegetativa, los bioestimulantes de origen animal dan una significativa mayor respuesta (Gráfica 5) y, en especial, el tratamiento con Terra-Sorb® obtiene significativamente mayor número de botones florales (Gráfica 6). En este caso, se pone de manifiesto cómo el aporte de aminoácidos libres de calidad (L- α -aminoácidos), junto a otros compuestos bioactivos procedentes de hidrólisis enzimática, representan una ventaja técnicamente competitiva en relación con otros procesos de obtención de bioestimulantes (hidrólisis químicas) y materias primas no seleccionadas

Conclusión

Tanto el estudio analítico como la comparativa de eficacia agronómica revela que la calidad biológica de las materias primas de los bioestimulantes orgánicos, así como el proceso de obtención de sus L- α -aminoácidos y otros compuestos bioactivos, es determinante para la optimización de la acción y manejo de este tipo de tratamientos. Terra-Sorb® es un bioestimulante de alta calidad y único en el mercado por la calidad de su materia prima y su exclusivo proceso de obtención, basado en hidrólisis enzimática. Las propiedades biológicas de sus compuestos bioactivos son una buena herramienta de gestión sostenible y complementaria en programas de fertilización y protección vegetal, puesto que su acción radica en hacer más tolerantes y resistentes a los cultivos frente situaciones de estrés.

Bioiberica

El poder de las enzimas, la fuerza de la tecnología

- Alta calidad de las materias primas.
- Exclusivo proceso de obtención.
- Propiedades biológicas contrastadas.
- Aumenta la tolerancia y resistencia frente al estrés.



www.planthealth.es

 enzyneer®