

Nuevas tecnologías en productos para la protección vegetal

Nuevas Tecnologías en Productos de Control Biológico para la Protección Vegetal

Carolina Fernández y José Manuel Lara (Departamento de I+D+i y Asuntos Reglamentarios, Futureco Bioscience S.A.).

INTRODUCCIÓN

La población mundial sobrepasó los 7 billones de habitantes en 2011, estimándose que alcanzará 9.2 billones en el 2050 (FAO, 2009). Este aumento augura una necesidad apremiante de aumentar la producción actual de los recursos agrícolas hasta un 70%. Uno de los graves problemas al que nos enfrentamos es que la tierra agrícola disponible es cada vez más limitada (y parte de ésta ya se está utilizando para otros fines, como son la producción de biodiésel o fibras en vez de alimentos).

Para aumentar la productividad de los cultivos se puede actuar por diferentes vías complementarias como son la mejora del manejo del agua y del suelo (Winterbottom *et al.*, 2013), la selección de las variedades de cultivo más productivas (Palemón-Alberto y col., 2011), mediante una fertilización más eficiente (Simpson *et al.*, 2011), mejorando la capacidad de los cultivos de sobrellevar los diferentes estreses abióticos (Seo y col., 2012) así como implementando el control de enfermedades y plagas (Lucas, 2012).

Respecto este último aspecto, de manera global se estima que un 35% de las cosechas potenciales se pierden debido a plagas y enfermedades (Oerke, 2005). Por otra parte, la disponibilidad para los agricultores de sustancias activas para protección vegetal ha disminuido en más de un 60% desde la implementación del sistema comunitario de evaluación. La mayoría de ellas han sido retiradas por el impacto negativo que tienen para el medio ambiente y el riesgo para las personas. Sí bien esta reducción contribuye a proteger el medio ambiente, la rapidez con que se ha reducido el número de insumos no ha sido la misma con las que han aparecido sustitutos adecuados. Los criterios de evaluación de las autoridades nacionales de los diferentes países miembros de la UE, la comisión europea y de la agencia europea de seguridad alimentaria (EFSA), son cada vez más restrictivos en la valoración de los potenciales efectos adversos de las nuevas sustancias propuestas para uso en agricultura. Esta rigidez no es exclusiva de Europa sino que se extiende a nivel global. En este contexto, aquellas moléculas provenientes de fuentes naturales (como los ingredientes activos de biopesticidas microbianos y las sustancias botánicas de Biocontrol) tienen mayores oportunidades de ser aprobadas como nuevas herramientas fitosanitarias.

En los últimos años, se han publicado diversos estudios que intentan establecer el tamaño del mercado de los productos para Control Biológico. Los resultados son variables, probablemente porque no todos usan los mismos criterios. Por ejemplo, la categoría "biopesticidas" puede incluir subcategorías como biopesticidas microbianos, botánicos, bioquímicos, reguladores del crecimiento de insectos, insectos benéficos, aceites esenciales, feromonas, y minerales con lo que no toda la investigación utiliza los mismos parámetros para definir el mercado. Del mismo modo, no siempre se tienen en cuenta todos los sectores a los que van dirigidos: cultivos de alimentos, céspedes, ornamentales, forrajes y pastos, salud pública y el sector forestal. A pesar de estas diferencias, en general se confirma que habrá un crecimiento del orden del 10-15% anual (McDougall, 2010; Piper Jaffray, 2013; Poppet y col., 2013). En el 2010, los productos biopesticidas presentaban una cuota



Los Biopesticidas están formulados a partir de microorganismos antagonistas de plagas o enfermedades (bacterias, virus, hongos...) o bien sustancias naturales (extractos botánicos).

de mercado del 2% del mercado de productos para la protección vegetal (McDougall, 2010). Dos años más tarde (2012) doblaban su cuota al 4%, previéndose que en el año 2017 éstos representarán aproximadamente un 8% del mercado de productos fitosanitarios (Pipper Jaffray, 2013). Estas cifras son consecuencia de la fuerte demanda de los agricultores por este tipo de productos, que hace que cada día sean más las empresas que hacen del Biocontrol su base de negocio y que grandes multinacionales como BAYER, BASF, SYNGENTA, MONSANTO, ... hasta ahora del sector de la industria química, apuesten por incluir en sus carteras productos biopesticidas, en su mayoría, adquiridos mediante la compra o acuerdos con empresas del sector del Biocontrol.

A pesar del reciente auge de los productos biopesticidas, podríamos afirmar que el control Biológico existe de manera natural desde "siempre". De hecho, se han encontrado documentos datados entre el s VII y V AC, donde se describe el uso de extractos botánicos para el control de plagas. A principios del siglo XX, una bacteria entomopatógena fue aislada de un gusano de seda por el biólogo japonés Shigetane Ishiwata. Pero fue Ernst Berliner (Turingia, Alemania) quien lo redescubrió diez años más tarde (1911) en una oruga de la polilla de la harina, reclasificándola como *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). A principios de los años 1920, los franceses comenzaron a utilizar *Bt* como un insecticida biológico. El primer

producto de *Bt* disponible comercialmente, apareció en Francia en 1938 bajo la marca SPOREINE. En los años 50, se empezaron a usar en los USA de manera generalizada. De todos modos, los recursos y esfuerzo dedicado a la I+D para el desarrollo de productos biopesticidas microbianos no fue demasiado intenso debido a que existía un uso generalizado de insecticidas químicos sintéticos más económicos y en aquellos momentos no cuestionados. Aún así, en 1956, la empresa PACIFIC YEAST PRODUCT desarrolló un proceso industrial conocido como "fermentación submergida" lo que permitió la producción de *Bt* a gran escala. Entre los 70 y 80 se desarrollan nuevas formulaciones, principalmente en los EEUU, China, URSS, Brasil y Europa. En este período, se descubren nuevas variedades de *Bt* (var. israeliensis y var. tenrebonis) con dianas específicas.

El desarrollo de biopesticidas microbianos para el control de enfermedades de las plantas, ha sufrido una evolución similar a los bioinsecticidas. Durante el siglo XX, avances en microbiología del suelo y ecología permitieron la identificación de muchos microorganismos antagonistas o hiperparásitos de patógenos, aunque de nuevo, pocos se desarrollaron a nivel comercial debido a la rápida adopción de los pesticidas químicos (1940-1960). Quizás destacar como éxito comercial en la década de los 1980 y 1990 un producto (NOGALL®) a base de la bacteria *Agrobacterium radiobacter*, para la prevención de la agalla de la corona en cultivos leñosos.

Entre los factores claves para este crecimiento destacar:

- En el caso de Europa, la adopción de un nuevo reglamento más restrictivo para la comercialización de productos fitosanitarios en general.
- Una mayor inversión en I+D por parte de las empresas del sector del Biocontrol, multinacionales y centros de investigación y universidades.
- Una mayor gestión de las explotaciones agrícolas según los conceptos de manejo Integrado de Plagas (MIP) y Manejo Integrado de Cultivos (MIC).
- Un aumento sustancial de la superficie cultivada con productos orgánicos.
- Incorporación en la Industria del Biocontrol de los nuevos avances tecnológicos en el desarrollo de nuevos biopesticidas tanto en la etapa de investigación inicial, como en la etapa de diseño de la Formulación o bien cuando se diseña la metodología y modo de aplicación.

Mejora tecnológica en investigación – Screening de aislados

En la última década ha aumentado sustancialmente el número de nuevos aislados microbianos identificados como antagonistas o entomopatógenos, en parte debido a una mejora en la calidad de los muestreos de campo ejecutados en áreas específicas así como a una mejora en las técnicas de aislamiento, que permiten identificar aquellas cepas microbianas que presentan unas características determinadas.

El método de selección de los mejores aislados es crítico, pues de él parte todo el desarrollo del futuro producto comercial. Durante años, los investigadores seleccionaban las mejores cepas a partir de miles de cientos de ensayos en condiciones *in vitro* donde sólo intervenía el microorganismo en cuestión y un patógeno, y cuyos resultados no siempre se trasladaban a las condiciones de campo. Así pues, los *screenings* de selección de cepas, se empezaron a practicar a partir de diferentes patosistemas específicos donde interactuaban, de manera controlada, un Agente de Control Biológico (ACB), un patógeno y un cultivo. Esta técnica es más lenta y costosa, pero los resultados obtenidos se corresponden mucho más con las condiciones reales de campo.

En los próximos años, entraran en juego otras técnicas en auge como la

"Metabolómica", una de las "ómicas" de la recientemente desarrollada "Genómica Funcional", que permitirá analizar de manera sistemática el comportamiento celular y molecular de los aislados microbianos, lo que la convierte en una emergente herramienta para seleccionar, por ejemplo, metabolitos procedentes de muestras biológicas de aplicación en agricultura (Baker, 2011).

Mejora tecnológica en el desarrollo de nuevas formulaciones

Los Biopesticidas están formulados a partir de microorganismos antagonistas de plagas o enfermedades (bacterias, virus, hongos...) o bien sustancias naturales (extractos botánicos). Las primeras formulaciones de estos productos se inspiraron en las de sustancias sintéticas y dieron como resultados casos de fitotoxicidad, muy baja estabilidad y deficiente eficacia. Cuando el enfoque se cambió de copiar los químicos a examinar la función de los agentes de control biológico en la naturaleza, con el fin de mejorar su funcionamiento natural a través de la producción industrial de sus unidades infectivas, se lograron mejores resultados. Así, en los últimos años, las formulaciones de biopesticidas han mejorado sustancialmente reduciendo su coste de producción, aumentando su estabilidad, y mejorando su actividad cuando son expuestas a situaciones edafo-climáticas desfavorables. Esto se traduce en un aumento de la eficacia y en una mejora en la consistencia de los resultados obtenidos.

La clave para la producción comercial de biopesticidas es la eficiencia económica. El objetivo es producir la mayor cantidad posible de unidades infectivas sobre la mínima masa de sustrato o volumen de cultivo líquido. El desafío es convertir después estas unidades infectivas (conidias, endoesporas, células vegetativas, cuerpos de inclusión, esclerocios, etc) en un producto que el agricultor pueda utilizar fácilmente. Los tipos de formulación adecuados para biopesticidas sólidos o líquidos comprenden Polvos Mojables (WP), Dispersión Oleosa (OD), Gránulos Encapsulados (CG), Cápsulas en Suspensión (CS), Concentrados o Gránulos Emulsionables (EC/EG), Gránulos (GR), Microgránulos (MG), Microemulsiones (ME) ó Gránulos Dispersables en agua (WG). Hasta la fecha los tipos de formulación más populares entre los biopesticidas han sido polvos mojables WP (NOFLY®, BASSI®, SERENADE®, ROTSTOP®, ACTINOVATE®), las suspensiones concentradas (BOTANIGARD®, NATURALIS®), gránulos dispersables WG (AQ10®, BLOSSOM PROTECT®, CONTANS®, TUSAL®) e incluso tabletas (ROTSTOP®).

El principal reto en este tipo de formulaciones es conseguir un tiempo de estabilidad en almacén suficientemente largo para facilitar su comercialización y asegurar la eficacia en campo. La base para conseguir esto es evitar la germinación prematura de las unidades infectivas. Esto se consigue rompiendo alguno de los lados del "triángulo de germinación" cuyos vértices son oxígeno, sustrato (se estima que 6nM de glucosa es lo que necesita una espora para germinar) y la actividad de agua (a_w debe ser inferior a 0.94). La cantidad de nutrientes disponibles en el ingrediente activo grado técnico (IAGT), es difícil de eliminar ya que es imposible una separación completa del sustrato de cultivo. Más factible es reducir la cantidad de agua disponible para el microorganismo en el caso de blastosporas (las conidias son poco tolerantes a la deshidratación), aunque hay que valorar hasta qué punto, pues depende de la especie e incluso de la cepa, ésta pueda verse posteriormente dañada. Finalmente, podemos tomar medidas para excluir parte del oxígeno disponible, aunque de nuevo puede ser arriesgado. De todos modos existen antecedentes que demuestran la capacidad de mejorar la estabilidad de conidias de *M. anisopliae* y *B. bassiana* en formulaciones donde el O₂ representaba menos del 5% y se sustituía por N₂ o CO₂ (Jin y col., 1999).

El creciente interés por el desarrollo de estos productos ha propiciado la aplicación en sus formulaciones de nuevas tecnologías de la industria farmacéutica o la agroquímica tradicional. Los productos disponibles en los próximos años consistirán de formulaciones de liberación lenta que optimicen el efecto biopesticida, especialmente en aquellos productos dirigidos al suelo, mientras que con la ayuda de nuevas tecnologías se espera extender su aplicación a ambientes con condiciones climáticas extremas en los que actualmente no resulta técnicamente viable su uso. Sin embargo, es la aplicación en el recubrimiento de semillas la tecnología que más resultados concretos está generando, ya que además de la acción bio-controladora aporta en muchos casos beneficios nutricionales, como promotores de crecimiento.

Mejora tecnológica en el modo y momento de la aplicación

Una buena formulación precisa de un buen manejo de aplicación. Con el uso de las nuevas tecnologías basadas en el ADN, aumentarán la velocidad, la sensibilidad y la precisión en la detección y diagnóstico de plagas y patógenos.

Incluso la secuenciación rápida de ácidos nucleicos a partir de plantas infectadas permitirá identificar nuevos agentes patógenos. Los biomarcadores asociados a enfermedades o daños de los cultivos, se podrán usar para detectar la aparición de plagas, mientras que biosensores acoplados a redes de información proporcionarán supervisión en tiempo real del estado de los cultivos pudiendo incluso advertir de los problemas emergentes y nuevas especies invasoras (Lucas, 2012). Esta implementación tecnológica en los métodos de detección-diagnóstico-sistema de alertas – permitirá aplicar tanto los productos biopesticidas como los químicos convencionales, en el momento óptimo y a la dosis adecuada obteniéndose una mayor eficacia.

Conclusión

Durante la última década, el rápido desarrollo de nuevas técnicas en biología molecular, bioquímica, biotecnología, fitopatología y fisiología, han permitido una mejora sustancial en el desarrollo de productos biopesticidas microbianos, generando una mayor oferta de productos y sobre todo, productos de mayor calidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Baker, M. (2011). Metabolomics: from small molecules to big ideas. *Nature Methods*, 8, 117-121
- FAO (2009) Feeding the world in 2050. World Agriculture Summit on food security 16-18 November 2009. *Food and Agriculture of the United*, Rome.
- Lucas, J.A. (2011). Advances in plant disease and pest management. *The Journal of Agricultural Science*, 149: 91-114.
- McDougall P. (2010) AgriService, Industry Overview: 2009 Market, Vineyard Business Centre Saughland Pathhead Midlothian EH37 5XP
- Oerke, E.C. (2005). Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* 144: 31-43
- Palemón Alberto, F.; Gómez Montiel N.O.; Castillo González, F.; Ramírez Vallejo P.; Molina Galán, D.; Miranda Colín, S. (2011). Cruzas intervarietales de maíz para la región semicálida de Guerrero, Méxic. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol 2, N° 5: 745-757.
- Piper Jaffray Company. (2013) Biological Crop Chemistry: green shoots though green products. *Industry Note*. 1-57pp.
- Popp, J.; Pato, K.; Nagy, J. (2013). Pesticide productivity and food security. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 33: 243-255.
- Simpson, R.J.; Oberson, A.; Culvenor R.A.; Ryan M.H.; Veneklaas, E.J.; Lambers, H.; Lynch, J.P.; Ryan, P.R.; Delhaize, E. (2011.) Strategies and agronomic interventions to improve the phosphorus-use efficiency of farming systems. *Plant and Soil*, 349: 89-120
- Seo, P.J.; Jung, J.H.; Park, C.M. (2012) Transcription Factors: Improving Abiotic Stress Tolerance in Plants, *in Improving Crop Resistance to Abiotic Stress*, Eds N. Tuteja, S. S. Gill, A. F. Tiburcio & R. Tuteja.
- Winterbottom R., Reij, C., Garrity, D., Glover J., Hellums, D., McGahuey, M., Scherr, S. (2013). Improving land and water management. Working paper: Installement 4 of "Creating a Sustainable Food Future". *World Resources Institute*, 1-44.