

PORTENTO®: biofungicida microbiano en base a *Bacillus subtilis* altamente eficaz frente a un amplio espectro de enfermedades

Las enfermedades fúngicas suponen importantes pérdidas en los sistemas agrícolas de todo el mundo. El control de estas enfermedades constituye un gran reto a la hora de satisfacer las demandas en cantidad y calidad de alimentos de la población global (Strange y Scott, 2005). Actualmente, los productores siguen confiando en gran medida el tratamiento de estas enfermedades a plaguicidas químicos. No obstante, a pesar de las altas eficacias obtenidas con este tipo de productos, su utilización masiva también puede conducir a problemas de contaminación ambiental, presencia de residuos en los alimentos, problemas de aparición de resistencias, etc. De este modo, el control biológico a través del uso de microorganismos antagonistas está emergiendo como una alternativa prometedora que ayude a reducir el uso abusivo de plaguicidas químicos (Cawoy y col., 2011). Estos bioplaguicidas presentan multitud de ventajas en materia de sostenibilidad, mecanismos de acción y toxicidad frente a sus homólogos químicos, resultando muy exitoso su uso tanto en manejos orgánicos, como en manejos de control integrado (IPM) (Jacobsen y col., 2004). En esta línea surge Portento®, biofungicida en base a la cepa bacteriana *Bacillus subtilis* IAB/BS03 con alta eficacia frente a un amplio espectro de enfermedades. La cepa *B. subtilis* IAB/BS03 es una cepa bacteriana patentada para su uso como agente de control biológico frente a un amplio espectro de enfermedades (Hinarejos y col., 2014). La cepa es producto de una profunda investigación en la que *B. subtilis* IAB/BS03 fue aislada de suelo agrícola y seleccionada en base a sus características fenotípicas y sus destacados atributos como agente de biocontrol. De hecho, son estos atributos los que la diferencian de otras cepas de *Bacillus* presentes en el mercado, haciendo de Portento® un producto de biocontrol único y altamente eficaz.

Departamento de
innovación Grupo
Agrotecnología e Idai
Nature

Características fenotípicas de *Bacillus subtilis* IAB/BS03

Entre las características fenotípicas de *B. subtilis* IAB/BS03 destacan su capacidad de crecer a temperaturas muy variables entre 4-35°C; soportar amplios rangos de pH (3-9) y salinidad (7-15% NaCl), así como crecer ante condiciones de sequía (-0.30MPa). Adicionalmente, *B. subtilis* IAB/BS03 es capaz de formar esporas ante condiciones extremas de temperatura y deficiencias nutricionales. Así, todas estas características aseguran la viabilidad microbiana de Portento® ante multitud de condiciones climáticas, además de no requerir de condiciones especiales de almacenamiento.

Por otro lado, se ha comprobado la compatibilidad de esta cepa con multitud de productos químicos empleados comúnmente en protección vegetal, sobre todo aquellos en base a cobre. Esto proporciona una gran versatilidad al uso de Portento®, pudiéndose combinar con otros tratamientos químicos y ayudar así a reducir el uso e impacto ambiental que conllevan este tipo de tratamientos.

Bacillus subtilis IAB/BS03 como agente de biocontrol: mecanismo de acción

Los principales mecanismos de acción seguidos por la mayoría de agentes de biocontrol pertenecientes al género *Bacillus* son los siguientes: competición por nicho ecológico/sustrato, producción de metabolitos antimicrobianos e inducción de resistencia sistémica en la planta

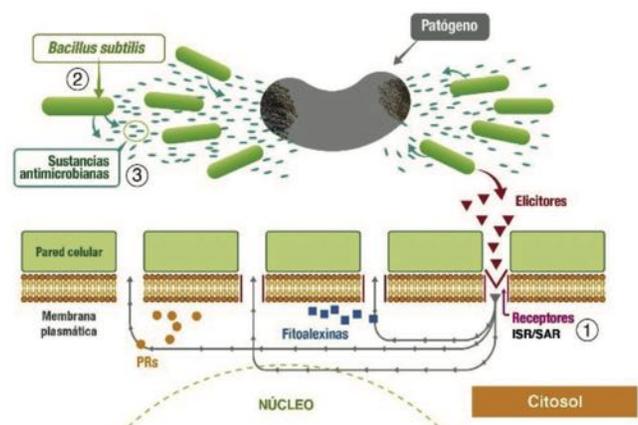


Figura 1. Esquema resumen del mecanismo de acción de Portento® frente a hongos fitopatógenos.

(Cawoy y col., 2011). De acuerdo con esto, *B. subtilis* IAB/BS03 destaca en todas las estrategias de biocontrol propias de su especie (Figura 1).

De forma más específica, los miembros de la especie *B. subtilis* son capaces de producir lipopéptidos cíclicos (CLPs). Estas moléculas son sintetizadas por sintetasa de péptidos no ribosomales o por sintetasa híbridas (poliquétido sintetasa-sintetasa de péptido no ribosomal), que dan lugar a distintas familias de CLPs formados por distintos péptidos ciclados unidos a una cadena de ácidos grasos de tamaño y ramificación diversa según el tipo

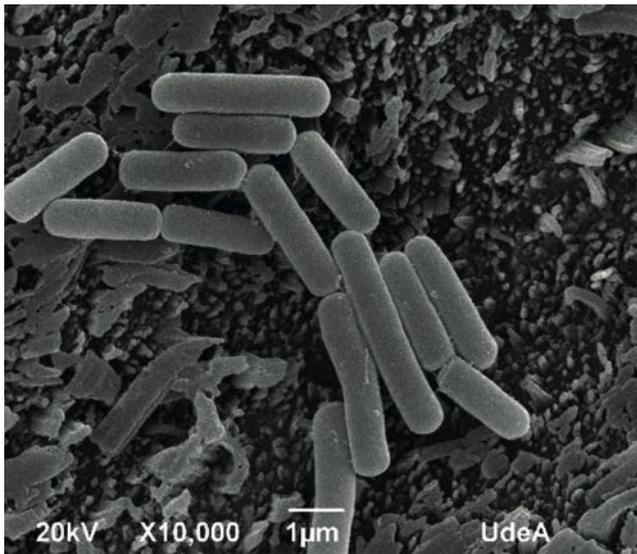


Figura 2. Imagen de microscopía electrónica de barrido que capta la colonización de la filosfera por *B. subtilis* IAB/BS03.

de CLP (Ongena y col., 2010). Dentro de las familias de CLPs más importantes destacan las iturinas, surfactinas y fengicinas. Los CLPs confieren a *B. subtilis* muchas de sus propiedades como agente de biocontrol. Así, éstos actúan a nivel de la membrana plasmática de los hongos fitopatógenos, desestabilizándola y produciendo perturbaciones que llevan a la formación de poros, pérdida de contenido celular, y muerte del patógeno. Los CLPs están también implicados en la movilidad de la bacteria, y por tanto, en el proceso de colonización de la planta. Adicionalmente, estas moléculas son capaces de inducir los sistemas de defensa en las plantas.

En el caso de *B. subtilis* IAB/BS03 se ha comprobado que esta cepa tiene unas capacidades extraordinarias para la producción de CLPs, produciendo iturinas, fengicinas y surfactinas en unas proporciones únicas que la diferencian de otras cepas presentes en el mercado. En concreto, *B. subtilis* IAB/BS03 es capaz de producir grandes cantidades de surfactinas. De este modo, esta habilidad para producir CLPs constituye uno de los principales mecanismos de acción directos de *B. subtilis* IAB/BS03.

En cuanto a los mecanismos de acción indirectos, *B. subtilis* IAB/BS03 es capaz de competir eficazmente por los recursos y el espacio contra los patógenos, además de tener grandes habilidades como colonizador de la filosfera (Figura 2). Adicionalmente, se ha estudiado la capacidad de *B. subtilis* IAB/BS03 para inducir las defensas de la planta, en concreto, se ha detectado que esta cepa es capaz de inducir la producción en plantas de la proteína relacionada con la patogénesis PR1 (Hinarejos y col., 2016). Esta proteína es una de las proteínas producidas en mayor cantidad cuando se activan las respuestas de defensa de las plantas. Así, éstas son excretadas por la célula al apoplasto o almacenadas en el interior de las vacuolas celulares. PR1 tiene una marcada actividad antimicrobiana, sobre todo frente a hongos *Oomycetes*, y su inducción ayuda a proteger a la planta frente a este tipo de infecciones (Breen y col., 2017).

Todas estas habilidades como agente de control biológico demostradas para *B. subtilis* IAB/BS03 hacen de Por-

Tabla 1. Tesis, momento de aplicación y dosis.

Tratamiento	Dosis	Código de aplicación	Intervalo de aplicación	Volumen de aplicación
Testigo	-	ABCDE	7 días	1000-1200 l/ha
Portento®	10 g/hl			
Portento®	50 g/hl			
Portento®	100 g/hl			
Azoxystrobin 25%	80 ml/l			

Tabla 2. Tesis, momento de aplicación y dosis.

Tratamiento	Dosis	Código de aplicación	Intervalo de aplicación	Volumen de aplicación
Testigo	-	ABCDE	7 días	1000 l/ha
Portento®	10 g/hl			
Portento®	50 g/hl			
Portento®	100 g/hl			
fenamidone 4.44% + fosetyl-Al 66.7%	2,25 kg/ha			

Tabla 3. Tesis, momento de aplicación y dosis.

Tratamiento	Dosis	Código de aplicación	Intervalo de aplicación	Volumen de aplicación
Testigo	-	ABC-DEFGH	10 días	1000 l/ha
Portento®	10 g/hl			
Portento®	50 g/hl			
Portento®	100 g/hl			
Thiram 80%	250 g/hl			

tento® un producto altamente eficaz frente a multitud de enfermedades. En el presente trabajo se estudia la eficacia en campo de este producto frente a tres hongos fitopatógenos, (*E. Cichoracearum*, *Venturia inaequalis* y *Bremia lactucae*) cuando infectan cultivos de calabacín, manzano y lechuga, respectivamente.

Materiales y métodos

Portento® contra oídio en calabacín

Este ensayo se llevó a cabo en el municipio de Los Palacios y Villafranca (Sevilla) en calabacín en invernadero de

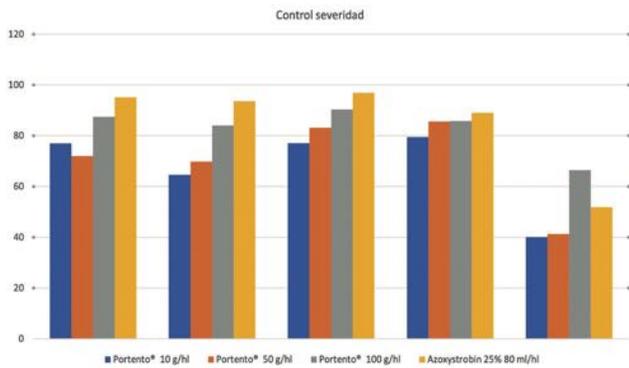


Gráfico 1. Eficacia Abbot calculada a partir de los valores de severidad.

la variedad 'Jedida', con un diseño experimental de bloques al azar, con cinco tesis y cuatro repeticiones y una superficie de 9,24 m² por bloque. Las tesis evaluadas se muestran en la Tabla 1.

Portento® contra mildiu en lechuga

Este ensayo se llevó a cabo en la provincia de *Thessaloniki*, (Macedonia Central, Grecia) en lechuga al aire libre de la variedad 'Manchester', con un diseño experimental de bloques al azar, con cinco tesis y cuatro repeticiones y una superficie de 15 m² por bloque. Las tesis evaluadas se muestran en la Tabla 2.

Portento® contra venturia en manzana

Este ensayo se llevó a cabo en la provincia de Imathia, (Macedonia Central, Grecia) en manzana variedad 'Granny Smith', con un diseño experimental de bloques al azar, con cinco tesis y cuatro repeticiones y una superficie de 30,40m² por bloque. Las tesis evaluadas se muestran en la Tabla 3.

Resultados

Portento® contra oídio en calabacín

Portento® (100 g/hl) muestra la misma eficacia que la materia activa de referencia (Azoxystrobin 25%) contra oídio (*E. Cichoracearum*) en calabacín en invernadero, tal como muestra el Gráfico 1, no encontrándose diferencias significativas entre ambos tratamientos.

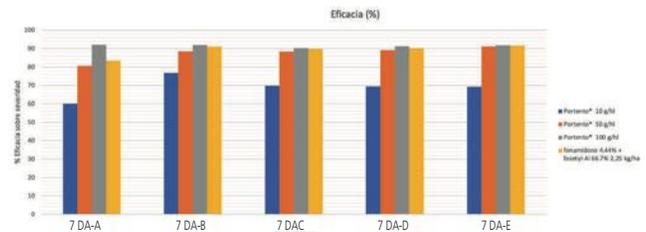


Gráfico 2. Eficacia Abbot calculada a partir de los valores de severidad.

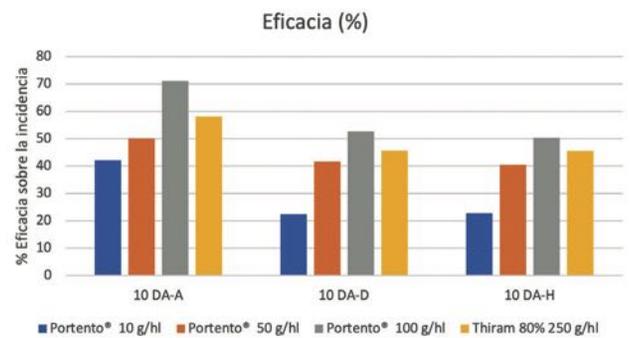


Gráfico 3. Eficacia Abbot calculada a partir de los valores de incidencia.

Portento® contra mildiu en lechuga

Portento® (100 g/hl) muestra la misma eficacia que las materias activas de referencia (fenamidone 4.44% + fosetyl-Al 66.7%) contra mildiu (*Bremia lactucae*) en lechuga, tal como muestra el Gráfico 2, no encontrándose diferencias significativas entre ambos tratamientos.

Portento® contra venturia en manzana

Portento® (100 g/hl) muestra la misma eficacia que la materia activa de referencia (Thiram 80%) contra venturia en manzano, tal como muestra el Gráfico 3, no encontrándose diferencias significativas entre ambos tratamientos.

Conclusiones

Portento® es una herramienta biológica eficaz para el control de *E. Cichoracearum*, *Venturia inaequalis* y *Bremia lactucae*, que se puede introducir en programas de tratamientos fitosanitarios con el objetivo de reducir la aparición de resistencias y disminuir los límites máximos de residuos (LMR) en los cultivos.

Bibliografía

- Breen S, Williams SJ, Outram M, Kobe B, Solomon PS (2017) Emerging Insights into the Functions of Pathogenesis Related Protein 1. *Trends in plant Science*, 22:871-879.
- Cawoy H, Wagner B, Fickers P, Ongena M (2011). *Bacillus*-Based Biological Control of Plant Diseases, Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management, Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-459-7.
- Jacobsen BJ, Zidack NK, Larson BJ (2004) The role of *Bacillus*-based biological control agents in integrated pest management systems: plant diseases. *Phytopathology*, 94: 1972-1975.
- Hinarejos, E, Del Val R, Tarancón N, Riquelme E (2014) Nueva cepa de *Bacillus subtilis* destinada a luchar contra las enfermedades de las plantas. *España*, ES2402726B1.
- Hinarejos E, Castello M, Rodrigo I, Bellés JM, Conejero V, López-Gresa MP, Lisón P (2016) *Bacillus subtilis* IAB/BS03 as a potential biological control agent. *European Journal of Plant Pathology*, 146: 598-608.
- Ongena M, Henry G, Thonart P (2010) The Roles of Cyclic Lipopeptides in the Biocontrol Activity of *Bacillus subtilis*. In: Gisi U., Chet I., Gullino M. (eds) Recent Developments in Management of Plant Diseases. Plant Pathology in the 21st Century (Contributions to the 9th International Congress), vol 1. Springer, Dordrecht.
- Strange RN, Scott PR (2005). Plant disease: A threat to global food security. *Annual Review of Phytopathology*, 43:83-116.