

Controladores biológicos de enfermedades en Chile: todos conocen sus beneficios, pero pocos los emplean.

Daniel Torres

Ingeniero Agrónomo mención en Fruticultura

Colaborador de **Universidad de Las Américas** en el área de sustentabilidad

Chile país ha escogido el camino de las exportaciones para el desarrollo de su economía. En este sentido el sector agrícola ha jugado un rol protagónico, desarrollando un gran avance tecnológico en los últimos 30 años, particularmente la fruticultura. Actualmente el mercado receptor de nuestra fruta demanda productos de alta calidad y valor nutritivo, que a su vez sean inocuos y amigables con el medio ambiente. Bajo este contexto, los Controladores Biológicos de Enfermedades (CBE) son una eficiente alternativa para disminuir el uso de pesticidas químicos, que en el largo plazo pueden causar daño a la salud de humanos, animales, insectos y microorganismos benéficos, además de generar resistencias en los patógenos que pretenden controlar. Según la empresa Dunham Trimmer, especialistas en estudios de mercado de biocontroladores y bioestimulantes, en el año 2013 se comercializaron en el mundo US\$ 1.930 MM de biopesticidas, de los cuales el 49% correspondió a bioinsecticidas (fundamentalmente *Bacillus thuringiensis*) y sólo el 42% a biofungicidas. Si lo comparamos con los casi US\$ 55.000 MM de pesticidas químicos tradicionales comercializados ese mismo año, pareciera que las demandas de los consumidores contrastan bastante con la realidad de la industria. Algo similar sucede en Chile. Si bien no existen datos oficiales, se estima que ni siquiera el 1% de los productos comercializados en el año 2008 fueron biofungicidas (Donoso, 2013). Entonces, si los CBE son reconocidas alternativas para disminuir la incidencia de enfermedades y la carga de residuos en la fruta de exportación, por qué no tienen una mayor participación en el mercado nacional?

¿Qué son los CBE?

Una definición clásica de control biológico sería la reducción de la población de un patógeno debido al aumento artificial de un enemigo natural, producto de la acción del hombre. En la actualidad se considera un CBE a un microorganismo que es capaz de reducir la población y/o

aminorar el daño ocasionado por un patógeno en un determinado cultivo, ya sea por la intervención directa sobre el patógeno o debido a la inducción de mecanismos de defensa en la planta. Existen diversos microorganismos con capacidad biocontroladora, no obstante en este artículo sólo abordaremos dos de los más conocidos y utilizados en la industria nacional: *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*.

Trichoderma y sus mecanismos de acción

Trichoderma es un género de hongos filamentosos, habitantes comunes del suelo, normalmente asociados a raíces o a la parte aérea de plantas. Es un reconocido biocontrolador por su capacidad de producir un amplio rango de antibióticos naturales (antibiosis), parasitar otros hongos (micoparasitismo) y su habilidad para colonizar la rizósfera e inducir respuestas defensivas en las plantas. Además, se ha demostrado la habilidad para aminorar los efectos de algunos estreses abióticos (temperaturas extremas y escasez de agua), incrementar la absorción de nutrientes y promover el crecimiento del sistema radicular, todo esto gracias a la capacidad de reprogramar la expresión génica de la planta sin modificar su ADN.

El rol de los metabolitos secundarios antibióticos ha sido considerado por mucho tiempo como fundamental en el control de hongos fitopatógenos por parte de *Trichoderma*. Se ha descrito una gran gama de enzimas líticas (quitinasas, glucanasas y proteasas) producidas por *Trichoderma harzianum*, *T. atroviride* y *T. virens*, las cuales tienen un efecto directo en la degradación de la pared celular de hongos (Viterbo *et al.*, 2012). La producción de estos compuestos está relacionada con la capacidad de *Trichoderma* de parasitar una gran variedad de hongos, incluidos los fitopatógenos. El proceso de micoparasitismo es complejo, pero se podría resumir en:

- a) detección del hospedero y crecimiento hacia el hongo objetivo,
- b) secreción de enzimas líticas (quitinasas) encargadas de la degradación de la pared celular,
- c) al contactar el hospedero, *Trichoderma* se enrosca alrededor de éste (proceso denominado *coiling*) generando estructuras denominadas apresorias, desde las cuales produce una gran batería de compuestos antifúngicos y enzimas degradadoras de pared celular,
- d) una vez las paredes celulares han sido disueltas, *Trichoderma* penetra al hospedero y crece a través del lumen, comenzando el proceso de parasitismo. No todas las especies de *Trichoderma* son capaces de realizar micoparasitismo, incluso hay diferencias entre cepas de la misma especie, por lo que el proceso de selección es fundamental para lograr un producto eficiente en el control de enfermedades bajo condiciones de campo.

Si bien la antibiosis y el micoparasitismo son considerados los principales mecanismos de biocontrol, en los últimos años se ha observado que la interacción *Trichoderma*-planta juega un rol

tanto o más relevante. Algunas cepas de *Trichoderma* son capaces de generar metabolitos secundarios denominados elicitors que gatillan respuestas defensivas en la planta, por ejemplo, una inducción en la producción de fitoalexinas en las hojas o barreras físicas intercelulares que impiden el avance de patógenos. Esta interacción es denominada Inducción de Resistencia Sistémica (ISR por sus siglas en inglés) e involucra pasos metabólicos mediados por el ácido jasmónico y etileno, distintos al que produce el estímulo de un patógeno (SAR) mediado por el ácido salicílico. Esta relación es consecuencia de la capacidad de algunas cepas de *Trichoderma* para infectar las capas celulares más externas de la raíz y colonizar la zona inmediatamente adyacente a la epidermis (en su conjunto denominado rizósfera) de manera exitosa, pero, por qué tanto interés en la rizósfera?

Se ha descrito que *Trichoderma* spp. realiza un proceso similar al de micoparasitismo para penetrar en las raíces. Esta infección superficial y avirulenta, es causada por algunas cepas consideradas “competentes de la rizósfera”, las que se alimentan de compuestos azucarados complejos secretados por las raíces y de otros microorganismos asociados a este nicho ecológico. A cambio, *Trichoderma* spp. protege a la planta de patógenos y organismos deletéreos, favoreciendo una mayor exploración del sistema radicular y un bienestar general de la planta. Nuevamente es importante destacar que el proceso de selección en el formulado de un producto agrícola es crítico para obtener una colonización exitosa de las raíces.

Bacillus subtilis y sus mecanismos de acción

Bacillus subtilis es una bacteria Gram-positiva, que presenta una gran diversidad genética y capacidad de adaptación a diversos ambientes, terrestres y acuáticos, y al igual que *Trichoderma* spp., está presente dentro de la comunidad habitual de microorganismos del suelo. Al igual que todos los miembros del género *Bacillus*, en condiciones de escasez de nutrientes y estreses ambientales, puede formar una estructura dormante denominada endospora, la cual es altamente resistente a temperaturas extremas y desecación. En agricultura es fundamentalmente utilizada por su extraordinaria capacidad para producir compuestos antibióticos que inhiben el desarrollo de hongos y bacterias fitopatógenas.

La habilidad de colonizar diversos nichos ecológicos le confiere a *B. subtilis* una ventaja adaptativa que puede ser utilizada tanto en la rizósfera como en la filósfera. Por ejemplo, la competencia por nutrientes en la superficie de una hoja de tomate puede impedir la germinación de la conidia y el desarrollo del tubo germinativo de *Botrytis cinerea*, evitando la infección y en consecuencia disminuyendo la incidencia de la enfermedad. Asimismo, a medida que la bacteria se desarrolla y establece colonias en este nicho, irá liberando compuestos antifúngicos que inhiben el

desarrollo de las hifas del hongo, ocupando el espacio y evitando la propagación o severidad de la enfermedad. El mismo modo de acción se podría considerar para el control de *Pseudomonas syringae*, donde la colonización de aperturas naturales (estomas) y heridas ocasionadas por el manejo del cultivo, son fundamentales para evitar que la bacteria penetre en la planta.

Por lo tanto, en el caso de *B. subtilis* es crítico seleccionar cepas altamente especializadas en la producción de antibióticos que se adapten rápidamente al nicho ecológico donde se pretende realizar el biocontrol.

Usos en agricultura

El principal uso de *Trichoderma* es el biocontrol de enfermedades en las raíces. Existen numerosos estudios que demuestran la eficiencia en el control de enfermedades producidas por los principales patógenos en hortalizas (*Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestans* y *Verticillium dahliae*). En tomate, el uso de *Trichoderma harzianum* para el control de *Fusarium oxysporum* ha sido una alternativa en reemplazo del bromuro de metilo. No obstante, sus resultados pueden ser variables si no se considera un manejo adecuado del suelo, en términos del contenido de materia orgánica, biodiversidad microbiana, reciclaje de nutrientes, rotación de cultivos, entre otros. En pepino, existe evidencia que indica que la adición de compost y enmiendas orgánicas favorecen la colonización de la rizósfera y, en consecuencia, una menor infección de *Fusarium oxysporum*. En este mismo trabajo se logró determinar que la población de *T. harzianum* adicionada al sustrato (un óptimo de 10^6 ufc/g de suelo) era crucial para obtener un alto nivel de control. Es decir, la concentración de un producto comercial debe asegurar una alta concentración viable del ingrediente activo si pretende ejercer un efecto en campo.

Tan importante como la concentración del ingrediente activo es el momento y frecuencia de aplicación. Por ejemplo, en tomate bajo invernadero realizar una aplicación previa a la plantación para disminuir la población de patógenos en el suelo, no asegura un eficiente control de la enfermedad en el cultivo, ya que la relación *Trichoderma*-planta es fundamental para un óptimo resultado. Por otra parte, si se mantiene una población alta de *Trichoderma* desde el inicio del cultivo (ya sea en siembra o plantación), se obtendrán mejores resultados que si es aplicada una vez ya establecida la planta. Si bien es posible encontrar *Trichoderma* spp. en el suelo luego un año de realizada una aplicación, la introducción de una alta población al suelo disminuirá debido a la escasez de recursos, por lo que la colonización de la rizósfera debe ser constante para establecer una población con efecto biocontrolador.

B. subtilis es utilizado fundamentalmente en el control de patógenos que infectan la parte aérea de la planta. En el caso de bacterias fitopatógenas como *Pseudomonas syringae* en frutales los resultados han sido variables. Por ejemplo, el Plant & Food Research de Nueva Zelanda ha probado una alta variedad de agentes biocontroladores para el control de PSA, incluyendo *B. subtilis*, que no han demostrado resultados consistentes. No obstante, en Chile se han logrado experiencias exitosas en el control preventivo de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* en tomate bajo invernadero.

En uva de mesa el principal objetivo ha sido el control en campo de pudrición gris y pudrición ácida. Bajo estas condiciones, se ha determinado que el biocontrol de *B. subtilis* es resultado de la antibiosis de una serie de compuestos altamente concentrados en los productos comerciales. No obstante, en condiciones de postcosecha, la competencia por espacio y nutrientes en la fruta sería el principal modo de acción involucrado en el biocontrol. En este caso, *B. subtilis* tiene la capacidad de resistir temperaturas extremas en forma de endospora y activarse cuando la fruta vuelva a temperatura ambiente.

Situación en Chile

Nuestro país carece de una regulación específica para controladores biológicos de enfermedades. La resolución actual para la evaluación y autorización de plaguicidas N° 3670/1999 del SAG, fue pensada y elaborada en función de los productos de origen sintético y no incorpora en su definición de “plaguicidas” productos de origen biológico, excluyendo el hecho que los requerimientos de ambos productos son totalmente diversos. Esta situación genera confusión y una importante barrera de entrada para empresas pequeñas que pretendan entrar al mercado. La nueva resolución N° 1557/2014 que reemplazaría a la anterior y que aún no entra en vigencia, incorpora a los biocontroladores en la definición de plaguicidas, pero no resuelve el problema de fondo respecto a los requerimientos específicos de cada uno.

Por otra parte, no existe un organismo regulador de la calidad de los productos biológicos. Es decir, un agricultor puede adquirir un producto que en su etiqueta indique un biocontrolador tal, en una concentración determinada, pero el contenido del envase puede diferir completamente de lo presentado. En la industria Argentina de los inoculantes de soya, identificaron ese problema y fueron ellos mismos quienes terminaron generando sus propios estándares de calidad y luego de 11 años lograron plasmarlo en una resolución. En nuestro país recientemente se creó la Red Chilena de Bioinsumos, que entre uno de sus objetivos tiene la generación de estándares y protocolos para la verificación de la calidad de los productos en base a microorganismos.

Las primeras experiencias con productos comerciales en Chile presentaron resultados poco consistentes en terreno y algunos eran incluso de dudosa calidad. Esto provocó una desconfianza generalizada en los agricultores que perdura hasta el día de hoy. Si bien las empresas han mejorado sus procesos productivos y en términos generales se observa un clima receptivo en la industria agrícola, aún es un punto débil que debiese mejorar considerablemente.

En la agricultura orgánica los biocontroladores forman parte permanente de los programas de control fitosanitario, no obstante, esa realidad se opone bastante a la agricultura convencional. Si bien se ha logrado demostrar los beneficios del uso de *Trichoderma atroviride* y *Bacillus subtilis* en programas integrados para el control de *Botrytis cinerea* en uva de mesa, en dos temporadas seguidas con resultados consistentes, los agricultores aún son escépticos y prefieren utilizar productos químicos denominados “frontales”, que pueden generar resistencias en los patógenos y perder eficiencia, pero dejan al productor con una sensación de tranquilidad. No obstante lo anterior, los agricultores se están probando y evaluando constantemente nuevas tecnologías que beneficien su rentabilidad, dentro de las cuales se están incorporando cada vez más los biocontroladores. Una muestra de aquello es el aumento considerable de la participación en el mercado mundial de los últimos 5 años, así como las proyecciones que indican aumentos de hasta el 7% en los próximos años. Actualmente las empresas tradicionalmente químicas con mayor participación en el mercado global, tienen en una línea biológica en su oferta de productos, lo que indica un cambio de escenario y una gran expectación para los próximos años.

