

Resultados y Lecciones en Controladores Biológicos: *Bacillus subtilis* y *B. thuringiensis*

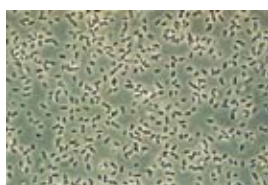
Proyectos de Innovación en
Región del Maule



Fundación para la Innovación Agraria
MINISTERIO DE AGRICULTURA



Resultados y Lecciones en Controladores Biológicos: *Bacillus subtilis* y *B. thuringiensis*



**Proyectos de Innovación en
Región del Maule**

Valorización a mayo de 2011



SERIE EXPERIENCIAS DE INNOVACIÓN PARA EL EMPRENDIMIENTO AGRARIO

Agradecimientos

En la realización de este trabajo agradecemos sinceramente la colaboración de los productores, técnicos y profesionales vinculados a los proyectos, en especial a Eduardo Donoso, de Bionativa.

Resultados y Lecciones en

Controladores Biológicos: *Bacillus subtilis* y *B. thuringiensis*

Proyectos de Innovación en la Región del Maule

Serie **Experiencias de Innovación para el Emprendimiento Agrario**

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

Registro de Propiedad Intelectual N° 207.706

ISBN N° 978-956-328-100-2

ELABORACIÓN TÉCNICA DEL DOCUMENTO

Francisco Alborno y Marcela Salinas - Cartes y Le Bert Cía. Ltda. (Capablanca Consultores Ltda.)

REVISIÓN DEL DOCUMENTO Y APORTES TÉCNICOS

Fernando Rodríguez y Francisca Fresno - Fundación para la Innovación Agraria (FIA)

EDICIÓN DE TEXTOS

Gisela González Enei

DISEÑO GRÁFICO

Guillermo Feuerhake

IMPRESIÓN

Ograma Ltda.

Se autoriza la reproducción parcial de la información aquí contenida, siempre y cuando se cite esta publicación como fuente.

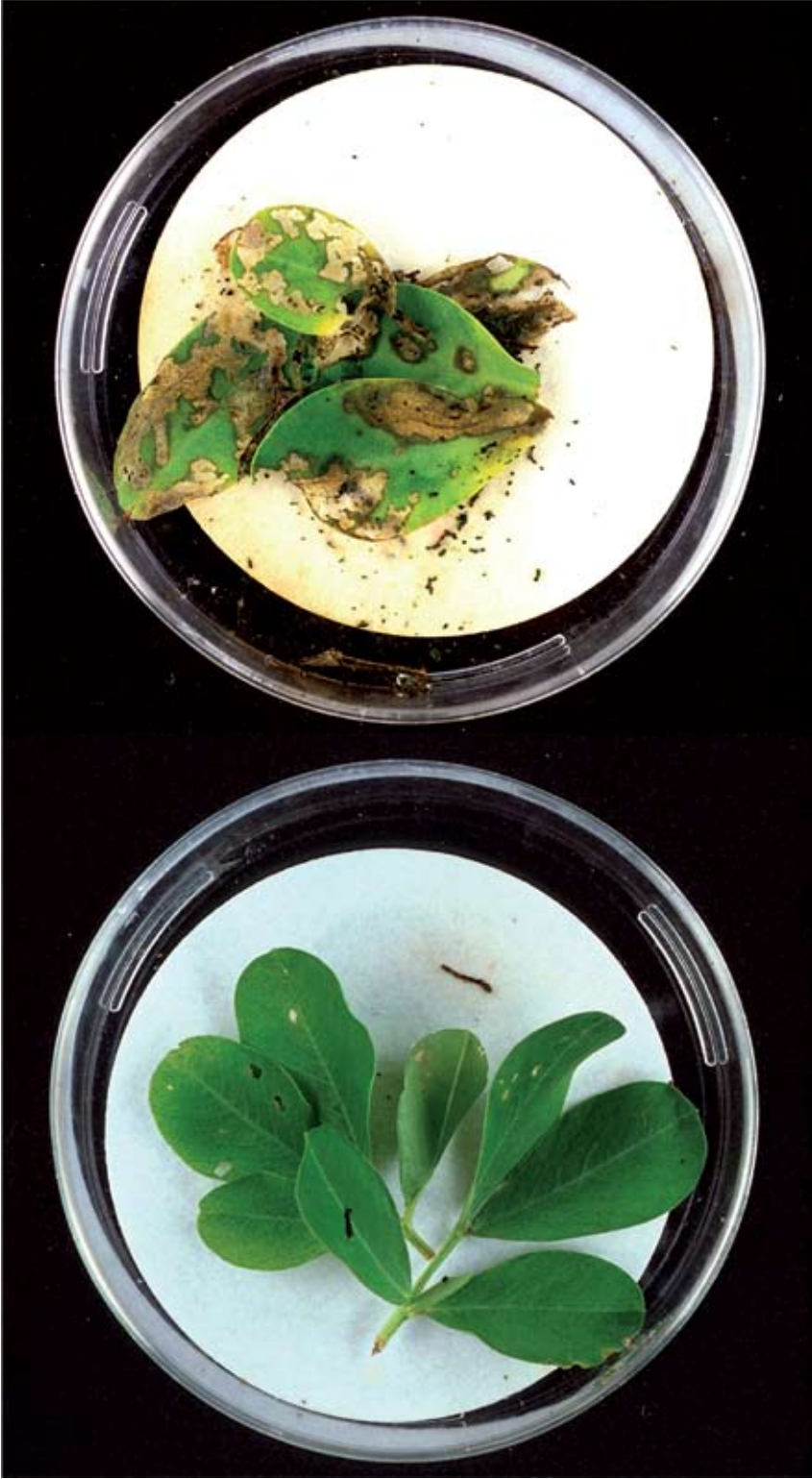
Contenidos

Sección 1. Resultados y lecciones aprendidas	5
1. Antecedentes	5
2. Base conceptual y tecnológica de la herramienta.....	6
2.1 El control biológico de plagas	6
2.2 <i>Bacillus</i> en el control biológico de enfermedades bacterianas	6
3. El valor de las herramientas desarrolladas	7
3.1 Formulados para el control de enfermedades bacterianas	7
3.2 Formulados para el control de plagas de insectos lepidópteros	8
3.3 Conclusión.....	9
4. La innovación tecnológica	9
5. La conveniencia económica para el productor.....	10
6. Claves de viabilidad.....	11
7. Situación actual.....	12

Sección 2. Los proyectos precursores	13
1. El entorno científico, económico y social	13
2. Los proyectos	15
2.1 El proyecto de <i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	15
2.2 El proyecto de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt).....	16
3. Desarrollos posteriores	17

Sección 3. El valor de los proyectos	19
---------------------------------------------------	----

ANEXOS	
1. Fichas técnicas de los productos a base de <i>Bacillus</i> spp.	23
2. Perspectivas de mercado de las herramientas a base de <i>Bacillus</i> spp.....	25
3. Literatura consultada.....	27
4. Documentación disponible y contactos.....	28



SECCIÓN 1

Resultados y lecciones aprendidas

El presente libro tiene el propósito de compartir con los actores del sector los resultados, experiencias y lecciones aprendidas sobre controladores biológicos de enfermedades producidas por bacterias e insectos, de importancia agrícola en la Región del Maule, a partir de dos proyectos financiados por la Fundación para la Innovación Agraria, FIA.

Se espera que esta información, que se ha sistematizado en la forma de una “innovación aprendida”,¹ aporte a los interesados una nueva herramienta que les permita mejorar la productividad de sus cultivos.

► 1. Antecedentes

Los análisis y resultados que se presentan en este documento han sido desarrollados a partir de las experiencias y lecciones aprendidas en la ejecución de dos proyectos financiados por FIA (proyectos precursores).² El primero, “Evaluación de cepas nativas de la bacteria *Bacillus subtilis* en el biocontrol de enfermedades bacterianas de cultivos hortofrutícolas de importancia regional”, tuvo como propósito evaluar la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *B. subtilis* respecto de enfermedades bacterianas de cultivos de importancia agrícola en la Región del Maule.

La segunda iniciativa, “Nuevas cepas nativas de *Bacillus thuringiensis*, para el efectivo control de tres familias del orden Lepidoptera, de importancia agrícola en la Séptima Región”, se orientó a desarrollar insumos a base de formulaciones de cepas nativas de *B. thuringiensis*, para el control de plagas y enfermedades de cultivos hortícolas y frutícolas.

¹ “**Innovación aprendida**”: análisis de los resultados de proyectos orientados a generar un nuevo servicio o herramienta tecnológica. Este análisis incorpora la información validada del proyecto precursor, las lecciones aprendidas durante su desarrollo, los aspectos que quedan por resolver y una evaluación de los beneficios económicos de su utilización en el sector.

² “**Proyecto precursor**”: proyecto de innovación a escala piloto financiado e impulsado por FIA, cuyos resultados fueron evaluados a través de la metodología de valorización de resultados desarrollada por la Fundación, análisis que se da a conocer en el presente documento. Los antecedentes del proyecto precursor se detallan en la Sección 2 de este documento.



Ambos proyectos fueron ejecutados por la Universidad de Talca y la empresa Bio Insumos Nativa Ltda., entre octubre de 2002 y mayo de 2006, y diciembre de 2003 y abril de 2007, respectivamente.

Producto de estos proyectos se desarrollaron capacidades y conocimientos que han permitido seleccionar bacterias del género *Bacillus*, las cuales actúan como controladores biológicos para diversas plagas y enfermedades.

► 2. Base conceptual y tecnológica de la herramienta

2.1 El control biológico de plagas

El biocontrol es uno de los principales componentes del manejo integrado de plagas y se define como la suma de acciones emprendidas para favorecer la acción de parásitos, depredadores y patógenos, en el control de un insecto plaga. Este tipo de control involucra una estrategia de manejo racional de insecticidas, donde el uso de productos biológicos constituye una parte importante de ésta. El combate biológico consiste en el manejo de poblaciones de la plaga utilizando a sus enemigos naturales; puede ser realizado en forma natural o inducida.

El auge de los insecticidas biológicos de uso agrícola, en reemplazo de los químicos, se sustenta porque son más limpios ecológicamente y, por lo tanto, menos contaminantes. Estos compuestos no son tóxicos para las plantas, animales ni el hombre y por ser biodegradables no constituyen riesgo de contaminación.

2.2 *Bacillus* en el control biológico de enfermedades bacterianas

El cobre es el elemento que ha dado mejores resultados en el control de enfermedades de origen bacteriano. Sin embargo, éstos han sido erráticos cuando se presentan condiciones ambientales favorables para el desarrollo y diseminación de las bacterias; a ello se suma la aparición de cepas bacterianas resistentes a compuestos cúpricos. Resultados igualmente erráticos se obtie-

nen cuando se aplican antibióticos contra bacterias fitopatógenas, como las formulaciones de estreptomycin y oxitetraciclina, debido al desarrollo de razas resistentes.

En la búsqueda de alternativas más efectivas, la atención se ha dirigido a las propiedades controladoras observadas en *Bacillus subtilis*. Cabe señalar, que el género *Bacillus* presenta el mayor número de especies conocidas con propiedades insecticidas, entre las que destaca *B. thuringiensis*.

Las nuevas tendencias mostradas por las exigencia de los mercados agrícolas internacionales, y en menor medida de los locales, restringen el uso de plaguicidas, ya sea por la adopción de sistemas de producción integrada o bien, orgánica. Esta tendencia ha sido aún más crítica en el manejo de enfermedades bacterianas, dada la aparición sistemática de resistencia a los antibióticos usados, no sólo en agricultura sino también en salud humana. Lo anterior ha generado la búsqueda de una nueva gama de antibióticos alternativos, y el uso de los tradicionales se ha restringido en las actividades ajenas a la medicina, tales como la agricultura y ganadería

► 3. El valor de las herramientas desarrolladas

3.1 Formulados para el control de enfermedades bacterianas

La incidencia y severidad de enfermedades bacterianas en los cultivos de hortalizas y frutales de la Región del Maule ha aumentado considerablemente en las últimas temporadas, causando graves pérdidas en los cultivos afectados y un aumento importante de los costos involucrados en su prevención y control. Estas enfermedades son difíciles de controlar, aún aplicando medidas sanitarias preventivas para reducir su incidencia.



Por otro lado, los insumos disponibles en el mercado para el control de estas enfermedades son escasos (cobre, antibióticos como estreptomycin y oxitetraciclina) y sus resultados tienden a ser erráticos y poco exitosos. La aparición sistemática de resistencia a los antibióticos ha contribuido a agravar aún más este panorama.

Los resultados alcanzados en el primer proyecto precursor muestran que los formulados a base de varias cepas de *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* y *Brevibacillus brevis* controlan efectivamente enfermedades bacterianas en distintos cultivos, como:

- tomate: mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris*), peca bacteriana (*Pseudomonas syringae*), tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y cancro bacterial (*Clavibacter michiganensis*);
- papas almacenadas: pudrición acuosa (*Erwinia carotovora*);
- carozos: cáncer bacterial (*Pseudomonas syringae*).

Recientemente ensayos de campo han demostrado un buen control, a nivel de campo, de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*,³ de reciente presencia en Chile, y que ha causado estragos en la industria del kiwi en Italia y Nueva Zelanda.

³ Un patovar (pv.) es una cepa bacteriana o grupo de cepas iguales o similares, que se diferencian de otras razas de la misma especie o subespecie de acuerdo a la patogenicidad distintiva a uno o más hospederos vegetales.

El desarrollo de este nuevo producto a base de *B. subtilis* (*Bs*) no sólo representa una solución más efectiva en términos del control de estas enfermedades, para las cuales no existía un adecuado control químico, sino que además se adecuan a las exigencias de mercado en cuanto a inocuidad y sustentabilidad.

3.2 Formulados para el control de plagas de insectos lepidópteros

Por otra parte, el cultivo del tomate y otras hortalizas en la Región, tanto al aire libre como de invernadero, tienen asociada la presencia de plagas de lepidópteros, cuyo control requiere aplicaciones de insecticidas cerca de la cosecha. Esta opción de uso de alternativas químicas presenta complicaciones en cuanto a inocuidad y, en los últimos tiempos, se han reportado diversos casos en el mundo de resistencia a insecticidas.

La formulación de un bioinsecticida a partir del aislamiento de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), en el marco del segundo proyecto precursor, mostró un marcado efecto en el control de larvas de las especies *Tuta absoluta* (polilla del tomate), *Plutella xylostella* (polilla de la col) y *Agrotis* sp. (gusanos cortadores). Cabe señalar, que un efecto inesperado de este producto fue el control de mosquita blanca en tomate, una especie que no pertenece al orden Lepidoptera, pero que es capaz de producir daños considerables en los cultivos.

Los productos que ya existen en el mercado a base de *Bacillus thuringiensis* no han mostrado el grado de control esperado, lo que puede deberse a factores como excesiva purificación de los cristales tóxicos de esta bacteria, o al uso de formulados compuestos por una sola cepa. Por lo tanto, sobre la base de la tecnología desarrollada durante el proyecto, Bionativa se enfocó a la colecta, identificación y aislamiento de diversas cepas de *B. thuringiensis*, de manera de generar un formulado multicepa que incluye tanto el cristal tóxico, como esporas de las bacterias, de manera de incrementar las formas de acción del producto, logrando superar en el campo lo niveles de control de las cepas comerciales actuales.



Al igual que en el caso del formulado a base de *B. subtilis*, la naturaleza de este producto lo hace aplicable a la agricultura tradicional y orgánica, y permite a los productores responder a las restricciones del uso de plaguicidas de los mercados internacionales.

3.3 Conclusión

El desarrollo de ambas formulaciones desde material orgánico natural y no de la síntesis artificial de ingredientes activos, hace que ambos productos sean amigables con el medio ambiente y la salud de los consumidores y trabajadores agrícolas. Así, su uso es recomendado por las directrices para las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y obligatorio para la certificación de producción orgánica.

En el Anexo 1 se presentan las fichas técnicas de los productos *Bacillus* spp.

► 4. La innovación tecnológica

El aporte de los proyectos precursores fue el desarrollo de dos formulados de origen biológico, capaces de controlar efectivamente enfermedades y plagas de gran incidencia en cultivos de hortalizas y frutas de la Región del Maule. La innovación desarrollada representa una opción válida para el productor respecto otros productos de menor efectividad, muchos de ellos con efectos adversos sobre el medio ambiente, y cuyo uso es cuestionado en forma creciente en los mercados internacionales.

La innovación principal de estos productos se ha centrado en los procesos ecológicos, más que en los mecanismos bioquímicos, lo que ha permitido el desarrollo de formulados fáciles de usar, por parte de los agricultores, y que además se hacen cargo de las posibles apariciones de resis-



T3
BACILLUS 3
HORAS ANTES
CON HERIDAS



T6
BACILLUS 3
HORAS DESPUES
SIN HERIDAS

tencia y variaciones en las condiciones de uso. Así, por ejemplo, las mezclas se han generado con el objetivo de copar todo el nicho ecológico del o los agentes de daño a controlar. Por otra parte, se ha generado la información necesaria para compatibilizar el uso de estas formulaciones, con los programas tradicionales de manejo de los cultivos a tratar.

Un aspecto importante de la innovación es el bajo costo de los insumos requeridos para la obtención de los biocontroladores. Su preservación no requiere de grandes instalaciones para efectuarlas de manera óptima, lo cual es una ventaja significativa para entrar a competir con otros productos químicos en el mercado nacional; se espera que ello también se traduzca en menores precios de venta a los agricultores.

► 5. La conveniencia económica para el productor

La conveniencia económica del uso del producto basado en *Bacillus subtilis* depende del grado de daño que produzca determinada enfermedad bacteriana en un cultivo, en comparación con el uso de otros agroquímicos. Como lo mostraron los resultados del proyecto respectivo, el producto basado en esta bacteria presenta un efecto doble y en algunos casos aún mayor que el de los productos químicos utilizados actualmente.

Así, para el caso del cancro bacteriano en cerezos, existen antecedentes de predios que debieron ser arrancados en su totalidad por estar infectados con esta enfermedad, y el uso de este producto evitaría experiencias tan extremas como ésta, permitiendo la recuperación paulatina del predio (y de la inversión). Los ensayos de campo realizados en huertos de cerezos afectados por cancro bacteriano, mostraron una recuperación del 20% anual en el volumen de fruta cosechada.

En el aspecto económico, la utilización de *Bs* en el control de enfermedades bacterianas de tomate y carozos es una excelente alternativa a los compuestos actualmente en uso, porque incrementa el rendimiento y facilita la obtención de certificaciones de BPA y de producción orgánica, dada la ausencia de cobre y antibióticos en los productos a comercializar.

Un costo de 30.000 a \$ 35.000/ha de aplicación de *Bs* en cerezo es competitivo respecto las aplicaciones de cobre y antibióticos, y además se obtiene un mejor resultado, por lo que se presenta como un atractivo negocio. Por ejemplo, en tomate de invernadero prácticamente se ha reemplazado el uso de antibióticos a favor de este biocontrolador.

El producto basado en *Bacillus thuringiensis* actúa controlando plagas de lepidópteros (polillas) y, al igual que el producto de *Bs*, es de origen orgánico, razón por la cual presenta bajo riesgo para la salud humana y es altamente amigable con el medio ambiente. Su efectividad en el control de plagas ha sido demostrada en varios países desde hace varios años; el formulado desarrollado por Bio Insumos Nativa se recomienda, específicamente, para *Tuta absoluta* (polilla del tomate) y *Proeulia* sp., y actualmente se encuentra en proceso de extensión de etiqueta para el control de *Agrotis* sp. (gusanos cortadores) y *Plutella xylostella* (polilla de la col).



► 6. Claves de viabilidad

Las claves para que los formulados de *Bacillus* spp. puedan usarse masivamente son:

- **La transferencia del sistema de producción de *Bacillus* al ámbito comercial.** Es clave que la producción y comercialización masiva de un producto promisorio, como los derivados de *Bacillus*, queden en manos de actores que dispongan de las capacidades para su desarrollo en forma competitiva.

Para asegurar la continuidad necesaria entre el desarrollo científico y la producción comercial, en el caso de *B. subtilis* la Universidad de Talca integró a la empresa Bio Insumos Nativa Ltda. al desarrollo de este biocontrolador. La transferencia de la tecnología a dicha empresa se inició al amparo de un convenio que establece las condiciones bajo las cuales recibe la tecnología de producción y puede producir y comercializar las cepas de *Bacillus*; además de los mecanismos de control de calidad, del producto, y de las recomendaciones de su uso.

En una segunda fase, la Universidad de Talca entregó copias de las cepas a Bio Insumos Nativa Ltda., de manera de duplicar el material almacenado y entrenar al personal de la empresa en la reproducción de las cepas e identificación. Enseguida se instalaron producciones a escala de laboratorio en la empresa, utilizando las metodologías desarrolladas por el proyecto. La integración de los parámetros de producción óptimos se realizaron en un biodigestor de 100 litros, que también se utilizó para generar producto destinado a demostraciones con agricultores claves.

La producción industrial del biocontrolador actualmente está siendo abordada con apoyo de un proyecto FONTEC. En el marco de ese mismo proyecto también se continúan los ensayos con *Bacillus* para evaluar su efectividad en otros cultivos como cala, brásica, avellano, nogal y arándano.

En el caso de *B. thuringiensis*, el proyecto de desarrollo del biocontrolador fue ejecutado directamente por Bio Insumos Nativa, con el apoyo técnico del Instituto de Biotecnología y Laboratorio de Entomología de la Universidad de Talca. Esta fórmula de ejecución se basó en la exitosa experiencia de trabajo conjunta entre la empresa y la Universidad, y aseguró desde un comienzo la orientación comercial de la iniciativa.

- **Registros del SAG para los productos.** Este registro es esencial para cualquier producto que se desee vender para el control o prevención de enfermedades fitopatógenas o el control de plagas. La empresa Bio Insumos Nativa ha sido pionera al registrar el primer biocontrolador formulado en Chile, Trichonativa (*Trichoderma*), también como resultado de un proyecto FIA. Además, ya cuenta con los registros de NACILLUS® (*Bacillus* spp.) y BETK-03® (*Bacillus thuringiensis*), productos que también han sido certificados para producción orgánica bajo las normas chilena, norteamericana, de la Comunidad Europea y japonesa.
- **Obtención de patentes e inscripción de la propiedad intelectual de los formulados.** Como forma de asegurar la rentabilidad de las iniciativas productivas relativas a estos biocontroladores, es clave que los formulados estén resguardados por patentes y se mantenga el secreto industrial de su producción y secado.

▶ 7. Situación actual

Los biocontroladores se encuentran a la venta a través de varios canales de distribución, lo cual permite un expedito acceso de los agricultores a estas soluciones tecnológicas.

Con el fin de asegurar un control adecuado, la empresa vende los insumos y además entrega un programa de manejo que incluye el uso correcto de los controladores biológicos, a fin de lograr un control adecuado y evitar el surgimiento de otros problemas.

SECCIÓN 2

Los proyectos precursores

► 1. El entorno científico, económico y social

La Región del Maule es la segunda en importancia respecto a la superficie hortícola del país. Además de esta área, presentan gran relevancia los semilleros de hortalizas, entre los que destacan los de crucíferas (52% de la superficie nacional), así como la agroindustria, por ejemplo, el tomate industrial (40% de la superficie nacional). A esto se suma el tomate bajo plástico que, aunque no abarca una gran superficie (94 ha), es prioritario por su importancia económica para los pequeños agricultores.

La incidencia y severidad de enfermedades bacterianas en la Región ha aumentado considerablemente en las últimas temporadas, tanto en sistemas de producción convencional, como en los integrados. Bacterias como *Clavibacter michiganense michiganense*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, P. s. pv. *tomato*, y *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* son de ocurrencia normal, y causan graves pérdidas en los cultivos afectados y un aumento considerable de los costos involucrados en su prevención y control. Estas enfermedades son difíciles de controlar, aún aplicando medidas sanitarias preventivas para reducir su incidencia. Por otro lado, los insumos disponibles en el mercado para el control de estas enfermedades son escasos (cobre, antibióticos como estreptomina y oxitetraciclina) y sus resultados tienden a ser erráticos y poco exitosos.





El cultivo del tomate y otras hortalizas en la Región, tanto al aire libre como en invernadero, llevan asociada la presencia de plagas de insectos; destacan las del orden Lepidoptera: polilla del tomate (*Tuta absoluta*), mariposa blanca de la col (*Pieris brassicae*) y el complejo de gusanos cortadores (*Agrotis* spp., *Heliothis* spp. y *Copitarsia* spp.). Debido a factores como la escasa disponibilidad de alternativas y el bajo nivel técnico y de preparación de la mayoría de los agricultores hortícolas de la Región, la rotación de ingredientes activos es escasa o nula. Esto ha ocasionado una creciente resistencia de dichas especies a los organofosforados y piretroides, lo que ha obligado a aumentar el número de aplicaciones y las concentraciones, lo cual ha agravado aún más el problema.

La severidad de estas enfermedades y plagas han afectado particularmente a la agricultura orgánica, cuya superficie nacional cultivada alcanzó alrededor de 7.700 ha en 2006, de las cuales 1.900 correspondían a la Región del Maule. Para este sistema productivo no existe la disponibilidad adecuada de los insumos que le son propios y en la actualidad el control de enfermedades bacterianas se realiza fundamentalmente por medio de medidas culturales tendientes a evitar el contacto entre las bacterias y los cultivos, así como a disminuir el inóculo potencial en un predio o área de cultivo determinada.

Por su parte, la agroindustria regional de tomates (pulpa y pasta) y los productores de tomates (al aire libre y bajo invernadero), tienen problemas importantes con la polilla del tomate. La primera, debido a que las exigencias internacionales (BPA y PI⁴) reclaman por insumos efectivos y más ecológicos, mientras que los segundos buscan insumos más baratos y efectivos, que les permitan hacer aplicaciones inocuas especialmente en períodos cercanos a la cosecha (productos sin carencia).

En Chile sigue primando la importación de biocontroladores. Aunque se estima que los riesgos para el ecosistema nativo son bajos, los organismos seleccionados en otras condiciones ambientales muchas veces difieren en su conducta cuando se cambia el ambiente al cual están acostumbrados.

En consecuencia, es necesario buscar nuevas alternativas eficaces, limpias y económicas, que le den al agricultor una herramienta de solución a sus actuales problemas. Dadas las notables propiedades que en este sentido presentan los formulados a base de *Bacillus*, éstos representan una alternativa útil y complementaria a los productos disponibles en la actualidad.

⁴ Producción integrada.

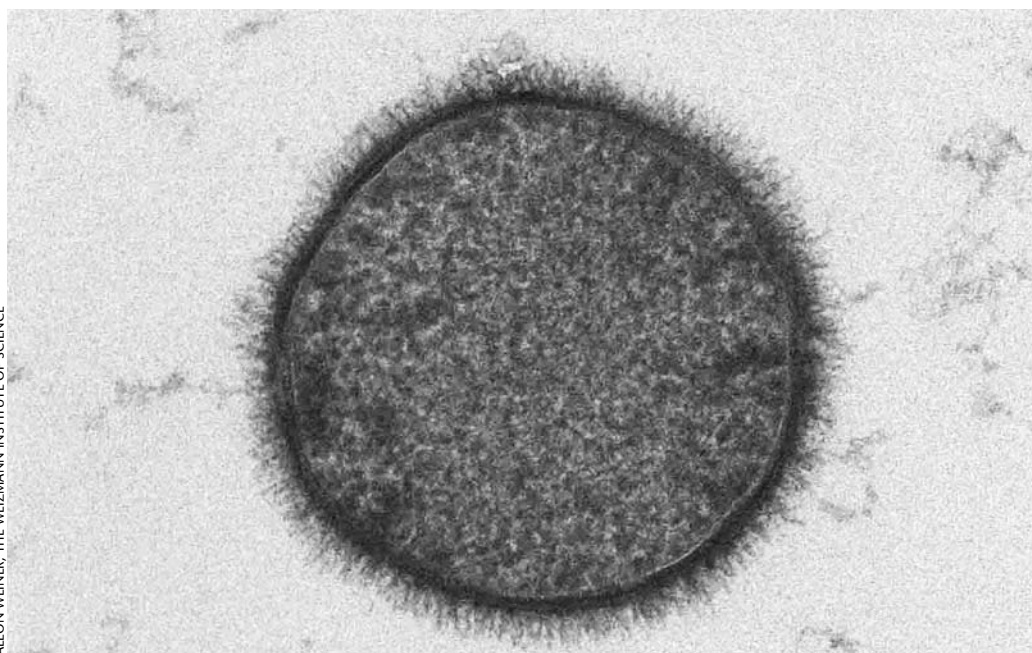
► 2. Los proyectos

Los dos proyectos precursores se orientaron a la evaluación y producción de formulados a base de cepas nativas de bacterias, que actúan como controladores biológicos para diversas plagas y enfermedades que atacan distintos cultivos hortícolas y frutícolas de importancia agrícola en la Región del Maule. Ambos productos tienen como ingrediente activo bacterias del género *Bacillus* y se pueden clasificar como insumos orgánicos, por lo que sus principales compradores son productores de este tipo de agricultura. En el Anexo 1 las fichas técnicas de cada producto incluyen aspectos de compatibilidad con otros productos químicos, condiciones de almacenaje, toxicidad y formas de aplicación para cada uno.

2.1 El proyecto de *Bacillus subtilis* (Bs)

Este proyecto, ejecutado por la Universidad de Talca entre octubre de 2002 y abril de 2006, tuvo como objetivo evaluar la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Bacillus subtilis* respecto de enfermedades bacterianas en cultivos agrícolas de la Región del Maule. Para ello se consideraron las siguientes enfermedades:

- *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, causante del cáncer bacterial del ciruelo y cerezo;
- *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, causante de la peca bacteriana del tomate;
- *Clavibacter michiganense michiganense*, causante del cancro bacteriano del tomate;
- *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causante de la mancha bacteriana del tomate y pimentón;
- *Erwinia carotovora carotovora*, causante de pudriciones en espárrago, papa y pimentones, y pie negro en papa.



La ejecución del proyecto incluyó una fase de investigación y el desarrollo posterior de un sistema de producción y transferencia. Se obtuvieron más de 250 cepas de *Bacillus*, de las cuales un 47% presentó actividad bactericida. De las cepas aisladas, las más eficaces se obtuvieron en zonas de vida silvestre. Mediante evaluaciones *in vitro* se seleccionaron las cinco mejores cepas, se determinaron sus concentraciones mínimas inhibitorias, las combinaciones entre cepas y su compatibilidad con agroquímicos.

Posteriormente se realizaron pruebas *in vivo* de inoculación de los patógenos, lo cual permitió determinar dosis y momentos de aplicación, los que fueron validados en cultivos comerciales en predios de diversos agricultores. En estos ensayos, los tratamientos con *Bs* lograron superar significativamente el grado de control alcanzado por los programas normalmente utilizados por los agricultores.

En lo referente al desarrollo de un sistema de producción comercial, en el proyecto se determinó el mejor medio y acarreador, con lo que se pudo generar un formulado altamente adecuado en cuanto a producción, tiempo de cultivo, almacenaje y efectividad.

Para asegurar la necesaria continuidad entre el desarrollo científico y la producción comercial, la Universidad de Talca integró al desarrollo de este biocontrolador, a la empresa Bio Insumos Nativa Ltda. La transferencia de la tecnología a dicha empresa se inició al amparo de un convenio donde se establecen las condiciones bajo las cuales la empresa recibe la tecnología de producción y puede producir y comercializar las cepas de *Bacillus*, además de los mecanismos de control de calidad, tanto del producto como de las recomendaciones de su uso.

En una segunda etapa, la Universidad de Talca entregó copias de las cepas a Bio Insumos Nativa Ltda., de manera de duplicar el material almacenado y entrenar al personal de la empresa en la reproducción de las cepas y en su identificación. Además se instalaron producciones a escala de laboratorio en la empresa, utilizando las metodologías desarrolladas en el proyecto. La integración de los parámetros de producción óptimos se realizó en un biodigestor de 100 litros, que también se utilizó para generar el producto destinado a realizar demostraciones a los agricultores claves, en carozos y tomates.

La producción industrial del biocontrolador fue abordada desde el año 2004 por Bio Insumos Nativa, con apoyo de un proyecto FONTEC, en el cual también se continuaron los ensayos con *Bacillus*, a fin de evaluar su efectividad en otros cultivos como cala, brasicas, avellano europeo, nogal y arándanos.

2.2 El proyecto de *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Este proyecto, ejecutado por la empresa Bio Insumos Nativa Ltda. entre diciembre de 2003 y abril de 2007, tuvo como propósito desarrollar insumos a base de formulaciones de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis*, para el control de larvas de lepidópteros de las especies *Tuta absoluta* (polilla del tomate), *Plutella xylostella* (polilla de la col) y *Agrotis* spp. (gusanos cortadores) en cultivos hortícolas y frutícolas.



DR. J. F. CHARLES - INST. PASTEUR

Bacillus thuringiensis

El proyecto se ejecutó en el marco de un convenio de la empresa con la Universidad de Talca, cuyo objetivo fue implementar la tecnología de aislación, identificación y evaluación de distintas cepas de *Bacillus thuringiensis*, con efecto

contra lepidópteros, aisladas en la Región del Maule. Posteriormente la empresa generó las formulaciones y sistema de producción que hicieron escalable la producción a nivel comercial. Estas cepas sólo se encontraban caracterizadas proteicamente (patrón Cry), por lo que debían ser evaluadas en laboratorio y campo, de manera de orientarlas al control específico de cada una de las tres especies de lepidópteros mencionadas.

Al igual que en el caso anterior, la ejecución del proyecto incluyó una fase de investigación y el desarrollo posterior de un sistema de producción y transferencia.

Durante la primera fase del proyecto se evaluaron *in vitro* once cepas de *B. thuringiensis*, y se seleccionaron las mejores tres según su capacidad insecticida contra las plagas evaluadas, la concentración de proteína por Unidades Formadoras de Colonias y su compatibilidad con agroquímicos.

Sobre la base de los resultados de estos ensayos, se realizaron pruebas *in vivo* con infestación previa de las plagas, para determinar dosis y momentos de aplicación. Estos parámetros fueron validados en cultivos comerciales de varios agricultores; aunque en los ensayos los tratamientos con *Bt* no superaron el grado de control alcanzado por los programas normalmente utilizados por los agricultores, al menos se lograron los mismos efectos que éstos.

Respecto el desarrollo de un sistema de producción comercial, se determinó el mejor medio y acarreador, los cuales generaron un formulado altamente adecuado en cuanto a producción, tiempo de cultivo, almacenaje y efectividad.

Producto de los resultados obtenidos, existe una alta demanda por parte de los agricultores para realizar pruebas de *B. thuringiensis*, en especial en cultivos de tomate de Quillota y Colín.

► 3. Desarrollos posteriores

Una vez finalizados los proyectos, la empresa realizó las investigaciones y regulaciones necesarias para obtener el registro correspondiente que otorga el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), el que la faculta para producir, distribuir y vender estos biocontroladores y, posteriormente, generar la transferencia de uso a la cadena de distribución, así como a asesores y actores relevantes, a fin de obtener un uso informado por parte de los agricultores. Así después de varios años de trabajo en campo, el producto NACILLUS®, se ha posicionado como el bactericida de mayor eficiencia y un referente en el manejo de bacterias fitopatógenas.

SECCIÓN 3

El valor de los proyectos

Los productos elaborados a partir de los proyectos precursores presentan un alto potencial en el mercado nacional e internacional (Anexo 2). Ello se explica por la integración de la venta de los productos con la asesoría técnica completa, lo cual aumenta las posibilidades de éxito de la empresa. Esto está acorde con las tendencias de consumo y mercado respecto a la inocuidad y sustentabilidad de la producción de alimentos, lo cual necesariamente implica el uso de herramientas biológicas para el manejo de plagas y enfermedades.

La empresa Bio Insumos Nativa cuenta con una sólida base científica que se expresa en sus múltiples trabajos desarrollados y expuestos en congresos científicos, así como publicaciones en revistas científicas y de difusión; además, ha generado una estrecha red de trabajo conjunto con universidades chilenas como la de Talca, la Católica del Maule y la de Chile, entre otras. Así mismo cuenta con una visión de negocio acorde a las exigencias del mercado.



Esta compatibilización de requerimientos comerciales con la generación de conocimiento científico, junto con un apoyo continuo de los instrumentos de Gobierno, como de FIA, han permitido una estrategia de I+D+i⁵ capaz de abordar integralmente problemas concretos de la agricultura chilena, cuyas soluciones consideran tres aspectos fundamentales: la valorización de la biodiversidad nativa, la generación de nuevos polos de desarrollo científico y económicos, como la biotecnología y ecología aplicada al control biológico, y la solución de problemas de alto impacto sobre la producción y acceso a mercados, por parte de los agricultores.

⁵ Investigación, desarrollo e innovación.

Anexos

Anexo 1. Fichas técnicas de los productos a base de *Bacillus* spp.

Anexo 2. Perspectivas de mercado de las herramientas a base de *Bacillus* spp.

Anexo 3. Literatura consultada

Anexo 4. Documentación disponible y contactos

ANEXO 1. Fichas técnicas de los productos a base de *Bacillus* spp.

Bacillus subtilis

- Producto: NACILLUS®
- Registro SAG: N° 2.678
- Certificaciones: orgánica BCS Oko Garantie, homologación CERES e IMO
- Control: enfermedades bacterianas que afectan cultivos hortofrutícolas

Cultivo	Enfermedad	Dosis	Época de aplicación
Carozos (cerezo, durazno, nectarín, damasco y ciruelo)	Cáncer bacterial (<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>)	100 g/hl 100 g/hl 150 g/hl	Aplicación con 25, 75 y 100% de caída de hojas. Pleno invierno. Puntas verdes y plena flor.
Vid	Pudrición ácida (<i>Acetobacter</i> sp.)	3 kg/ha (en cada aplicación)	Aplicar en apriete, envero y pre cosecha (mojamiento 600-800 l).
Tomate	Mancha bacteriana (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>) Cancro bacterial (<i>Clavibacter michiganensis</i> <i>michiganensis</i>) Peca bacteriana (<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>)	300 g/hl (preventivo) 500 g/hl (curativo)	En almácigo, trasplante y posterior a cualquier labor que genere heridas. Aplicación foliar en almácigo y posterior a trasplante, amarra primer desbrote y aplicación de hormonas (después de cualquier labor que genere heridas). Luego, sólo en presencia de síntomas. Curativo, aplicaciones cada 3 días, hasta que las lesiones se presenten secas y sin avance.
Peral	Tizón de flor (<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>)	200 g/hl (según historial del huerto, curativo)	Aplicación foliar en 10, 25, 50 y 100% de floración. Repetir en caso de lluvias o heladas primaverales.
Avellano europeo	Tizón bacteriano (<i>Xanthomonas arboricola</i>)	150 g/hl	Aplicación en brotación y floración de amentos con mojamiento entre 600 y 1.000 l.
Arándano	Tizón bacteriano (<i>Pseudomonas syringae</i>)	150 g/hl	Aplicación en caída de hojas con mojamiento de 300 l/ha y en brotación y floración con 600 l/ha.
Kiwi	Bacteriosis del kiwi (<i>Pseudomonas syringae</i>)	150 g/hl 15 g/l	Aplicación como aspersion, según síntomas, con mojamiento de 1.500 l. Aplicación sobre cortes de poda y/o heridas.

Bacillus thuringiensis

- Producto: BETK-03®
- Registro SAG: N° 1.780
- Certificaciones: orgánica BCS Oko Garantie, homologación CERES e IMO
- Control: lepidópteros

Cultivo	Plaga	Dosis recomendada (g/hl)	Recomendación de aplicación	Frecuencia de aplicación
Tomate	Polilla del tomate (<i>Tuta absoluta</i>)	100	Aplicar según monitoreo y grado de infestación de la plaga. Aplicar a los primeros estadios de la plaga. Aplicar en las horas con menor radiación solar, con un volumen de mojamiento entre 200 y 300 l, según estado fenológico del cultivo. Repetir cada 8 días dependiendo del grado de infestación, con un límite máximo de 5 aplicaciones por temporada.	Cada 8 días

Compatibilidad con agroquímicos. *B. subtilis* y *B. thuringiensis* deben aplicarse en forma separada de otros productos agroquímicos, a menos que se realice una prueba de compatibilidad. En el caso de requerirse el uso de compuestos cúpricos y antibióticos, éstos deben aplicarse antes del biocontrolador y espaciados a lo menos 5 días.

Almacenaje. La formulación de estas especies de *Bacillus* corresponde a un polvo mojable, que mantenido en un ambiente seco y fresco es capaz de mantener su población y actividad por 12 meses. Una vez abierto se debe evitar su contacto con la humedad, en caso contrario debe utilizarse inmediatamente.

Toxicidad. Las especies de *Bacillus* seleccionadas en el proyecto presentan baja toxicidad para los mamíferos, sin embargo, se deben tomar las medidas de seguridad propias de toda aplicación fitosanitaria. Debe evitarse la ingestión y el contacto con mucosas y heridas en la piel; en caso de ocurrir alguna de estas situaciones, la zona afectada debe lavarse con abundante agua y jabón y, en caso de ingestión, no inducir vómito. *Este biocontrolador no posee carencias ni tolerancias y el período de reingreso es de dos horas.*

Forma de aplicación. El formulado en polvo está compuesto por esporas de la bacteria y los compuestos obtenidos durante su fermentación, más un acarreador a base de arcillas. Las esporas son capaces de soportar temperaturas de 80 °C y ausencia absoluta de humedad; no obstante, una vez germinada, para desarrollarse la bacteria requiere temperaturas inferiores a 35 °C y humedad, por lo que en el verano las aplicaciones deben realizarse en las horas de menor temperatura y en las más cálidas durante el invierno. Debe realizarse un eficiente mojado del cultivo a tratar, dado que no se ha demostrado una actividad sistémica de estas bacterias.

ANEXO 2. **Perspectivas de mercado de las herramientas a base de *Bacillus* spp.**

La empresa Bio Insumos Nativa actúa como productor y distribuidor de los productos basados en *Bacillus subtilis* y *B. thuringiensis*, y en el mercado nacional compete con las grandes empresas de productos químicos tradicionales como BASF, Bayer y ANASAC.

Los productos de Bio Insumos Nativa se clasifican como sustitutos ya que reemplazan a los plaguicidas tradicionales y a los antibióticos y sales cúpricas.

Bacillus subtilis

En la actualidad se venden 1.000 kg de antibióticos tradicionales con fines agrícolas al año, a un precio de \$ 50.000/kg. La empresa tiene capacidad para producir 50.000/kg/año de este nuevo producto, el cual se estima, podría reemplazar completamente el uso de antibióticos y sales cúpricas. Según información entregada por la empresa, el valor comercial de este producto es de \$ 35.000/kg.

El mercado potencial de este producto incluye productores de carozos, arándanos, avellanos, kiwis, brasicas, tomate y papas, cultivos que se ven afectados por enfermedades bacterianas. No existen estadísticas de la superficie de cada cultivo afectada por estas enfermedades, aunque se tiene la certeza que al presentarse la infección se puede perder la totalidad de la producción si no se controla a tiempo. Es por esto que sólo en el rubro de carozos existe un mercado potencial de 45.000 ha plantadas en Chile, mientras que la superficie de tomate y papa suma las 85.000 ha en todo el país. Estas cifras muestran el gran potencial comercial que tiene el producto a base de *Bacillus subtilis*.



Nativa

Nacillus®

Bactericida Biológico para hortalizas

Nacillus® es un formulado biológico compuesto por cepas nativas de biocontroladores *Bacillus* spp. y *Brevibacillus brevis*, con acción de amplio espectro sobre bacterias fitopatógenas



Nacillus®

El uso de controladores biológicos, para el manejo de bacterias fitopatógenas, se presenta como una alternativa viable aceptada por el mercado, frente a la falta de eficacia y a problemas ambientales, salud humana y surgimiento de resistencia, que se asocia al uso de compuestos cúpricos y antibióticos.

La prospección, aislamiento, evaluación y el desarrollo de este controlador biológico, ha sido fruto del trabajo de Bio Insumos Nativa, el que ha contado con el valioso apoyo de la fundación para la Innovación Agraria (FIA) y CORFO.

- *Este producto puede ser almacenado en bodega por 12 meses a partir de su fecha de elaboración.
- *Está recomendado para la Producción Orgánica y Buenas Prácticas Agrícolas.

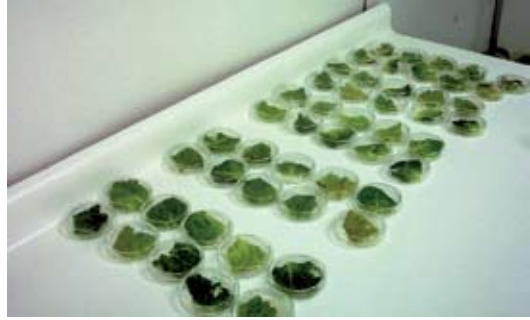
CERTIFICACIÓN Y REGISTROS

NACILLUS®, cuenta con registro vigente SAG N° 2678. Además está certificado como insumo orgánico por BCS Öko-Garantie, Alemania.

Bacillus thuringiensis

El formulado desarrollado a base de *B. thuringiensis* se ha comenzado a posicionar en el mercado con buenos resultados a nivel de campo, integrándose a programas de control junto con el uso de insecticidas químicos.

Nuevos ensayos han mostrado un aceptable nivel de control en otras plagas como *Proeuilia* en vid y arándano, lo que amplía en forma significativa el mercado potencial, que podría ser cercano a las 100.000 ha.



ANEXO 3. **Literatura consultada**

Donoso, E., Lolas, M. y Muñoz, C. 2006. Evaluación de cepas nativas de la bacteria *Bacillus subtilis* en el biocontrol de enfermedades bacterianas de cultivos hortofrutícolas de importancia regional. Universidad de Talca. 32 p.

ODEPA. [En línea]. Estadísticas Agrícolas. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). <<http://www.odepa.gob.cl>> [Consulta: noviembre, 2007].

SAG. 2004. Declaración de Ventas de Plaguicidas, año 2004. 152 pp. [En línea]. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). <[http://www.sag.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhR\]AS2Wp3v88hMmV7C%2FJUaT%2B&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivold=1645](http://www.sag.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhR]AS2Wp3v88hMmV7C%2FJUaT%2B&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivold=1645)> [Consulta: noviembre, 2007].

ANEXO 4. **Documentación disponible y contactos**

El presente documento, su ficha correspondiente y los informes finales de los proyectos precursores se encuentran disponibles como PDF, en el sitio Web de FIA “Experiencias de Innovación para el Emprendimiento Agrario” (<<http://experiencias.innovacionagraria.cl>>), al cual también puede ingresar desde la página de inicio del sitio Web institucional, desde la opción “Experiencias de Innovación de FIA” (<www.fia.gob.cl>).

Contacto: fia@fia.cl