



Actividad nematocida de hidrolizados proteicos de origen vegetal.

C. Fernández, B. López, M. Almazán y O. Daura

Introducción

El objetivo general de ENZYTECH era diseñar las bases para desarrollar un proceso biotecnológico que permitiera obtener moléculas bioactivas (L-aminoácidos y/o péptidos de bajo peso molecular) con acción bioestimulante y fitosanitaria de bajo riesgo, a partir de la fracción proteica de diferentes subproductos locales de origen vegetal. Por ello se seleccionaron 4 de 29 posibles fuentes vegetales y se caracterizaron en detalle, determinándose el perfil amino-acídico, el contenido lipídico, la humedad, el contenido de materia inorgánica, de carbohidratos, y metales pesados así como su análisis microbiológico. Las 4 fuentes cumplían con la normativa de legislación para fertilizantes (Anexo V del Real Decreto 506/2013).

A partir de las 4 fuentes vegetales seleccionadas, se prepararon 16 prototipos preliminares variando las condiciones de extracción e hidrólisis enzimática a escala laboratorio (en biorreactores de 2L).

Los prototipos fueron evaluados en diferentes bioensayos para determinar su posible actividad Bioestimulante (promotora del crecimiento vegetal y/o anti-estrés hídrico o salino) y Fitosanitaria (anti-microbiana y/o nematocida).

El objetivo del presente estudio era determinar si la actividad nematocida previamente observada con algunos de los hidrolizados procedentes del biorreactor de 2L (LEITAT) se mantenía cuando estos se producían en biorreactores de 14L y 130L (FUTURECO BIOSCIENCE).

Materiales y Métodos

Inicialmente se realizaron 2 bioensayos *in vitro* para evaluar la actividad nematocida (frente a huevos o juveniles del nematodo *Meloidogyne*) de diferentes hidrolizados producidos en biorreactor de 14L.

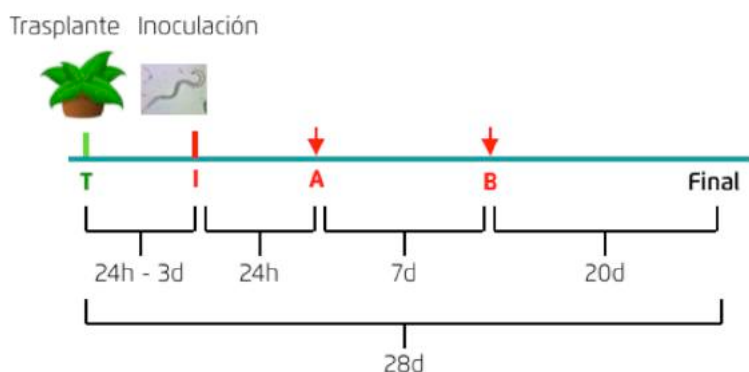
Tabla 1. Prototipos de diferentes hidrolizados evaluados en los diferentes bioensayos *in vitro* e *in vivo*.

Hidrolizado	Composición	Biorreactor 14L	Biorreactor 130L
M3	Fuente 1 + SND B25	✓	
M7	Fuente 2 + cóctel de enzimas comerciales	✓	
M11	Fuente 2 + SND B25	✓	
M13	Fuente 3+ SND B25 + cóctel de enzimas comerciales	✓	
COMBI	Fuente 1 + Fuente 2 + Fuente 3 + Fuente 4 + SND B25		✓

Fuentes 1, 2, 3, y 4: CONFIDENCIAL (pendiente de patente). SND B25: Sobrenadante de la fermentación en Biorreactor de *Lysobacter enzymogenes* cepa B25 (patentada por Futureco Bioscience)

Seguidamente se evaluó *in vivo*, el efecto de los diferentes hidrolizados en la capacidad de penetración (2 ensayos en cámara climática, Figura 1) y de reproducción (3 ensayos a invernadero, Figura 2) en el tejido vegetal en dos cultivos: tomate y pepino.

Figura 1. Diseño experimental de los bioensayos *in vivo* de evaluación de penetración.



Diseño de Tecnologías Enzimáticas a partir de subproductos de origen vegetal para la obtención de moléculas bioactivas con acción bioestimulante y/o fitosanitaria de bajo riesgo.



UNIÓN EUROPEA
Fondo Europeo de Desarrollo Regional

ACCIÓ



Generalitat de Catalunya

Los resultados de este estudio son parte del Proyecto ENZYTECH (RD-15 a 0054) presentado en ACCIÓ y cofinanciado en el Marco del Programa Operativo FEDER de Cataluña desde 2014 hasta 2020



Los nematodos del género *Meloidogyne* habitan en casi todas las regiones templadas y cálidas del mundo, y son parásitos internos de raíces de especies vegetales, muchas de ellas agrícolas, por lo que su infección se considera de riesgo económico. Son inductores de agallas que afectan la absorción de nutrientes y el ciclo vital de las plantas.
 Arriba huevos y juvenil de *Meloidogyne*.
 En medio, agalla con tres masas de huevos. Abajo, sistema radicular de tomatera con agallas producidas en el tejido vegetal por *Meloidogyne*.



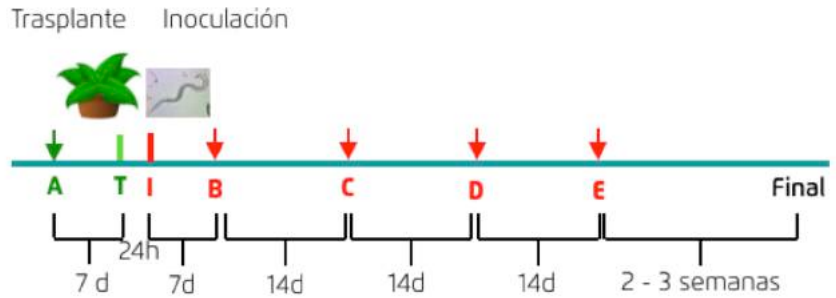
Para más información sobre estos ensayos contactar con research@futurecobioscience.com

Futureco Bioscience SA,
 Avenida del Cadí 19-23
 Sant Pere Molanta 08799
 Olerdola (Barcelona)
 España

www.futurecobioscience.com

Good for your crops, good for the environment

Figura 2. Diseño experimental de los bioensayos *in vivo* de evaluación de la reproducción



Resultados y Discusión

Tabla 2. Resumen de las eficacias obtenidas en los 7 bioensayos

Ensayo	IN VITRO		IN VIVO Ensayos Penetración		IN VIVO Ensayos Reproducción		
	N180515	N180515	180604 CC	180627 CC	180417 IN	180531 IN	180605 IN
Parámetro	Eficiencia		Penetración		Reproducción		
Estadio/cultivo	Huevos	Juveniles	Pepino	Tomate	Tomate	Pepino	Tomate
M3	37.8 c	87.3 a	72.5 a	25.3 b	16.8 c	70.6 a	45.7 b
M7	43.1 bc	96.4 a	54.3 ab	73.8 a	60.7 ab	89.5 a	48.4 b
M11	54.3 b	95.9 a	53.6 ab	74.1 a	39.9 bc	81.9 a	
M13							58.0 b
COMBI							56.5 b
Biológico 1			9.0 b	70.7 a			
Químico 1	75.9 a	89.5 a	91.8 a	87.2 a		25.6 b	
Químico 2					84.1 a		83.8 a
			Nivel de infección en las Plantas Control				
			180604 CC	180627 CC	180417 IN	180531 IN	180605 IN
			Penetración		Reproducción		
			Pepino	Tomate	Tomate	Pepino	Tomate
Control Huevos/Planta			138,67	14,0	473.998	13.542	3.079.001
Control Huevos/g raíz			53,01	11,67	26.019	2.358	208.210

Los datos de una misma columna que presentan la misma letra no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Los Productos de Referencia (Químico 1, Químico 2 y Biológico 1) son productos nematocidas comerciales.

Los tres hidrolizados evaluados en condiciones *in vitro* (M3, M7 y M11) mostraron eficacia en la reducción de la eclosión de los huevos (entre 37.8% y 54.3%) y sobre todo respecto a la supervivencia de juveniles del nematodo agallador, logrando eficacias entre 87% y 96% comparables con el químico de referencia (Tabla 2, columna 2-3).

Los 3 hidrolizados evaluados redujeron notablemente la penetración del nematodo en la planta, en general al mismo nivel que el nematocida químico de referencia e incluso mucho mejor que el nematocida biológico comercial en el caso del cultivo de pepino (Tabla 2, columna 3-4).

Finalmente, la eficacia respecto a la reproducción del nematodo en plantas de pepino fue muy elevada (entre el 70.6 y 89.5%), siendo muy superior al químico de referencia (25.6%). En el caso de los bioensayo en tomate, aunque las eficacias comparadas con el químico comercial eran menores, en general fueron notables (a excepción de M3 en uno de los ensayos), sobre todo teniendo en cuenta el elevadísimo nivel poblacional del nematodo (Tabla 2, columnas 5, 6 y 7).

Conclusiones

Los 5 prototipos preliminares basados en diferentes hidrolizados proteicos presentaron un elevado efecto sobre la eclosión de huevos del nematodo fitoparásito *Meloidogyne*, así como sobre la supervivencia de juveniles, la penetración de los mismos en plantas de tomate y pepino, y en la reducción de la reproducción del nematodo en estos cultivos.

Aunque son prototipos preliminares y aún hay que optimizar el diseño para su producción a escalas piloto e industrial, con el fin de reducir dosis y costes de producción, los resultados presentados en esta ECOLETTER son prometedores.