

**Bioproducción de compuestos
fertilizantes y fitosanitarios
innovadores**

Empleo de técnicas biotecnológicas como herramienta para obtener principios activos de aplicación agrícola **04**

Nuevas tendencias y aplicaciones: compuestos fertilizantes y fitosanitarios innovadores **09**

Bioproducción como herramienta para la obtención de compuestos fertilizantes Y fitosanitarios innovadores **15**

RETOS A SOLVENTAR - Puntos clave a la hora de asegurar el éxito de un producto basado en microorganismos **21**

Empleo de técnicas biotecnológicas como herramienta para obtener principios activos de aplicación agrícola

>Introducción

- ✓ Existe una **demanda creciente** por parte del consumidor de productos saludables y libres de químicos.
- ✓ Los principios activos de **base biológica** con aplicaciones en agricultura permiten sustituir a los actuales fitosanitarios **químicos**.
- ✓ Son productos basados en **microorganismos** que se encuentran en el propio **ecosistema de la planta**.
- ✓ Este tipo de tratamiento **no deja residuos** en los cultivos. Este punto es de especial importancia en tratamientos post-cosecha.



> Biotecnología Industrial – *White Biotechnology*

La **biotecnología industrial** o “**White Biotechnology**” integra un conjunto de técnicas que emplean **enzimas y microorganismos** para obtener productos en los sectores químico, agrícola, alimentación humana, alimentación animal y cosmética.

Desde el Departamento de Bioensayos de AINIA, la I+D+i que se realiza en el área de **White Biotechnology** se centra en el **desarrollo y optimización** de esos procesos, mediante el adecuado empleo de métodos fisiológicos y tecnológicos y siempre orientando los procesos desde el inicio a buscar la mayor **viabilidad industrial**.

- **Bioproducción:** Producción de Microorganismos con distintas funcionalidades, *starters* industriales y probióticos.
- **Biosíntesis:** Síntesis de compuestos de alto valor añadido a partir de microorganismos seleccionados.
- **Biocatálisis:** Transformaciones biológicas de productos mediante el empleo Enzimas y de Microorganismos seleccionados.

> Biotecnología Industrial – White Biotechnology

BIOPRODUCCIÓN

starters



Microorg. bioestimulantes



BIOSINTESIS

Pigmentos



PUFAs

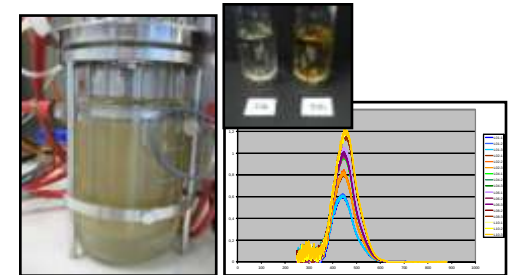


Bioplásticos



BIOCATÁLISIS

Producción de enzimas



Hidrólisis enzimáticas



>Principios activos para aplicación agrícola

Bionutrientes

Bioestimulantes

Inductores de Defensas

Bioinsecticidas

Microorganismos antagonistas

Bacteriófagos



>Principios activos para aplicación agrícola obtenidos mediante Bioprocesos

	Bioproducción		Biosíntesis		Biocatálisis	
Bionutrientes						
Bioestimulantes						
Inductores de Defensas						
Bioinsecticidas						
Microorganismos antagonistas						
Bacteriófagos						



Nuevas tendencias y aplicaciones: compuestos fertilizantes y fitosanitarios innovadores



> Situación actual

Actualmente existen en el mercado una gran variedad de productos que ya contienen entre sus ingredientes algún microorganismo o algún derivado.

- ✓ **Bacterias:** *Bacillus thuringiensis*
Bacillus subtilis
Pseudomonas fluorescens
- ✓ **Hongos:** Especies del género *Trichoderma*
Especies del género *Ampelomyces*
Beauveria bassiana
- ✓ **Microalgas:** *Spirulina platensis*
Especies del género *Chlorella*
- ✓ **Macroalgas:** Extractos de Algas
- ✓ **Metabolitos:** Fitohormonas
Aminoácidos libres



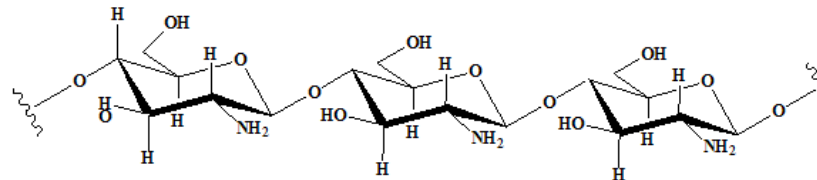
>Técnicas preventivas: Inductores de defensas

Los **inductores de defensas** son sustancias que activan la sistema inmune de la planta. Estos compuestos, también llamados **PAMP's** (Pathogen-Associated Molecular Patterns) y suelen ser compuestos presentes en las **paredes celulares** de los microorganismos patógenos, que, una vez son detectados por los receptores en la planta inducen una amplia variedad de respuestas en los cultivos.

Estos compuestos son de aplicación **precosecha** en plantas y cultivo como **postcosecha** en frutas y verduras.

Algunos ejemplos de principios activos con aplicaciones en agricultura:

- ✓ **Metabolitos:**
 - Elictores Bacterianos** (Polisacáridos, Polipéptidos, flagelina)
 - Elictores Fungicos** (Quitina, Quitosano, Polioliogluconos).



> Nuevos Retos: Enfermedades sin control químico efectivo

Síndrome del decaimiento rápido en Olivo *Xylella fastidiosa*



Fuente: EPPO



Marchitez bacteriana en tomate *Ralstonia solanacearum*



Fuente: Junta de Andalucía



Fuego bacteriano en frutales *Erwinia amylovora*



Fuente: EPPO



Huanglongbing - Greening de los cítricos *Candidatus Liberibacter spp*



Fuente: Junta de Andalucía



>Uso de Bacteriófagos para control de enfermedades bacterianas sin tratamiento químico efectivo

Los Bacteriófagos son **virus** capaces de infectar de forma específica a determinadas bacterias y causar su inactivación.

Se encuentran naturalmente en el medio ambiente, **coexistiendo junto con los microorganismos** a los que fagocitan, por lo que esta estrategia se considera natural y presenta numerosas ventajas, al **afectar únicamente a los microorganismos diana** y no provocar resistencias como en el caso de los antibióticos. El uso de bacteriófagos es **totalmente inocuo** y ya goza con clasificación GRASS para usos alimentarios.

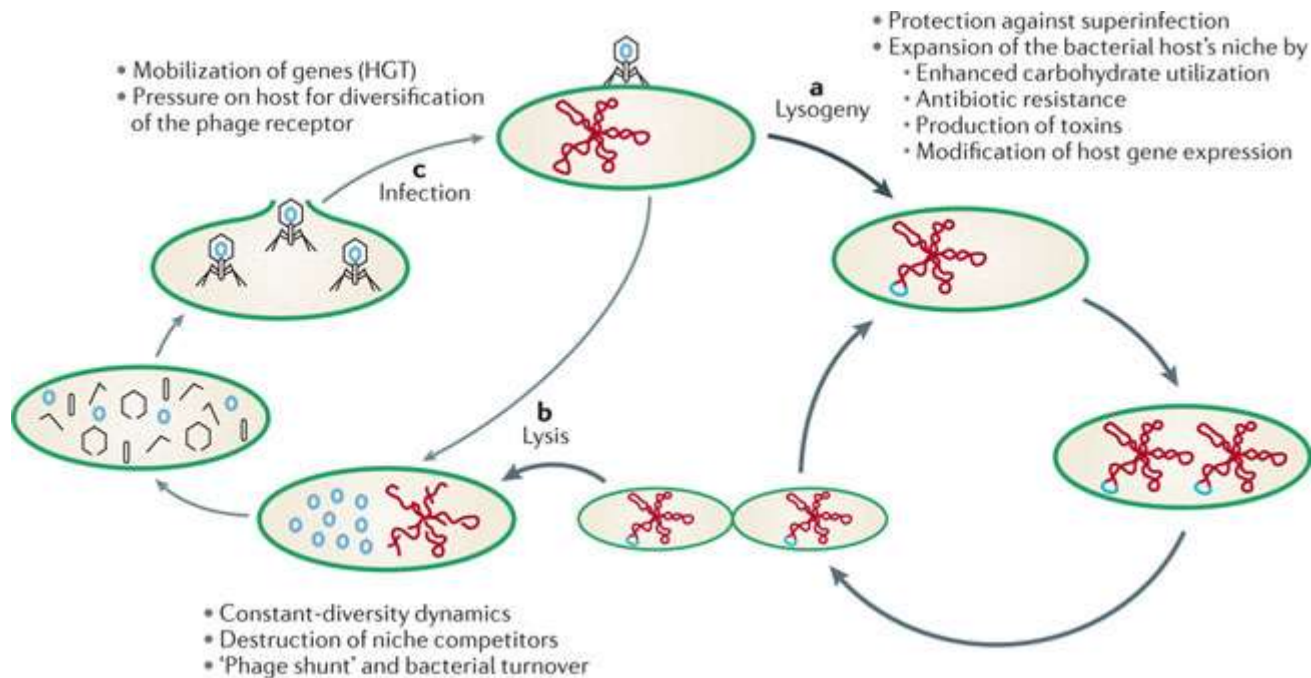
✓ Otros microorganismos patógenos:

Pseudomonas syringae en **kiwi**
Xanthomonas fuscan en **cítricos**



>Uso de Bacteriófagos para control de enfermedades bacterianas sin tratamiento químico efectivo

Sea cual sea el sector de aplicación final, cuando se plantea emplear **bacteriofagos como control bacteriano**, siempre se buscará seleccionar un bacteriófago con capacidad lítica, es decir aquellos que, por su naturaleza más virulenta, provocan la **lisis de la bacteria huésped** en su proceso de multiplicación.



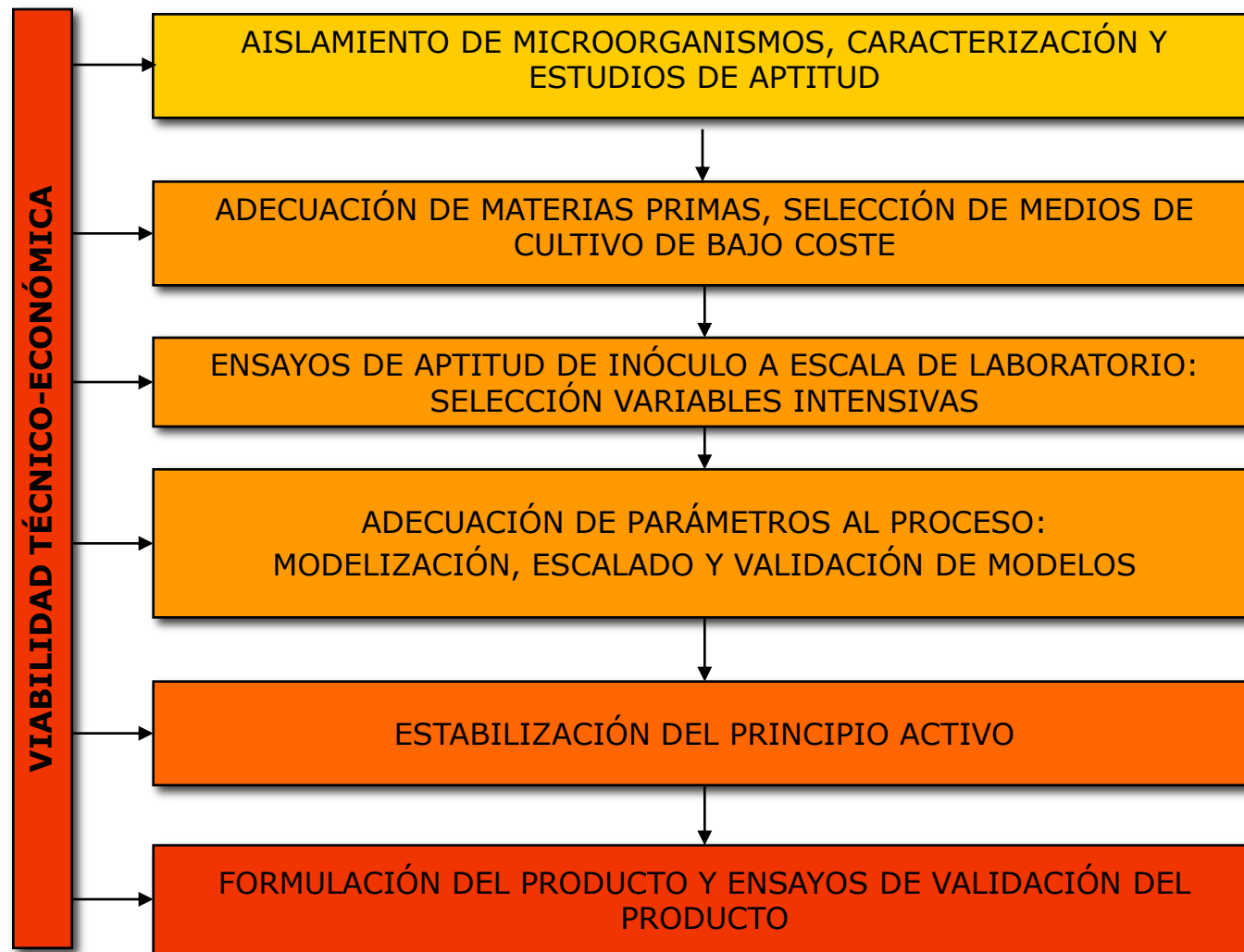
Fuente: Nature Reviews



Bioproducción como herramienta para la obtención de compuestos fertilizantes y fitosanitarios innovadores



>Esquema general



> FASE 1 (LABORATORIO): Aislamiento, caracterización y mantenimiento de microorganismos de aplicación en agricultura

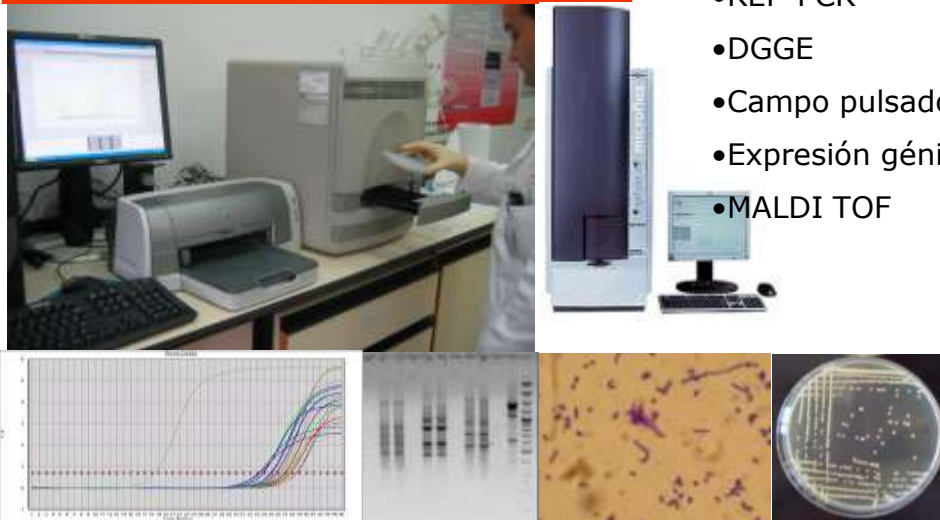
Aislamiento y obtención de microorganismos



Fuentes de microorganismos:

- Matrices alimentarias
- Aguas residuales
- Co-productos
- Colecciones de referencia

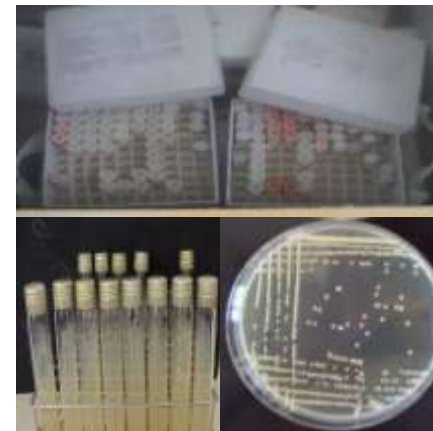
Caracterización genética y molecular



Técnicas:

- PCR en tiempo real
- REP-PCR
- DGGE
- Campo pulsado
- Expresión génica
- MALDI TOF

Conservación de microorganismos

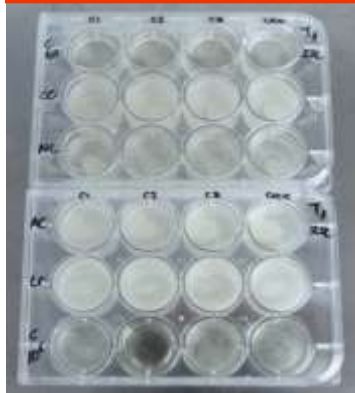


Actividades:

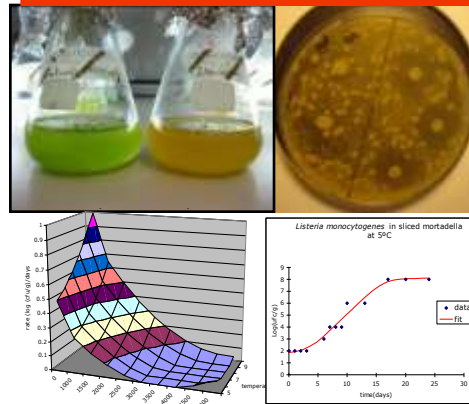
- Crioconservación
- Mantenimiento cepario
- Viabilidad
- Pureza

>FASE 1 (LABORATORIO): Determinación de las variables intensivas y evaluación de la aptitud del microorganismo a escala *in-vitro*

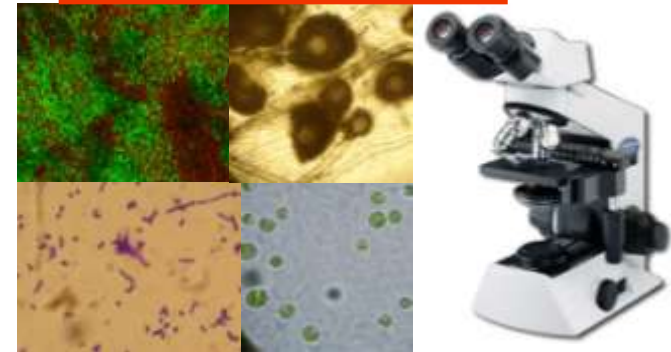
Sistemas miniaturizados



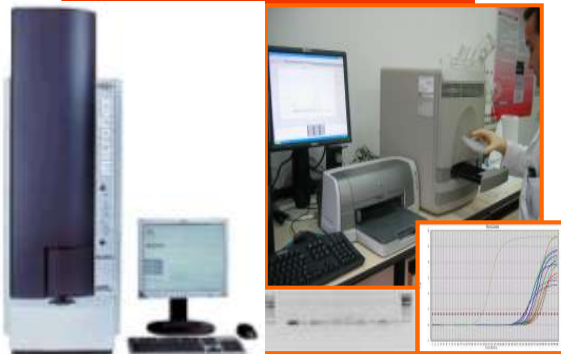
Métodos tradicionales



Microscopia



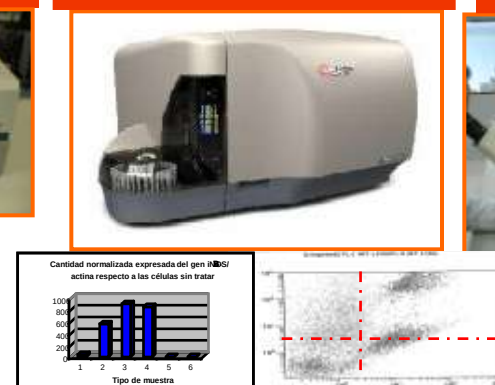
Análisis molecular



Espectro-fluorimetría



Citometría de flujo

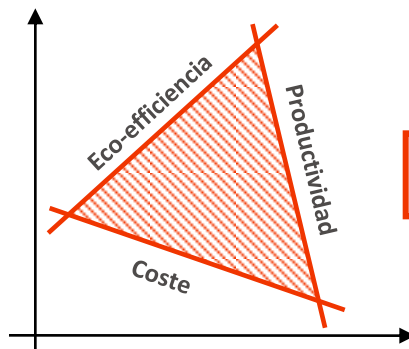


Cultivo celular



> FASE 2 (PILOTO): Escalado de Bioprocesos: Determinación de variables extensivas y viabilidad del proceso productivo

- **Objetivo:** Selección de las **condiciones de diseño** que aseguren que el efecto de las distintas **variables** sobre un proceso es el mismo en unidades de distinto tamaño, consiguiendo de ese modo **rendimientos** y **calidades** similares.
- El proceso de escalado está basado en la **experimentación** y en la **demonstración** a una menor escala.



Productividad vs. Costes Productivos vs. Eco-eficiencia

>Optimización del proceso de fermentación

Influencia en la calidad de los cultivos

El número de generaciones que se requieren para llegar a una concentración celular final a partir de un determinado nivel de inóculo.

$$N_g = 1,44 (\ln V + \ln X - \ln X_0)$$

Esterilización

Los fermentadores de mayor volumen requieren distintos sistemas de esterilización.

Agitación y Aeración: Variables Extensivas

La forma y el tamaño del recipiente, así como el sistema de agitación influyen sobre la transferencia de oxígeno

Intercambio de calor

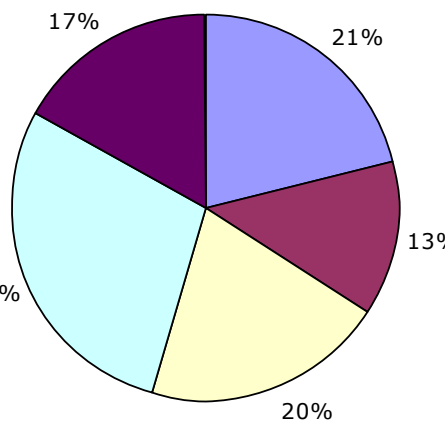
El calor generado por el proceso es proporcional al volumen, mientras que el intercambio de calor es proporcional a la superficie.

RETOS A SOLVENTAR - Puntos clave a la hora de asegurar el éxito de un producto basado en microorganismos

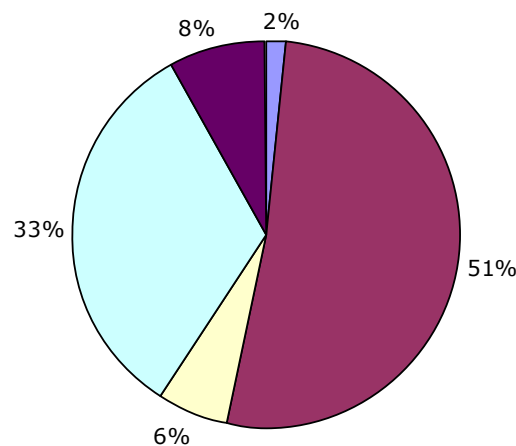
>Coste vs fitosanitarios químicos

- El coste de las materias primas el parámetro que más influye en el coste final de un producto obtenido por bioproducción.
- Los consumos energéticos tienen una incidencia mayor en el caso de sistemas agitados o en el caso de microorganismos dependientes de la luz (fototróficos).
- Es importante dimensionar la escala final del producto para que los costes de amortización sean asumibles por el producto.

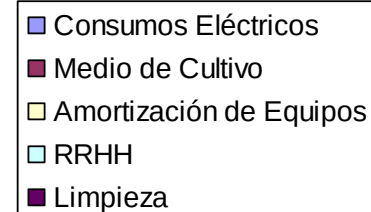
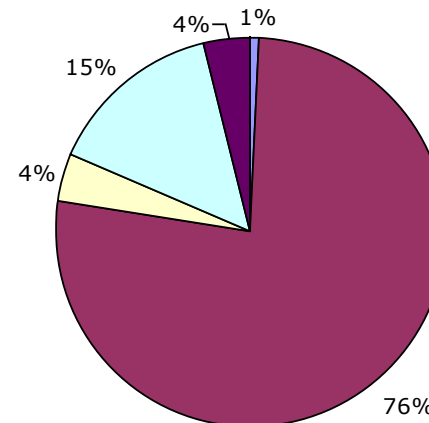
200 Litros



5.000 Litros

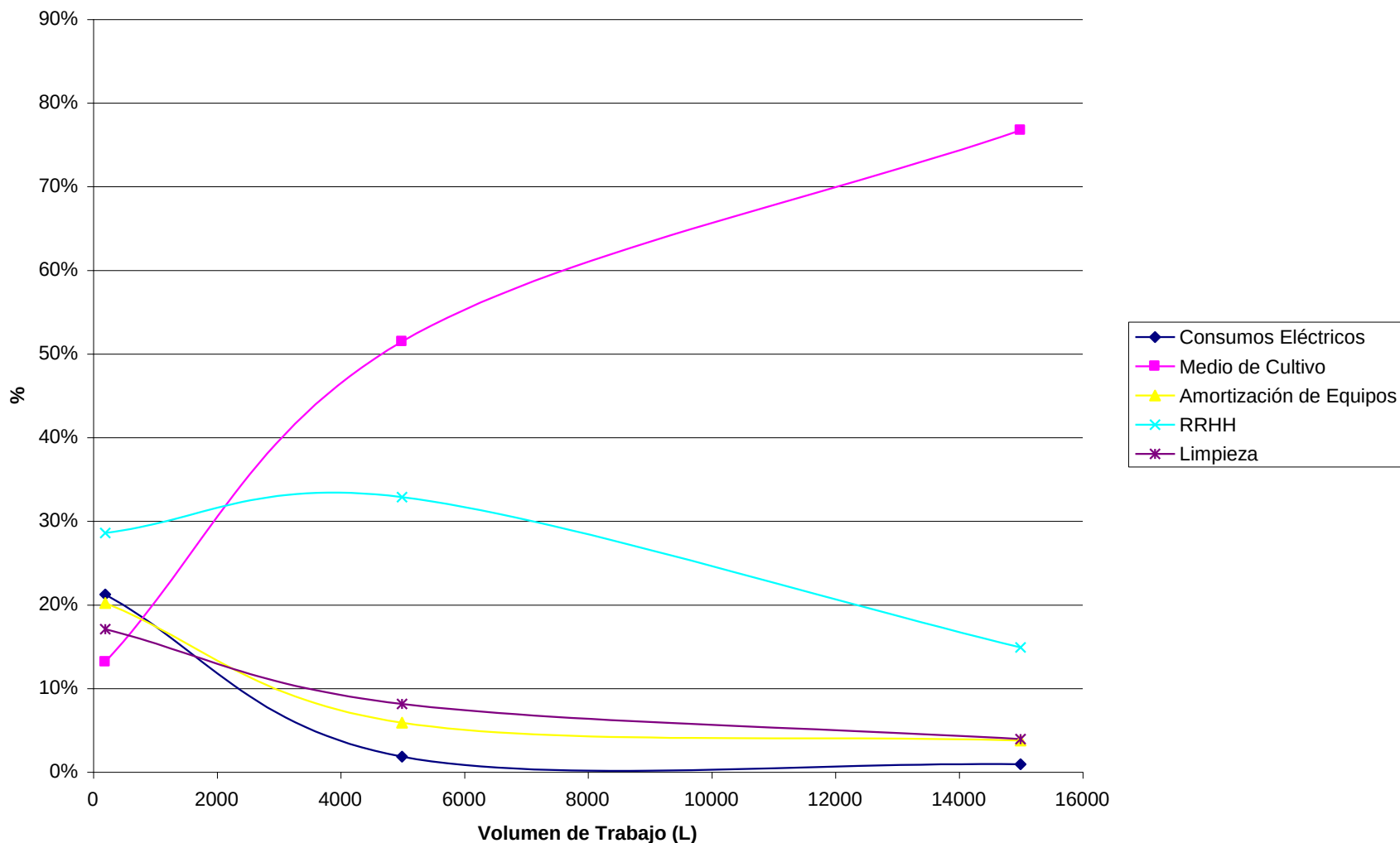


20.000 Litros



01. Evolución de los distintos elementos que influyen en el coste de un producto con la escala.

> Viabilidad industrial de los procesos bioproductivos



02. Evolución de los distintos elementos que influyen en el coste de un producto con la escala.

>Estabilidad y compatibilización con otras matrices

Una de las etapas finales en un proceso de bioproducción, es la etapa de estabilización final del producto, que facilite su almacenamiento y su dosificación.

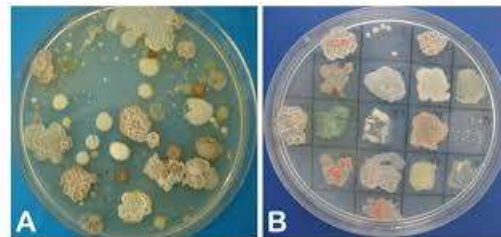
La eficacia del producto final depende directamente de la degradación que haya podido sufrir durante el proceso, por lo tanto, dar con un proceso de estabilización, con unas variables adecuadas, puede incrementar de manera relevante su eficacia, permitiendo también reducir los costes asociados.

- ✓ **Estabilización de formulaciones líquidas mediante conservantes químicos**
- ✓ **Liofilización y secado por Spray Drying**
- ✓ **Encapsulación de compuestos y/o microorganismos**

>Protección y diferenciación de bioproductos

La protección de las innovaciones relacionadas con un bioproducto pasan por la **patentabilidad** del uso de cepas de microorganismos

En el desarrollo de un bioproceso es imprescindible emplear **microorganismos aislados** para **diferenciarse** de la competencia, evitar acuerdos de transferencia y/o el pago de licencias a terceros



- ✓ Los microorganismos aislados permiten la diferenciación entre productos similares.
- ✓ Permite proteger el producto mediante patente (patente asociada al uso de una cepa concreta)

>Conclusiones

Biotecnología: Mediante la **bioproducción** de microorganismos, **biosíntesis** de metabolitos y la **biocatalisis** de materias orgánicas es posible obtener una gran variedad de productos con aplicaciones en agricultura:

- ✓ Bionutrientes y Bioestimulantes
- ✓ Inductores de Defensas
- ✓ Biocontrol (microorganismos y bacteriofagos)

Optimización de procesos y viabilidad económica : Durante el proceso de escalado se seleccionan las condiciones óptimas y que aporten mayor viabilidad al proceso. Para asegurar la viabilidad económica de este tipo de productos hay que trabajar en la reducción de costes durante el proceso de producción empleando medios de cultivo de bajo costes y/o subproductos de industrias agroalimentarias.

Importancia de aislar microorganismo como punto de partida para el desarrollo de un bioproceso: El empleo de microorganismos aislados permite diferenciar los nuevos productos de los ya existentes en el mercado.

La estabilización de los productos obtenidos: Este aspecto es clave para determinar la vida útil de un producto y su compatibilidad con otras matrices para su formulación

Muchas gracias por su atención

Ana Torrejón **961 366 690**