

INFORME ANUAL DE PROYECTO

Proyecto 79333: "Production and Application of Bio-products in Cultures of the Economical Importance"





Cuba

INFORME ANUAL DE PROYECTO (ITP)

1. Información básica del proyecto

Número y título del proyecto: (Insertar número y título abreviado)

79333: "Production and Application of Bio-products in Cultures of the Economical Importance"

Asociado en la implementación / Entidad Nacional de Ejecución: Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

Otras parte s responsables: (si las hubiera)

Cuatro instituciones de la investigación reconocidas de Argentina, México, Brasil y Cuba realizán los paquetes de trabajo propuestos. Dos participantes por la parte industrial están de acuerdo en colaborar para proporcionar la información requerida. Estos son:

- Universidad Autónoma de Coahuila (UAC), México
- Universidad Nacional de Tucumán (UNT), Argentina.
- Universidad de Ribeirão Preto (UNAERP), Brasil
- Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), Cuba
- Empresa Azucarera "España Republicana", Cuba
- Delegación Municipal de la Agricultura de San Miguel del Padrón, Cuba

Fecha de inicio

Prevista originalmente: Enero/2011 Real: Enero/2012

Fecha de término

Prevista originalmente: Enero/2013 Estimada: Enero/2014

Período del informe: (indicar el trimestre y año)

2012/1er. Año de ejecución

2. Progreso en la implementación del proyecto

Estado de los Riesgos del Proyecto:

Describir los principales riesgos identificados y las acciones tomadas para controlar/minimizar el riesgo.

Definición del riesgo	Acción	Responsable
En relación con la gestión comercial pueden presentarse: Afectaciones en la compra de equipos dado el nivel de especialización que requieren. Aumento de los precios de los equipos en el mercado.	Búsqueda de alternativas de proveedores en el exterior. Planificar para inicios del proyecto los insumos de mayor complejidad e iniciar la licitación en el 2011. Establecer un orden de prioridad de adquisición de equipamiento.	Aurelio Alfonso
Disponibilidad de transporte para viajes al interior del país donde se encuentren los campo cultivados necesarios a tratar para la evaluación de los productos y búsquedas de nuevas cepas de microorganismos.	Seguimiento de los aportes locales constituidos por el ICIDCA, MINAZ e industrias involucradas para los apoyos en transportación, hospedaje y atención a los especialistas involucrados en las tareas.	Ana Lidia González
Cambios de personal técnico pueden duplicar esfuerzos de capacitación.	Sistema de seguimiento con las instituciones y empresas comprometidas en cuanto a la asignación de recursos humanos a capacitarse.	Georgina Michelena
	Propiciar encuentros a través de sesiones de trabajo, intercambios y talleres entre los técnicos capacitados de las industrias beneficiadas.	
Afectación en la extensión de los resultados del proyecto y la aplicación de las soluciones tecnológicas propuestas como salidas de los desarrollos tecnológicos para el aumento de las capacidades productivas.	Interactuar en el marco del proyecto con las autoridades de AZCUBA para la elaboración e inclusión en los planes de inversión de los nuevos desarrollos inversionistas concebidos en las plantas de Cuba 10, EA Dos Ríos y España Republicana. Planificado para el 2do semestre del 2do AWP (2012).	Georgina Michelena

Problemas de implementación:

Describir los principales obstáculos experimentados durante la implementación. Incluir las estrategias o acciones ya ejecutadas para enfrentar estas dificultades.

Obstáculo identificado

Acción

Por errores en la coordinación del organismo superior el proyecto no se incluyó en el Plan de la Economía y las compras previstas con proveedores no pudieron realizarse.

Para garantizar la ejecución del proyecto se adelantaron y efectuaron tareas de capacitación, y producción de Bioproductos que dependían del financiamiento de las instituciones participantes.

3. Desempeño del Proyecto – Grado de avance hacia el logro de los resultados

Resultados esperados en el marco de resultados estratégicos PNUD (2004-2007):

Fortalecidas las capacidades nacionales para el manejo sostenible de tierras

Línea de servicio del MYFF que se aplica:

1.3. Establecidas áreas demostrativas con enfoque de MST, en el marco del CPP

Indicador de resultado:

1.3.1. No. Hectáreas donde se aplican prácticas para reducir la degradación de las tierras, bajo el CPP y a nivel de comunidades.

Meta anual (año):

Cumplir punto 1 y 2 que se especifican abajo

Cumplimiento de meta:

- 1. Producción de bio-productos y metabolitos microbianos con propiedades bioactivas en plantas incrementando el mecanismo de defensa, características de biocontroles y bioestimuladores en diferentes cultivos. Será enfatizado la variedad de microorganismos autóctonos procedentes de cada país participante en el proyecto.
- 2. Definir las dosis y condiciones de aplicación de los bioproductos en la agricultura. Definición de los esquemas tecnológicos de producción.
- 3. Cuantificación del efecto de la aplicación de los bioproductos de importancia económica.
- 4. Diseño de esquemas tecnológicos de producción de bioproductos a partir de microorganismos aislados de regiones propias de los países participantes.

Gr	Grado de avance en la contribución al resultado corporativo:		
	Cambio Positivo Cambio Negativo Sin cambios		

Resultado (Producto) Previsto en el Proyecto

Establecidas áreas demostrativas con enfoque de Manejo Sostenible de Tierras (MST), en el marco del Country Programme Parnertchip (CPP)

Actividades desarrolladas: (Descripción en base del producto esperado, categoría de actividades y fecha de inicio y finalización)

1. Desarrollo de tecnologías para la producción de bioproductos para la agricultura.

- a. Aislamiento de microorganismos potenciales
- b. Diseño de medios de cultivos y condiciones de producción
- c. Escalado de las producciones para disponer de volúmenes de productos a aplicar.

Producción biotecnológica del BIOJAS

Se presenta a modo de resumen todas las etapas que culminaron con el desarrollo del proceso del BIOJAS. Los estudios realizados han permitido definir un procedimiento fermentativo de producción de AJ.

Microorganismo: Se utilizó la cepa 715 y 1517 de Botryodiplodia theobromae obtenidas de la colección de microorganismos del Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT), La Habana, Cuba, la cual fue conservada en tubos inclinados con extracto de malta-agar (Merck) a 4° C.

Medio de cultivo: En la producción de AJ se utilizó el medio de cultivo Miersch (M-1, Tabla I) que utiliza sacarosa como fuente de carbono y nitrato de potasio como fuente nitrogenada.

Inóculo y condiciones de fermentación. Se utilizaron placas petri con 25 mL de extracto de malta-agar, las cuales, se inocularon por estría a partir de micelio de la cepa 715 de Botryodiplodia theobromae procedente de los tubos inclinados crecidos durante 3 días, las placas petri sembradas se incubaron por 5 días a 30°C. El medio de cultivo se ajustó a pH 5.5 con NaOH (1N) y se esterilizó durante 15 minutos a 120°C. Se inocularon 10 fragmentos miceliales de 8 mm de (obtenidas a partir de siembras realizadas en placas petri, en erlenmeyers de 500 ml con 100 ml de medio de cultivo Miersch utilizado como preinóculo, se incubó a 30°C durante 3 días. Concluída la etapa de crecimiento del microorganismo, éste es inoculado en Erlenmeyers de 1 a 5 L de capacidad total a 30°C, cultivo sin agitación y 0.05 vvm de aireación durante 15 días. Transcurrido el tiempo de fermentación se realizó la cuantificación de AJ.

Detección y cuantificación de jasmonatos. El medio de fermentación se separó del micelio por filtración al vacío, utilizando papel de filtro Whatman N° 4. Alícuotas de 5 ml del cultivo filtrado se ajustaron a pH 3.0 con HCl (4M) y se sometieron a extracción con acetato de etilo (1:1). Las fracciones conteniendo el AJ se deshidrataron con sulfato de sodio anhidro y se llevaron a sequedad por rotoevaporación a 50°C. Para la determinación del AJ y compuestos relacionados se utilizó la técnica de Cromatografía gaseosa y HPLC.

1.

Optimización de los medios de cultivo

Con el objetivo de seleccionar un medio de cultivo que aportara las condiciones óptimas para la producción de AJ se realizó un estudio comparativo, entre tres medios de cultivo propuesto y el establecido por Günther y col. (1990), con las dos cepas seleccionadas.

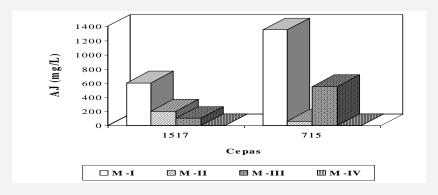


Figura 1. Efectos de diferentes medios de cultivo en la producción de AJ con Botryodiplodia theobromae cepas 715 y 1517.

Cinética de producción de ácido jasmónico

Los estudios cinéticos de producción de AJ se realizaron utilizando la cepa 715, en base a que es la cepa que mayor capacidad para producir AJ en el medio M-1.

En la figura 2 se presentan la cinéticas de producción de AJ, biomasa, comportamiento del pH y consumo de ART. Puede apreciarse que para la curva de producción de biomasa, primeramente una fase de latencia cercana a las 48 horas, en el cual el microorganismo se adapta al nuevo medio de cultivo, seguidamente una fase de crecimiento logarítmico que termina alrededor de la hora 144, en la que la velocidad de crecimiento máxima está en el orden de 0,013 h⁻¹ (media de 3 experiencias). A partir de la hora 144 comienza la fase estacionaria, alcanzándose un valor aproximado de 6.5 g/L de materia seca gravimétrica.

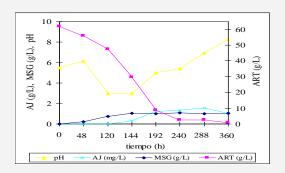


Figura 2. Cinéticas de producción de AJ, biomasa, comportamiento del pH y consumo de los ART en el cultivo de Botryodiplodia theobromae 715.

En la tabla I se presentan las respuestas productivas medias calculadas para el sistema empleado. Puede apreciarse que la productividad máxima de AJ se alcanza a la hora 192 con un valor de 6,28 mg/L-h, mientras que el YP/S es máximo a la hora 288 con un valor expresado en % de 2.61, por lo que si tenemos en cuenta ambas respuestas productivas el tiempo de la fermentación óptimo deberá estar entre las 192 y 240 horas de fermentación.

Tabla I. Respuestas productivas para la producción de AJ

tiempo (h)	PAJ	YP/S	YP/X	YX/S
	(mg/L-h)	(%)	(%)	(%)
	(IIIg/L-II)	(70)	(70)	(70)
144	2.08	0.93	4.39	21.08
192	6.28	2.26	18.44	12.27
288	5.40	2.61	23.98	10.89
360	2.86	1.69	14.91	11.31

Conclusiones

Es posible realizar la producción microbiológica de AJ a concentraciones en el orden de 1000 mg/L, en biorreactores estáticos hasta 50 L de volumen total con cultivo superficial. Este sistema es económico al no generar gastos energéticos asociados con suministro de aire y agitación y altos costos por equipamiento.

Producción biotecnológica, caracterización y uso fitosanitario de metabolitos bioactivos de Pseudomonas aeruginosa PSS

Se presentan los resultados obtenidos en la producción a escala piloto, caracterización y evaluación de los bioproductos Gluticid y HERBIO, constituidos por los metabolitos bioactivos de Pseudomonas aeruginosa PSS, para el control de microorganismos fitopatógenos y malezas. El aislamiento y purificación de los metabolitos bioactivos, se realizó a partir de los sobrenadantes libres de células, mediante el empleo de diferentes técnicas cromatográficas, lo que permitió identificar en el GLUTICID, el sideróforo del tipo Pioverdin tipo II, así como el metabolito antimicrobiano monoacetilfloroglucinol y en el HERBIO, fitotoxinas de naturaleza peptídica de PM cercano a 1000 Da.

El GLUTICID tiene una concentración de monoacetilfloroglucinol de 30-40 mg/g de producto comercial y de 0.45-0.50 mg/g de Pioverdin y un pH entre 5-6 . El HERBIO, contiene 10 mg de fitotoxina por g de producto comercial expresada como proteína y pH 4.5.

Microorganismo y condiciones de cultivo

Se empleó la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* PSS de la colección de cultivos del ICIDCA aislada del suelo.

Para la producción a nivel de planta piloto del GLUTICID y HERBIO, se escogieron las condiciones más promisorias de trabajo de la etapa de micro planta, con las adecuaciones pertinentes referidas a la agitación y aireación en las distintas etapas: preparación de inóculo a nivel de laboratorio en zaranda orbital; pre-fermentación,

utilizando los medios diseñados al efecto para cada uno, que para el GLUTICID está constituido por ácido glutámico como fuente de carbono y sales, y para el HERBIO por glicerina como fuente de carbono y sales, en un fermentador Biolafite de 50 L, con un volumen de trabajo de 35 L La etapa de fermentación, se llevó a cabo en un fermentador Marubishi de 500L, con un volumen de trabajo de 350 L, en el mismo medio que en el pre-fermentador.

Etapas de Post Fermentación (Down Stream)

Centrifugación: Se realizó en una centrifuga Sharples modelo AS26 IJV1 α Laval eMBH, trabajando a 12000 rpm min-1. Evaporación: La concentración del caldo centrifugado se realizó en el evaporador con régimen discontinuo. Secado: La operación de secado se efectuó en un secador del tipo secado por aspersión (spraydriers) Niro Atomiser, Copenhagen, Dinamarca. Se empleó como soporte sulfato de amonio.

Determinaciones analíticas

Crecimiento celular Se estimó mediante la medición de la absorbancia a una longitud de onda χ a 600 nm en un espectrofotómetro PM 2ª OPTON.

Determinación de fitotoxinas

Se realiza a los sobrenandantes libres de células (SLC) por el método del microbiuret (Frankhauser, 2004). Se expresa como mg/mL de proteína.

Determinación de pioverdin Se realiza por medición de la absorbancia a 400 nm, y asumiendo el coeficiente de absorción molar reportado para los pioverdines de ϵ 400 nm = 20 000 l x mol-1x cm-1. Para la determinación por HPLC, se extrae el pioverdin del Gluticid, con metanol y se acompleja con una solución 10 g/L de Cl3Fe . La fase móvil es Fase Móvil: MeOH : H2O : Ácido Acético 60:40:1

Actividad fitotóxica *in vitro* Se realiza en placas petri con papel de filtro humedecido, sobre hojas de romerillo (Bidens pilosa L.) recién cortada, sobre las que se aplicaron 100 μ L de muestra sobre la superficie adaxial. A las hojas testigos, se aplicó 100 μ L de agua. Se emplearon 3 hojas por tratamiento a evaluar. Las placas se sellaron con parafilm y se dejaron a temperatura ambiente. El efecto fitotóxico cualitativo (Hartman et al, 1984).se midió cada 24 horas según escala graduada de 1 al 4.

Cromatografía en placa delgada

La separación de la fitotoxina de los contaminantes no peptídicos del HERBIO, se llevó a cabo en placas de sílica gel de 10 x 20cm, activadas a 100oC, en las cuales se aplicó 15µl de los extractos etanólicos. Las placas fueron desarrolladas en los siguientes sistemas de solventes: Acetato de etilo – isopropanol - agua 15:30:20, Cloruro de metileno – acetona 9: 2n-Butanol – ácido acético – agua 4: 1: 1.

El HERBIO es un formulado en forma de polvo humedecible, que tiene las siguientes características: 4 % de humedad, 9 mg de fitotoxina expresada como proteína por g de producto comercial, pH: 4.5.

El principio activo del herbicida bioquímico HERBIO, son las fitotoxinas producidas por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS. Los resultados obtenidos, en el crecimiento celular, producción de fitotoxinas y consumo de glicerina, aparecen en la Figura 3. En la cinética del crecimiento celular se apreció un crecimiento rápido con una fase de latencia mínima (2 horas), seguido de una fase logarítmica que termina alrededor de la hora 16, en la que la velocidad específica de crecimiento máxima (μ max), está en el

orden de 0.24 h-1 El rendimiento biomasa / sustrato Y (x/s) es de 28 %. y el rendimiento producto sustrato Y (p/s) de 69.45 % .

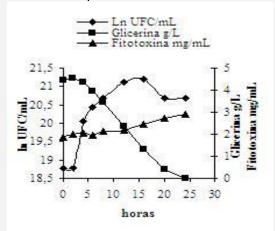


Figura 3 Crecimiento celular, producción de fitotoxinas y consumo de glicerina por la *Pseudomonas aeruginosa* PSS

Caracterización del HERBIO

La caracterización del HERBIO, formulado en forma de polvo humedecible aparece en las Tablas II y III

Tabla II Caracterización del HERBIO

Humedad %	2.13
рН	4.4
Fitotoxinas mg/g	9

Tabla III Actividad Fitotóxica in Vitro del HERBIO al 10 % según escala sobre hojas de romerillo (Bidens pilosa L)

Días					
mg de Fitotoxina 1 2 3 aplicada			3	4	
Fototoxicidad según escala					
Herbio 10 %					4
	0.125	2	3	3	4

Actividad fitotóxica medida cada 24 horas según la siguiente escala graduada de 1 al 4 donde:

- 1= No síntomas
- 2= Oscurecimiento de los bordes y algunas manchas obscuras
- 3= Manchas oscuras necrosadas en un 75 % de la hoja
- 4= Necrosis total de la hoja

La aplicación del HERBIO al 10 %, produjo la necrosis total de las hojas de romerillo a los 4 días. Desde las 24 horas, ya se apreciaron los primeros síntomas de oscurecimiento de los bordes de las hojas y algunas manchas obscuras y a las 48 horas, manchas oscuras necrosadas en un 75 % de la hoja y a los 4 días hay necrosis total lo que demuestra la efectividad del producto bajo las condiciones estudiadas.

Conclusiones

Los productos GLUTICID y HERBIO, producidos por vía biotecnológica y constituidos por los metabolitos activos, sideróforos y monoacetilfloroglucinol para el Gluticid y fitotoxinas para el HERBIO, representan una alternativa amigable con el medio ambiente para el control de microorganismos fitopatógenos, y el control de malezas respectivamente, con la consiguiente reducción de los fungicidas y herbicidas químicos.

Prospección de metabolitos microbianos con potencialidad de aplicación en la agricultura.

Se realizó la prospección de metabolitos bioactivos a microorganismos aislados de los depósitos ultramáficos de Cajalbána (Pinar del Río) y Cubanacán (Villa Clara) que pudieran ser promisorios para el desarrollo de nuevos bioproductos con fines agrícolas. Fueron aisladas 84 cepas microbianas (34 de Cajalbana y 50 de Cubanacán). 47 cultivos bacterianos fueron ubicados taxonómicamente en familia Enterobacteriaceae (18), género Azospirillum (12), Azotobacter (8) Beijerinckia (6) Pseudomonas (3). El 100% de las cepas fijaron nitrógeno atmosférico, el 58% solubilizaron fósforo inorgánico, el 57% presentaron actividad antagonista frente a Alternaria alternata, Fusarium solani, Fusarium moniliforme, Fusarium esporotrichium y Fusarium oxysporium. Fueron seleccionadas 5 cepas como las más promisorias para ser empleadas en procesos biotecnológicos, por excretar metabolitos que inhiben el crecimiento micelial en más de un 30% con respecto al testigo. Se seleccionaron dos cepas como las más promisorias pertenecientes a los géneros Azotobacter sp y Azospirillum sp , 2.8a y 3.8(1) respectivamente, ambas cepas excretaron enzimas proteasa al medio, con actividad en un amplio rango de pH y temperatura. El SLC de la cepa 2.8ª incrementó significativamente la longitud de tallo y raíz en plantas de rábano, al igual que las concentraciones de nitrógeno y fósforo aportadas a la planta.

Resultados alcanzados:

Fueron caracterizadas 84 cepas microbianas aislados de Cajalbana Pinar del Rió (34) y Cuabal Cubanacán, Villaclara,(50). 47 cultivos bacterianos fueron ubicados taxonómicamente en familia Enterobacteriaceae (18), género Azospirillum (12) Azotobacter (8) Beijerinckia (6) Pseudomonas (3) mediante pruebas bioquímicas y fisiológicas.

Solubilización de fósforo inorgánico.

De las 84 cepas estudiadas se observó que 49 cepas fueron capaces de crecer en medio NBRIP con Ca3 (PO4) como fuente de fósforo inorgánico, lo que representa el 58 %. El fósforo es uno de los nutrientes limitantes para el crecimiento de las plantas y de los microorganismos en muchos ecosistemas. Este en muchas ocasiones se

encuentra en forma insoluble. El mayor aporte de fósforo al suelo se debe a la aplicación de fertilizantes, los fosfatos se inmovilizan rápidamente en éste y resultan de esta manera inasequibles para las plantas, por lo que la capacidad de solubilizarlo sería de interés en las labores de restauración ecológica y fitoremediación debido a que las plantas hiperacumuladoras que son usadas en estos procesos tienen un crecimiento lento y la solubilización de fósforo en su rizosfera sería estimulante para su crecimiento.

Fijación biológica del dinitrógeno (FBN)

Teniendo en cuenta que la Fijación Biológica del Nitrógeno (FBN) es otro carácter importante a valorar, se inocularon los cultivos bacterianos en los medios selectivos y diferenciales Nbs semisólido y Ashby, que permiten el estudio cualitativo de la fijación del dinitrógeno, y además permiten determinar los requerimientos nutricionales para fijar dinitrógeno atmosférico de las diferentes cepas.

El 100% de las cepas crecieron en medio Nbs semisólido lo que significan que todas tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico aunque el 45 % requiere vitaminas y micronutrientes para hacerlo, el otro 55% no lo necesita (crecimiento en medio Ashby). Es de señalar que las bacterias fijadoras del dinitrógeno no simbióticas se encuentran particularmente en altas concentraciones en la rizosfera de las plantas, región donde el suelo y las raíces hacen contactos especialmente con hierba, pasto y césped, este aspecto es bien conocido para las rizosferas de plantas de caña de azúcar, arroz y otros cultivos de interés comercial, no así para la rizosfera de plantas hiperacumuladoras de Ni. Estos resultados son promisorios para estudios posteriores con el fin de obtener nuevos biofertilizantes.

Determinación de actividad antagonista in vitro

Fue probado el efecto antagonista de las cepas aisladas frente a 5 cepas de hongos fitopatógenos (Alternaria alternata, Fusarium solani (F-29), Fusarium moniliforme (F-22) Fusarium esporotrichium (F-13) Fusarium oxysporium (F-44). Del total de cepas el 57% mostraron efecto antagonista contra alguna de las cepas de hongos probadas. Los hongos más sensibles fueron Alternaria alternata y Fusarium moniliforme, con un 32 y un 35% respectivamente del total de cepas evaluadas.

Las cepas, VC 3.8 (1), VC 3.8 (2), VC 6.2 (a), VC 6.2 (b)y VC 2.8 (a), ubicadas en los géneros Azospirillum y Azotobacter respectivamente inhibieron el crecimiento micelial de los cincos hongos evaluados, lo que las hacen promisorias a ser empleadas en el desarrollo de productos para el control biológico.

Producción de proteasas

Todas las cepas manifestaron actividad proteolítica lo cual se determinó por la presencia de halos traslucido en el medio Agar leche. Esta actividad proteolítica podría intervenir en la actividad antagonista manifestada contra los hongos fitopatógenos.

Producción de sideróforos

Se determinó la capacidad de producir sideróforos en las dos cepas más promisorias, leyendo la absorbancia de los sobrenadantes a 400nm, lo que dio como resultados una concentración de sideróforos en la cepa 3.8(1) de 3 μ M/L y en la cepa 2.8ª de 6.35 μ M/L. Estos resultados no son significativos si comparamos los valores con los producidos por algunas especies del género pseudomonas que están en el rango de

140μM/L. Sin embargo se conoce que los sideróforos que absorben a esa longitud de ondas son de tipo Pioverdin. Los sobrenadantes líquidos de la fermentación en un espectro de absorción libres y en presencia de FeCl3 indican en ambos caso un pico de absorbancia a 300nm en la cepa 3.8(1) y a 297nm en la cepa 2.8ª lo que denota algún tipo de quelación del hierro, hay que seguir los estudios en este sentido para determinar el tipo de compuesto y si tiene la capacidad de acomplejar el hierro, lo que sería muy importante en las labores de restauración ecológica, dichos compuestos alteran la movilidad del hierro y facilitarían la acumulación del mismo por la planta, además son muy útil como control biológico debido a que convierten el hierro III en un factor limitante mediante su secuestro inhibiendo el crecimiento de patógenos, este se hace inaccesible para aquellos microorganismos que no posean los receptores biológicos para reconocer el complejo.

Efecto de los metabolitos excretados en los SLC de las dos cepas más promisorias sobre semillas de rábano en condiciones controladas de laboratorio.

Se determinó el efecto de las cepas y los SLC en la estimulación del crecimiento del tallo y la raíz de la planta, así como el incremento de las concentraciones de nitrógeno y fósforo a la misma. La cepa 2.8ª estimuló el crecimiento de el tallo y la raíz en un 33 y 41.3% respectivamente y aumentó significativamente los aporte de nitrógeno y fósforo a la planta.

DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS UTILIZANDO BIOPOLIMEROS MICROBIANOS

- 1- Síntesis y obtención de complejos formados por dextrano, compuestos orgánicos y/o sales minerales. Para la síntesis de cada uno de los complejos se utilizó dextrana obtenida biotecnológicamente a partir de *L. mesenteroides*, una sal mineral de hierro y urea de uso agrícola.
- 2- Determinación de las propiedades físicas y químicas de los complejos obtenidos.
 - La determinación de dextrano se realizará por el Método Fenol-Sulfúrico.
 - La determinación de hierro se realizó por volumetría indirecta (iodometría), empleando tiosulfato de sodio como titulante y almidón como indicador.
 - Urea y nitrógeno se cuantificaron por el Método de Kjeldahl

Los estudios de estabilidad de los complejos se realizan siguiendo los métodos de estabilidad en tiempo normal (a 15°C, 25°C, 35°C de temperatura durante 12 meses).

Se estudió la capacidad de liberación lenta de nitrógeno a través de la aplicación de los fertilizantes en cultivos agrícolas de estación. Se determinó el crecimiento vegetal a través de la siembra en invernadero y muestreos cada 15 días a partir de la aplicación de los fertilizantes, empleando cultivos controles sin tratamiento y tratados con urea de uso agrícola. En cada muestreo se determinó el área foliar, peso fresco y peso seco.

Con los resultados obtenidos se evaluó la factibilidad de uso agrícola de los productos estudiados como fertilizantes de liberación lenta de nitrógeno.

 Por primera vez, se obtuvo complejos químicos constituidos por el polímero microbiano dextrana como vehículo de liberación controlada, Fe como

- micronutriente mineral y Urea como fuente de N2.
- Se estudió la composición química de los productos obtenidos en Argentina en relación a los complejos obtenidos en ICIDCA (Cuba). En el caso de los productos argentinos, químicamente el complejo dextrana-Fe-urea posee 20% dextrano, 2% hierro y 60% de urea. El fertilizante formado por el complejo dextrano-urea contiene 16% dextrano y 60% urea. Tabla IV.
- Ambos productos fueron obtenidos en escala de laboratorio con rendimientos de 82-87%.
- La composición física, química y el rendimiento son ligeramente diferentes a los obtenidos para el complejo de ICIDCA (Cuba), empleado como referencia.
- Ambos aportan el 27 % de Nitrógeno al suelo como nutriente esencial para el crecimiento vegetal lo que permiten que puedan ser empleados como fertilizantes foliares en cultivos agrícolas.
- Los primeros estudios de aplicación de los fertilizantes obtenidos en cultivo agrícolas de estación (pimiento para pimentón) muestran que el nitrógeno se libera del complejo y es absorbido por el vegetal estimulando el crecimiento

Tabla IV Caracterización química de los complejos Dextrana- Fe- Urea para su uso como fertilizante de liberación controlada.

	Fertilizante Fe-Urea (FBQF-Arg)	Dextrana-Fertilizante Dextrana-Urea (FBQF-Arg)	Fertilizante Dextrana-Fe-Urea (ICIDCA-Cuba)
DEXTRANO %	20	16	8 -10
UREA %	60	60	47
HIERRO %	2	-	0,4-2,5
NITROGENO %	27	27	21
рН	5,5-8,5	6-8,5	3,5-9
Apariencia		Polvo marrón claro	Polvo marrón oscuro







Figura 4. fertilizante Dex-Fe-Urea FBQF- Argentina Figura 5. Fertilizante Dex-Urea FBQF-Argentina Figura 6. fertilizante Dex-Fe-Urea ICIDCA Cuba

Los fertilizantes de liberación lenta, sintetizados por primera vez en Tucumán-Argentina, se obtuvieron con alto rendimiento de producción, poseen similitud con los sintetizados en otros países, aportan 270 g de Nitrógeno por cada Kg de fertilizante aplicado y estimulan el crecimiento foliar de cultivos agrícolas de estación. Actualmente, se continúa con el estudio de los parámetros tecnológicos a los fines de optimizar el proceso de producción en escala piloto para lograr un producto más competitivo y fácilmente aplicable en agricultura.

Recomendaciones y acciones propuestas por el Oficial de Programa – PNUD:

- Establecer un Manual de Procedimiento a partir de los diseños tecnológicos estudiados para la producción de los bioproductos en escala comercial. Este procedimiento servirá de guía para el establecimiento de la producción en las plantas productivas.
- Establecer un Sistema de Gestión de la Calidad que garantice la reproducibilidad efectiva de los lotes productivos.
- Establecer de inmediato un método de conservación que garantice la estabilidad por tiempos prolongados de las cepas microbianas con interés productivo.
- Estudiar la adición de estabilizantes que garanticen el almacenamiento y efectividad del producto.
- Considerar en las instalaciones productivas la capacidad de almacenamiento del producto terminado en condiciones adecuadas.

Resultado (Producto) Previsto en el Proyecto

2. Evaluación de la aplicación agronómica de los bioproductos en cultivos de interés económico.

Actividades desarrolladas: (Descripción en base del producto esperado, categoría de actividades y fecha de inicio y finalización)

fase de plantación en la provincia de Ciego de Avila en donde fue efectivo en el ataque de la Chinche harinosa que representa la plaga más dañina al cultivo por constituir el agente propagador del virus del will. Esto no parece deberse a un efecto insecticida sino a la inducción de mecanismos de resistencia metabólica de la planta. En el cultivo de Habichuela "Escambray", para el control de afidos (pulgones), ocasionando la muerte del 100% de pulgones y no permitió desarrollarse más brotes de pulgones, ni mosca blanca ni trips. En dosis de 60 mg/Lvs. Sclerotium sp. in vitro produjo la inhibición de casi el 50 % de crecimiento. En la interacción plátano-Fusarium oxysporum f. sp cubense raza 2 el AJ (1.0 mg/L) siempre redujo la presencia del hongo, demostrando acción protectora, aumentó la supervivencia de las plántulas de piña en condiciones ex-vitro contra Phytophthora nicotianae var. parasitica. En calabacín con Nesidiocoris tenuis depredador biológico introducido para control de mosca blanca, pequeños áfidos, pulgón y trips, que estaban

El BIOJAS ha sido evaluado como biocontrolador sobre plantas de piña cv "Cayena lisa" en

Indicaciones de uso propuestos

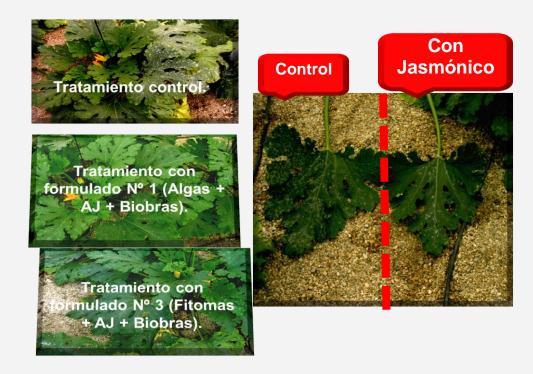
A partir del modo de acción general para el ácido jasmónico y de los estudios bioagrícolas desarrollados o en curso en el país, las indicaciones de uso propuestas son las siguientes:

afectando a las plantas y los frutos, fue controlado por mezcla conteniendo 25 mg/L de AJ.

Tuvo efectividad sobre berenjenas y pepinos con presencia de Oidio.

2.

- Dosis de 60 mg/L en Piña Cayena lisa: reducción apreciable de los ataques por Chinche harinosa.
- Dosis de 60 mg/Lvs. Sclerotium sp. in vitro Inhibición de casi el 50 % de crecimiento.
- Dosis de 10 mg/L en el cultivo de Habichuela "Escambray", para el control de afidos (pulgones), ocasionando la muerte del 100% de pulgones y no permite desarrollarse más brotes de pulgones, ni mosca blanca, ni trips.
- En la interacción plátano-Fusarium oxysporum f. sp cubense raza 2 el AJ (1.0 mg/L) siempre redujo la presencia del hongo, demostrando acción protectora.
- Dosis de 1 mg/L in vitro aumenta la supervivencia de las plántulas de piña en condiciones ex-vitro contra Phytophthora nicotianae var. parasitica.









TRATAMIENTO CON BIOFERTILIZANTE BIOJAS EN SOYA EN LA EMPRESA

ALIAR EN COLOMBIA: Se observó mayor altura de planta, mayor nodulación y al conteo de cápsulas –en el lote testigo se contabilizaron 113 contra 144 de biofertilizante con un número de 6 plantas del testigo y 6 del lote biofertilizante.

Aplicación del HERBIO y Gluticid en cultivos de importancia económica

Evaluación de la efectividad del HERBIO en el control de malezas dicotiledóneas y tolerancia en caña de azúcar

En caña planta, variedad CP52-43, en la Unidad de Producción Manuel Fajardo, Quivicán, Provincia Habana, sobre suelo Ferralítico Rojo. La aplicación se realizó 35 días posteriores a la siembra, con altura de cultivo de 30-40 cm, en un diseño de bloques al azar con 6 réplicas y área de parcelas de 12 m². Los tratamientos estudiados aparecen en la Tabla V y VI.

Tabla V Tratamientos en estudio

No	Productos	% P/V	Kg/ha	G o ml para 6 parcelas
				(72 m2)
1	Testigo absoluto	_	-	-
2	2.4-D Ester.	0.75	1.88	14
3	HERBIO	2.5	6.25	47
4	HERBIO	5	12.5	94
5	HERBIO	10	25	188
6	HERBIO	20	50	376
7	HERBIO + AG-5 (PH-5)	2.5	6.25	47
8	HERBIO + AG-5 (PH-5)	5	12.5	94
9	HERBIO + AG-5 (PH-5)	10	25	188
10	HERBIO + AG-5 (PH-5)	20	50	376

Tabla VI Evaluación de la eficacia herbicida HERBIO y tolerancia del cultivo EWRS (European Weed Research Society)

Índice de evaluación	Estimación visual de eficacia o de fitotoxicidad		
	Sobre malezas	Sobre el cultivo	
1	Total 100	Ningún efecto como el testigo	
2	Muy buena	Muy ligeros síntomas	
3	Buena	Ligeros síntomas	
4	Suficiente en la práctica	Daños sin influencias cosechas	
5	Dudosa	Dudosa	
6	Mediocre	Daños bastantes fuertes	
7	Mala	Daños fuertes	
8	Muy mala	Daños muy fuertes	
9	Nula como testigo	Destrucción total 100 %	

Los tratamientos con el HERBIO solo, a dosis de 25 y 50 kg/ha, a los 15 y 30 días de la aplicación, resultaron aceptablemente eficaces (aunque peores que el estándar de 2,4-D éster a 1.88 L/ha), en el control de las malezas dicotiledóneas Ipomoea trifida, Croton lobatus, Chamaecyse hyssopifolia y Euphorbia heterophylla. Las mezclas de HERBIO más el surfactante - acidificante AG-5 (el último ajustado a pH 5 o coloración violeta, a 0.2-0.3 L/ha) ejercieron un control satisfactorio sobre las malezas dicotiledóneas Ipomoea trifida, Croton

lobatus, Chamaecyse hyssopifolia, Euphorbia heterophylla y Vigna vexillata a dosis de 6.25, 12.5, 25 y 50 kg/ha, resultando comparable al estándar de 2,4-D ester a la dosis máxima de HERBIO (50 kg/ha). La especie Cyperus rotundus también resultó controlada aceptablemente y mejor que el citado estándar con las dosis mayores (25 y 50 kg/ha). No se apreciaron daños fitotóxicos en la variedad de caña CP52-43.

Evaluación del Gluticid en el control de hongos fitopatógenos

■ En Casas de Cultivo Protegido:

El producto se evaluó en la Empresa de Cultivos Varios de Cienfuegos en casas de cultivo destinadas al tomate (Lycopersicon esculentum Mill) sobre la varieda, Aro 84-84, contra *Alternaria solani* patógeno de mayor incidencia en la provincia bajo estas condiciones, que produce la enfermedad tizón temprano.

El Gluticid a una concentración de 0.08 Kg i.a./ha, se comparó con los fungicidas químicos: Mancozeb 80 PH (2.4 Kg i.a./ha), y Tebuconazol (Orius 25 CE) (0.25 Kg i.a./ha).

En ambos casos se utilizó un diseño completamente aleatorizado con parcelas de dos surcos de 30 m de largo. Los tratamientos se realizaron con una mochila GN-16 y se iniciaron cuando el cultivo cumplió 7 días de plantado con una frecuencia de 4 - 5 días para los fungicidas protectores y de 9 - 10 días para los sistémicos. La intensidad de ataque se evaluó en 20 plantas por parcela según la escala de 6 grados (IISV, 1978). El grado medio de intensidad se determinó mediante la fórmula de Towsend y Heuberger, citada por CIBA GEYGI (1981). Los datos obtenidos de intensidad, distribución y efectividad se procesaron por el paquete estadístico ESTATISTICA para Windows versión 4. Las medias fueron comparadas según la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Tabla VII Resultados de las evaluaciones de *Alternaria solani* en tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*) en casas de cultivos de la variedad Aro 84-84

		Intensidad de ataque de Alternaria solani						
	60 días		80 días		100 días		120 dais	
VARIANTES	%	2 arc	%	2 arc sen	%	2 arc sen	%	2 arc sen
		sen vp		vp		vp		vp
Gluticid	58.25	1.71 a	58.5	1.75 a	66.0	1.89 в	76.0	2.11 a
Mancozeb	60.25	1.77 a	62.5	1.82 a	73.2	2.04 a	76.8	2.13 a
Tebuconazol	37.25	1.30 в	39.0	1.35 b	39.1	1.42 c	47.1	1.51 b
ET *		0.0331		0.28		0.24		0.30
CV (%)		4.26		3.30		27.4		31.2

 Letras desiguales difieren para p < 0,05 según la prueba de rangos múltiples de Duncan (Lerch, 1977)

El control ejercido por el Gluticid en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*) en casa de cultivo fue de 58.25 % sin diferencia significativa con las parcelas tratadas con mancozeb que fue del 60.25%, estos se mantuvieron hasta la última evaluación a los 120 días del cultivo resultados en el control de la enfermedad. Las parcelas tratadas con el

tebuconazol mostraron valores de A. solani inferiores y significativamente diferentes de los obtenidos con el Gluticid y el químico de contacto.

Diferentes tipos de fungicidas, tanto de contacto como sistémicos, entre estos últimos, los triazoles, se emplean en el país, sin embargo pueden provocar la emergencia de resistencia en las poblaciones del hongo sometidos a control; por lo que la eficacia del Gluticid contra esta enfermedad, una de las más importantes del cultivo del tomate lo acredita como un nuevo producto para disminuir la contaminación por fungicidas en este cultivo en la agricultura urbana.

Sustitución del fundazol por el GLUTICID en el cultivo de hongos comestibles

Se utilizo como microorganismo una cepa híbrida de *Pleurotus osteatus*. Como sustrato se utilizó residuos de la cosecha cañera procedente de un centro de acopio, troceados en fragmentos de 5 - 10 cm de longitud y sometidos a tratamiento térmico a 95 OC durante 2 horas, se le adicionó a una parte una solución del fungicida químico Fundazol al 0,02% para una concentración de 200 ppm y se ajustó la humedad final al 75%, a otra parte una solución del GLUTICID a concentraciones desde 0,02-0,08% y a otra parte no se le añadió ningún fungicida para emplearla como control. Se envasaron en bolsas de 4 Kg en Planta Piloto y de 10 Kg en Planta Semi-Industrial y se inocularon posteriormente. Se cultivaron los hongos durante dos cosechas aproximadamente 40 días.

En la Fig. 7 se exponen los resultados del rendimiento (expresado en %) alcanzado en 1os ensayos del cultivo de hongo, con y sin aplicación de fungicida. Se observa que los mayores valores de rendimiento la alcanzan las bolsas que utilizaron GLUTICID (9,5%) y le siguen las que utilizaron el Fundazol (7,4%), mientras que donde no se empleó fungicida, se alcanzó solamente un 2% de rendimiento, lo que demuestra la necesidad de emplear en el cultivo de estos hongos, fungicidas que eliminen la contaminación por hongos inferiores.

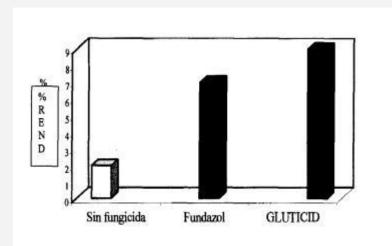


Figura 7. Rendimiento alcanzado en el cultivo de hongos Pleurotas ostreatus con la Aplicación del fungicida Químico (Fundazol) y el Biológico (GLUTICID).

Se observó contaminación con hongos inferiores en el 83,0 % de las bolsas donde no se aplicó fungicida mientras que no presentaron contaminación en las que se empleó Fundazol y el GLUTICID con lo cual se comprueba la calidad del GLUTICID, con el cual además se obtuvo el mayor % de rendimiento productivo, lo que indica la factibilidad de

emplear un producto biológico en el cultivo de hongos dando lugar a una tecnología limpia en estos cultivos con disminución de la contaminación ambiental.

Evaluación del bioproducto cubano GLUTICID para el control de la enfermedad Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis) en plátanos y bananos en Ecuador

Teniendo en cuenta que la enfermedad Sigatoka negra es considerada de primer orden para la República de Ecuador por la severidad de su ataque y las pérdidas económicas que produce en plantaciones de plátano y banano, se realizó un ensayo preliminar para evaluar la efectividad del GLUTICID en el control de esta patología.

Síntomas y daños de la Sigatoka negra:

Inicialmente la enfermedad se presenta con manchas amarillentas de aspecto acuoso y traslúcidas, que se localizan en cualquier parte del pseudotallo. Luego estas coloraciones se tornan castaño rojizo y se extienden en todos los sentidos, cubriendo las vainas de las hojas parcial o totalmente. Finalmente las zonas afectadas toman un color oscuro y de los tejidos circundantes, al ser presionados, se desprende un líquido fétido. Estas pudriciones avanzan progresivamente hasta la base del pseudotallo, al mismo tiempo la bacteria penetra en los tejidos de las vainas internas por contacto con las externas afectadas. Esto produce un debilitamiento del pseudotallo, causando el doblamiento de la planta por la parte más afectada. Si el ataque ocurre cuando las plantas son adultas, el peso del racimo contribuye fácilmente al desplome de las mismas antes del desarrollo total de los frutos, reduciendo el valor comercial de éstos. Pueden observarse en ocasiones plantas con pseudotallos infectados que conservan el rizoma aparentemente sano, y los tejidos internos de los racimos y de los frutos sin pudriciones ni decoloraciones vasculares.





Afectaciones foliares por Sigatoka negra

El Gluticid es un biofungicida de naturaleza bioquímica, para uso fitosanitario, obtenido mediante procedimiento, a partir de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa PSS*. Es un formulado en forma de polvo humedecible que contiene metabolitos antimicrobianos formados por antibióticos del tipo monoacetilfloroglucinol y el sideróforo Pioverdin II. No contiene células.





PRODUCTO BIOLÓGICO GLUTICID

Marcha experimental en áreas productoras de banano orgánico en Ecuador

Las pruebas se llevaron a cabo en áreas productivas dedicadas al cultivo de banano orgánico de la Corporación Novoa para evaluar su efectividad en el control de la enfermedad Sigatoka negra del plátano y banano.

Las aplicaciones se realizaron en 3 ha de cultivo que abarcan los lotes 6, 7 y 8 de esta empresa, con una periodicidad semanal durante 21 días. El producto fue aplicado con una motomochila en horas tempranas de la mañana a una concentración de 1,5kg/ha.

Al término de los 21 días se evaluó la efectividad del producto a partir de la comparación de los índices de Evolución Efectiva de la enfermedad con los obtenidos para un área similar en la que el producto aplicado fue Serenade. Se evaluaron 80 plantas por tratamiento

Los resultados obtenidos arrojaron que la efectividad técnica del GLUTICID fue buena por cuanto se detuvo el desarrollo de la enfermedad, el índice de evolución efectiva (IEE) se redujo hasta aproximadamente un 60 por ciento en las plantas tratadas con este producto en comparación con las tratadas con SERENADE. Las nuevas hojas que surgieron después de la aplicación del producto no manifestaron síntomas visibles de la enfermedad, observándose en general un buen aspecto de las plantaciones plataneras tratadas con este bioproducto.

Índice de Evolución Efectiva (IEE) promedio de la enfermedad sigatoka negra en las plantas evaluadas

IEE Plantas tratadas con Serenade	IEE Plantas tratadas con Gluticid
242	143

Registros fitosanitarios de la aplicación de productos Gluticid demostró controlar la Sigatoka negra del banano con acción superior a los productos convencionales utilizados. Existe interés por la introducción en mayores extensiones del bioproducto ICIDCA.

Aplicación del producto BIOENRAIZ

1. Cultivos que se proponen

A partir del modo de acción general para el ácido indol-3-acético y de los estudios bioagrícolas desarrollados o en curso en el país, las indicaciones de uso propuestas son las siguientes:

- o En esquejes de guayaba Enana Roja 18-40
- o En vitroplantas de papa y semilla sexual
- o En vitroplantas de plátano
- o En caña de azúcar (Ja 60-5), semilla agámica
- o En flores ornamentales (claveles rojos y dalias)

Principales bondades del producto

- o Incremento del largo de la raíz y formación de yemas (semilla agámica caña de azúcar Ja-60-5).
- Favorecer emisión e incremento de pelos radiculares, y en aviveramiento elevar el porciento de supervivencia (en esquejes de guayaba Enana Roja 18-40)
- o Incremento de altura y número de entrenudos en vitroplantas de papa (en esquejes) y en semilla sexual de papa. Incrementar enraizamiento en esquejes y ápices de papa (Var LT-7 y Var.DTO-2).
- o Elevar índices de multiplicación y enraizamiento en flores ornamentales (claveles rojos y dalias)
- o Produce efectos en el enraizamiento (en vitroplántulas de plátano).

Durante este año se desarrolló las pruebas de mercado del producto BIOENRAIZ producido en las instalaciones del ICIDCA.

La gestión de ventas se orientó hacia los organismos más importantes de la agricultura y de desarrollo de esquejes y germinación de semillas que fueran clientes potenciales de bioestimuladores vegetales. En consecuencia a la estrategia de comercialización las ventas se efectuaron a organismos del Ministerio de la Agricultura y otras Empresas. Se observó una demanda mayor que el volumen comercializado por lo que se considera que el producto BIOENRAIZ tiene un amplio mercado y su utilización es reconocida como enraizante y estimulador del crecimiento vegetal. Los criterios recibidos del personal técnico que está efectuando la aplicación son satisfactorios tal como lo expresan los avales del cliente.



A continuación se relacionan algunas de las empresas a las que se le suministró producto BIOENRAIZ

	Cantidad, L
MICONS "Matanzas", Matanzas	3
Emp. Cultivos Varios "Horquita", Cienfueg	os 5
EMA "Victoria de Girón", Playa Larga, Mtza	s 5
TCA Cotorro, La Habana	1
Empresa Cítricos de Ceiba, Caimito	7
Empresa Cítricos de Ceiba, Caimito	8
Empresa Cítricos de Ceiba, Caimito	6
Empresa Cítricos de Ceiba, Caimito	9
UBPC "Vivero Alamar", La Habana	2
CPA Camilo Cienfuegos, Pinar del Río	0,5
CCS Ovidio Estévez, La Habana	2
Emp. Cítricos "Vict. de Girón", Jagüey Gran	de 10
CCS Daniel Hernández, La Habana	10
Cultivos Varios Villa Clara	10
Empresa Agropecuaria MININT, Villa Clara	2
Finca CTC, La Habana	16
CPA Omar Rivero, Granma	15
CCS Fructuoso Rodríguez, La Habana	5
Vivero Alamar, La Habana	3
CCS Ana Betancourt, Mayabeque	1
CCS Humberto Hernández, Mayabeque	10
	las instalaciones del ICIDCA y de satisfacción demás, se identificó un mercado creciente.
MSc. Barbara Rodríguez Directora de Comercialización ICIDCA	

Resultado (Producto) Previsto en el

Gestión del conocimiento en función del entrenamiento y la preparación de 45

Proyecto

pequeños agricultores en la aplicación y al menos 10 especialistas vinculados a la industria encargada de la producción de los bioproductos.

Actividades desarrolladas: (Descripción en base del producto esperado, categoría de actividades y fecha de inicio y finalización)

a. Se contrató el estudio de patentes e informes vinculado con el tema a realizar por la OCPI. La información obtenida se recuperó fundamentalmente a través del servicio de QPAT online, de la compañía Questel Orbit, que posee gran nivel de actualización y proporciona fondos y publicaciones de familias de patentes de 78 autoridades, además de textos completos de PCT, EPO, FR, GB, US y DE. También se consultó literatura científica no patente a través de los sitios www.scholar.google.com y www.scirus.com.

Evolución de patentes. Líderes en investigaciones y producción. Estado actual De acuerdo a los estudios internacionales de patentes, el desarrollo de los biofertilizantes se inicia en los años 80 del siglo XX, con un incremento acelerado a partir del año 2000, proceso que continúa en la actualidad, como una alternativa para la agricultura sostenible. China constituyó el mayor productor de las patentes sobre esta temática, seguido por Estados Unidos, Rusia y Rumania. Estados Unidos es el país de mayor distribución y registro de sus patentes en varios continentes. La mayoría de las empresas que comercializan biofertilizantes son de la india. Entre los titulares con un mayor registro de sus invenciones en se encuentran La Universidad Nacional Autónoma de México y varias firmas norteamericanas. Los biofertilizantes contribuyen a mejorar la calidad y productividad de los cultivos mediante la eliminación total o parcial de la adición de fertilizantes químicos. Los efectos beneficiosos están relacionados no sólo con la capacidad para fijar nitrógeno sino también con la aptitud para la producción de compuestos antibacterianos y antifúngicos y reguladores de crecimiento. El ahorro de fertilizantes nitrogenados supone un ahorro paralelo de combustibles fósiles, empleados en la síntesis amoniacal. A pesar de sus ventajas, la fertilización tradicional con fertilizantes químicos, sigue siendo la tecnología más empleada por ser en general de menor costo y tener una tecnología, maquinaria agrícola y culturas establecidas. En la actualidad, la mayor utilización de los biofertilizantes y bioproductos es en la agricultura orgánica.

- **b.** Se realizaron las estancias de los estudiantes mexicanos de la Universidad autónoma de Coahuila: QFB. CECILIA BALVANTÍN GARCÍA, QFB. Fabiola Veana, Q.F.B. Erika Nava Reyna, Q.F.B. José Humberto Sánchez Robles y QFB. Elan Iñaki Laredo en los laboratorios de la Dirección de Biotecnología del ICIDCA. El trabajo desarrollado forma parte de sus tesis de maestrías (2 de ellas concluidas en el período) y del Programa de Doctorado.
- **c.** Realizaron una estancia de trabajo por 15 días en el ICIDCA la Dra. Graciela Cerutti y la Ing. Patricia Albarracín de la Universidad Nacional de Tucumán las cuales dictaron el curso "DESARROLLO DE BIOPRODUCTOS DE ACCION SOSTENIDA SOPORTADOS EN BIOPOLIMEROS MICROBIANOS"

3.

d. La Dra. Georgina Michelena y la estudiante de doctorado MSc. Yaniris Lorenzo realizaron una misión de trabajo a Colombia para monitorear el ensayo de aplicación del producto BIOJAS (a partir de ácido jasmónico) en el cultivo de la soya.



En esta misión se visitó la Empresa BIOFARM Colombia S. A. que produce soluciones destinadas a la nutrición vegetal, basada en productos biotecnológicos. En el encuentro con esta empresa, se realizó una presentación por parte de la Dra. Georgina Michelena de las potencialidades del Proyecto y específicamente, de la cartera de productos ICIDCA para la agricultura. Luego fueron expuestos por parte del Ing. Cesar Augusto Colorado los resultados obtenidos sobre soya y arroz en la aplicación del Acido Jasmónico en Colombia. Del encuentro se identificó interés por parte de BIOFARM de vincularse al proyecto para el desarrollo de bioproductos agrícolas y colaborar en el desarrollo de la introducción de productos y procesos biotecnológicos dirigidos a la agricultura colombiana.

e. Se impartió el curso de post grado Biotecnología Agrícola aplicada a la producción de bioproductos en la Universidad de Coahuila, México sobre el tema con la asistencia de 23 participantes

Objetivos: El objetivo principal de este curso, es proveer a los participantes los principios y conceptos básicos sobre los procesos fermentativos así como los relacionados con la producción por vía fermentativa de los principales microorganismos empleados en la producción de bioplaguicidas y biofertilizantes constituidos tanto por los microorganismos intactos como por los metabolitos que ellos producen.

Contenido:

Conferencia 1 Introducción a la Microbiología Industrial: Conceptos básicos, características generales de los microorganismos y de los metabolitos.

Conferencia 2. Sustratos empleados en los bioprocesos: preparación y características, crecimiento de microorganismos, cultivo discontinuo, fed batch y continuo, autorregulación del cultivo continuo, transferencia y requerimientos de oxígeno, fisiología de levaduras

Conferencia 3 Importancia de los microorganismos empleados en los procesos biotecnológicos para su empleo en la biofertilización y lucha biológica contra plagas y enfermedades en las plantas. Alternativas de empleo de la biomasa o metabolitos activos. Bioplaglicidas para el control de insectos, enfermedades y malezas. Concepto general. Principales microorganismos empleados: hongos (Trichoderma y

Metharizium), bacterias (Bacillus thuringiensis), levaduras para el control postcosecha.

Conferencia 4 Principales metabolitos activos producidos por Pseudomonas: antibióticos, sideróforos y fitotoxinas.

Conferencia 5 Biofertilizantes. Concepto general. Principales microorganismos empleados: hongos micorrizas, Azospirillum, Azotobacter, Rhizobium, bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

Conferencia 6 Bioestimuladores. Concepto general. Principales metabolitos activos y microorganismos que lo producen: ácido indol acético (AIA), ácido jasmónico (AJ), Ácido giberélico (AG).

Conferencia 7 Etapas comprendidas en el desarrollo de un bioproducto. Bioseguridad: medidas regulatorias para su implementación. Decisiones estratégicas en Biotecnología Agrícola, desarrollo e implementación de programas de investigación, consideraciones socioeconómicas.

Se realizó una estancia de trabajo en la Universidad de Valladolid, por parte de la estudiante de doctorado MSc. Grolamys Castillo que caracterizó la estructura química de algunos de estos bioproductos. Este trabajo es necesario para el Registro Comercial.

Recomendaciones y acciones propuestas por el Oficial de Programa – PNUD:

4. Información financiera preliminar

(Esta información se considera preliminar hasta la emisión de los CDR, que ofrecerán la información financiera oficial del cierre del año)

Fuente de Fondos	TFPG
Presupuesto Total	34 000,00
Presupuesto (año)	12 855,00
Ejecución (<i>año</i>)	6 290,00

5. Oportunidades para difundir información

(Las oportunidades para difundir información se refieren a: materiales divulgativos en genera, como (libros, artículos, plegables, afiches, almanaques, artículos de prensa, publicaciones, documentos de sistematización de experiencias, sitios web, programas de radio/TV, exposiciones, etc.

^{*} De ser necesario incorporar nuevas tablas según el número de resultados previstos en el proyecto

Describir brevemente las acciones para la difusión de información realizadas durante el año:

Actividades de divulgación de resultados:

Sitio del proyecto dentro de la página WEB del ICIDCA, mostrando actividades realizadas <u>www.icidca.cu/</u> Proyecto Bioproductos

Publicaciones:

DESARROLLO, CARACTERÍSTICAS Y USO DE BIOPLAGUICIDAS PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS EN CUBA. Capítulo del libro Control de enfermedades de plantas en AL y el Caribe. Enviado al editor Dr. Wagner Bettiol del EMBRAPA, Brasil.

Rizobium para no leguminosas. Revista Plos One. Mejoramiento de bacterias solubilizadoras de fósforos. Editorial de la Academia Española

FITOREMEDIACIÓN, UNA TECNOLOGÍA QUE INVOLUCRA A PLANTAS Y MICROORGANISMOS EN EL SANEAMIENTO AMBIENTAL. Revista ICIDCA, 2012

Curso Internacional La Agroindustria Azucarera y sus derivados. A estudiantes de la Universidad *Haute École Provinciale de Hainaut - Condorcet* (Bélgica)

Tesis de Diploma. Facultad de Biología "Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fósforo" Tutor: Reinaldo Fraga

Defensa de la **Tesis de Doctorado** del MSc. Felipe Eng Sánchez, Producción y caracterización del ácido jasmónico a partir de *Botryodiplodia sp.*

6. Lecciones aprendidas

(Las lecciones aprendidas se refieren a aquellos aprendizajes, positivos y negativos, basados en la experiencia, relativos a formas de resolver problemas y/o maneras de llevar adelante actividades que puedan servir a otros actores en procesos similares. Las lecciones aprendidas del ITP podrán servir como insumo para las evaluaciones de proyecto así como para compartir con los demás proyectos que se implementan en conjunto con el Gobierno.)

Describir brevemente las lecciones aprendidas durante el año:

- 1. Combinar varios objetivos para disminuir los costos del logro de resultados. Esta recomendación es válida lo mismo para los objetivos a lograr en el extranjero como en la industria nacional donde hay que realizar visitas al interior del país.
- 2. La divulgación de los resultados del proyecto en otros países de la región permite la incorporación futura de otros grupos de trabajo y la formación de otras alianzas para el desarrollo de tema.
- 3. El establecimiento de grupos multidisciplinarios en las empresas contribuye a garantizar la sostenibilidad de la actividad

7. Líneas de trabajo para el mejoramiento del desempeño

(Describir las estrategias, acciones y soluciones previstas para enfrentar los problemas identificados, utilizar las lecciones aprendidas, capitalizar los resultados obtenidos y optimizar las alianzas establecidas)

- 1. Aunar esfuerzos con las instituciones participantes y AZCUBA para cumplimiento de objetivos
- 2. Involucrar factores que intervienen en las decisiones ejecutivas de introducción de resultados y prestación de servicios en la industria nacional con compromisos de proyectos del Programa Ramal de AZCUBA para unir fuerzas y contribuir al cumplimiento de los objetivos.

Preparado por		
		Melulne
Georgina L. Michelena Alvarez Nombre	Firma	
Directora el proyecto Cargo	Fecha	1de noviembre de 2012
Organización: Instituto Cubano de Investigaci	ones de los Derivados	de la Caña de Azúcar (ICIDCA)