

5 **BIOTECNOLOGIA VERDE APLICADA AL MANEJO AGROECOLÓGICO DE LA ANTRACNOSIS EN HORTOFRUTICULTURA Y MÉTODO PARA SU OBTENCIÓN**

Campo de la invención

10

La presente invención está relacionada con el campo de la biotecnología agropecuaria, particularmente con el uso de bioinsumos agrícolas.

15

Estado de la técnica

Dentro de la búsqueda realizada en el estado de la técnica, no se encontraron soluciones que representasen una verdadera interferencia con respecto a la invención pretendida. En cualquier caso, se encontraron los siguientes antecedentes que pueden ser considerados precursores de la solución presentada.

20

US 20210227835 A1

Formulations Comprising Natural Hydrosols and Uses Thereof

25

En el presente documento se describen formulaciones que comprenden al menos un hidrosol, que opcionalmente puede estar asociado con una matriz polimérica. El hidrosol puede incluir hidrosol de romero, hidrosol de hierba de limón, hidrosol de azedarach, hidrosol de Azadirachta indica, hidrosol de árbol de té, hidrosol de pino y/o hidrosol de albahaca. En el presente documento se describen además métodos y usos de las formulaciones para controlar una población de plagas, y kits y artículos de fabricación que comprenden dichas formulaciones.

30

35

A pesar de que la solución encontrada tiene efectos similares, la solución que se pretende innovar combina el extracto vegetal de *Swinglea glutinosa* y por lo tanto su amplio espectro de acción. Adicionalmente, la presencia de nanopartículas de *Azadirachta indica* como agentes de recubrimiento para minimizar la aglomeración de los bioactivos vegetales de *S. glutinosa*, mejorando así el potencial biológico, la actividad antimicrobiana y evitar la degradación de los bioactivos por la radiación solar. Igualmente, los compuestos naturales que recubren las nanopartículas son a su vez antimicrobianos por naturaleza, entonces se

5 producirá un potencial antimicrobiano sinérgico del bioactivo final. La invención pretende proteger la concentración del producto, la composición del mismo y las horas de colecta de la biomasa vegetal

IN201711037740

10 A stable biochemical fungicidal formulation useful against colletotrichum gloeosporioides penz

La presente invención se relaciona con una formulación fungicida bioquímica útil para el tratamiento de la antracnosis en mangos, que comprende trans-cinamaldehído y n-nonanal
15 en una proporción de 3:1 y proceso de elaboración del mismo. Dicha formulación de fungicida bioquímico es útil contra Colletotrichum gloeosporioides Penz para controlar la enfermedad de antracnosis en frutos de mango (Mangifera indica L.) y fue desarrollada para minimizar las pérdidas postcosecha de frutos de mango deteriorados debido a la enfermedad de antracnosis.

20 La solución de la presente invención permite su aplicación en diversos cultivos, mientras que la citada sólo se usa en mangos. En ese orden, la actividad de la invención solicitada se dirige a la protección del área vegetativa, reproductiva y el órgano de importancia económica de hortalizas y frutales, contra el hongo fitopatógeno causante de la antracnosis,
25 la cual, se diferencia de las otras invenciones ya que aquellas se encaminan a la protección de frutos de mango contra el hongo que causa la antracnosis e inhibición del insecto conocido como escarabajo. La invención pretende proteger la concentración del producto, la composición del mismo y las horas de colecta de la biomasa vegetal

30 WO2008060136A1
Biopesticide

La invención describe un pesticida elaborado a partir de fuentes naturales. El pesticida es
35 una mezcla de aceite de neem extraído de las semillas de la planta de neem, aceite de jatropha extraído de las semillas de Jaropha curcas y aceite de trementina cosechado de pinos con un vehículo inerte opcional. El portador inerte es grasa de vaselina. El pesticida formulado anteriormente se usa para controlar el daño causado por ratas en plántulas de

5 palma aceitera; daños causados por ratas en racimos de frutos de palmeras aceiteras; daños causados por escarabajos rinoceronte en plántulas de palma aceitera y daños causados por insectos en flores, frutos de plantas hortícolas o cultivos arbóreos.

10 A diferencia de la patente citada, que sólo es aplicable a la palma aceitera, el método que se pretende proteger, combate la antracnosis con indiferencia de la planta que sea objeto de ataque de la enfermedad. Ello se debe a la composición de ingredientes muy particulares y con unos grados de concentración específicos en cuanto a composición de los metabolitos que permite una acción preventiva y defensiva superior con respecto a lo encontrado en el estado de la técnica.

15

Breve descripción de la invención

20 La presente invención se refiere a un producto constituido por metabolitos extraídos presentes en las especies vegetales *Azadirachta indica* y *Swinglea glutinosa* con función protectante para el control de hongos y bacterias presentes en el suelo que pueden causar daño en la viabilidad y la calidad de la semilla para su germinación y de igual manera asegurar la protección y calidad de los cultivos que se propaguen a través de clones. Bajo ciertas condiciones agroclimáticas (temperatura, humedad relativa, humedad del suelo, etc.), favorece el crecimiento de fitopatógenos aumentando la susceptibilidad de las plántulas al ataque de dichos organismos patógenos que pueden incidir en el normal desarrollo y productividad de dichos cultivos. Por lo cual, se hace necesario realizar controles preventivos y curativos para la erradicación y eliminación de los fitopatógenos en el ambiente del cultivo. Los metabolitos secundarios presentes en el producto garantizarán la protección del desarrollo de la semilla y los clones y el establecimiento del desarrollo de las plantas durante las etapas fenológicas de los cultivos, de tal manera que les permita estar libres de fitopatógenos, con un sistema inmunológico activo y condiciones para la productividad de los cultivos. Los productos obtenidos de dichas cosechas se garantizará la inocuidad de los mismos para su uso industrial, biotecnológico, conservación del ambiente y poblaciones de fauna y flora benéfica.

35

En el área de biotecnología verde, las nanopartículas reducen la fotodegradación de los bioactivos vegetales y se potencializan las actividades protectantes y curativas contra el

5 patógeno. El producto final genera un efecto repelente contra insectos y plagas, favoreciendo el ecosistema de la fauna benéfica.

Breve descripción de las figuras

10 **Figura 1.** Representación esquemática de la biosíntesis de nanopartículas de cobre utilizando extracto acuoso de *Azadirachta indica*

15 **Figura 2.** Representación esquemática para la extracción de compuestos bioactivos de *Swinglea glutinosa*

Figura 3. Representación general de obtención de producto final

20

Descripción detallada de la invención

25 Actualmente la aplicación de agroquímicos es una de las principales alternativas para controlar las enfermedades en cultivos de interés económico. Sin embargo, la aplicación de agroquímicos puede ocasionar daños irreversibles a la microbiota benéfica del suelo. Por tal razón, la presente invención se refiere a un compuesto de nanopartículas obtenidas que
30 tiene acción fungicida contra la enfermedad de la antracnosis, que sea menos biodegradable al efecto del fotoperiodo y potencializar la actividad protectante y curativa contra el patógeno.

La composición que se pretende proteger contiene metabolitos secundarios presentes *Swinglea glutinosa* y *Azadirachta indica* que, en combinación, controlan la enfermedad de
35 la antracnosis.

Los bioactivos usados dentro de la composición contienen numerosos compuestos con actividad acaricida, antifúngica, larvicida y antimicrobiana.

Así, el extracto de *Swinglea glutinosa* contiene:

COMPUESTOS	ACTIVIDAD
D-Nerolidol	Actividad acaricida, actividad antifúngica
Phytol	Actividad antimicrobiana
D-Germacrene	Actividad larvicida, actividad antifúngica

Mientras que la *Azadirachta indica* presenta los siguientes compuestos bioactivos:

Extracto	Nombre del compuesto	Actividad	Probabilidad de coincidencia (%)
Semilla	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona	Propiedad antimicrobiana	95%
	Ácido oleico	Propiedad antimicrobiana, propiedad antifúngica	99%
	Ácido linoleico	Propiedad antibacteriana, propiedad antibiofilm	98%
	Ácido esteárico	Propiedad antibacteriana	95%
	Escualeno	Propiedad antimicrobiana	99%
Frutos	Ácido mirístico	Propiedad antimicrobiana	98%
	Ácido palmítico	Propiedad antimicrobiana	96%
	cis, cis-7,10, - Hexadecadienal	Propiedad antimicrobiana	95%
	Eicosano	Propiedad antibacteriana	96%
	Octacosano	Propiedad antibacteriana	98%
Hoja	Ácido palmítico	Propiedad antimicrobiana	98%
	Azadiractina	Propiedad antimicrobiana, insecticida, acaricida.	95%

	cis, cis, cis-7,10,13-hexadecatrienal	Propiedad antibacteriana	95%
	Stigmasterol	Propiedad antibacteriana	95%

5

El material vegetal es recolectado en horas específicas con el fin de evitar que la planta entre en un proceso de estrés hídrico. Luego es almacenado y transportado para su posterior uso.

Se recolectan hojas frescas de *S. glutinosa*, las cuales son sometidas a un proceso de secado en horno a 40°C por 24 horas. Pasado este tiempo, el material vegetal secado es pulverizado con la ayuda de una licuadora industrial con el fin de obtener un contenido homogéneo.

Para la estandarización del extracto de *Swinglea glutinosa* se procede a la obtención del extracto vegetal de la planta que se realiza mediante un proceso de cocción a una temperatura de 100° C durante 5 minutos, al cual se le agrega etanol al 70% para la liberación de los metabolitos bioactivos. Pasado este tiempo se procede a dejar enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se envasa y almacena en condiciones de poca luz y a una temperatura promedio de 25° C.

Para la reducción y extracción de extractos de *S. glutinosa*, se toman 100 g del producto pulverizado, al cual se le agregan 500 ml de etanol y se dejan reposar en total oscuridad durante 48 horas. Posteriormente, la solución s filtrada para eliminar restos de material vegetal, y el producto resultante se coloca en una plancha con agitación magnética para evaporar el solvente de acuerdo con su punto de ebullición, con el propósito de obtener los bioactivos sin contaminación del solvente.

Luego se procede con la fabricación de la nanopartícula de *A. indica*. Para ello se recolectan hojas frescas de *A. indica*, las cuales son sometidas a un proceso de desinfección con agua corriente con el fin de eliminar el polvo y suciedad superficiales. Se pesan 30 g de hojas de *A. indica* a las que se adicionan 100 ml de agua destilada para someterlas a un proceso de cocción durante 20 minutos. El extracto se deja enfriar a temperatura ambiente, para luego filtrarlo a través de una gasa. El extracto acuoso es separado y almacenado.

5 Para la síntesis de nanopartículas se utiliza el precursor $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de cobre pentahidratado), el cual se aplica en una concentración de 3,5 mm por 500 ml de agua destilada. Posteriormente, se mezcla cada concentración con 30 ml del extracto acuoso, la solución se coloca en una plancha con agitación en baño de María a 85°C. Posteriormente se agrega a la mezcla el extracto de *A. indica* en un 20% por cada 30 ml de extracto acuoso.

10

Las muestras se centrifugan durante 15 minutos a 6000 rpm por triplicado, descartando el sobrenadante y rescatando el precipitado que resulta ser la nanopartícula.

Una vez obtenida la nanopartícula de *A. indica*, se procede con la adición de la misma al extracto de *S. glutinosa*. Para ello se agrega una proporción de 30% de nanopartículas de *A. indica* a un 70% de extracto de *S. glutinosa* para un total de 1L. El producto resultante podrá ser aplicado en plantas de manera preventiva o curativa contra la enfermedad de la antracnosis.

20 El rendimiento del extracto será determinado mediante la siguiente formula:

Rendimiento (%) = $\left(\frac{W_a}{W_b}\right) \times 100$, donde:

W_a = peso del extracto seco

W_b = peso del material seco y pulverizado

25

EJEMPLO 1

En un ejemplo de uso del método a patentar en cultivo de ñame con presencia de antracnosis puede usarse de la siguiente manera

30

- a) Como preventivo: Aplicar foliarmente a una dosis de 1 a 1.5 cc por litro de agua, cada 15 días. Se recomienda usar una dosis de 1 a 1.5 litros del compuesto por hectárea.
- b) Iniciar las aplicaciones con una baja incidencia de la enfermedad a manejar.
- 35 c) En zonas o temporadas de presión alta del patógeno es conveniente realizar aplicaciones cada 8 días, para evitar que la enfermedad complete sus ciclos reproductivos.
- d) Como curativo: Aplicar foliarmente a una dosis de 1 a 1.5 cc por litro de agua cada 8 días, e incluir dentro de una rotación que incluya productos de control.

40