

MAESTRIA EN INNOVACIÓN APLICADA

TÍTULO DEL PROYECTO

Desarrollo experimental para la formulación de registro ante Cofepris y la redacción de una patente de un producto formulado a base de esporas de *Trichoderma harzianum*.

NOMBRE DEL ESTUDIANTE

Mayra Jaqueline Flores Avalos

4º SEMESTRE

Asignatura: Tesis

COMITÉ TUTORIAL

Presidente: Dra. Marcela Cárdenas Manríquez

Secretario: Dra. Midory Samaniego Hernández

Vocal: Dr. Ramiro Rico Martínez

Vocal suplente: Dr. Javier Castellanos Ramos

REOPORTE DE TESIS I

FECHA

Viernes 30 de Noviembre del 2018.

Tabla de contenido

CAPITULO III. RESUMEN	1
CAPITULO IV. ANTECEDENTES	2
CAPITULO V. JUSTIFICACIÓN	5
CAPITULO VI. OBJETIVOS.....	6
OBJETIVO GENERAL.....	7
OBJETIVO ESPECÍFICO.....	7
CAPITULO VII. HIPÓTESIS.....	7
CAPITULO VIII. DIAGRAMA DE FLUJO.....	9
CAPITULO IX. CRONOGRAMA PROPUESTO	10
Actualización búsqueda de antecedentes técnicos	11
Actualización de antecedentes comerciales	12
CAPITULO X.MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
Metodología.....	16
<i>CAPITULO XI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	<i>17</i>
Resultados.....	17
<i>CAPITULO XII. ALCANCES, LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS</i>	<i>11</i>
Limitaciones.....	11
Perspectivas.....	11
<i>CAPITULO X. REFERENCIAS.....</i>	<i>12</i>

CAPITULO III. RESUMEN

El objetivo de este proyecto de innovación es generar la información experimental suficiente para documentar carpetas técnicas que permitan obtener el permiso ante Cofepris y la redacción de una patente de un nuevo biofungicida sólido que tiene como ingrediente activo una mezcla de esporas del género *Trichoderma harzianum*, el cual muestra propiedades biocontroladoras hacia diversos hongos fitopatógenos de suelo causantes de enfermedades fungosas que provocan pérdidas económicas millonarias al sector agrícola.

Se realizará un análisis de bioprospección (análisis completo de las actividades biológicas como: bioinsecticida, biofungicida, biobactericida, promotor de crecimiento vegetal, protección de cultivos, fijación de nitrógeno, producción de hormonas de crecimiento y producción de enzimas extracelulares para degradar polímeros) de *Trichoderma harzianum* a nivel in vitro e invernadero simulando las condiciones reales a las cuales están expuestas diversos cultivos agrícolas. También se realizará un aislamiento y secuenciación del ADN con técnicas innovadoras de biología molecular de la cepa anteriormente mencionada. Con ello se generará una carpeta técnica, que servirá como base para la solicitud de registro ante Cofepris. Además, se realizará una búsqueda de anterioridad de las actividades biológicas que se encuentren para el hongo y se redactará una patente para un nuevo producto.

CAPITULO IV. ANTECEDENTES

Los microorganismos patógenos son capaces de desarrollar resistencia a agroquímicos, por lo que se producen formulaciones químicas cada vez más poderosas, que generalmente suelen ser más tóxicas y dañinas para la salud, que a su vez generan severos problemas medioambientales (Vasseur *et al.*, 1995).

Existen registros de trastornos respiratorios relacionados con agricultura que incluyen una gran diversidad de manifestaciones clínicas que abarcan desde trastornos leves hasta insuficiencia respiratoria grave, esto a causa de diversos plaguicidas que al ser transportados a las vías respiratorias provocan dificultades pulmonares aún más serias. Los gases utilizados como plaguicidas o los que se desprenden como reacción cuando se aplican los plaguicidas (como el sulfuro de hidrógeno, el fosgeno y el cloro) afectan directamente, mediante irritación, a las paredes de las vías respiratorias y entrañan riesgos de reacciones asmáticas en las personas que sufren de hiperactividad bronquial.

Sustancias químicas que entran en contacto con la piel pueden tener efecto local e inclusive llegar a otros órganos internos provocando su efecto a ese nivel.

Los plaguicidas pueden aplicarse a semillas, suelos, el cultivo o a la cosecha, después de su aplicación, la exposición a los plaguicidas puede producirse por escape de gases, dispersión por acción del viento o contacto con las plantas a través de la piel o la ropa; Estas exposiciones presentan efectos a largo plazo que incluyen tumores inmunológicos, neurotóxicos y reproductivos e inclusive cáncer.

Debido a la toxicidad intrínseca, en la mayor parte de los países existen complejas y específicas normativas que prevén la realización exigente de procedimientos para la valoración del riesgo antes de la comercialización y uso de sustancias químicas en la agricultura e inclusive han optado por otro tipo de alternativas para el control de plagas como lo son los productos biológicos.

Existen varias iniciativas a nivel internacional que buscan apoyar la generación de productos ecológicos para su uso en el campo y particularmente en el control de plagas, algunas de estas iniciativas se enuncian en informes publicados por el Programa Comercio y Medio Ambiente de la CCA, 1999.

Actualmente se ha generado un gran interés en el control biológico como una innovadora alternativa para el control de plagas y enfermedades que perjudican significativamente a los cultivos agrícolas (Alatorre *et al.*, 2006).

En México las actividades para el control biológico como disciplina científica y estrategia fundamental para el manejo integrado de plagas datan de 1960, pero su aplicación se incremento significativamente desde 1990 (Morales *et al.*, 2009). El

control biológico además de cuidar y reforzar la acción de los agentes que normalmente están presentes en el ecosistema (Alatorre et al., 200), desarrolla la manipulación deliberada de parasitoides, depredadores y patógenos de las especies plaga dentro del agrosistema, diseñada o proyectada para reducir la población plaga a un nivel que no produzca daños económicamente importantes (Badii *et al.*, 2006). Estos controladores biológicos son organismos que generalmente tienen como efecto la muerte directa de la especie de insecto que atacan o actúan como antagonistas inhibiendo el desarrollo de otros microorganismos mediante distintos tipos de acción.

Por ello y debido a la evidente necesidad de encontrar un punto de equilibrio entre la productividad, control de microorganismos y la sostenibilidad, este trabajo analiza las actividades antagónicas de *Trichoderma harzianum* para el control bioracional de fitopatógenos, además de otros atributos como agente promotor de crecimiento vegetal.

Hablando de mercado, en la actualidad existen varias empresas certificadas para la venta de microorganismos dentro del directorio de laboratorios reproductores y comercializadores de agentes de control biológico en México, registrados ante SAGARPA Y SENASICA (actualizado el 2018). Entre ellos los que se dedican al comercio de *Trichoderma harzianum* son:

CHIAPAS

- MOSCAFRUT
- Analógicos Tacana S.A. de C.V.

CHIHUAHUA

- Control biológico A.C.
- QUÍMICA AGRONÓMICA DE MÉXICO

EDO. DE MÉXICO

- Laboratorio reproductor de organismos benéficos NOCON S.A. de C.V.

JALISCO

- Alta Tecnológica agrotécnica SPR. De R.L. de C.V.

MICHOACÁN

- BIO-BICH de México, S.A. de C.V.
- Productos orgánicos de Nueva Italia SPR. De R.L.

PUEBLA

- ISLAVEL S.A. de C.V.

SINALOA

- Agrobiológicos del noroeste S.A. de C.V.
- Agrobiosol de México S.A. de C.V.

TAMAULIPAS

- Laboratorio en biotecnología aplicada agriculsana S.A. de C.V.

VERACRUZ

- Biotecnología ANDREB S.A. de C.V.

En comparación con la lista publicada en el 2017 de los laboratorios certificados por SENASICA en el presente año existen tres nuevos laboratorios autorizados para la reproducción y venta de *Trichoderma harzianum* en los estados de Michoacán, Puebla y Tamaulipas.

En una estrategia de mercado y de vigilancia tecnológica es necesario realizar una búsqueda de patentes que permita identificar la capacidad de innovación de un proyecto de esta naturaleza, para esta propuesta se buscó información relacionada con el proyecto en distintas bases de datos.

Dentro de la base de datos de WIPO (World Intellectual Property Organization) se encuentra un total de 3, 405 patentes a nombre de *Trichoderma* propiedad de varias transnacionales como por ejemplo la patente con código P160101083 propiedad de MONSANTO TECHNOLOGY LLC, cuyo propósito es proteger un método para cultivar una planta de maíz, que comprende: seleccionar un campo donde se cultivó una planta de maíz el año anterior; plantar semillas de maíz; y aplicar una combinación de *Trichoderma virens* y *Bacillus subtilis* var. *amyloliquifaciens*.

En el caso más específico en la base de datos de WIPO se encuentran 397 patentes a nombre de *Trichoderma harzianum*, 27 patentes para el uso de *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrol, 10 para el biocontrol de *Fusarium oxysporum*, no existe registro de la actividad de *Trichoderma harzianum* contra *Alternaria alternata* y existe un solo registro de patente para una cepa de *Trichoderma harzianum* y su aplicación en la prevención y control de la mancha parda de hierba causada por *Rhizoctonia solani*. Cuenta con el número de concesión: 103952321 y se otorgó el 17 de Agosto del 2016.

En Espacenet para *Trichoderma* existen 3, 524 patentes, de ellas 402 patentes son para *Trichoderma harzianum* y 20 registro de patentes son del uso que se le ha otorgado a *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrol, no existe registro de *Trichoderma* como agente de biocontrol de *Fusarium Oxysporum* o de *Alternaria*

alternata y existe sólo una patente para el uso de *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrol de *Rhizoctonia solani* (Wang, Y. Tangshan jintu microbial organic fertilizer co ltd.CN 103952321. 2014.)

Por otro lado, como complemento de la fundamentación del proyecto y como parte del desarrollo tecnológico es necesario conocer el estado del arte, por tal razón se generó una búsqueda de anterioridad del material técnico científicos del campo y a continuación se menciona.

Pubmed tiene dentro de su acervo bibliográfico 953 artículos relacionados con *Trichoderma harzianum*, de ellos 228 relacionados con biocontrol, 29 para el biocontrol de *Rhizoctonia solani*, 6 artículos referentes al biocontrol de *Alternaria alternata* con el uso de *Trichoderma harzianum* y tan sólo 20 para el biocontrol de *Fusarium oxysporum*.

Como resultado de la búsqueda de artículos científicos que hablan acerca de *Trichoderma harzianum*, Science Direct, cuenta con un total de 3,386 publicaciones, 1,720 resultados para el uso de *Trichoderma* como agente de biocontrol de ellos 114 para *Alternaria alternata*, 381 para *Rhizoctonia solani* y 430 para *Fusarium oxysporum*.

La búsqueda de antecedentes técnicos, tecnológicos nos muestra que el proyecto tiene una buena posibilidad de competir en el mercado y que el desarrollo científico asociado sea publicado y patentado.

CAPITULO V. JUSTIFICACIÓN

La población mundial que actualmente se encuentra en 7 mil millones, alcanzará un valor 8 mil millones en el 2020 y la ONU (2014), prevé que, a comienzos del próximo siglo, el número de personas podría superar los 16, 600 millones. La población del planeta aumentará de manera espectacular en las regiones más pobres del mundo, advierte la ONU (2014).

Como se indica en el último número del informe de la FAO, el estado de la inseguridad alimentaria en el mundo, la humanidad sigue enfrentándose a la cruda realidad de una desnutrición crónica que afecta a más de 800 millones de personas: el 17 por ciento de la población de países en desarrollo, y hasta un 34 por ciento de la población del África subsahariana, e incluso más en determinados países individuales. Todo ello sumado a las cambiantes condiciones del clima a causa de la contaminación que favorecen la aparición de plagas cada vez más resistentes y de productos químicos incapaces de controlar su efecto hacen necesario la aparición en el mercado de productos biológicos de alto espectro que garanticen mayores y mejores cultivos que puedan proveer de alimento a una población en aumento y soportar la producción en menores espacios de suelos.

Actualmente en México existen 55 laboratorios certificados para la reproducción y venta de agentes de control biológico. Específicamente en el estado de Guanajuato sólo se encuentran registrados CESAVEG-laboratorio de reproducción de organismos benéficos y BIOKRONE, S.A. de C.V. Al ser tan pocos los laboratorios que cuentan con el permiso de comercializar agentes biológicos, la competencia es baja y el nicho es aún explotable.

NATURAGRI S.A. de R.L. es una empresa dedicada totalmente a la producción de insumos agrícolas biológicos para el control de plagas, se encuentra ubicada en el estado de Guanajuato, cuenta con la infraestructura, el personal, la capacidad técnica y por ser una empresa joven tiene todo el ímpetu y posibilidades de crear productos biológicos de alta calidad que sean parte aguas en el mercado nacional e internacional. En este proyecto se pretende generar el desarrollo experimental para la formulación de registro ante Cofepris y la redacción de una patente de un producto formulado a base de esporas de *Trichoderma harzianum*.

CAPITULO VI. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollo experimental que sustente la obtención de registro ante Cofepris y la redacción de una patente de un producto formulado a base de esporas de *Trichoderma harzianum*.

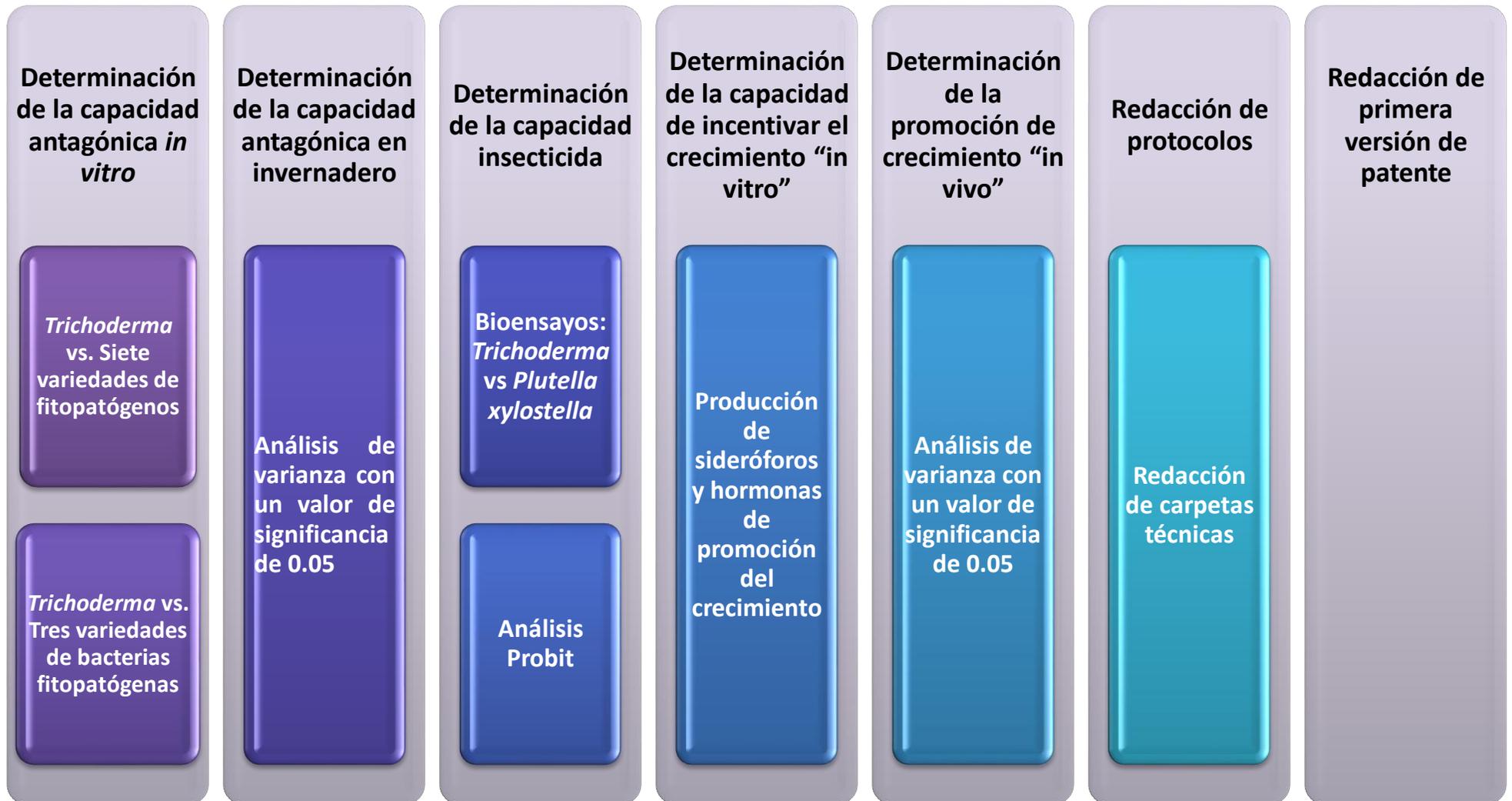
OBJETIVO ESPECÍFICO

- Implementar métodos de laboratorio para la bioprospección de todas las posibles actividades a nivel in vitro y en invernadero para el nuevo producto a base de esporas de *Trichoderma harzianum*.
- Generar una carpeta técnica con los resultados obtenidos conforme a la normatividad Cofepris para iniciar el trámite de permiso.
- Realizar una búsqueda de antecedentes para el producto a base de *Trichoderma harzianum* al unísono de las actividades biológicas con las que el producto biológico se desee patentar.
- Redacción de una primera versión de patente para un nuevo producto a base de Trichoderma.

CAPITULO VII. HIPÓTESIS

Es posible desarrollar un registro ante Cofepris y la escritura de una primera versión de patente como resultado del desarrollo experimental para la bioprospección de un producto formulado a base de esporas de *Trichoderma*.

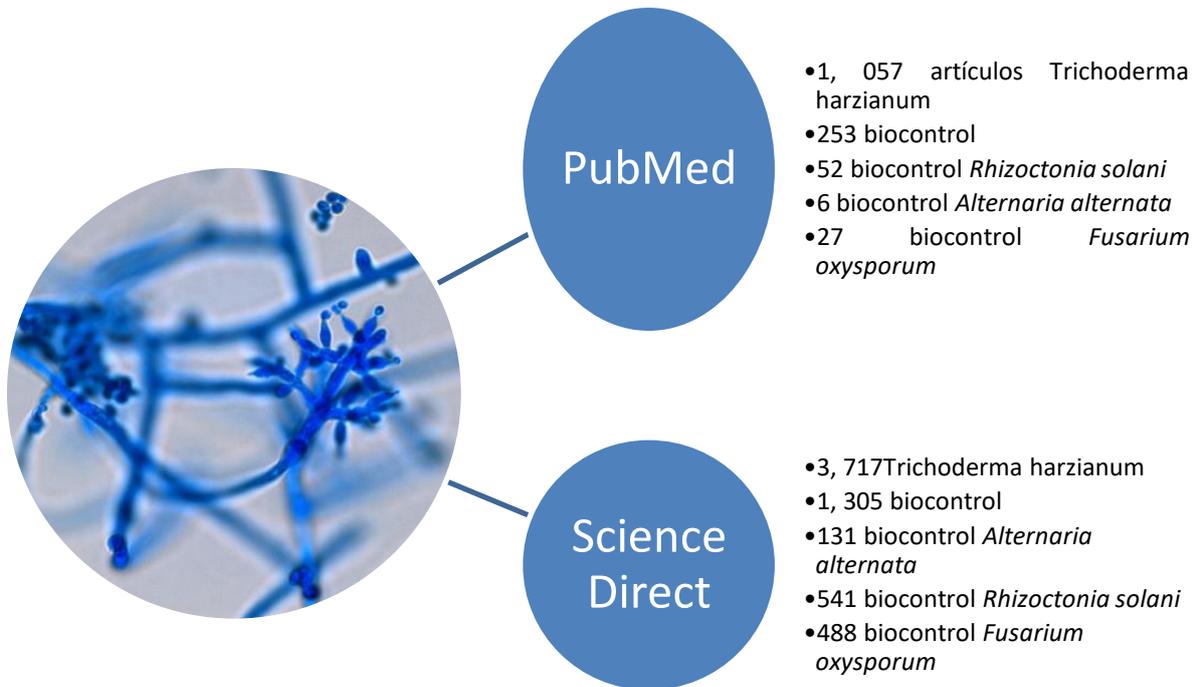
CAPITULO VIII. DIAGRAMA DE FLUJO



CAPITULO IX. CRONOGRAMA PROPUESTO

Actividad	Cronograma propuesto Enero 2018- Junio 2019										
	Septiembre - Octubre 2017	Noviembre - Diciembre 2017	Enero - Febrero 2018	Marzo - Abril 2018	Mayo - Junio 2018	Julio - Agosto 2018	Septiembre - Octubre 2018	Noviembre - Diciembre 2018	Enero - Febrero 2019	Marzo - Abril 2019	Mayo - Junio 2019
Definición del proyecto de titulación	X	X									
Revisión de bibliografía y de patentes	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Desarrollo de experimentación		X	X	X	X	X					
Generación del dossier que conforma la carpeta técnica de registro ante Cofepris						X	X				

Actualización búsqueda de antecedentes técnicos



Actualización de antecedentes comerciales

Tabla 1. Códigos de búsqueda de patentes.

CÓDIGO	SIGNIFICADO
1.C12R1/885	<i>Trichoderma</i> .
2.Y10S435/945	<i>Trichoderma</i> .
3.A10N63/04	Microbial fungi or extracts thereof.
4.Y10S435/911	Microorganisms using fungi.
5. A01N25/00	Biocides fungicidal.
6.A01N59/00	Biocides, pestrepelleants or attractans, or plant growth regulators containing elements or inorganic compounds.
7. A01N63/00	Biocides, pest repellants or attractans or plant growth regulators containing microorganism fungi.
8. C12R1/58	<i>Pseudomonas</i> .
10. A01N25/14	Powders or granules wetttable.
11. A01P3/00	Fungicides.
12. A01P7/04	Insecticides.
13. A01N63/00	Biocides, pest repelants or attractans, or plant growth regulators containing microorganisms, viruses, microbial fungi, enzymes, fermentates or substances produced by or extracted from, microorganism or animal material.
14. A01N63/04	Microbial fungi or extractants thereof.
15. A01N25/12	Powders or granule.

Tabla 2. Patentes antecedentes de procesos de formulación de agentes microbiales que contienen *Trichoderma*.

N O.	PUBLICAT ION	APPLIC ATION PUBLIC ATION DATE	GRANT PUBLIC ATION DATE	TITTLE
1	CN108546 212A	18/09/20 18	-	METHOD FOR PREPARING A MICROORGANISM ORGANIC FERTILIZER
2	CN108586 1109A	180928		SPECIES- SPECIFIC WATER-SOLUBLE FERTILIZER PREPARATION AND APPLICATION METHODS YAM
3	US201802 41576A1	2018083 0		COMPOSITIONS AND METHODS FOR ENHANCING MICROBIAL STABILITY
4	Saju et al.	2002		ON FARM PRODUCTION OF TRICHODERMA HARZIANUM USING ORGANIC MATTER
5	CN108077 319A	2018052 9		BIOCONTROL BACTERIUM FERMENTATION LIQUID FOR PREVENTING AND CURING FRUIT TREE ROTTEN DISEASE AND PREPARATION METHOD THEREOF
6	WO201714 4497A1	2017083 1		SOLVENT-FREE FORMULATIONS OF LOW-MELTING ACTIVE SUBSTANCES
7	US201701 42961A1	2017052 5		SOLID AGROFORMULATIONS FOR PREPARING NEAR MICRO-EMULSION AQUEOUS PESTICIDES
8	CA274456 9C	2010061 0		PROCESS FOR PRODUCING WATER-DISPERSIBLE PARTICULATE AGRICULTURAL-CHEMICAL COMPOSITION
9	JP5165934 B2	2008122 5		METHOD FOR MANUFACTURING A PESTICIDE GRANULES WETTTABLE POWDER COMPOSITION
10	JP2009508 824A	2009030 5		IMPROVED CONTROL METHOD OF THE SOIL-DWELLING PESTS AND / OR SOIL-BORNE DISEASES
11	KR100797 036B1	2006090 8		TRICHODERMA ASPERELLUM DYF0328 AND A BIOCONTROL AGENT OF PLANT DISEASES WITH THIS STRAIN
12	EP1559319 A1	2006122 0		AGRICULTURAL OR HORTICULTURAL PARTICULATE COMPOSITION COMPRISING WETTTABLE GRANULAR AGENT
13	KR200400 33420A	2004042 8		WETTTABLE COMPOSITIONS FOR USE IN AGRICULTURE, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND STORAGE METHOD THEREFOR

14	DE60225262T2		20080619	A GRANULAR COMPOSITION AND PROCESS FOR THEIR MANUFACTURE
15	KR20000051668A	20000816		AGRICULTURAL COMPOSITION INCLUDING MICROORGANISM HAVING ANTAGONISM
16	EP0878128A1	19981118		SOLID FORMULATIONS
17	US6030924A		20000229	SOLID FORMULATIONS
18	KR20150104762A	20150916		COMPOSITION AND WETTABLE POWDER FOR PREVENTING PLANT DISEASE COMPRISING OLIGOCHITOSAN
19	CU23573(A1)		20100930	PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE ESPORAS DE TRICHODERMA HARZIANUM POR FERMENTACIÓN SÓLIDA

Tabla 3. Patentes antecedentes de formulados en polvo que contienen *Trichoderma harzianum*.

NO.	PUBLICACION	APPLICACION PUBLICACION DATE	GRANT PUBLICATION DATE	TITLE
1	CN108617676A	20181009		LAWN SEED PREVENTION OF FUSARIUM WILT COMPLEX GERMICIDAL COMPOSITION
2	US20180289013A1	20181011		PESTICIDAL MIXTURES
3	CN108203703A	20180626		BIOCONTROL MICROBIAL AGENT AND APPLICATION OF BIOCONTROL MICROBIAL AGENT IN CONTROL OF GRAY MOLD
4	ES2681528A1	20180913		COMPOSICIÓN FITOSANITARIA QUE COMPREND CEPAS DE TRICHODERMA PARA SU USO EN EL TRATAMIENTO Y/O PREVENCIÓN DE INSECTOS PLAGA DE ALMACÉN
5	CN108184907A	20180622		WETTABLE POWDER OF TRICHODERMA ASPERELLUM DQ1 COMPOSITION AND APPLICATION THEREOF
6	CN101575574A	20091111		TRICHODERMA HARZIANUM COMPOSITE BACTERIA CULTURE AND APPLICATION OF TRICHODERMA HARZIANUM COMPOSITE BACTERIA CULTURE IN ASPECT OF PLANT PROTECTION
7	Boulter et al	2002		EVALUATION OF COMPOSTS FOR SUPPRESSION OF DOLLAR SPOT (SCLEROTINIA HOMEOCARPA) OF TURFGRASS
8	CN101485226A	20090722		RICHODERMA SP. PREPARATION FOR PREVENTING AND TREATING SOIL-BORNE DISEASE OF CROP
9	CN108077330A	20180529		BIOPESTICIDE FOR PREVENTING AND TREATING CAMELLIA OLEIFERA DISEASES AND PESTS AND PREPARATION METHOD
10	CN107969438A	20180501		WETTABLE POWDER CONTAINING TRICHODERMA HARZIANUM T-22 AND CUAMINOSULFATE AS WELL AS PREPARATION METHOD AND APPLICATION THEREOF
11	CN107646878A	20180202		MICROBIAL AGENT FOR PREVENTING AND TREATING TOBACCO MOSAIC VIRUSES AND PREPARATION METHOD THEREOF
12	CN1076680075A	20180209		COATED BIOLOGICAL MICROBIAL AGENT CAPABLE OF CONTROLLING CLUBROOT DISEASE AND PREPARATION METHOD THEREOF
13	CN108207944A	20180629		TRICHODERMA ASPERELLUM HN COMPOSITION WETTABLE POWDER AND APPLICATION THEREOF
14	CN108184907A	20180622		WETTABLE POWDER OF TRICHODERMA ASPERELLUM DQ1 COMPOSITION AND APPLICATION THEREOF
15	CN108041079A	20180518		WETTABLE POWDER CONTAINING TRICHODERMA HARZIANUM T-22 AND COPPER ABIETATE AND PREPARATION METHOD AND APPLICATION OF WETTABLE POWDER
16	CN107372617A	20171124		TRICHODERMA PSEUDOKONINGI WETTABLE POWDER AND PREPARATION METHOD THEREOF
17	CN107125267A	20170905		TRICHODERMA HAMATUM WETTABLE POWDER CAPABLE OF PREVENTING AND TREATING SOIL-BORNE DISEASES AND PREPARATION METHOD THEREOF
18	CN107114411A	20170901		TRICHODERMA ASPERELLUM DQ3 COMPOUND POWDER YBY FOR RICE BREEDING AND APPLICATION
19	CN107006524A	20170804		PREPARATION METHOD AND APPLICATION OF TRICHODERMA LONGIBRACHIATUM DQ2 WETTABLE PULVIS
20	CN106879585A	20170623		TRICHODERMA*BRASSINOLIDE WETTABLE POWDER AS WELL AS PREPARATION METHOD AND APPLICATION THEREOF
21	CN107041385A	20170815		STERILIZATION COMPOSITION WETTABLE POWDER, A PREPARING METHOD THEREOF AND APPLICATIONS OF THE WETTABLE POWDER IN RICE SEEDLING BLIGHT CONTROL
22	CN106635827A	20170510		TRICHODERMA POLYSPORUM FUNGUS STRAIN HZ-31 AND APPLICATION THEREOF TO BIOLOGICAL WEEDING
23	US20170042163A1	20170216		USE OF BURKHOLDERIA FORMULATIONS, COMPOSITIONS AND COMPOYNDNS TO MODULATE CROP YIELD AND/OR CORN ROOTWORM INFESTATION
24	US20180160684A1	20180614		FUNGICIDE COMPOSITION AND PLANT DISEASE CONTROL METHOD
25	CN105802863A	20160727		TRICHODERMA HARZIANUM FERMENTATION PROCESS, WETTABLE POWDER AND APPLICATION THEREOF

26	CN105941484A	20160921		TRICHODERMA ASPERELLUM SPORE AND PHENAZINO-1-CARBOXYLIC ACID COMPOUND STERILIZATION COMPOSITION
27	CN105594751A	20160525		TRICHODERMA SPORE PREPARATION AND PREPARATION METHOD THEREOF
28	CN105638747A	20160608		TRICHODERMA ASPERELLUM SPORE WETTABLE POWDER COMPOSITION AND PREPARATION METHOD THEREOF
29	JPWO2016017547A1	20170427		SOLID PESTICIDAL COMPOSITION
30	KR20160067448A	20160614		NOVEL ANTIVIRAL COMPOSITION AND METHOD FOR CONTROLLING PLANT VIRUSES USING THE SAME
31	EP281951A2	20150107		EMULSIFIABLE GRANULE OBTAINABLE BY MIXING AN PESTICIDAL EMULSION WITH SOLID DISPERSANT AND EXTRUDING THE RESULTING PASTE
32	WO2013088942A1	20130620		GRANULAR AGROCHEMICAL COMPOSITION
33	WO201243677A2	20130228		COATING COMPOSITIONS FOR PATHOGEN CONTROL IN OILSEEDS
34	GB2490241A	20121024		COMPOSITIONS FOR GROWTH AND VIGOUR IN SOYA BEAN
35	CN103338635A	20131002		ANTHRAQUINONE CONTAINING PREPARATIONS/LIGNIN FORMULATIONS
36	US9326522B2	20130912		MICROBIAL PESTICIDAL COMPOSITION
37	WO2018183976		4102018	ENHANCED MICROBIAL AND BIORATIONAL CONTROL OF NEMATODES PESTS OF PLANTS
38	107602222		19012018	SPECIAL FERTILIZER FOR TEA AND PREPARATION METHOD OF SPECIAL FERTILIZER
39	107164270		15092017	COMPOSITE MICROBIAL INOCULUM USED FOR PREVENTING AND TREATING SOIL-BORNE DISEASES, AND PREPARATION METHOD THEREOF
40	107041385		15082017	STERILIZATION COMPOSITION WETTABLE POWDER, A PREPARING METHOD THEREOF AND APPLICATIONS OF THE WETTABLE POWDER IN RICE SEEDLING BLIGHT CONTROL
41	104738090		1072015	WETTABLE POWDER FOR PREVENTING AND TREATING FUSARIUM WILT OF CUCUMBER
42	104738098		1072015	WETTABLE POWDER FOR PREVENTING AND TREATING FUSARIUM WILT OF CUCUMBER
43	94824		2092015	MEZCLA DE PLAGUICIDAS
44	WO/2015/011615		29012015	MIXTURES COMPRISING A TRICHODERMA STRAIN AND A PESTICIDE
45	2007008960		18012007	ANTIBACTERIAL AGENT AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME
46	WO2017222360		22062017	COMPOSICION FERTILIZANTE A BASE DE HIDROLIZADOS DE SOYA
47	Mx/a/2016/012860		30092016	BIOPREPARADO A BASE DE TRICHODERMA HARZIANUM RIFAI PARA EL CONTROL BIOLOGICO DE HONGOS CON ORIGEN EN SUELO.
48	Mx/a/2016/001103	WO2015/013558	29012015	COMPOSICIONES Y METODOS RELACIONADOS CON ENDOFITOS AISLADOS.
49	Mx180846B		30092013	NOVEDOSO AISLADO DE TRICHODERMA, COMPOSICIONES FUNGICIDAS QUE CONTIENEN EL AISLADO Y SU USO CONTRA B. CINEREA Y S. SCLEROTIURUM
50	ES2109182	WO9716975	19900101	FORMULACION LIQUIDA A BASE DE CEPAS DE LOS HONGOS FILAMENTOSOS TRICHODERMA HARZIANUM Y TRICHODERMA VIRIDE.

Tabla 4. Actualización búsqueda de patentes *Trichoderma* a nivel nacional.

NO.	PUBLICACION	APPLICACION PUBLICACION DATE	TITLE
1	MX/a/2010/009490	27102010	EXPRESIÓN DE CATALASA EN TRICHODERMA
2	MX/a/2007/008234	13052009	UNA NUEVA CEPA DE TRICHODERMA ATROVIRIDE, UN MEDIO DE CULTIVO CONTENIENDOLA, ASI COMO LA UTILIZACIÓN DE DICHA CEPA EN PARTICULAR COMO ESTIMULANTE DE LA GERMINACIÓN Y/O DEL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS
3	PA/a/2000/000383	5032001	PROTEINA SWOLLENINA DE TRICHODERMA REESEI Y SECUENCIAS DE ADN QUE LA CODIFICAN
4	PA/a/1991/000175	24061994	NOVEDOSO AISLADO DE TRICHODERMA, COMPOSICIONES FUNGICAS QUE CONTIENEN EL AISLADO Y SU USO CONTRA B. CINEREA Y S. SCLEROTIURUM
5	2017000503	11072018	COMPOSICIÓN ELICITORA Y ESTIMULADORA DEL CRECIMIENTO VEGETAL

6	201601 2860	30032 018	BIOPREPARADO A BASE DE TRICHODERMA HARZIANUM RIFAI PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS ORIGEN EN SUELO
7	201700 3658	41220 17	COMPOSICIONES DE TRICHODERMA Y METODOS DE USO
8	201401 3168	19042 016	COMPOSICION INSECTICIDA EFICAZ EN EL CONTROL DE HONGOS FITOPATOGENOS QUE INCLUYEN TRICHODERMA HARZIANUM
9	201401 1347	22032 016	BIOFERTILIZANTE A BASE DE UN CONSORCIO MICROBIANO CON VEHICULO MINERAL Y SU METODO DE PRODUCCION Y APLICACION
10	MX/a/20 11/0004 98- WO201 0/00924 1	28072 011	CONTROL DE ENFERMEDADES DE PLANTAS E INCREMENTO DEL CRECIMIENTO DE PLANTAS USANDO UNA COMBINACION DE UNA ESPECIE DE TRICHODERMA VIRENS Y UNA ESPECIE DE TRICHODERMA HARZIANUM COMPETENTE DE RIZOSFERA
11	201100 0498	21062 011	CONTROL DE ENFERMEDADES DE PLANTAS E INCREMENTO DEL CRECIMIENTO DE PLANTAS USANDO UNA COMBINACION DE UNA ESPECIE DE TRICHODERMA VIRENS Y UNA ESPECIE DE TRICHODERMA HARZIANUM COMPETENTE DE RIZOSFERA
12	PA/a/19 91/0007 41	60519 93	AISLADOS DE TRICHODERMA TOLERANTES AL FRIO
13	Mx/a/20 14/0113 47	22092 014	BIOFERTILIZANTE A BASE DE UN CONSORCIO MICROBIANO CON VEHICULO MINERAL Y SU METODO DE PRODUCCION Y APLICACION.
14	MX/a/20 14/0033 05	19032 014	CEPA DE TRICHODERMA HARZIANUM CON ACTIVIDAD ANTAGONICA CONTRA HONGOS FITOPATOGENOS, COMPOSICIONES QUE LA CONTIENEN Y USO DE LA MISMA
15	PA/a/20 06/0078 31- WO200 5/06979 0	70720 06	COMPOSICION DE AGRESINA BIOINMUNE PARA SUPRESION DE INFECCIONES POR XANTHOMONAS EN CULTIVOS AGRICOLAS.
16	PA/a/20 00/0033 04	40420 00	PROCEDIMIENTO PARA ELABORAR UN BIOFUNGICIDA EMPLEANDO UNA MEZCLA DE ESPORAS DEL HONGO TRICHODERMA S P P.

Como se puede observar la disponibilidad de artículos técnico-científicos del tema en cuestión nos indica que es una problemática vigente y que la comunidad científica se encuentra interesada en ella, lo cual para el desarrollo del proyecto es benéfico ya que se tiene información actual con datos que se obtuvieron en base a las necesidades y cambios presentes tanto del medio ambiente, como se la sociedad, los cultivos, los hongos entomopatógenos y el hongo *Trichoderma harzianum*.

Es importante denotar que la cantidad de patentes en el mercado se encuentra en aumento ya que en un período de 5 meses y en algunas temáticas respecto a la acción de *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrol el número de patentes aumentó de manera significativa.

Como principales competidores en términos de similitud del producto patentado se encuentran el Centro de investigación y de estudios avanzaos del IPN, Bayer y Basf Sebasf, quienes tienen patentes con años de publicación entre 2014 y 2015.

CAPITULO X.MATERIALES Y MÉTODOS

El abuso en el uso de agroquímicos para el control de plagas ha generado una contaminación ambiental desmedida, además del incremento en la resistencia de los microorganismos a los agentes tradicionales. A causa de los fenómenos de resistencia a los plaguicidas químicos, el control microbiano representa una alternativa tecnológica que permite reducir los efectos no deseables de microorganismos en la agricultura, lo que permite incrementar la productividad de los cultivos, favoreciendo de manera directa la conservación de los recursos naturales. En este sentido, la bioprospección de la cepa analiza las distintas actividades biológicas de *Trichoderma* para desarrollar productos utilizados en el control biorracional de plagas.

Metodología

En primera instancia se realizó una identificación de sus características morfológicas haciendo uso de tinciones diferenciales.

Bioprospección de la cepa microbiana.

Determinación de la efectividad biológica.

Determinación de las características fisicoquímicas del producto formulado.

- Determinación de almacenamiento acelerado.
- Determinación de granulometría en húmedo.
- Determinación de granulometría en seco.
- Determinación de color.
- Determinación de olor.
- Determinación de apariencia física.
- Determinación de peso específico.
- Determinación de pH.
- Determinación de humectabilidad.
- Determinación de persistencia en espuma.
- Determinación de suspensibilidad gravimétrica.

CAPITULO XI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

- Se completó el proceso de bioprospección de la cepa microbiana.
- Se logró integrar la carpeta técnica que formará parte del dossier para la obtención de registro ante Cofepris.

Discusión de resultados

- Se implementaron nuevas técnicas de bioprospección las cuales fueron validadas por la empresa.
- Las técnicas de bioprospección generadas funcionan de manera reproducible y confiable para el desarrollo de nuevos productos.
- Se generó la ruta crítica para el desarrollo, realización de carpetas técnicas para la obtención de registro y patentamiento de nuevos productos con contenido microbial.
- De manera adicional, la información obtenida se utilizará para la redacción de patente.

CAPITULO XII. ALCANCES, LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS

Tabla 5. Alcances.

Actividad	Cronograma propuesto Enero 2018- Junio 2019										
	Septiembre - Octubre 2017	Noviembre - Diciembre 2017	Enero - Febrero 2018	Marzo - Abril 2018	Mayo - Junio 2018	Julio - Agosto 2018	Septiembre - Octubre 2018	Noviembre - Diciembre 2018	Enero - Febrero 2019	Marzo - Abril 2019	Mayo - Junio 2019
Definición del proyecto de titulación	X	X									
Revisión de bibliografía y de patentes	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Desarrollo de experimentación		X	X	X	X	X					
Generación del dossier que conforma la carpeta técnica de registro ante Cofepris						X	X				

Limitaciones

La mayor limitación fue la limitada variedad de opciones de laboratorios autorizados para la realización de los análisis que son requeridos para el otorgamiento de registros Cofepris.

Además, el tiempo de espera para la entrega de resultados de los análisis es muy prolongado.

Perspectivas

El proceso de bioprospección realizado marca una ruta crítica a seguir para nuevos productos cuyo inicio se dé con el aislamiento de cepas microbianas en el Centro de investigación y Desarrollo Naturagri.

CAPITULO X. REFERENCIAS

Alatorre, R., Bravo, H., Leyva, J & Huerta, A. 2000. *Manejo Integrado de Plagas*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. pp 12.

Alexander B y D.A. Zuberer. 1990. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biol Fertil Soils*. 12:39-45

Badii, M. & Abreu, J. 2006. Biological control a sustainable way of pest control. *International Journal of Good Conscience*. 1(1): 82-89.

Checa Coral, Oscar Eduardo, Toro Criollo, Maribel, & Descanse Vallejo, Jesica. (2017). Antagonism of *Trichoderma* spp. strains against pea (*Pisum sativum* L.) Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi.. *Acta Agronómica*, 66(3), 442-448. <https://dx.doi.org/10.15446/acag.v66n3.54038>

Comisión Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. 2008. *Enfermedades profesionales de los agricultores*. <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Instituto/Comision/GruposTrabajo/ficheros/olleto%20enfermedades.pdf>. Pp. 11-27.

Comisión para la cooperación Ambiental. *Apoyo a los mercados ecológicos*.1999. <http://www.cec.org>. (Consultado 17/11/17)

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2000). Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. FAO. Land and Plant Nutrition Management. Rome, Italy.

JAVOID, A., AFZAL, L., & SHOAIB, A.2017. Biological Control of Charcoal Rot of Mungbean by *Trichoderma harzianum* and Shoot Dry Biomass of *Sisymbrium irio*. *Planta Daninha*, 35, e017165756. Epub December 07, 2017. <https://dx.doi.org/10.1590/s0100-83582017350100075>

Loredo, Araceli, Argüello, Andres, Rodríguez-Herrera, Raul, Gutiérrez-Sánchez, Gerardo, Escamilla, Alondra, & Aguilar, Cristóbal. (2017). Biodegradacion fungica de poliuretano rígido. *Química Nova*, 40(8), 885-889. <https://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170094>

Marcelo, Y., León, M., Georgina, M., Dustet, J., Duque, A., Ibañez, M. & Tortoló, K. (2011). *Selección de hongos aislados de bagazo de caña con actividad celulosa sobre celulosa cristalina para posibles aplicaciones industriales*. ICIDCA, 45, pp. 3-11.

Morales, V., Garay B., Romero, A & Sánchez, J. 2009. *Insecticidas biológicos en el control de insectos plaga: agrícolas, forestales, de almacén y urbanas en México*. Artículo científico. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp 1-5.

ONU (Organización de las Naciones Unidas). (2014). Desertificación. http://www.cinu.org.mx/temas/des_sost/desert.htm. Centro de Información México, Cuba y República Dominicana. (Consultado 10/11/2017)

Wang, Y. Tangshan jintu microbial organic fertilizer co ltd. CN 103952321. 2014

Rodríguez-Cáceres, E.A. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. 44:990. 1982

INFOGRAFÍAS

World Intellectual Property Organization. <http://www.wipo.int/portal/en/index.html>

Espacenet. European Patent Office. <https://worldwide.espacenet.com/>

ScienceDirect. <http://www.sciencedirect.com/>

PubMed. US National Library of MEDICINE National Institutes of Health. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

<https://patentscope.wipo.int/search/es/detail.jsf?docId=MX72377&redirectedID=true>

<https://patentscope.wipo.int/search/es/result.jsf>

https://worldwide.espacenet.com/searchResults?submitted=true&locale=en_EP&DB=EPODOC&ST=singleline&query=trichoderma+harzianum+biocontrol+rhizoctonia+solanum

<http://www.sciencedirect.com/search?qs=trichoderma%20harzianum%20biocontrol%20fusarium%20oxysporum&show=25&sortBy=relevance>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

