

Ácido jasmónico como bioestimulante para la aplicación en la agricultura, en sustitución de agroquímicos

Viviana Carabeo-Pérez^{1*}, Georgina Michelena-Álvarez^{1**} e Ileana Pereda-Reyes²

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)
Vía Blanca 804 y Carretera Central, San Miguel de Padrón, La Habana, Cuba.

2. Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría, Cujae.
Calle 114, No. 11901 e/ Ciclovía y Rotonda, Marianao, La Habana, Cuba.

* viviana.carabeo@icidca.azcuba.cu

** georgina.michelena@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

El ácido jasmónico es una fitohormona que puede actuar y sustituir agroquímicos en la agricultura. Se produce a partir del hongo *Botryodiplodia theobromae*, que excreta metabolitos al medio, entre ellos jasmónico y otros jasmonatos, por lo que resultan importantes las técnicas de identificación y cuantificación, para determinar las dosis de aplicación en los cultivos. Este trabajo se enmarca en el programa de desarrollo y uso sostenible de bioinsumos agrícolas y veterinarios que tiene como prioridades la obtención y desarrollo de biorreguladores con formulaciones eficaces, de aplicación agrícola para sustituir los agroquímicos agresivos al suelo, a las aguas subterráneas, al medioambiente y a la salud humana.

Palabras clave: ácido jasmónico, bioestimulante, agricultura, agroquímicos.

ABSTRACT

Jasmonic acid is a phytohormone that can act by substituting agrochemicals in agriculture. It is produced from the fungus *Botryodiplodia theobromae*, which excretes metabolites into the environment and its identification and quantification is necessary for application in crops. The work in a first stage is aimed at obtaining jasmonic acid (AJ) and its derivatives by fermentation.

Thus contributing to the Program for the development and sustainable use of agricultural and veterinary bio-inputs developed by CITMA in Cuba, which among its priorities has the obtaining and development of bio-regulators with more effective formulations for agricultural application and in this way favor the substitution of agrochemicals that they are aggressive to the soil and groundwater, and very harmful to human health.

Key words: jasmonic acid, biostimulant, agriculture, agrochemicals.

INTRODUCCIÓN

El Programa de desarrollo y uso sostenible de bioinsumos agrícolas y veterinarios tiene, entre sus principales objetivos, la obtención y desarrollo de biorreguladores con formulaciones más eficaces de aplicación agrícola y el estudio de su mecanismo de acción. Dentro del proyecto de Desarrollo de tecnologías de producción de biorreguladores se realiza la obtención del ácido jasmónico (AJ) y sus derivados, por vía fermentativa, a partir del hongo de *Botryodiplodia theobromae* y se hace necesaria la identificación, aislamiento y cuantificación de estos jasmonatos para su caracterización y lograr el control de las dosis o concentraciones empleadas en los cultivos, lo que puede resultar decisivo para lograr el efecto deseado en la planta.

La obtención de ácido jasmónico descrita en este trabajo tiene como novedad que se realiza a partir de caldos fermentados, a diferencia de otros métodos que consisten en la extracción de las plantas.

Los métodos analíticos desarrollados tienen diversas aplicaciones:

- como herramienta analítica, para la evaluación de microorganismos productores y selección de la mejor alternativa
- para dar seguimiento de los procesos de fermentación
- realizar la evaluación de medios de cultivos en la fermentación y en estudios de influencia de las condiciones de proceso (pH, la temperatura, la agitación y la aireación).

La utilización de los reguladores del crecimiento vegetal (RCV) en la agricultura permiten modificar la velocidad y los patrones de desarrollo de diferentes cultivos, las respuestas están condicionadas a factores externos e internos, como son: la edad de la planta, condiciones ambientales, estado fisiológico y nutricional, entre otros (1).

El objetivo de este trabajo es la obtención del ácido jasmónico con una cepa procedente de la colección de microorganismos del ICIDCA y su identificación y cuantificación, con una herramienta analítica de Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), para su posterior aplicación en la agricultura como biorregulador, para favorecer la sustitución de agroquímicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismo

Las muestras analizadas proceden de biopreparados libres de células, obtenidos por fermentación en cultivo estático, con las cepas 3 y 4 de *Botryodiplodia theobromae* procedentes de la colección de microorganismos del ICIDCA, hongos que fueron conservados en tubos inclinados con extracto de malta-agar (Merck) a 4 °C (2, 3).

Producción de ácido jasmónico

Se utiliza el medio de cultivo presentado por Miersch (4). Se realizó una extracción líquido-líquido con acetato de etilo, 3 veces consecutivas, con 5 ml en cada ocasión y se rotoevaporó el extracto hasta la sequedad.

Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Se utilizó una bomba K 1001 KNAUER acoplada a un detector Ultravioleta KNAUER, un inyector RHEODYNE (modelo 7125), con un lazo de 20 µL. El patrón utilizado es el (±)- ácido jasmónico SIGMA y el software para la adquisición y procesamiento de los datos, Clarity.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la producción de AJ se utilizó el medio de cultivo presentado por Miersch (4), modificado con la adición de extracto de levadura, el cual se ajustó a un pH 5.5. Se inocularon 10 fragmentos miceliales de 8 mm de diámetro (obtenidos 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. Concluida la etapa de crecimiento del microorganismo, éste es inoculado en fermentadores de 5 L de capacidad total del tipo Marubishi (MD-3005 L, Marubishi Ltd. Co. Japón), a 30 °C, cultivo sin agitación y 0.05 vvm de aireación, durante 15 días. Transcurrido el tiempo de fer-

mentación se realizó la separación por centrifugación y se obtuvo un biopreparado libre de células. A 5 ml del caldo de fermentación, obtenido por vía microbiana, con la utilización de cepas silvestres de *Botryodiplodia theobromae*, previamente filtrado y centrifugado, se le ajustó el pH a 3.0, con una solución de HCl, según plantea (5).

Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

La determinación del ácido jasmónico se realizó mediante CLAR, que resultó un método útil y de gran precisión, se realizó el análisis sin gradientes; es decir, de modo isocrático y sin necesidad de derivatización. La cuantificación del AJ presente se basó en la comparación de las áreas de los picos con los correspondientes a las áreas de los picos de los patrones, según el método del estándar externo y se logró un rango de concentración entre (0.1 – 1) mg/L con un coeficiente de correlación superior a 0.99.

Se utilizó la fase móvil compuesta por metanol-agua (60:40) con ácido acético al 0.1 % (v/v). Se utilizó un flujo de 0.85 ml/min con una columna Hypersil ODS (25cm x 4.6mm x 5µm di.) y, como precolumna, el mismo soporte de la columna empleada. La detección se fijó a una longitud de onda de 210 nm, a temperatura ambiente, volumen de inyección de 20 µl, las muestras se destilaron con filtros de membrana, con un tamaño de poro de 0.45 µm. La fase móvil fue desgasificada en un sonificador Branson 2200 y filtrada con una membrana de 47 mm de diámetro (Millipore) y un tamaño de poro de 0.45 µm. El tiempo de corrida del cromatograma es de 15 min.

Con las condiciones descritas, las muestras se inyectaron con una jeringa Hamilton de 100 µl de capacidad (el extracto seco previamente, disuelto en 2 ml de fase móvil) y se logró una resolución

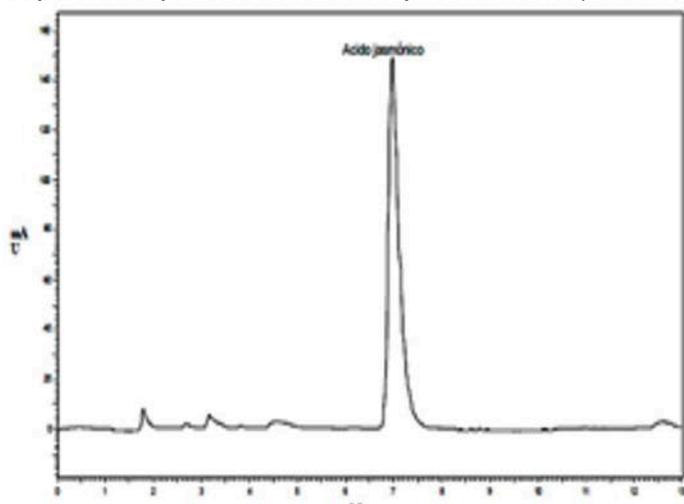


Figura 1. Cromatograma obtenido por CLAR del Patrón Ácido jasmónico.

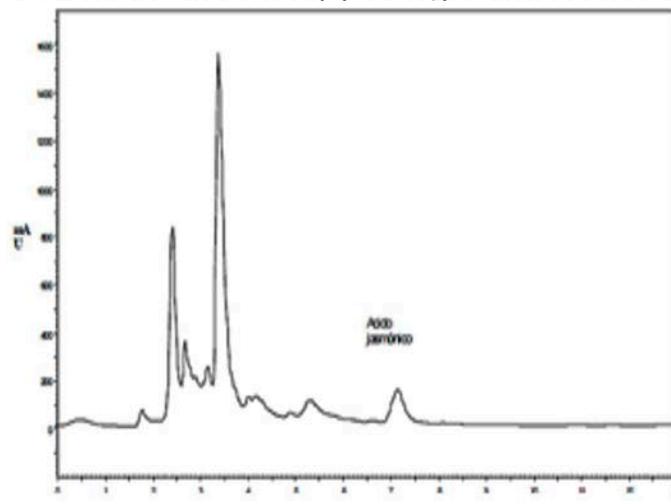


Figura 2. Cromatograma obtenido por CLAR de una muestra en la que se identifica el AJ.

mayor de uno, lo que se aprecia en los cromatogramas de las figuras 1 y 2.

CONCLUSIONES

Se obtuvo AJ con la cepa *Botryodiplodia* procedente de la colección de microorganismos del ICIDCA y su identificación y cuantificación por CLAR en concentraciones de hasta, aproximadamente,

1 mg/L, para una posterior aplicación en los diferentes cultivos. Se demostró su efectividad en el incremento de producciones orgánicas, para alcanzar una paulatina disminución de agroquímicos, lo cual potenciaría una agricultura amigable con el medioambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Muñoz Torres P. A Microorganismos como una alternativa al uso de agroquímicos, Life SciencesInnovation Center, Volumen 36, Nº 1. Páginas 3-5IDESIA, Chile, 2018
2. Almeida G. Libro Resumen del Congreso Diversificación 2002.
3. Laredo-Alcalá, E. I, Martínez-Hernández, J. L., Guillen-Cisneros, L., & Hernández-Castillo, F. D. Producción de ácido jasmónico por fermentación líquida con cepas de *Botryodiplodia theobromae* nativas del sureste mexicano. *Agrociencia*, 51(8), 885-893, 2017.
4. Miersch, O. and others. *Phytochemistry*. Vol. 26, pp. 1037-1039, 1987.
5. Laredo-Alcalá. E. I, Michelena A. Uso de *Botryodiplodia theobromae* como productor de ácido jasmónico en dos sistemas de fermentación, versión impresa ISSN 0187-3180, *Rev. Mex*, 2016.