



Informe Técnico final

DESARROLLO DE BIOFERTILIZANTES Y CREACIÓN DE PLANTA PILOTO DE PRODUCCIÓN

PYT-2012-00102

Período comprendido desde el 5 de Noviembre de 2012 hasta el

15 de Enero de 2016

Contenido

1.	Antecedentes	3
2.	Costos	4
3.	Resumen del Período	5
4.	Objetivos Específicos	5
5.	Resultados	7
6.	Actividades	11
7.	Hitos Críticos	15
8.	Cambios en el entorno	15
9.	Difusión	17
10.	Auto Evaluación.....	18
11.	Conclusión	19
12.	Anexos	20

1. Antecedentes

1.1. Antecedentes Generales:

Nombre Ejecutor: Agrícola, Forestal y Comercial Róduo Enrique Rodón EIRL
Nombre(s) Asociado(s): Universidad de Concepción
Coordinador del Proyecto: Róduo E. Rodón Pérez
Regiones de ejecución: Biobío
Fecha de inicio iniciativa: 5 de Noviembre, 2012
Fecha término Iniciativa: 31 de Enero, 2016
Tipo Convenio FIA:
Objetivo General: Implementar una planta piloto para la producción masiva de bacterias solubilizadoras de fósforo, que permita la formulación de un producto microbiano de fosfobacterias autóctonas de las regiones del centro y sur de Chile con carácter comercial de uso agrícola y forestal.

2. Costos

2.1. Costo general:

Costo total de la Iniciativa			
Aporte FIA			
Aporte Contraparte	Pecuniario		
	No Pecuniario		
	Total Contraparte		

2.2. Ejecución presupuestaria a la fecha:

Acumulados a la Fecha		Totales
Aportes FIA en \$	Suma de cuotas programadas	
	Suma de cuotas realmente pagadas	
	Suma gasto programado	
	Suma gasto real	
Aportes Contraparte en \$	Gasto total programado	
	Gasto real	
	Gasto pecuniario programado	
	Gasto pecuniario real ejecutado	
Ejecución Presupuestaria en porcentajes (%)	De lo correspondiente al período rendido	
	Del total del aporte FIA	

Resumen del Período

- 2.3. Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos en el período. Entregar valores cuantitativos y cualitativos. Explicar cuáles son las posibilidades de alcanzar el objetivo general y de desarrollar el negocio propuesto. Cada resumen debe contener información nueva, sin repetir lo mencionado en el resumen de informes anteriores. (Máx. 300 palabras)

Ver Anexo #1

3. Objetivos Específicos (OE)

- 3.1. Porcentaje de Avance:

Nº OE	Descripción OE	% de avance
1	Definir e implementar los equipos necesarios para el cultivo de los microorganismos a nivel de laboratorio.	100%
2	Aislar y obtener cepas de bacterias solubilizadoras de fósforo autóctonas de la zona centro sur de Chile y evaluar potencial de solubilización de fósforo.	100%
3	Desarrollar medios de cultivo y determinar parámetros fermentativos para la producción de fosfobacterias.	100%

4	Diseñar y construir Planta Piloto para producción de bacterias solubilizadoras de fósforo a escala piloto.	100%
5	Formular producto comercial en base a fosfobacterias y determinar las dosis de aplicación.	100%

3.2. Descripción de estado de avance del período (máx. 70 palabras por objetivo específico)

Nº OE	Descripción del Avance del Período
1	Se terminó la construcción de los equipos y su instalación, concluyo la puesta en funcionamiento de todo el equipamiento y de la planta piloto en su totalidad.
2	Este objetivo fue completado en el avance anterior.
3	Este objetivo se cumplió en el avance anterior.
4	Este objetivo fue completado en el avance anterior
5	Se logró liofilizar bacterias en criotubos para liofilización, manteniendo el vacío al interior del tubo y logrando mantener las bacterias viables por al menos 3 meses.

4. Resultados

Nº OE	Nº RE	Nombre del Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)			Valor Actual	
			Indicador (cuantificable)	Línea base (situación sin proyecto)	Meta proyecto	Resultado	% Avance
1	1	Construcción Fermentador.	Fermentador Construido	0	1	0	100%
1	2	Determinar Bacterias solubilizadoras en producción a nivel de ensayo.	Cantidad de UFC de bacterias solubilizadoras	0	10 ⁹ UFC/ml	10 ⁹ UFC/ml	100%
2	3	Aislar Cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo.	Numero de diferentes cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo aisladas	4	12	>12	100%
2	4	Determinar Nivel de solubilización de fósforo in Vitro de las cepas bacterianas.	Nivel de solubilización de fósforo in vitro	0	>100µg/ml	300 µg/ml	100%
2	5	Obtener Bacterias con potencialidades de ser biofertilizante.	Bacterias seleccionadas en laboratorio	0	3	3	100%
2	6	Determinar el aumento del rendimiento de trigo, lechuga, tomate y ajo, con el uso de biofertilizante a nivel de maceta.	Incremento en rendimiento de trigo, lechuga, tomate y ajo, a nivel de maceta	100%	120%	110%	100%
2	7	Obtención de Cepa bacteriana seleccionada	Cepa bacteriana seleccionada a	0	1		100%

		a partir de ensayo en maceta.	partir de ensayo en maceta			3	
2	8	Determinar la habilidad competitiva de fosfobacteria en el suelo.	Cuantificar la habilidad competitiva de fosfobacteria en el suelo	0	$>10^3$ /g suelo	0	100%
3	9	Determinar Medio de cultivo óptimo para la producción masiva de fosfobacterias.	Medio de cultivo para la producción masiva de fosfobacterias determinado	0	1	1	100%
3	10	Determinar la Temperatura óptima de incubación.	Temperatura óptima de incubación determinada	0	1	1	100%
3	11	Determinar Parámetros fermentativos.	Parámetros fermentativos determinados	0	4	2	100%
3	12	Asistencia a congresos.	Asistencia a congresos	0	3	3	100%
4	13	Diseño de biorreactor para producción masiva.	Planos y documentos listos para su fabricación	0	2	2	100%
4	14	Construcción de Biorreactor.	Biorreactor	0	2		100%

			construido			0	
4	15	Inicio habilitación Planta Piloto.	Habilitación Planta Piloto iniciada	N/A	N/A	1	100%
4	16	Implementación de equipos en planta piloto.	Equipos en planta piloto instalado	0	4	4	100%
4	17	Inicio de funcionamiento Planta piloto.	Planta piloto en funcionamiento (Lt/mes)	0	1000	0	100%
5	18	Determinar Dosis de aplicación en terreno.	Dosis de aplicación en terreno determinada (CFU/ha)	0	10^{12} - 10^{14}	10^6 por planta : 10^{12} por ha	100%
5	19	Determinar la formulación apropiada.	Selección de formulación apropiada	0	1	0	80%
5	20	Determinar la forma de almacenaje del biofertilizante formulado que aumente su viabilidad.	Vida de almacenaje del biofertilizante formulado (meses)	4	12	6	100%
5	21	Realizar Días de campo.	Días de campo realizados	0	2	2	100%
5	22	Realizar	Publicaciones	0	2	2	100%

		Publicaciones divulgativas.	divulgativas realizadas				
--	--	-----------------------------	-------------------------	--	--	--	--

4.1. **Cuantificación** del avance: (Cuantifique el avance para todos los resultados esperados)

4.2. **Descripción** del avance del período (describa sólo aquellos que han tenido actividad durante el período)

Nº RE	Descripción Avance	Problemas y Desviaciones	Repercusiones	Acciones Correctivas
1	Se finalizó la construcción de los biorreactores de 50 lts. Y 500 litros.	No existen		
6	Se establecieron ensayos de invernadero y de terreno para evaluar el efecto de bacterias seleccionadas La bacteria T-45 sola y en combinación con la cepa H-111 lograron aumentar el largo de hoja en los primeros estados de desarrollo, así como también T-45 aumentó el peso fresco y el largo de raíces. Queda por evaluar el ensayo en terreno y evaluar en cereales.	No existen	No existen	No son necesarias
8	Se logró verificar la permanencia de las bacterias en la rizósfera al momento de trasplante queda por verificar al final del ciclo del cultivo.	No existen	No existen	No son necesarias
11	Se avanzó en la optimización del medio de cultivo de bajo costo, para ser utilizado en el biorreactor. Se determinó la curva de crecimiento de las cepas en el tiempo.	No existen	No existen	No son necesarias

14	Finalizó la construcción del biorreactor de 50 lts. Y se continúa en la construcción de uno de 500 lts.	No existen	No existen	No son necesarias
15	Fue habilitada la planta piloto.	No existen	No existen	No son necesarias
16	Se implementaron los equipos de la planta piloto.	No existen	No existen	No son necesarias
19	Se determinó que la formulación más apropiada es la aplicación líquida en solución del sacarosa al 1%. Esto luego de reactivar desde el producto liofilizado.	No existen	No existen	No son necesarias
20	Se logró almacenar las bacterias liofilizadas manteniendo el vacío, por al menos tres meses.	Queda por evaluar los meses siguientes para llegar al resultado esperado de 6 meses de duración	No existen	No son necesarias

5. Actividades

5.1. **Cuantificación** del avance. Cuantifique el avance de las actividades comprometidas para todos los resultados esperados:

Nº OE	Nº RE	Actividades	Programado		Real		% Avance
			Inicio	Término	Inicio	Término	
1	1	1. Diseño y construcción de un fermentador para producción a pequeña escala.	Septiembre 2012	Marzo 2013	Febrero 2013	Junio 2013	100%
1	2	2. Implementación de sistema productivo para bacterias solubilizadoras de fósforo a nivel experimental.	Septiembre 2012	Abril 2013	Enero 2013	Junio 2013	100%

2	3	3. Aislamiento de cepas bacterianas con la habilidad de solubilizar fósforo desde muestras rizosféricas de distintos cultivos de la zona.	Septiembre 2012	Mayo 2013	Enero 2013	Julio 2013	100%
2	4-5	4. Selección de fosfobacterias en base a su habilidad solubilizadora de fósforo in vitro.	Diciembre 2012	Julio 2013	Febrero 2013	Noviembre 2013	100%
2	6-8	5. Establecimiento de ensayo en macetas utilizando distintos cultivos herbáceos y hortícolas para la evaluación del potencial inductor de crecimiento de las cepas seleccionadas y de su habilidad competitiva en el suelo.	Septiembre 2013	Enero 2014	Septiembre 2013	Junio 2015	100%
3	9	6. Evaluación, en laboratorio, del crecimiento de la o las cepas solubilizadoras seleccionadas en distintas fuentes de carbono y minerales.	Enero 2013	Septiembre 2013	Febrero 2013	Septiembre 2013	100%
3	10	7. Estudio de la curva de crecimiento de las cepas de bacterias solubilizadoras de fósforo bajo distintas temperaturas.	Junio 2013	Diciembre 2013	Junio 2013	Diciembre 2013	100%
3	11	8. Determinación de los parámetros fermentativos óptimos para el crecimiento de cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo.	Agosto 2013	Febrero 2014	Agosto 2013	Abril 2015	100%
4	13-15	9. Implementación de planta piloto para la producción comercial de fosfobacterias.	Noviembre 2013	Junio 2014	Noviembre 2013	Abril 2015	100%
5	17-18	10. Ensayo de aplicación en terreno de la fosfobacteria seleccionada en tres distintas	Julio 2014	Febrero 2015	Julio 2014	Junio 2015	100%

		formulaciones y en dosis crecientes de aplicación.					
5	19	11. Ensayo de laboratorio para determinar vida de almacenaje del producto formulado.	Abril 2014	Abril 2015	Abril 2014	Julio 2015	80%
5	20	12. Organización de días de campo para mostrar los experimentos de terreno y presentar el producto terminado.	Diciembre 2014	Marzo 2015	Diciembre 2014	Mayo 2015	20%

5.2. **Descripción** del avance del período (describa sólo aquellos que han tenido actividad durante el período)

Actividad	Descripción Avance	Problemas y Desviaciones	Repercusiones	Acciones Correctivas
1	Se concluyó el diseño y la fabricación instalación y puesta en funcionamiento de planta piloto de producción.	No existen	No existen	No existen
8	Determinación de los parámetros fermentativos óptimos para el crecimiento de cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo.	No existen	No existen	No son necesarias
9	Se ha avanzado en la implementación de la planta piloto para la producción masiva de bacterias.	No existen	No existen	No son necesarias
10	Se establecieron ensayos de invernadero y campo para la evaluación de las cepas seleccionadas.	No existen	No existen	No son necesarias
11	Se logró prolongar la vida de almacenaje mediante la liofilización.	No existen	No existen	No son necesarias

12	Se comenzó la planificación del día de campo a realizarse cuando ya se encuentren establecidos los ensayos con cereales en campo (aproximadamente mayo junio).	No existen	No existen	No son necesarias
----	--	------------	------------	-------------------

6. Hitos Críticos

6.1. **Cuantifique** el grado de cumplimiento de los hitos críticos fijados:

Nº RE	Hitos críticos	Fecha Programado	% Avance a la fecha	Fecha Real Cumplimiento
4	Colección de cepas bacterianas seleccionadas en base a su habilidad de solubilizar fósforo.	Septiembre 2013	100%	Octubre 2013
6-7-8-9-10-11	Protocolo de producción para cepa de fosfobacteria seleccionada a partir de su desempeño en ensayos con cultivos en maceta.	Abril 2014	100%	Junio 2014
13-14-15	Planta piloto en funcionamiento.	Septiembre 2014	100%	Noviembre 2015
21-22	Producto final formulado.	Octubre 2015	70%	Octubre 2015

6.2. **Describe** el grado de cumplimiento y posibles desviaciones (máx. 200 palabras).

El proyecto se ha llevado a cabo de acuerdo a lo planificado cumpliéndose con de los objetivos comprometidos en el mismo. Se logró implementar ensayos en terreno que permitirán apoyar la difusión a través de un día de campo a realizarse el 8 de Abril del 2016.

7. Cambios en el entorno

7.1. Tecnológico

Se debe analizar la situación de la investigación básica y aplicada, así como los procesos, innovaciones, patentes, royalties o publicaciones de los agentes que intervienen y ofrecen soluciones en el sector en particular, en terceros relacionados y en toda la cadena de valor (Máx. 170 palabras).

Se ha logrado aislar y caracterizar un buen número de bacterias solubilizadoras de fósforo y se ha desarrollado la metodología para su masificación, se logró la formulación de los medios adecuados y se implementó la tecnología para el inicio de una producción comercial con la implementación de una planta piloto de producción.

7.2. Mercado

Refiérase a los ámbitos de: oferta y demanda; competidores; nuevas alianzas comerciales; productos diferenciados, sustitutos o alternativos; mercados emergentes; productividad de los recursos humanos; precios de mercado, liderazgo del costo de producción; tipo de cambio, tasa de interés, disponibilidad de materias primas, barreras de entrada al mercado, tratados de libre comercio, subvenciones o apoyo estatal.

Aún en el país no existen muchos productos comerciales de inoculantes microbianos nativos para la promoción de crecimiento vegetal y la solubilización de fósforo, ni existe una cultura de su uso, por lo que el mercado aún no ha cambiado mucho. El desarrollo de productos nativos ha estado enfocado principalmente a microorganismos para el control biológico de plagas y enfermedades (BioNativa, CTCB- INIA, BiocAf).

En los últimos años, con el aumento de la demanda de alimentos saludables, el mayor precio de los mismos y la conciencia de preservar el medio ambiente, ha comenzado a aumentar el interés por el uso de fertilizantes e insumos de origen biológico. No obstante aún queda mucho trabajo por realizar para aumentar la conciencia y el interés por estos productos, la investigación y desarrollo de los mismos y la implementación de tecnologías eficientes para la implementación de los mismos.

La divulgación del proyecto, ha despertado el interés de algunas empresas agrícolas con las cuales hemos establecido ensayos así como entidades como el INDAP regional con el cual estamos estableciendo conversaciones para posibles futuros proyectos.

7.3. Otros

Describe cambios en leyes, regulaciones, impuestos, barreras normativas o legales, normas no escritas, normas medio ambientales, responsabilidad social empresarial “dumping” (laboral o ambiental), entre otros.

N/A

8. Difusión

8.1. Describa las actividades de difusión **programadas** para el próximo período.

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Perfil de los participantes	Medio de Invitación
Diciembre 2014	Chillán	Día de Campo	50	Agricultores orgánicos	Prodesal, email
Marzo 2015	Chillán	Seminario	100	Agrónomos y agricultores de la zona	Email, pagina web facultad de Agronomía

8.2. Describa las actividades de difusión **efectivamente realizadas** durante el período:

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes*	Documentación Generada*

*Debe adjuntar en anexos material de difusión generado y listas de participantes

9. Auto Evaluación

9.1. ¿Considera que su proyecto logrará insertar en el mercado el bien o servicio o mejorar la competitividad? Explique (máx. 80 palabras)

Sí, con la formulación adecuada de estos productos, que asegure una vida en almacenaje superior a los 6 meses, se podrá ofrecer un producto de calidad y diferenciado de los que ofrece la competencia, que tendrá una mayor eficacia en terreno.

9.2. ¿Cómo evalúa los resultados obtenidos en función del objetivo general del proyecto? (máx. 80 palabras)

Los resultados son positivos, ya se cuenta con bacterias seleccionadas de probada acción promotora de crecimiento y un protocolo de producción adaptado a los requerimientos nutricionales de éstas. Estas además han sido formuladas, técnica que aún queda por mejorar para aumentar la vida en almacenaje. Además se construyeron los primeros dos biorreactores y la implementación de una planta piloto de producción.

9.3. ¿Cómo evalúa el grado de cumplimiento de las actividades programadas? (máx. 80 palabras)

El proyecto ha funcionado de acuerdo a lo programado. Como equipo de trabajo creemos que el grado de cumplimiento global del 100%.

9.4. ¿Cómo ha sido la participación de los asociados? (máx. 80 palabras)

Los asociados y ejecutores del proyecto han trabajado a la par y en forma coordinada en el proyecto. Las relaciones han sido excelentes con intercambio de colaboración y proyectando después de concluir el proyecto continuar en la obtención de productos EM o mezcla de microorganismos eficientes. Tales como mezclar solubilizadores de fósforos, fijadores de nitrógeno, estimulantes de crecimiento y agentes antagónicos a microorganismos patógenos.

10. Conclusión

10.1. Concluya y explique la situación actual de la iniciativa, considerando amenazas u oportunidades (máx. 230 palabras).

La iniciativa con tres de desarrollo, con varios resultados auspiciosos. Se cuenta con tres bacterias capaces de promover crecimiento radicular, mejorar la absorción de nutrientes y en particular el fósforo y de finalmente aumentar la producción de materia seca en los cultivos. Además una de ellas ha logrado inhibir patógenos radiculares. Se ha desarrollado protocolos de producción, se ha determinado la dosis de aplicación y finalmente se han determinado técnicas de encapsulado y liofilización. En cuanto a la planta piloto e instalación de los fermentadores ha sido el objetivo con el que se ha confrontado mayores dificultades, permitirá en lo adelante la aplicación masiva de los resultados alcanzados durante el desarrollo del proyecto.

La toma de conciencia del deterioro de las condiciones ambientales, la necesidad de frenar y mejorar la degradación de los suelos, la contaminación de los acuíferos, y la obtención de alimentos sanos y orgánicos.

El aumento de la demanda de productos orgánicos para la exportación y su mayor precio, constituyen un impulso para la introducción masiva de los inoculantes microbianos benéficos.

11. Anexos

Realice una lista de documentos adjuntados como anexos. Se debe incluir un seguimiento fotográfico de las actividades principales.

1. Resumen final del proyecto
2. Resumen fotográfico

ANEXO 1

RESUMEN FINAL DEL PROYECTO

A partir de Noviembre 2012 se realizó la prospección y colecta en plantaciones de lechuga en la provincia de Ñuble, con el fin de obtener muestras de raíces y rizósfera para el aislamiento de bacterias promotoras de crecimiento y solubilizadoras de fósforo asociadas a este cultivo. En laboratorio se realizó el aislamiento de 71 cepas bacterianas de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y otros. Estas cepas fueron testadas en su capacidad de solubilizar fósforo in vitro utilizando el método de producción de halo en cultivo Pikovskaya. Además se evaluó la capacidad de las cepas de producir ácido indol acético (AIA) y de fijar nitrógeno en medio de Burk. De la totalidad de aislamientos, 38 fueron capaces de solubilizar fósforo.

En el 2013 se continuó con la prospección y colecta de bacterias rizosféricas en huertos y plantaciones en la provincia de Ñuble, esta vez la colecta se enfocó en cultivos como trigo, maravilla y habas, y en hortalizas (brasicáceas, apio, tomate y ají). En laboratorio se realizó el aislamiento y caracterización de bacterias obtenidas desde la exorizósfera, endorizósfera y el rizoplaneo de estos cultivos. Los aislamientos obtenidos se caracterizaron en base a la producción de ácido indol acético y la solubilización de fósforo. En total se aislaron 209 bacterias, de las cuales 73 fueron seleccionadas como posibles PGPR en base a su solubilización de fósforo y producción de fitohormonas. A partir de esta caracterización se seleccionó 7 aislamientos por su mayor eficiencia de solubilización de P y por la habilidad de producción de AIA y de fijación de N.

Los 7 aislamientos obtenidos en la etapa anterior del proyecto, fueron caracterizados genéticamente, para descartar que se tratara de cepas duplicadas. Se confirmó que estos eran cepas diferentes mediante amplificación de genes al azar con RAPD-PCR utilizando los partidores ERIC. Las siete cepas seleccionadas en la etapa anterior fueron reproducidas en caldo manitol y aplicadas en semillas de lechuga para evaluar su efecto en germinación, largo de la radícula y largo de tallo, algunas cepas aumentaron significativamente el diámetro de la raíz y la presencia de pelos radiculares. Se estableció un ensayo en macetas con lechuga y la aplicación de distintas concentraciones de bacterias seleccionadas.

Como resultado de las pruebas en macetas de las 7 cepas seleccionadas en primera instancia, Se logró cuantificar la cantidad de fosfatos solubilizados por cepas PGPR seleccionadas por haber formado mayor aureola en medio Pikovskaya, en etapas previas. Se observó diferencias estadísticas entre cepas, destacando la cepa T-45, que alcanzó a solubilizar 30 mg de P-Olsen por Lt de solución en comparación al testigo sin bacterias que solubilizó 3 mg/L. Si bien, no era parte de los objetivos originales del proyecto, en vista de los buenos resultados que se han obtenido en el desarrollo radicular de hortalizas, se evaluó el potencial de control biológico de patógenos radiculares, de algunas cepas PGPR seleccionadas. Los patógenos a controlar fueron: *Pythium ultimum* Trow, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hans., los cuales causan caída de plántulas en tomate. Los resultados obtenidos son promisorios, ya que se logró inhibir a los tres patógenos con la cepa H-111, la cual a su vez había demostrado ser efectiva en la producción de AIA y solubilización de fosfatos.

A partir de los resultados obtenidos se realizó una segunda selección, quedando como las más eficientes en la solubilización de fósforo, producción de AIA y antagonismo con algunos patógenos, las cepas H-111, Ls-21 y T35.

Los nuevos aislamientos seleccionados fueron formulados como gránulos, medio líquido y polvo liofilizado. Se evaluaron distintas técnicas de encapsulado y se seleccionó una fórmula a base de alginato y caolín. Para la liofilización se utilizó el medio glutamato-peptona, y verificó su sobrevivencia y duración en almacenaje. Las evaluaciones de almacenaje se realizaron a 20°C, simulando la temperatura promedio de una bodega. El inoculante en medio líquido logro permanecer viable a niveles comerciales hasta por 30 días en concentraciones normales, el formulado en encapsulado en alginato y caolín 45 días y hasta 90 días el formulado en polvo liofilizado. Se realizaron pruebas de dosis de aplicación en minirizotrones, para evaluar el efecto de las bacterias en el desarrollo radicular. Se determinó que la dosis de 10^5 - 10^6 bacterias por plántulas son adecuadas para lograr los efectos de promoción de crecimiento, dosis menores no tienen efecto y dosis superiores afectan el desarrollo radicular.

Se reformulo un medio de cultivo definitivo para producción masiva de fosfobacterias, el que fue fabricado con materiales de bajo costo con el empleo de melaza, sulfato de amonio, carbonato de calcio y extracto de levadura industriales con el objetivo de abaratar costo. La temperatura óptima de incubación para las tres bacterias seleccionadas (Ls-21, T-45 y H-111) fue definida en 25°C. Se logró determinar que la forma de almacenaje mediante liofilización de células en medio glutamato peptona, pero manteniendo el vacío del frasco, logra mantener células vivas por al menos 3 meses, no obstante a pesar de ser la formulación liofilizada la de mayor tiempo de almacenaje, no obstante con el objetivo de abaratar costos y permitir su uso masivo por pequeños y medianos agricultores, decidimos realizar el resto de los ensayos con formulación líquida ya que para la formulación final con el uso de esta tecnología implicaría una alta inversión en equipamiento y energía lo cual utilizaremos cuando el producto este masificado.

Se establecieron ensayos de invernadero y de terreno para evaluar el efecto de bacterias seleccionadas a nivel de almacigo y post-trasplante, en hortalizas, frambuesa, frutilla así como con trigo en pruebas de campo. La bacteria T-45 sola y en combinación con la cepa H-111 lograron aumentar el largo de hoja en los primeros estados de desarrollo del cultivo, así como también T-45 aumentó el peso fresco de las plántulas en comparación al testigo siendo similar a la fertilización completa, y también logró aumentar el largo de raíces.

Los resultados de promoción de crecimiento de lechuga y de trigo fueron publicados y presentados como tesis de grado de la Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción.

Paralelamente y como objetivo fundamental del proyecto se acometió a la construcción de una planta piloto de producción, así como el diseño y fabricación de dos fermentadores, elementos fundamentales en la elaboración del producto y de un alto costo en el mercado mundial. Los mismo fueron construidos en el país a un menor costo y creando las condiciones para una posterior utilización de esta experiencia en la elaboración de otros productos biotecnológicos.

Se construyeron dos fermentadores de 50 y 500 litros de volumen los que unidos a otros equipos importados permitirían una producción aproximada de 500 litros de inoculantes diarios, lo que posibilitaría la obtención de inoculantes para la aplicación del producto al menos 300 hectáreas diarias según los cálculos establecidos en la ejecución del proyecto.

La divulgación del proyecto, ha despertado el interés de algunas empresas agrícolas con las cuales hemos establecido ensayos así como entidades como el INDAP regional con el cual estamos estableciendo conversaciones para posibles futuros proyectos.

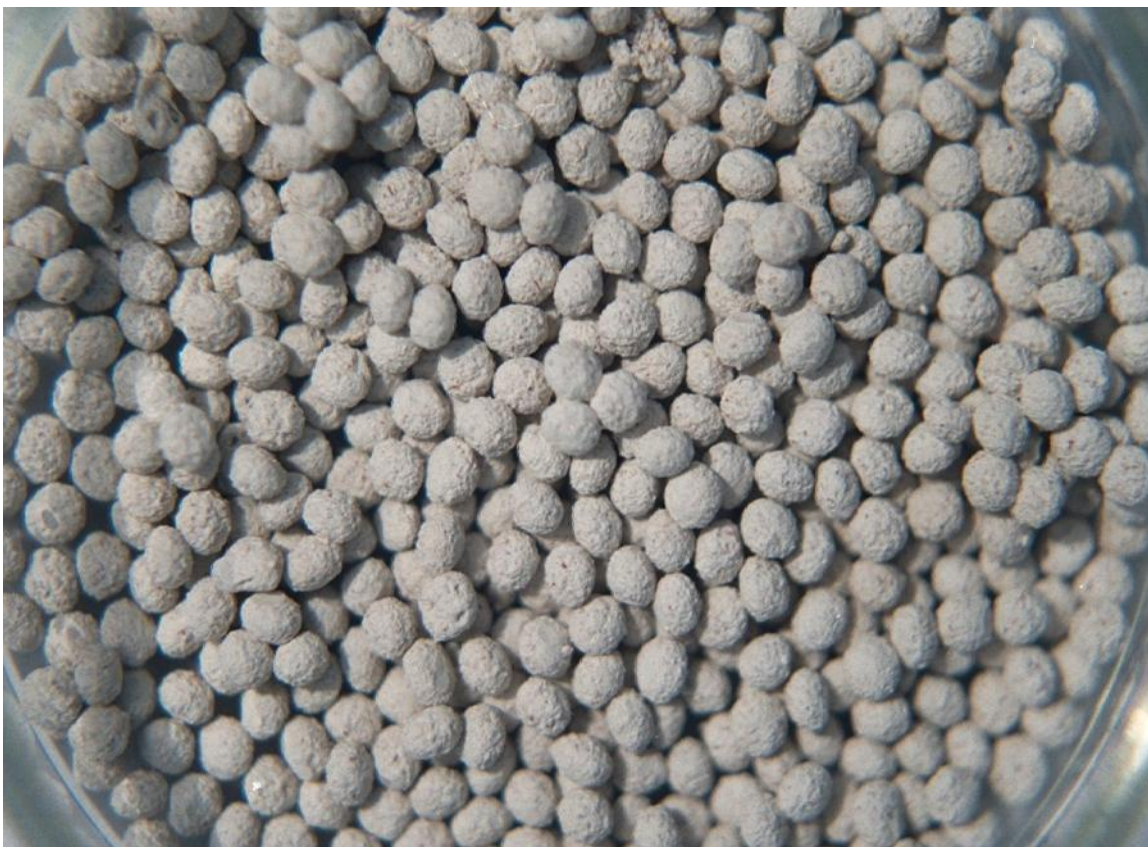


Fig 1.- *Formulación de bacterias en matriz de alginato-caolin*

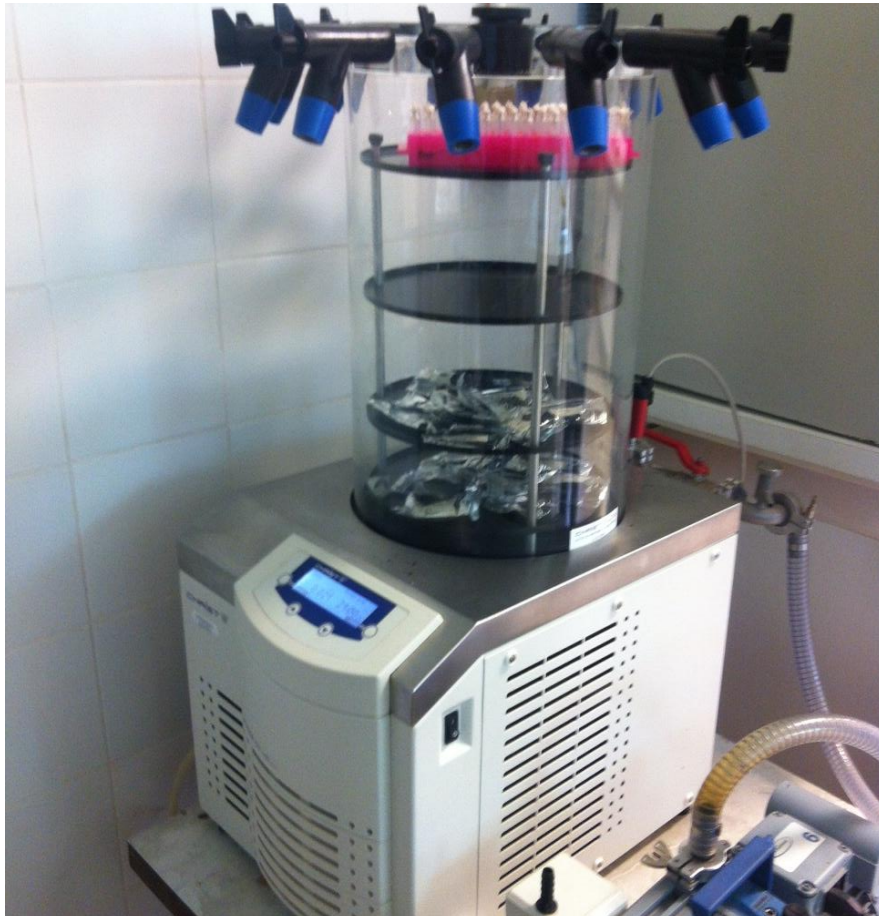


Fig.2- Equipo de liofilización conteniendo muestras de las bacterias *Pseudomonas* sp. Ls-21 y *Bacillus* T-45



Fig 3.- *Inhibición de crecimiento miceliar de cepa H-111 sobre Pythium.*



Fig 4.- *Inhibición de crecimiento miceliar de Rhizoctonia por la cepa H-111*



Fig 5.- *Cultivo liquido en Zaranda (Pre inoculo para fermentador 50L)*



Fig 6.- *Cultivo liquido en Zaranda (Pre inoculo para fermentador 50L)*



Fig 7. *Fermentador 500L*