



VISTO la propuesta de Protocolo Específico de Trabajo entre la Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales (Río Cuarto, Córdoba, Argentina) y la Empresa NITRAP SRL; y

CONSIDERANDO:

Que dicho Protocolo Específico de Trabajo se encuadra en el Convenio de Cooperación aprobado por Resolución de Consejo Superior N° 228/07 (Exp. N° 87846) entre la Universidad Nacional de Río Cuarto y la Empresa NITRAP SRL.

Que las actividades propuestas en el presente Protocolo se desarrollarán en forma conjunta entre la Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto (Río Cuarto, Córdoba, Argentina) y la Empresa NITRAP SRL.

Que se cuenta con el dictamen favorable de la Dirección de Asuntos Jurídicos N° 6443 y del informe correspondiente de la Secretaría Económica de la Universidad Nacional de Río Cuarto

Que el mismo cumple con los requisitos establecidos en las reglamentaciones vigentes.

Por ello y en uso de las atribuciones conferidas por el Artículo 32 del Estatuto de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

EL CONSEJO DIRECTIVO
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS
FISICO-QUIMICAS Y NATURALES

RESUELVE:



ARTÍCULO 1ro.- Elevar al Consejo Superior para su tratamiento la propuesta de PROTOCOLO ESPECÍFICO DE TRABAJO ENTRE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO Y LA EMPRESA NITRAP S.R.L., según se detalla en ANEXO de la presente.

ARTICULO 2do.- Dejar establecido que a los fines administrativos se le asigna al presente protocolo el CÓDIGO SRV CIE A851.

ARTICULO 3ro.- Regístrese, comuníquese. Tomen conocimiento las Áreas de competencia. Cumplido, archívese.

DADA EN LA SALA DE SESIONES DEL CONSEJO DIRECTIVO DE ESTA FACULTAD, A LOS VEINTISEIS DIAS DEL MES DE MAYO DEL AÑO DOS MIL ONCE.

RESOLUCION Nro.: 129


Lic. Teresa del C. QUINTERO
Sen. Académica Fac./Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.


Dra. Rosa Irene CATTANA
Decana Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.



ANEXO

PROTOCOLO DE TRABAJO ENTRE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL RÍO CUARTO y LA EMPRESA NITRAP SRL

En el marco del Convenio de Cooperación aprobado por Resolución de Consejo Superior N° 228/07 (Exp. N° 87846) entre la Universidad Nacional de Río Cuarto y la Empresa NITRAP SRL se estipula el presente Protocolo de trabajo entre la Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, en adelante la "FCEFQyN" con domicilio en Ruta 36, Km 601, de la ciudad de Río Cuarto, representada en este acto por su Sra. Decana, Dra. Rosa CATTANA, por una parte, y por la otra la Empresa NITRAP SRL, en adelante la "EMPRESA", con domicilio en ruta 188 Km 307,5 de la ciudad de Ameguiño, Buenos Aires, representada en este acto por su socio gerente el Ing. Agr. José Luis GIACOMO DONATO, que se regirá por las siguientes cláusulas:

PRIMERA: Los objetivos del presente protocolo son:

1. Monitorear la producción de metabolitos de biocontrol por cepas nativas del grupo *Bacillus subtilis* (dichas cepas han sido aisladas por el grupo de investigación del Dr. Edgardo Jofré) bajo diferentes condiciones de cultivo.
2. Determinar el efecto de los metabolitos de biocontrol sobre estructuras de resistencia fúngicas.
3. Evaluar la efectividad de las formulaciones de *Bacillus* sp. sobre la incidencia y severidad de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos en plantas de maní, como así también diferentes técnicas de aplicación de los formulados.

SEGUNDA: Las actividades a realizar en el marco del presente protocolo son:

Etapas 1: Evaluación de diferentes medios y fases de crecimiento y monitoreo del número de bacterias viables y la producción de metabolitos de biocontrol.

Se evaluarán 3 medios de cultivos: caldo papa dextrosa (papa 200 g/L, dextrosa 20 g/L) MPM (medio mínimo de producción) suplementado con glucosa (2%) y medio MOLP (medio óptimo para la producción de lipopéptidos). En todos los medios el pH será mantenido entre 6,8-7,2.



Si bien existe un medio óptimo para la producción de lipopéptidos de *Bacillus*, dicha producción ha sido evaluada en cultivos en "batch", además el medio MOLP es un medio complejo por lo que se evaluarán como alternativas el caldo papa dextrosa y MPM.

Los ensayos se llevarán a cabo en un fermentador de 1,25 L con un volumen de trabajo de 900 mL.

Se evaluarán para las dos cepas de *Bacillus* los 3 medios de cultivo manteniendo las condiciones de temperatura (30 °C), agitación (200 rpm), pH (6,8-7,2) y aireación constantes (1,0 VVM). La fase de crecimiento deseada (exponencial, exponencial tardía o estacionaria) será lograda modificando la velocidad de dilución del cultivo. Una vez alcanzada la fase de crecimiento deseada, se tomarán muestras a diferentes tiempos (5h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h). En cada punto se determinará la densidad óptica del cultivo, el número de células viables (mediante recuento en placa), la producción de metabolitos (según se describe en el punto 2 de metodología)

En base a los resultados obtenidos se seleccionará el medio más apropiado para la producción tanto de biomasa como de metabolitos.

Etapa 2: Efectos de los metabolitos de biocontrol sobre la germinación de estructuras de resistencia fúngicas

Las cepas de *Bacillus* serán cultivadas en el medio y condiciones que surjan del objetivo específico 1. Los metabolitos se obtendrán a partir del sobrenadante de 100 mL de cultivo (según se describe en el punto 2 de metodología) provenientes del fermentador. Las estructuras de resistencia fúngicas se obtendrán de acuerdo a lo descrito en el punto 4 de metodología.

Para los ensayos de inhibición de los esclerocios los metabolitos de *Bacillus* sp serán sembrados en placa vertida de medio APD y luego se ubicarán en la superficie los esclerocios desinfectados, determinando el porcentaje de inhibición de la germinación en comparación al control. Como controles se usarán un volumen de metanol 80% igual al volumen de metabolitos agregados. La viabilidad de los esclerocios se determinará mediante la germinación en placas de APD.

Para los ensayos de inhibición de la germinación de conidios se colocarán sobre un portaobjeto 20 μ l de una suspensión de conidios (10^4 conidios/mL) de *Fusarium* en medio caldo papa dextrosa (CPD) y 20 μ l de los metabolitos de *Bacillus* sp. A las 5 horas de incubación se tomarán alícuotas de 10 μ l y se determinará el porcentaje de germinación de los conidios mediante recuento en cámara de Newbauer, en comparación a los controles: A) 20 μ l de la suspensión de conidios de *Fusarium* (10^4 conidios/mL) en medio CPD y 20 μ l de metanol 80% y B) 20 μ l de la suspensión de conidios de *Fusarium* (10^4 conidios/mL) en medio CPD y 20 μ l de medio CPD. De la misma manera se procederá para determinar los porcentajes de germinación de las ascosporas de *S. sclerotiorum*.



Etapa 3: Evaluación de la incidencia y severidad de las enfermedades causadas por fitopatógenos mediante la aplicación de distintas formulaciones y distintas técnicas de aplicación.

Se ensayarán peleteado de semillas, aplicación de formulados líquidos en suelo y mediante asperjado de la parte aérea de la planta.

Los ensayos se realizarán en microcosmos con suelo proveniente del área manicera de la provincia de Córdoba. Las plantas (*Arachis hypogaea* L., Runner Florman) serán cultivadas en macetas y mantenidas en cámara de cultivo con ciclos de luz/oscuridad 16/8 hs durante 45-60 días.

Peleteado de semillas: Cultivos procedentes del fermentador (según las condiciones que se establezcan del logro del objetivo específico 1) serán mezclados en proporción 1:1 con una solución comercial para peleteado de semillas. Esta mezcla será usada para peletear las semillas de maní.

Aplicación de formulados líquidos: La formulación líquida constará de una mezcla 90% del cultivo obtenido por fermentación (en la condición de cultivo óptima que surja del logro del objetivo específico 1) más 10 % de una suspensión de aditivos, protectores y estabilizantes. Esta mezcla (conteniendo 10^9 ufc/mL) será aplicada en el suelo inmediato a donde se implante la semilla de maní.

Asperjado: El asperjado se logrará mediante el esprayado de la formulación líquida sobre la parte aérea de planta. Este tratamiento se realizará a los 15 días después de la emergencia de la planta.

El suelo será mezclado con esclerocios viables de *S. minor* o de *S. sclerotiorum* (10 esclerocios por maceta) o con ascosporas de *S. sclerotiorum* (10^2 ascosporas/g suelo) o bien con conidios de *F. solani* (10^2 conidios/g suelo). El número de plantas enfermas en estas condiciones será establecido como el 100% de incidencia.

Como control las semillas serán tratadas con el fungicida Maxim® XL, aplicando una dosis de 250 mL por cada 100 kg de semillas.

El diseño experimental será el siguiente:

- 1-Semillas sin inocular en suelo sin inóculo fúngico
- 2-Semillas sin inocular en suelo con inóculo fúngico (control positivo 100% incidencia)
- 3-Semillas tratadas con Maxim® XL sin inocular en suelo con inóculo fúngico (control negativo)
- 4-Semillas inoculadas con el agente de biocontrol (peleteado, aplicación de formulación líquida, o asperjado) en suelo sin inóculo fúngico.
- 5-Semillas inoculadas con el agente de biocontrol (peleteado, aplicación de formulación líquida, o asperjado) en suelo con inóculo fúngico.

En todos los casos se analizará la incidencia y severidad de los síntomas de la enfermedad en comparación con sus respectivos controles.

Los datos obtenidos serán analizados estadísticamente.



TERCERA: Participarán en el desarrollo de este acuerdo, por parte de la FCEFQyN, el Dr. Edgardo Jofré, (D.N.I. 21.013.3988), en carácter de responsable y coordinador de las actividades y por la EMPRESA el Ing. Agr. José Luis Giacomo Donato, (D.N.I. 10.802.486), en carácter de socio gerente.

CUARTA: Los coordinadores deberán presentar, al término de las actividades, un informe con las tareas realizadas y resultados obtenidos a la Secretaría de Investigación y Extensión de la Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales.

QUINTA: Las actividades estipuladas en cláusula segunda, se realizarán en un plazo no mayor de 36 meses.

SEXTA: La Empresa aportará a la Universidad por el desarrollo de esta actividad la suma de \$ 54.000, pagaderos en 36 cuotas mensuales de \$1500.

SEPTIMA: La suma mencionada en la cláusula anterior será destinada a cubrir los gastos que se detallan en Anexo I.
La empresa también proveerá al grupo de investigación el material biológico necesario para el desarrollo de las actividades citadas en la cláusula segunda del presente protocolo.

OCTAVA: Las actividades se desarrollarán según las pautas de seguridad establecidas en el Plan de seguridad del grupo de trabajo oportunamente aprobado por el Área de Seguridad y Medio Ambiente de la Facultad.

NOVENA: La FCEFQyN y la EMPRESA convienen que los resultados que se logren, parciales o definitivos, obtenidos a través de las actividades propuestas en el presente protocolo, podrán ser publicados en común acuerdo por ambas partes, dejándose constancia en las comunicaciones de la participación de ambas organizaciones.

DECIMA: Las partes se comprometen a no revelar a terceros y a devolver, a la finalización del presente protocolo, toda la información técnica originada en la otra parte, a la que se le haya dado carácter de confidencialidad y a hacer que el personal que tuviese acceso a la información no la revele a terceros y la mantenga estrictamente confidencial, dejándose clara excepción a lo expresado en la cláusula novena

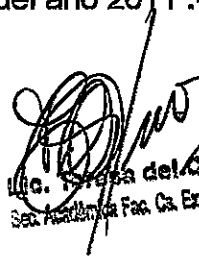
DECIMO PRIMERA: En caso de existir resultados del proyecto que puedan ser sujeto de protección industrial o intelectual deberá ser acordado previamente por las partes realizando los correspondientes convenios que contemplen la participación de la FCEFQyN y la EMPRESA.



DECIMO SEGUNDA: Este acuerdo tendrá vigencia a partir de su firma y se mantendrá hasta la finalización de las actividades propuestas en este Protocolo y según los plazos estipulados en la Cláusula QUINTA.

DECIMO TERCERA: Las partes podrán rescindir este acuerdo mediante notificación fehaciente a la contraparte, con una antelación no menor a treinta (30) días. Cuando se incurra en incumplimiento de lo acordado, dentro de los quince días de producido y comprobado el motivo que provocó la situación.——

En prueba de conformidad se firman tres (3) ejemplares de un mismo tenor y un solo efecto en la ciudad de Río Cuarto a los días del mes de
.....del año 2011


Lic. Teresa del C. QUINTERO
Sen. Académica Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.


Dra. Rosa Irene CATTANA
Decana Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.



ANEXO I

Protocolo FCEF-QyN y Empresa NITRAP SRL

PRESUPUESTO	
Personal (1)	\$700,00
Insumos (2)	\$400,00
Equipos (3)	\$100,00
Gastos Generales (4)	\$0,00
Utilidades Equipo de Trabajo (5)	\$0,00
Utilidades Facultad (5)	\$0,00
Subtotal	\$1.200,00
Ret. UNRC 20 % (6)	\$300,00
Monto Mensual Protocolo	\$1.500,00

Según Artículo 4° Res. Con.
Sup. N° 117/04:

(1) Se refiere a las asignaciones complementarias para el personal de la Universidad

(2) Refiere a los gastos específicos, como material fungible, viáticos, pasajes, construcción de prototipos, etc.

(3) Incluye el costo de alquiler de equipos especiales o de accesorios de equipos existentes, o de otra naturaleza.

(4) Incluye los gastos relativos a la organización y administración de la prestación.

(5) Se fijará sobre el costo total un porcentaje en concepto de utilidad, que las facultades y secretarías consideren apropiado, en función del

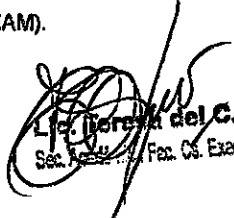
interés o prioridad que asignen al proyecto y la posibilidad de generar recursos que permitan a la facultad o secretaría fortalecer políticas de


vinculación social o desarrollarse en otras áreas.

(6) Distribuido de la siguiente manera: 10% al Sistema de Becas Estudiantiles, 5% Gastos Generales (electricidad, gas, telefonía, internet, etc.)

y 5% restante Programas Sociales

(PEAM).


Lic. Irene del C. QUINTERO
Sec. Académica, Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.


Dra. Elena Irene GATTANA
Decana Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.