



REVISTA ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA

www.elsevier.es/ram



ORIGINAL

Desarrollo de un sistema de fermentación líquida y de enquistamiento para una bacteria fijadora de nitrógeno con potencial como biofertilizante

Mauricio Camelo-Rusique, Andrés Moreno-Galván, Felipe Romero-Perdomo y Ruth Bonilla-Buitrago*

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-CORPOICA, Laboratorio de Microbiología de Suelos, Mosquera, Cundinamarca, Colombia

Recibido el 20 de mayo de 2015; aceptado el 10 de junio de 2016

PALABRAS CLAVE

Fijación biológica de nitrógeno;
Solubilización de fosfatos;
Compuestos indólicos;
Agitación;
Aireación;
pH;
Biomasa

Resumen El uso indiscriminado de fertilizantes químicos ha contribuido al deterioro de las propiedades biológicas, físicas y químicas del suelo, lo que derivó en la pérdida de su capacidad productiva. Por esta razón, se ha planteado como alternativa tecnológica el uso de biofertilizantes. El objetivo de esta investigación fue desarrollar un sistema de fermentación líquida y de enquistamiento adecuado para la multiplicación de *Azotobacter chroococcum* cepa AC1, una bacteria utilizada en la formulación de un biofertilizante actualmente producido por CORPOICA, Colombia. Se emplearon diseños estadísticos secuenciales para determinar las condiciones del sistema de fermentación. Se evaluaron la interacción entre la agitación, la aireación y el pH sobre la biomasa viable obtenida de AC1 (UFC/ml), que se tomó como variable de respuesta. Además, se evaluó la capacidad de enquistamiento de esta bacteria empleando 2 agentes de enquistamiento, AE01 y AE02. La actividad potencial promotora del crecimiento vegetal fue evaluada por medio del ensayo de ARA (fijación biológica de nitrógeno), la técnica de azul de fosfomolibdeno (solubilización de fosfato) y la reacción colorimétrica empleando el reactivo de Salkowski (producción de compuestos indólicos). Se evidenciaron efectos significativos ($p < 0,05$) sobre la producción de biomasa de los 3 factores evaluados (pH, aireación y agitación) individualmente, de una interacción dual y en la interacción tripartita, teniendo un efecto positivo sobre la variable de respuesta la aireación y agitación. La adición de los inductores de enquistamiento AE01 y AE02 demostró la capacidad de la cepa AC1 para formar quistes en condiciones de estrés. Asimismo, las condiciones de fermentación y el enquistamiento no afectaron las actividades biológicas evaluadas.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: rbonilla@corpoica.org.co (R. Bonilla-Buitrago).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2016.06.005>

0325-7541/© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Cómo citar este artículo: Camelo-Rusique M, et al. Desarrollo de un sistema de fermentación líquida y de enquistamiento para una bacteria fijadora de nitrógeno con potencial como biofertilizante. Rev Argent Microbiol. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2016.06.005>

KEYWORDS

Biological nitrogen fixation;
Solubilization of phosphates;
Indole compounds;
Agitation;
Aeration;
pH;
Biomass

Development of a liquid fermentation system and encystment for a nitrogen-fixing bacterium strain having biofertilizer potential

Abstract The indiscriminate use of chemical fertilizers has contributed to the deterioration of the biological, physical and chemical properties of the soil, resulting in the loss of its productive capacity. For this reason, the use of biofertilizers has emerged as a technological alternative. The objective of this research was to develop a suitable liquid fermentation system and encystment for the multiplication of *Azotobacter chroococcum* AC1 strain, a bacterium employed in a biofertilizer formulation produced at present by CARPOICA, Colombia. Sequential statistical designs were used to determine the conditions in the fermentation system. The interaction between agitation, aeration and pH was evaluated on the viable biomass (CFU/ml) of AC1. In addition, the encystment ability of the strain was evaluated using two encystment agents and the potential plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) activity was assessed by different techniques, such as nitrogen fixation by ARA, phosphate solubilization by the phosphomolybdenum-blue reaction and indolic compound production by colorimetric reaction using the Salkowski reagent. Results showed significant effects ($p < 0.05$) on the viable biomass in the three conditions (pH, aeration and agitation) tested individually, in one dual interaction and one tripartite interaction, were demonstrated to have a positive effect on the response variable aeration and agitation. The addition of the two encystment agents evaluated, AE01 and AE02, demonstrated the ability of AC1 to form cysts under stress conditions. Likewise, fermentation and encystment conditions did not affect the biological activities tested.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La degradación de las propiedades biológicas, físicas y químicas del suelo son consecuencia del uso indiscriminado de fertilizantes químicos y de prácticas agrícolas incorrectas³¹. El uso de biofertilizantes ha tomado cada vez más fuerza, ya que estos intervienen directamente sobre los ciclos biogeoquímicos por medio de la fijación biológica de nitrógeno atmosférico y la solubilización de fósforo inorgánico².

El uso de biofertilizantes ha demostrado generar un aumento en la productividad en cultivos de gramíneas de hasta 50% en condiciones de invernadero⁴ y del 30% en parcelas experimentales³⁰. Por esta razón, el empleo de biofertilizantes representa una alternativa económicamente rentable para los agricultores y ganaderos del Caribe seco colombiano, debido a que su uso puede reducir hasta un 50% la aplicación de fertilizantes nitrogenados de síntesis química.

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA) ha desarrollado un biofertilizante con base en una bacteria diazotrófica, *Azotobacter chroococcum*^{10,11}, denominado Monibac[®] (biofertilizante en formulación sólida, presentación de 500 g, para el cultivo de algodón, fabricado pro Corpoica en Centro de Investigación Tibaitatá), nativa del Valle del César, Colombia⁶, la cual ha demostrado su eficacia en el cultivo de *Panicum maximum*⁴ y *Gossypium* sp. Sin embargo, este biofertilizante se encuentra en presentación sólida y posee varios limitantes, tales como la concentración final de biomasa y el tiempo necesario para su producción. Para este caso puntual de *A. chroococcum* cepa AC1¹⁰, el proceso de fermentación empleado tiene un rendimiento de 1×10^8 UFC/ml de células vegetativas en 48 h de crecimiento.

El objetivo del presente estudio fue desarrollar un sistema de fermentación líquida y de enquistamiento de *A. chroococcum* cepa AC1 (en adelante, AC1), con el fin de maximizar la obtención de biomasa que sea capaz de tener una mayor vida útil, debido a la presencia de células enquistadas. Además, este sistema es la etapa preliminar para el desarrollo de una nueva formulación líquida del biofertilizante, que pueda mantener las actividades para la promoción de crecimiento vegetal características de *A. chroococcum*.

Materiales y métodos

Cepa de estudio y medios de cultivo

Se evaluó la cepa fijadora de nitrógeno de vida libre *A. chroococcum* AC1 perteneciente al banco de microorganismos del Laboratorio de Microbiología de Suelos de CORPOICA. La cepa fue reactivada en el medio Ashby pH 7,2, con la siguiente composición (g/l): manitol (10,0); K₂HPO₄ (0,2); MgSO₄ (0,2); NaCl (0,2); CaSO₄ (0,1); CaCO₃ (5,0) y agar-agar (15,0). Todos los reactivos empleados fueron de marca Merck, Millipore, EE. UU. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo en el medio de cultivo MBR²⁰ con una temperatura de incubación de 28 ± 2 °C.

Determinación de las condiciones para el sistema de fermentación

Las fermentaciones discontinuas se llevaron a cabo en un biorreactor de tanque agitado, con volumen efectivo de trabajo (VET) de 3,5 l, con una configuración tipo Rushton

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8844455>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8844455>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)