



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE UNA CEPA DE *R.ETLI* UTILIZADA COMO BIOFERTILIZANTE, EN CULTIVOS A NIVEL MATRAZ Y BIORREACTOR, BAJO DISTINTAS CONDICIONES NUTRIMENTALES Y DE OPERACIÓN

Ce Akatl Mikiztli Arias-Poblano<sup>1</sup>, Ramsés I. García-Cabrera<sup>1</sup>, Jesús Villegas-Cruz<sup>1</sup>, Agustín de Leonardo<sup>2</sup>, Marcel Morales<sup>2</sup>, Mauricio A. Trujillo-Roldán<sup>1</sup>.

1. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Unidad de Bioprocesos, México D.F. 70228. 2. Biofábrica Siglo XXI S.A. de C.V., Carretera México-Oaxaca Km 106. Colonia Hermenegildo Galeana, Cuautla-Morelos, México.  
[mikiztli.arias@gmail.com](mailto:mikiztli.arias@gmail.com), [ramses@biomedicas.unam.mx](mailto:ramses@biomedicas.unam.mx), [maurotru@biomedicas.unam.mx](mailto:maurotru@biomedicas.unam.mx)

*Palabras clave:* biofertilizante, *Rhizobium etli*, relación C/N

**Introducción.** El daño a los suelos por el uso de agroquímicos ha impulsado la investigación y desarrollo de los biofertilizantes (1), que están basados en el uso de microorganismos que pueden establecer una relación simbiótica con algunas legumbres, fijando nitrógeno. *R. etli* es uno de estos microorganismos que favorece la regeneración y conservación de la tierra de cultivo así como la estimulación del crecimiento acelerado de las plantas (2). El uso de biofertilizantes ayuda a reducir los costos ambientales (3), por lo que el estudio de distintas condiciones de cultivo a nivel laboratorio permitirá el adecuado escalamiento del proceso para la producción industrial. En este trabajo se evaluó el crecimiento de una cepa de *R. etli* utilizando distintas fuentes de carbono y relaciones C/N a nivel de matraz. Por otro lado se estudiaron cultivos en biorreactor utilizando distintas tensiones de oxígeno disuelto (TOD).

**Metodología.** El medio de cultivo utilizado para todos los experimentos fue YEM. Las relaciones carbono-nitrógeno (C/N) se estudiaron por triplicado en matraces de 500 mL utilizando 100 mL de medio de cultivo a 30 °C y 200 rpm. El efecto de distintas TOD sobre el crecimiento de los microorganismos se determinó en biorreactores con 1 L de medio de cultivo. Los experimentos se realizaron por duplicado y se controló la TOD a 0, 1 y 30 % a lo largo de la cinética por mezcla de gases de nitrógeno y aire. El crecimiento se determinó por espectrofotometría a 600 nm y se cuantificó el peso seco con la construcción de curvas estándar. A partir de los datos se calcularon los parámetros cinéticos.

**Resultados.** Las velocidades específicas de crecimiento ( $\mu$ ) y concentraciones de biomasa (X) alcanzadas a las 24 h de cultivo se presentan en la tabla 1. Los resultados de X se presentan normalizados con respecto al control. Se observó que la disminución de la relación C/N no afectó la  $\mu$  y originó un ligero aumento en la concentración de biomasa. Sin embargo, cuando se utilizó una relación C/N mayor al control, la  $\mu$  y X disminuyeron aproximadamente 90% con respecto al control. Los cultivos en biorreactor se muestran en la tabla 2. Los resultados de X se normalizaron con respecto a cultivos de matraz. Las cinéticas anaerobias

(0% TOD) no mostraron crecimiento. Las  $\mu$  fueron muy similares tanto en matraz como en biorreactor con TOD de 1 y 30%. Sin embargo, las concentraciones de biomasa alcanzadas en biorreactor fueron mayores con respecto al matraz.

**Tabla 1.** Comparación de las  $\mu$  y X alcanzadas en cultivos en matraz donde se utilizaron distintas relaciones de C/N. Los resultados de X se presentan normalizados con respecto al control.

Cepa 1	$\mu$ (h <sup>-1</sup> )	X (24 h)
C/N: ctrl	0.14	1.0
C/N: 0.1	0.14	1.2
C/N: 1.3	0.01	0.1

**Tabla 2.** Evaluación de  $\mu$  y X en cultivos en biorreactor con distintas concentraciones de TOD. Los resultados de X se presentan normalizados con respecto a valores obtenidos en matraz.

TOD (%)	$\mu$ (h <sup>-1</sup> )	X (24 h)
0	0	/
1	0.16	1.6
30	0.15	1.4

**Conclusiones.** La formulación del medio de cultivo con una relación C/N mayor al control afecta el crecimiento de *R. etli*, cepa 1. El mantenimiento de la TOD en al menos 1% en el medio de cultivo, garantiza el crecimiento de la cepa. Dicha situación explicaría la similitud en el desempeño observado tanto en matraz como en biorreactor.

**Agradecimiento.** CONACYT-INNOVAPYME 82533, 103393 y 137854. PAPIIT-UNAM IN228509. Biofábrica Siglo XXI S.A. de C.V.

### Bibliografía.

- Zvietcovich G., Nieves G., Claveri, A. (1999). Estudio de la asociación simbiótica *Rhizobium*-leguminosa-hongo micorrítico para la producción de inoculante doble de uso agrícola en Arequipa. *Manejo ecológico de suelos Conceptos, experiencias y técnicas*. Gomero L., Velásquez H. Editorial Gráfica Steffany. Perú. 57-66.
- Resendis-A O., Reed J., Encarnación S., et al. (2007). *PLoS Computational Biology*. Vol 3 (10): 1887- 1895.
- Encarnación S., Dunn M., Willms K., Mora J. (1995). *Journal of Bacteriology*. Vol 177 (11): 3058-3066.