



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DE CUATRO CEPAS DE *Sinorhizobium meliloti* Y DOS CEPAS DE *Azospirillum brasilense* EN CULTIVO SUMERGIDO PARA SU USO COMO BIOFERTILIZANTE

Christian Rico-Junco¹, Eduardo Acevedo-Sánchez¹, Ramsés I García-Cabrera¹, Jesús Villegas Cruz¹, Agustín de Leonardo², Marcel Morales², Mauricio A. Trujillo-Roldán¹, 1. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Unidad de Bioprocesos, México D. F., 04510. 2. Biofábrica Siglo XXI S.A. de C.V., Carretera México-Oaxaca Km 106. Colonia Hermenegildo Galeana, Cuautla-Morelos, México.
chrisoccer_5@hotmail.com, edusiete@hotmail.com, maurotru@biomedicas.unam.mx

Palabras Clave: biofertilizante, *Sinorhizobium meliloti*, *Azospirillum brasilense*

Introducción. La agricultura como la conocemos, es cada vez menos sostenible debido a los grandes gastos de mantenimiento y a los daños que provoca ésta al ecosistema. Es por ello que adoptar un modelo de tipo "verde" utilizando bioproductos en la agricultura es de gran relevancia. Las bacterias fijadoras de nitrógeno que se desarrollan de forma natural en el suelo, se conocen desde hace más de un siglo; éstas, representan un biofertilizante ecológico y se dividen en dos grandes grupos: las simbióticas, específicas de las leguminosas como *Sinorhizobium* ssp. y las libres, que viven en el suelo y no necesitan de la planta para su reproducción como *Azospirillum* ssp. El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento bacteriano de cuatro cepas de *S. meliloti* y dos de *A. brasilense* a nivel de matraz, con la finalidad de ser usadas a nivel industrial por la compañía Biofabrica Siglo XXI S.A. de C.V.. A su vez, evaluar, la producción de Polihidroxibutirato (PHB) como reserva intracelular, asociada directamente a la vida de anaquel de las bacterias.

Metodología. Se estudiaron dos cepas de *A. brasilense* (Start y Calf), y cuatro cepas de *S. meliloti* (A y B). Los medios de cultivo fueron Nfb-modificado para *A. brasilense* y YEM-modificado para *S. meliloti*. Se llevó a cabo una comparación de aquellos cultivos provenientes de cajas Petri sembradas con menos de una semana y bancos celulares. Para las cinéticas de cajas Petri se inocularon 50 mL de medio de cultivo con una colonia de la correspondiente cepa. De dichos cultivos se inocularon matraces de 500 mL con 100 mL de medio. Se construyeron bancos maestros de crioviales con glicerol al 30% y conservados a -70 °C. Las cinéticas de banco se realizaron inoculando un criovial en 100 mL de medio. Los cultivos se hicieron por triplicado. El crecimiento se determinó por espectrofotometría a 600 nm. Se calcularon a partir de los datos obtenidos los parámetros cinéticos. Los cultivos se realizaron en incubadora controlando la temperatura a 30°C y 200 rpm.

Resultados. Las velocidades específicas de crecimiento (μ) y concentración de biomasa (X) alcanzada a las 20 h de cultivo por las dos cepas de *A. brasilense* se muestran en la tabla 1. Los resultados corresponden a cinéticas de caja (1) y de banco (2). Los datos de X se presentan

normalizados con respecto a las cinéticas de caja. Se observó que la μ y X disminuyeron aproximadamente 70% entre los cultivos de caja y de banco para la cepa Calf, en tanto que para la cepa Start la disminución de la μ fue de 95% y más de 70% para la X.

Los resultados de la evaluación de las cepas de *S. meliloti* se presentan en la tabla 2. Se observó que las μ alcanzadas en las cinéticas de los cultivos tanto de caja como de banco, para las dos cepas, fueron similares. Sin embargo, las concentraciones de biomasa alcanzadas en los cultivos de banco fueron aproximadamente 50% mayores a las de caja.

Tabla 1. Comparación de μ y X para las cepas Calf y Start de cultivos en caja (1) y banco (2). Los resultados se presentan normalizados con respecto a los cultivos de caja.

Cepa	μ (h ⁻¹)		X (24h)	
	Caja	Banco	Caja	Banco
Calf	0.15	0.10	1.00	0.30
Start	0.24	0.01	1.00	0.28

Tabla 2. Comparación de μ y X para las cepas A y B de cultivos en caja y banco. Los datos de biomasa se presentan normalizados con respecto a los cultivos de caja.

Cepa	μ (h ⁻¹)		X (24h)	
	Caja	Banco	Caja	Banco
A	0.16	0.18	1	1.5
B	0.21	0.22	1	1.45
C	ND	0.16	ND	1.11
D	ND	0.12	ND	1.16

Conclusiones. La construcción de un banco maestro para las cepas de *A. brasilense* Start y Calf afecta al microorganismo disminuyendo su velocidad de crecimiento. Por el contrario, la construcción de bancos maestros bajo las condiciones descritas para las cepas de *S. meliloti* es recomendable.

Agradecimiento. CONACyT 82533 y 103393, 137854, PAPIIT-UNAM.IN228509. Becas de licenciatura.

Bibliografía.

- Rinaudi L., Fujishige N., Hirsch A., Banchio E., Zorreguieta A., Giordano W. (2006) *Research in Microbiology* vol (157): 867-875.
- Madigan TM, Martinko JM, Parker J. Brock-Biology of Microorganisms. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 2003, cap. 6.
- Ben Rebah F., Prévost D., Tyagi R., Belbahri L. (2009) *Appl Biochem Biotechnol* vol (158): 155-163.