

EVALUACIÓN DE AZOTOBACTER VINELANDII EN LA DEGRADACIÓN DE CLORPIRIFÓS Y SU MICROENCAPSULACIÓN PARA LA FORMULACIÓN DE UN INOCULANTE

Victoria Conde-Avila*¹, Carmen Martínez-Valenzuela, Luis Daniel Ortega-Martínez², Beatriz Pérez-Armendáriz², Octavio Loera³, Carlos Peña⁴

¹ Unidad de Investigación en Ambiente y Salud, Universidad Autónoma de Occidente Unidad Los Mochis, Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional s/n Colonia Conrado Espinoza, Los Mochis Sinaloa, México,.

² Facultad de Biotecnología, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, México. 13 Poniente No. 1927 Col. Barrio de Santiago, C.P.72410, Puebla, Pue. México.

³ Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1ra Secc. 09340 Ciudad de México, CDMX.

⁴ Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM. Apdo. Post. 510-3 Cuernavaca, 62250 Morelos, México. *victoria.condea@gmail.com

Palabras clave: biorremediación, plaguicida, rizobacteria

Introducción. La producción agrícola se caracteriza por el uso continuo de fertilizantes nitrogenados y plaguicidas como clorpirifós (CP) que producen efectos adversos a la salud humana y contaminación (1). Una alternativa es el uso rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) tolerantes a plaguicidas, así como el desarrollo de formulaciones que favorezcan su inoculación en ambientes contaminados. Actualmente, la inoculación de microorganismos, ya sea con fines agrícolas o ambientales, emplea formulaciones líquidas con vida útil y efectividad limitada. La encapsulación celular es una técnica que brinda tolerancia y protección a factores externos (2). Sin embargo, son escasas las investigaciones sobre el uso de esta tecnología en aplicaciones en suelo, así como de *Azotobacter vinelandii* en la degradación de CP. El objetivo fue evaluar el crecimiento de *A. vinelandii* ATCC 12837, la degradación de CP *in vitro*, y un método de microencapsulación para su uso como inoculante.

Metodología. Se diseñó una estrategia de cultivo empleando diferentes medios y condiciones de oxigenación para evaluar el crecimiento de la bacteria y biodegradación de CP *in vitro* (2). Se determinaron parámetros cinéticos, respirométricos y un análisis cromatográfico para la determinación del porcentaje de degradación (2). La microencapsulación se llevo a cabo con alginato como polímero protector empleando la técnica de secado por aspersión (3). Finalmente, se evaluó el efecto del inóculo líquido y encapsulado sobre el crecimiento de plántulas de tomate.

Resultados. La estrategia de cultivo permitió identificar condiciones óptimas crecimiento en el medio Burk-Sacarosa (BS) (2) (Fig.1; Tabla 1). *A. vinelandii* ATCC 12837 toleró y creció en medios con 500 ppm de CP sin afectaciones en su respiración (Fig.2) y degradó el plaguicida en 60h sin acumulación de metabolitos tóxicos (Fig.3). La técnica de secado permitió la

encapsulación de la bacteria preservando su viabilidad al 80% (Fig. 4). Se presentaron efectos positivos en las variables de germinación y crecimiento de plántulas de tomate inoculadas con *A. vinelandii* libre y encapsulada (Tabla 2).

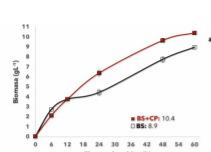


Fig. 1. Biomasa de *A. vinelandii* en medio BS y BS+CP en matraces con 50 ml de medio de cultivo.

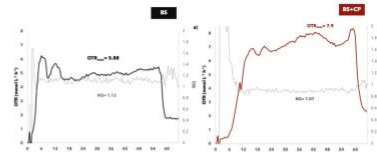


Fig. 2. Parámetros respirométricos (OTR y RQ) de *A. vinelandii* en medio BS y BS+CP en matraces con 50 ml de medio de cultivo.

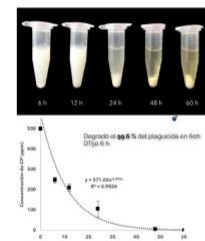


Fig. 3. Degradación de CP *in vitro* por *A. vinelandii* en medio BS+CP



Fig. 4. Viabilidad de *A. vinelandii* antes y después del proceso de microencapsulación

Tabla 1. Parámetros cinéticos y respirométricos de *A. vinelandii* cultivada en matraces agitados en medio BS y BS + CP

Medio de cultivo	Viabilidad inicial (%)	Biomasa (g)	Proteína (mg mL ⁻¹)	OTR (mmol l ⁻¹ h ⁻¹)	RQ
BS	0.26	6.9 ± 0.12	1.82 ± 0.01	9 × 10 ¹⁰	5.88
BS+CP	0.26	10.4 ± 0.22	3.32 ± 0.40	1 × 10 ¹⁰	7.9

Los experimentos se hicieron a cebra por triplicado y los resultados presentados son los promedios y la desviación estándar de experimentos independientes.



Tabla 2. Porcentaje de germinación y variables morfológicas de las plántulas de tomate inoculadas de forma libre como encapsulada

Tratamientos	Germinación (%)	Exámetro del tallo	Altura	Raíz	NO ₂	K ⁺	Na	Ca ²⁺
Sin inóculo	70 ^a	2.1 ^a ± 0.15	19.8 ^a ± 1.1	10.4 ^a ± 0.82	816.8 ^a ± 46	114.6 ^a ± 4	124 ^a ± 10	4075.6 ^a ± 65
Inóculo líquido	80 ^b	2.8 ^b ± 0.5	27 ^b ± 3.0	13.8 ^b ± 0.57	985 ^b ± 11	122.6 ^b ± 12	129.8 ^b ± 11	4136 ^b ± 54
Inóculo polvo alginato Na	90 ^c	2.9 ^c ± 0.10	28.6 ^c ± 3.4	17.6 ^c ± 1.1	1153 ^c ± 45	126.2 ^c ± 11	161.8 ^c ± 5	4144.4 ^c ± 11

Se presenta la media en negritas ± desviación estándar. Letras distintas en las mismas columnas indican diferencias estadísticas significativas, según la prueba de Tukey (alpha ≤ 0.05).

Conclusiones. *A. vinelandii* ATCC 12837 es eficiente en la degradación de CP *in vitro*.

La microencapsulación permite la formulación de un inoculante en polvo que preserva la viabilidad de *A. vinelandii* y mejora el crecimiento vegetal de plántulas de tomate.

Bibliografía.

- Bose et al. 2021. A review on the microbial degradation of chlorpyrifos and its metabolite TCP. *Chemosphere* 283:131447
- Conde AV, et al. 2021. Growth, respiratory activity and chlorpyrifos biodegradation in cultures of *Azotobacter vinelandii* ATCC 12837. *AMB Express* 11, 177.
- Strobel SA, et al. 2018. Industrially scalable microencapsulation of plant beneficial bacteria in dry cross-linked alginate matrix. *Ind Biotechnol* 14(3):138–147.