

Medio de cultivo utilizando residuos-sólidos para el crecimiento de una bacteria nativa con potencial biofertilizante

Using a solid waste culture medium for growing a native strain having biofertiliser potential

Cecilia Lara Mantilla¹, Liliana Pahola García Támara², Luis E Oviedo Zumaqué³

Resumen

En el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos de la evaluación del crecimiento, desarrollo y viabilidad de una cepa bacteriana nativa *Azotobacter* A15M2G con potencial biofertilizante, sobre un medio de cultivo preparado con residuos sólidos vegetales procedentes del mercado: *Brassica Oleracea* (repollo), *Lactuca sativa* (lechuga) y *Allium fistulosum* (cebollín). El crecimiento de la bacteria en el medio de residuo vegetal a diferentes concentraciones: 25, 50 y 75% p/v fue evaluado, encontrándose un mejor crecimiento en la concentración del 25%; la caracterización química del medio de cultivo al 25% p/v, después de ser esterilizado, mostró los siguientes valores: 0,035% de carbohidratos, 0,4044% de proteína, 0,03574% de cenizas, 99,3955% de humedad, 6,93 mg/l de azufre, 0,170 mg/l de fósforo, 0,2 mg/l de manganeso, 409,2 mg/l de potasio, 1,842 mg/l de hierro, 14 mg/l de sodio y 0,1 mg/l de zinc, 28,056 mg/l de calcio y 17,017 mg/l de magnesio. En el medio de cultivo al 25% también fue evaluada la capacidad fijadora de nitrógeno y productora de ácido indol acético (AIA) de la bacteria, obteniendo una concentración de 4,8725 mg/l y 13,5837 mg/l respectivamente. Posteriormente se realizó un ensayo de viabilidad por un periodo de 2 meses. Los resultados muestran que los residuos-sólidos vegetales generados en las plazas de mercado local pueden ser utilizados como medio de cultivo ofreciendo un aporte nutricional al microorganismo de interés agrícola minimizando la contaminación ambiental generada.

Palabras clave: medios de cultivo, residuos sólidos vegetales, *Azotobacter* A15MG, biofertilizante, contaminación.

Abstract

The present work gives the results obtained from assessing the growth, development and viability of a native bacterial strain (*Azotobacter* A15MG) having biofertiliser potential grown in culture medium obtained from

-
- 1 Química, M.Sc., Ph.D. Línea de Investigación en Biotecnología. Directora e investigadora Grubiodeq (Grupo de Biotecnología Departamento de Química). Investigadora principal proyecto. Directora Tesis Maestría. Universidad de Córdoba. lara_mantilla_cecilia@hotmail.com; clara@sinu.unicordoba.edu.co
 - 2 M.Sc. en Biotecnología. Tesis- Investigadora. Grubiodeq (Grupo de Biotecnología Departamento de Química), Universidad de Córdoba. lipagt@hotmail.com
 - 3 Ing Agrónomo.M.Sc. Investigador Grubiodeq (Grupo de Biotecnología Departamento de Química). luisoviedo59@hotmail.com

vegetable solid waste (VSW): i.e. *Brassica Oleracea* (cabbage), *Lactusa sativa* (lettuce) and *Allium fistulosum* (chives). The bacteria's growth on VSW culture medium at 25%, 50% and 75% w/v concentrations was evaluated, the 25% concentration producing the best growth. The following values were obtained for the chemical characterisation of this culture medium after it had been sterilised: 0.035% carbohydrates, 0.4044% protein, 0.03574% ash, 99.3955% moisture, 6.93 mg / l sulphur, 0.170 mg / l phosphorus, 0.2 mg / l manganese, 409.2 mg / l potassium, 1.842 mg / l iron, 14 mg / l sodium and 0.1 mg / l zinc, 28.056 mg / l calcium and 17.017 mg / l magnesium. The bacterium's nitrogen-producing and indol acetic acid (IAA)-fixing capacity were also evaluated in the 25% culture medium, 4.8725 mg/l and 13.5837 mg/l concentrations being obtained, respectively. A viability test was then carried out over a 2-month period. The results showed that VSW produced in local market squares can be used as culture medium offering a nutritional contribution to microorganisms having agricultural interest and minimising environmental-generated pollution.

Key words: Culture medium, vegetable solid waste, *Azotobacter* A15M2G, biofertiliser, pollution.

Recibido: marzo 24 de 2010

Aprobado: junio 17 de 2010

Introducción

La basura es todo aquello que se descarta luego de que un producto haya cumplido su función (Lindsay *et al.*, 2006); mal manejada tiene efectos nocivos en el ambiente y en la salud. En las ciudades colombianas, la mayor parte del comercio mayorista y gran parte del minorista de productos agrícolas de consumo humano se lleva a cabo en las centrales de abasto. En la ciudad de Montería, la comercialización se realiza en la plaza del mercado del sur, en donde se produce diariamente una cantidad crítica de residuos sólidos de origen vegetal, viéndose obligados a convivir con ellos, los cuales están constituidos principalmente por frutas y verduras. Durante el mes de enero de 2009 se reportó una producción cercana a 22 toneladas diarias de residuos sólidos, representados principalmente por materia orgánica fácilmente biodegradable, desechos de frutas, hortalizas y verduras (Arrazola *et al.*, 2007); posterior a su recolección, estos desechos son compactados y ubicados directamente en un relleno sanitario sin ningún tipo de separación o clasificación que permita su reciclaje (Servigenerales, 2009). Como resultado de esta situación se presenta una gran contaminación por malos olores y lixiviados, debido principalmente a la falta de aplicación de nuevas tecnologías y estudios específicos que permitan el aprovechamiento

efectivo de estos residuos, a la vez que se contribuya a la descontaminación ambiental.

En la actualidad, en numerosos países la problemática que gira en torno al manejo de los desechos orgánicos se está redireccionando al aprovechamiento agrícola de los mismos. El interés por utilizarlos ha ido aumentando debido a las nuevas tendencias ecológicas y a las elevadas cantidades de estos materiales que se generan en los procesos agrícolas, agroindustriales y urbanos (plazas de mercado) entre otros. De ahí el creciente interés de reciclarlos para utilizarlos de la manera más económica; es así como en los países industrializados la tecnología ha reducido esta problemática, mientras que en países subdesarrollados aún se está padeciendo con el aumento de basuras y la falta de recursos tecnológicos para combatirla.

En nuestro país existe un referente legal para implementar sistemas de aprovechamiento de residuos y producción de bioproductos que no deterioren el ambiente. El Decreto 2811 de 1974, artículo 34 (Constitución Política de Colombia de 1991), establece que para el manejo de los residuos sólidos se utilizarán los mejores métodos, de acuerdo con los avances de la ciencia y tecnología, para recolección, tratamiento, procesamiento o disposición final de basuras, desperdicios y, en general, de dese-

chos de cualquier clase. El mismo decreto, en su artículo 36, señala que para la exposición o el procesamiento final de las basuras se utilizarán, preferiblemente, los medios que permitan: evitar el deterioro del ambiente y de la salud humana, reutilizar sus componentes, producir nuevos bienes, restaurar o mejorar los suelos.

Basados en lo anterior, y teniendo en cuenta que en la actualidad existe la tendencia mundial hacia la agricultura sostenible, surge el interés en aprovechar los residuos sólidos vegetales en conjunto con una bacteria nativa del género *Azotobacter* sp, que demostró ser eficiente en la fijación biológica del nitrógeno y producción de AIA para posterior uso como biofertilizante (Lara *et al.*, 2007a; Lara *et al.*, 2006). Los microorganismos diazotófos y productores de auxina pertenecientes al género *Azotobacter* sp, son de gran importancia por el potencial que representan para los cultivos; investigaciones realizadas al respecto han demostrado que sus características les permiten aumentar el rendimiento en las cosechas, acortar ciclos, disminuir el uso desmedido de fertilizantes minerales y productos químicos y, por consiguiente, reducir la contaminación ambiental (Sayeda *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2005; Dobbelaere *et al.*, 2003).

El objetivo de esta investigación es aprovechar los residuos orgánicos (repollo, lechuga y cebollín) del mercado del sur de la ciudad de Montería (Córdoba, Colombia), para la elaboración de un biopreparado que incluye una cepa nativa, *Azotobacter* A15M2G, con potencial biofertilizante. Es de nuestro interés disminuir la acumulación indebida de residuos-sólidos vegetales, buscando través de procesos biotecnológicos alternativas viables y comerciales de uso agrícola sin contaminar el ambiente.

Materiales y métodos

Materia prima

Fueron tomados residuos orgánicos procedentes del mercado público del sur de Mon-

tería; se seleccionaron los correspondientes a desechos de *Brassica Oleracea* (repollo), *Lactuca sativa* (lechuga) y *Allium fistulosum* (cebollín), teniendo en cuenta que son los residuos vegetales que generan mayor volumen y su descomposición es más rápida.

Se recolectaron 500 g de cada uno, se lavaron con agua corriente y destilada, y luego fueron secados al aire libre.

Preparación de los medios de cultivo

En la elaboración de los medios de cultivo líquidos a partir de los residuos-sólidos se realizó pesaje, picado y licuado en un volumen adecuado de agua destilada hasta obtener las concentraciones de 25, 50 y 75% p/v; la relación de cada uno de los residuos en los medios a diferentes concentraciones fue 1:1:1 (ej., para obtener concentración del 25% p/v: 25 g de repollo, 25 g de lechuga y 25 g de cebollín, y así sucesivamente); el pH fue ajustado a 6,70 con una solución de bicarbonato de sodio al 10%. Para la preparación de los medios de cultivos sólidos se realizó el mismo procedimiento adicionando agar-agar en cantidad apropiada de acuerdo con el producto comercial (15 g/L).

Los medios preparados fueron esterilizados a 1 atm de presión, 121 °C, durante 15-20 min.

Microorganismo utilizado

Se utilizó una cepa nativa del género *Azotobacter* A15M2G, aislada de la región de Córdoba (Colombia), que demostró ser eficiente en su capacidad fijadora de nitrógeno y productora de Ácido Indol Acético (AIA) (Lara, *et al.*, 2007a; Lara, 2006).

Evaluación del crecimiento microbiano

Para realizar el ensayo se tomó un inóculo de 3×10^7 UFC de la cepa nativa mantenida en

medio Burk's (Park *et al.*, 2005); la evaluación del crecimiento de la bacteria a las diferentes concentraciones del medio de cultivo (25, 50 y 75 % p/v) se llevó a cabo a través de: a) observación macroscópicas (forma, elevación, superficie, opacidad); b) observación microscópica (coloraciones clásicas); y c) determinación del crecimiento por diluciones decimales seriadas y conteo de UFC en placa (Park *et al.*, 2005; Seeley, 1973). Las condiciones de crecimiento establecidas fueron: temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$), 150 rpm y un tiempo de incubación de 72 horas.

Curva de crecimiento

Se escogió la concentración de medio de cultivo preparado con residuos-sólidos vegetales, en la cual se observó el mayor crecimiento de la cepa y se determinó su curva de crecimiento a temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$), 150 rpm y un tiempo de incubación de 72 horas.

Determinación de la capacidad productora de auxina y fijadora de nitrógeno

Se escogió el medio de cultivo en cuya concentración se observó el mayor crecimiento de la cepa determinándose la capacidad productora de ácido indol acético y fijadora de nitrógeno: a) determinación de ácido indol acético. La producción de la auxina ácido indol acético (AIA) por la bacteria *Azotobacter* A15M2G, fue determinada colorimétricamente empleando el reactivo de Salkowski; se utilizó un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 11 UV-Vis, longitud de 527 nm y la ecuación de calibrado: $y = 0,02299x - 0,07529$, $R^2 = 0,9996$ (Lara *et al.*, 2007b). Los ensayos se realizaron por triplicado. b) Determinación de la capacidad fijadora de nitrógeno. Para evaluar la capacidad fijadora de nitrógeno que posee la bacteria diazotrofa en el medio de residuos vegetales se utilizó el método indirecto colorimétrico de Berthelot (fenol-hipoclorito) empleando un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 11 UV-Vis, lon-

gitud de 632,9 nm y la ecuación de calibrado: $y = 0,177x + 0,0041$, $R^2 = 0,9942$ (Lara *et al.*, 2007a). Los ensayos se realizaron por triplicado.

Análisis

El medio de cultivo de residuos vegetales que mostró mayor crecimiento microbiano fue esterilizado y posteriormente analizado químicamente determinándose los siguientes parámetros: carbohidratos (Dubois, 1956), nitrógeno (AOAC, 1997), calcio (Ca) y magnesio (Mg), cenizas, humedad y pH (Bernal, 1994; Madrid, 1994); los elementos azufre (S), fósforo (P), potasio (K), sodio (Na), cobre (Cu) y hierro (Fe) fueron determinados por absorción atómica (Manual Perkin Elmer, 1984) (Lara y García, 2010).

Ensayo de viabilidad microbiana

Para observar la viabilidad del microorganismo diazotrofo en el medio de cultivo a partir de la concentración de residuos-sólidos vegetales en la que se observó mayor crecimiento se realizó un bioensayo que consistió en evaluar la estabilidad de una concentración conocida del microorganismo (3×10^7 UFC) en un período de 60 días a condiciones de ambiente normal; se tomaron muestras cada 20 días para observar el mantenimiento de la concentración inicial de la bacteria en el tiempo y los conteos se realizaron por el método de las diluciones seriadas (Moreno y Rojas, 2008; Seeley, 1973). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Resultados y discusión

Evaluación del crecimiento microbiano

Morfológicamente se observó que en el medio de cultivo a partir de residuos-sólidos vegetales al 25% p/v (MRSV-25%), *Azotobacter* A15M2G presentó características redondeadas, bordes definidos y coloración beige; microscó-

picamente las bacterias fueron bien definidas, gram negativas, de forma bacilar ovoide y algunas agrupadas en cadenas; en el MRSV-50%, las colonias fueron pequeñas, con bordes definidos y coloración amarilla; al microscopio se observaron bacilos gram negativos con indicios de estrés celular; para el MRSV-75%, el crecimiento fue escaso, conservando las características descritas anteriormente (figura 1).

Los resultados promedio (ensayos por triplicado) del crecimiento de la bacteria *Azotobacter* A15M2G a las diferentes concentraciones de residuos-sólidos evaluados: 25, 50 y 75% p/v, mostraron un crecimiento del orden de 10^8 ,

10^6 y 10^1 respectivamente; se observó que un aumento en la concentración del sustrato produjo una disminución en el crecimiento de la bacteria. El comportamiento presentado puede atribuirse a una inhibición del microorganismo por el exceso de nutrientes y de material de residuos, que otorgan al medio características de mayor densidad y consistencia. Cualitativamente se observó que el crecimiento de la bacteria en el MRSV-25% se realizó más rápidamente en comparación con el MRSV-50%.

La curva de crecimiento de la bacteria en el MRSV-25% se muestra en la gráfica 1.

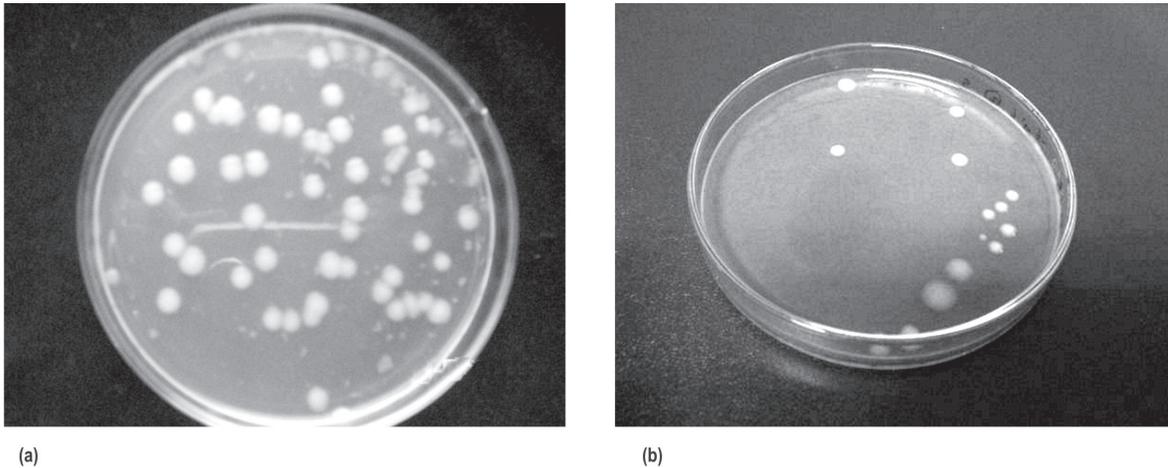
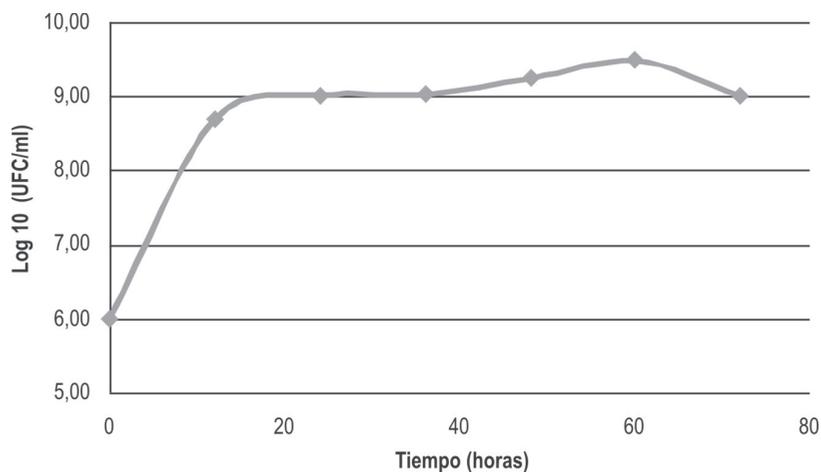


Figura 1. Colonias de *Azotobacter* A15M2G en el medio de residuos sólidos vegetales al 25% p/v (a) y al 50% p/v (b).



Gráfica 1. Curva de crecimiento. *Azotobacter* A15M2G. Medio residuos-sólidos vegetales al 25% p/v.

Teniendo en cuenta que el mayor crecimiento de la bacteria se observó en el MRSV-25 %, se realizó el análisis químico a este medio de cultivo luego de ser esterilizado, los resultados se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Caracterización química del MRSV-25% (valores promedios de ensayos por triplicado)

Determinación	Valor
Cenizas	0,03574 %
Proteína	0,4044%
Carbohidratos	0,9792 g/l
Humedad	99,3955%
Azufre	6,93 mg/l
Fósforo	0,170 mg/l
Calcio	28,056 mg/l
Magnesio	17,017 mg/l
Potasio	409,2 mg/l
Sodio	14 mg/l
Zinc	0,1 mg/l
Manganeso	0,2 mg/l

Nota: porcentaje (%) de cada componente en 100 ml de MRSV-25%.

La tabla 1 muestra que el MRSV-25% proporciona importantes nutrientes tanto para el crecimiento bacteriano como para la composición del biopreparado con fines de nutrición vegetal: fuente de carbono (carbohidratos) para suplir la energía y nitrógeno (proteínas) necesario para la biosíntesis de proteínas, ácidos nucleicos y polímeros de la pared celular de la bacteria (Pelczar *et al.*, 1993; Iañez, 2005). El potasio fue el elemento que se encontró en mayor cantidad (409,2 mg/l), el cual tiene como función en la célula, entre otras, aumento del ARN e incremento de la velocidad de crecimiento; en los cultivos la presencia del K otorga a las plantas gran vigor y resistencia contra las en-

fermedades, ayuda a la producción de proteína, aumenta el tamaño de las semillas, mejora la calidad de los frutos, ayuda al desarrollo de los tubérculos, favorece la formación del color rojo en hojas y frutos, permite el mantenimiento de la turgencia de las células mediante el fenómeno de la ósmosis, su presencia en el citoplasma hace que la célula tenga una mayor concentración de solutos que las células circundantes, el potasio también participa en la apertura y cierre de los estomas (Ertola *et al.*, 1994). El calcio (28,056 mg/l), magnesio (17,017 mg/l), hierro (6,93 mg/l) y sodio (14,00 mg/l), intervienen en la formación y el crecimiento de las raicillas, estimulan la producción de semillas y ayudan a regular la asimilación de nutrientes; también participan en otras actividades fisiológicas y enzimáticas de las plantas. Los demás elementos presentes (P, Mn y Zn), encontrados en menor cantidad, cumplen un papel importante en la transferencia de energía y como activadores enzimáticos, entre otros (Ertola *et al.*, 1994; Madigan *et al.*, 2003; Prescott, 2004; Iañez, 2005).

El análisis químico demostró que el MRSV-25% posee los nutrientes apropiados para el desarrollo y crecimiento de *Azotobacter A15M2G*, si se tiene en cuenta que las bacterias del género *Azotobacter sp*, utilizan carbohidratos (glucosa, fructosa y sacarosa) como fuente de carbono y energía (Holt, 2000); la fuente de nitrógeno es obtenida a partir de nitratos, sales de amonio, aminoácidos y, además, fijan el nitrógeno ambiental. Requieren elementos como magnesio y calcio, que juegan un papel importante en el metabolismo; la multiplicación de *Azotobacter sp* está muy influenciada por la presencia de fósforo y potasio en el medio; el hierro es un cofactor de la enzima nitrogenasa (Saribay, 2003).

Evaluación de la capacidad productora de auxina y fijadora de nitrógeno

Cuando la bacteria *Azotobacter A15M2G* fue crecida en el MRSV-25% se evaluó su capacidad productora de AIA y fijadora de nitróge-

no obteniéndose los valores de 13,5837 mg/l y 4,8725 mg/l respectivamente; estas mismas determinaciones fueron realizadas a la cepa, en medio de cultivo Burk's, produciéndose 17,964 mg/l de AIA (Lara *et al.*, 2007b) y 4,4595 mg/l (Lara *et al.*, 2007a). Estos datos demuestran que el medio a partir de residuos vegetales es favorable para mantener las características diazotrofas y productoras de auxina, conservando el potencial como biofertilizante.

El Ácido Indol Acético (AIA) es la auxina más ampliamente distribuida en las plantas; los efectos demostrados en las investigaciones llevadas a cabo contemplan la elongación, el aumento en la respiración celular, la promoción del crecimiento en las raíces, el incremento en la división celular y otros factores que favorecen el desarrollo vegetal. Es importante anotar que bajas concentraciones de fitohormona son capaces de estimular el desarrollo vegetal, y altas concentraciones inhiben y reducen la zona de alargamiento (Hernández, 2002; Rodríguez *et al.*, 2005); teniendo en cuenta que los microorganismos nativos están adaptados a condiciones y ambientes propios, solo realizando experimentos en campo se podrá encontrar la dosis adecuada y comprobar el efecto ejercido sobre los cultivos en los que se van a aplicar.

El nitrógeno es el elemento más limitante para el crecimiento de las plantas en suelos tropicales (Franco y Dobereiner, 1994). El uso de fertilizantes químicos nitrogenados ha sido ampliamente utilizado para aumentar la producción de los cultivos; sin embargo, del total del fertilizante aplicado sólo se aprovecha del 50 al 60%, y una parte importante pasa a los mantos acuíferos, con la consecuente contaminación de ríos, lagos y aguas subterráneas. Además, los gases tóxicos que se desprenden de los fertilizantes, como los óxidos de nitrógeno, dañan la capa de ozono (Corporación Bioma, 1995). El abuso de la fertilización química ha ocasionado daños a la microbiota de los suelos que cumplen con funciones importantes y que aportan nutrientes y sustancias promotoras de crecimiento vegetal (Moreno *et al.*, 2008).

Los procesos naturales de fijación biológica del N₂ (FBN) juegan un papel importante en la activación de los sistemas agrícolas sustentables por el beneficio que confieren al agricultor y al ambiente. El incremento en la aplicación de productos ecológicos a base microorganismos fijadores asimbióticos de nitrógeno ha demostrado como efectos positivos la disminución en la utilización parcial, y en algunos casos total, de fertilizantes nitrogenados (Sarmiento, 2006). La capacidad de fijación de N₂ por las bacterias de vida libre varía considerablemente dependiendo de la composición del medio, pH del suelo, temperatura y aireación, presencia de nitrógeno combinado, naturaleza de las fuentes de carbono, concentración de microelementos y acción de organismos antagonicos.

Las respuestas positivas obtenidas en las investigaciones realizadas con microorganismos del género *Azotobacter* sp han sido atribuidas a la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en forma asimbiótica, y a la capacidad productora de sustancias promotoras del crecimiento vegetal (auxinas) que estimulan los rendimientos en las cosechas (Dey *et al.*, 2004; Vessey, 2003; Dobbelaere *et al.*, 2003).

De acuerdo con los resultados del análisis químico efectuado al MRSV-25%, y teniendo en cuenta la capacidad productora de AIA y fijadora de nitrógeno de la bacteria, se espera que el conjunto, MRSV-25%-bacteria, supla en forma parcial o total las deficiencias de elementos tan importantes para las plantas como son el nitrógeno y el potasio, teniendo en cuenta su alta utilización por parte de los vegetales. Esta característica lleva a disminuir la utilización de fertilizantes de origen químico que, además de resultar costosos, afectan el ambiente. Todo lo anterior conlleva un beneficio para el sector agrícola y una ganancia desde el punto de vista ambiental.

Ensayo de viabilidad

En lo que se refiere al ensayo la viabilidad, se realizó el seguimiento del microorganismo

en el MRSV-25% teniendo en cuenta que fue la concentración de residuos-sólidos en la cual la bacteria mostró mayor crecimiento. El ensayo de viabilidad demostró que la población bacteriana se mantuvo constante a través del tiempo (60 días); confirmando la buena disposición de nutrientes en el medio obtenido a partir de basuras. Esta prueba se realizó con miras a obtener información sobre la capacidad de viabilidad del microorganismo en un periodo de tiempo que permite la posibilidad de almacenamiento (gráfica 2).

Los resultados de la investigación muestran que los residuos-sólidos vegetales poseen los nutrientes necesarios y apropiados para el crecimiento, desarrollo, mantenimiento y viabilidad de la bacteria diazotrofa; se conservó su capacidad fijadora de nitrógeno y productora de AIA permitiendo sugerir este medio como un vehículo en un bioinoculante (ICA, 2004) o biofertilizante con fines de aplicación en agrícola más limpia. También se demostró el valor agregado que puede darse a los residuos de repollo, lechuga y cebollín.

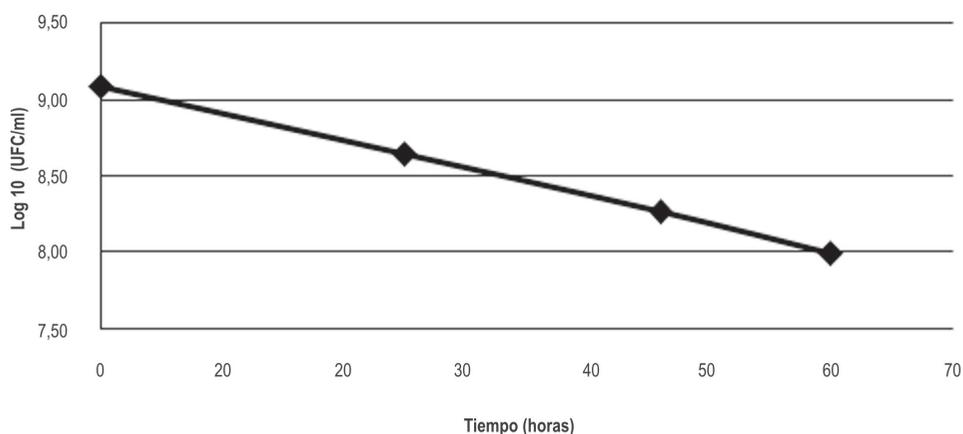
Teniendo en cuenta la gran producción de residuos-sólidos a nivel de la plaza de mercado local, y la falta de aprovechamiento, una opción de manejo es el uso de estos residuos conjuntamente con microorganismos que posean propiedades biofertilizantes, como es el caso de la

bacteria nativa *Azotobacter* A15M2G, para elaborar productos de origen agrícola que nutran los cultivos en forma ecológicamente limpia y con un sistema de producción sostenible.

De otra parte, al aprovechar estos desechos se tendrían, en Montería, 22 toneladas diarias aproximadamente de espacio libre en el relleno sanitario; si se extrapola esta situación a las diferentes zonas municipales de nuestro departamento, y del país, se recuperaría una gran cantidad de espacio en botaderos y rellenos sanitarios y, de esta manera, se garantizaría una producción limpia en la comercialización de alimentos; el inicio oportuno de esta gestión va a evitar dificultades en un futuro cercano, como son la imposibilidad de hallar sitios adecuados para la disposición de basuras, la proliferación de vectores y la incidencia de problemas de salud pública.

Conclusiones

La investigación demostró que es posible dar un valor agregado a los residuos-sólidos vegetales generados en la plaza de mercado, utilizándolos conjuntamente con la bacteria diazotrofa productora de AIA, *Azotobacter* A15M2, para el desarrollo de un biopreparado de interés agrícola, de bajo costo y que contribuya a una producción más limpia.



Gráfica 2. Viabilidad de *Azotobacter* A15M2G en medio de residuos orgánicos 25% p/v.

Los datos obtenidos constituyen un aporte muy importante debido a que la producción de desechos de mercados va en constante aumento por el crecimiento demográfico, agudizando el problema de su correcta disposición y la contaminación ambiental consecuente.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba por el financiamiento del presente proyecto de investigación.

Referencias bibliográficas.

- Arazola, G., J., Torres, A. Martínez, y A. C. Vidal. 2007. Diagnóstico de productos hortofrutícolas en el Mercado del sur de la ciudad de Montería. Tesis de Ingeniería de Alimentos. Facultad de Ciencias Agrícolas. Berastegui. Universidad de Córdoba.
- AOAC. 1997. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist. 15 ed. Washington, D.C.
- Bernal, I. 1994. Análisis de alimentos. Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Constitución Política de Colombia. 1991. Capítulo 3. De los derechos colectivos y del ambiente. Artículo 79. República de Colombia.
- Corporación Bioma. 1995. I Congreso Internacional de Agricultura Biológica y Medio Ambiente. Memorias. Bogotá: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- Dey, R., K. Pal, M. Bhatt, Chauhan, S. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 159: 371-394.
- Dobbelaere, S., J. Vanderleyden, Y. Okon. 2003. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews Plant Sciences* 22 (2): 107-149.
- Dubois. M. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and relates substances. *Anal Chem* 28: 530.
- Ertola, R., O. Yantorno, C. Mignone. 1994. Medios de fermentación. Monografía. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico de la OEA. <http://www.biologia.edu.ar/microind/medios.htm>. Consultado 2010 [Fecha de consulta: 22 de agosto de 2009].
- Franco, A., J. Dobereiner. 1994. Biología do solo e a sustentabilidade de dois solos tropicais. *Summa phytopathologica* 20 (1): 68-74.
- Hernández, A. 2002. Obtención de un biopreparado a partir de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz (*Zea Mays* L.). Tesis de doctorado. Universidad de La Habana. p. 165.
- Holt, J. 2000. *Bergey's manual* to determinative bacteriology. 9 edición. Baltimore. Mayland: Williams and Wilkinsp 77, 105, 118, 135.
- Iañez, E. 2005. Microbiología General. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. <http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/index.htm> [Fecha de consulta: 24 de febrero de 2010].
- ICA, Instituto Colombiano Agropecuario. 2004. Resolución 00375.
- Lara, C., L. García. 2010. Elaboración de un bioinoculante a partir de residuos vegetales del mercado y una bacteria nativa con potencial biofertilizante. Tesis de grado. Maestría en Biotecnología. Departamento de Química. Universidad de Córdoba. p. 119.
- Lara, C., L. Oviedo, M. Villalba. 2007a. Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba. Colombia. *Rev Colomb Biotecnol* 9 (2): 6-14.
- Lara, C., L. Oviedo, A. Alemán. 2007b. Evaluación química de la auxina: ácido 3-indolacético (AIA) a partir de aislados microbianos nativos con potencial biofertilizante en el Valle del Sinú Medio-Córdoba. Trabajo de grado. Departamento de Química. Universidad de Córdoba, Colombia. p. 85.
- Lara, C., L. Oviedo, A. Alemán. 2006. Evaluación química de la auxina: Ácido Indol acético a partir de aislados microbianos nativos con potencial biofertilizante para una alternativa de agricultura limpia en el Valle del Sinú Medio. (Departamento de Córdoba). En VII Simposio Latinoamericano de Química Analítica y Ambiental. Ponencia Oral. Memorias.
- Lindsay, G., K. Seckar, R. Church. 2006. Manejo de desechos. Universidad de McGill y Madres Maestras. Acción Social por Panamá. 1: 20-21.
- Madigan *et al.* 2003. Brock: Biología de los microorganismos. 10 edición. Madrid: Pearson- Prentice Hall. p. 167.
- Manual. Perkin Elmer, 1984. Model 3205 System Schematic.

- Madrid, A. 1994. Métodos oficiales de análisis de los alimentos. Madrid: Mundi Prensa Libros. p. 124.
- Moreno, N., J. Rojas. 2008. Producción y formulación de prototipos de un biofertilizante a partir de bacterias nativas asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa*). Rev Colomb Biotecnol 10 (2): 50-62.
- Park, M., K. Chungwoo, J. Yanga, L. Hyoungseok, S. Wansik, K. Seunghwan, S. Tongmin. 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. Microbiological Research 160: 127-133.
- Pelczar, M., R. Reid, P. Chan. 1993. Microbiología. 4 edición. México: McGraw-Hill. p. 8-36.
- Prescott, E. 2004. Microbiología. 5 ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Rodríguez, A., I. D. Trujillo, Y. F. Bringas, B. Rojas, J. Manzano, M. Heydrich. 2005. Caracterización fisiológica de la comunidad microbiana endófito de la caña de azúcar. Revista Colombiana de Biotecnología 7 (1) 66-75.
- Sarmiento, G. 2006. Biocultivos. Curso internacional. Producción de Biofertilizantes desde el laboratorio al campo. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Colcienicas-Cabbio-Biocultivos. Instituto de Biotecnología (IBUN), junio 19-25. Memorias.
- Saribay, G. 2003. Growth and nitrogen fixation dynamic of *azotobacter chroococcum* in nitrogen-free and omw containing medium. Thesis of Master. Department of Food Engineering, The Middle East Technical University. Turkia. p. 1-45.
- Sayeda, M., A. Mervat, A. Hamza, M. Fayez, M. Monib, M. Hegazi. 2005. Production of biofertilizers using baker's yeast effluent and their application to wheat and barley grown in north Sinai deserts. Archives of Agronomy and Soil Science 5: 589-604.
- Seeley, J., W. Harry, V. Demark, J. Paoul. 1973. Microbios en acción: Manual de Laboratorio para Microbiología. Madrid. p. 21-23.
- Servigenerales. 2009. Reporte Director Operativo de la Empresa, Ing. Elkin Morales Del Toro. Montería. Córdoba. Colombia.
- Vessey, J. K. 2003. Plant grown promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.
- Wu, S., C. Caob, C. Lib, C. Cheunga, B. Wonga. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125: 155-166.