



**Microbichos**

# Explorando el crecimiento de *Bacillus aryabhatai*, bacteria benéfica para la agricultura

Exploring the growth of *Bacillus aryabhatai*, a beneficial bacteria for agriculture

Gislaine Fernandes<sup>1</sup>

Julia Rayane Santos da Silva<sup>2\*</sup>

Michele Lino Cruz Augusto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Uberaba, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brasil.

\*Autor para la correspondencia:  
julia.rayane51@gmail.com

## Resumen

El uso excesivo de plaguicidas en la agricultura para controlar las plagas está provocando más contaminación de los suelos y de las aguas superficiales. En la actualidad, los estudios han demostrado la eficacia de los microorganismos en el desarrollo de las plantas y en la degradación de sustancias contaminantes. En este trabajo se evaluó la capacidad de germinación de esporas y la multiplicación de *Bacillus aryabhatai*, mediante fermentación líquida, empleando tres medios diferentes. Las muestras presentaron recuentos bacterianos superiores al recuento inicial, lo que indica que los medios empleados son adecuados para el crecimiento de esta bacteria.

**Palabras clave:** Agricultura, *Bacillus aryabhatai*, microorganismos.

## Summary

The excessive use of pesticides in agriculture to control pests is causing more contamination of soils and surface waters. Currently, studies have demonstrated the effectiveness of microorganisms in plant development and in the degradation of polluting substances. In this work, the spore germination capacity and multiplication of *Bacillus aryabhatai* were evaluated through liquid fermentation, using three different media. The samples presented bacterial counts higher than the initial count, which indicates that the medium used are suitable for the growth of this bacteria.

**Keywords:** Agriculture, *Bacillus aryabhatai*, microorganisms.

## Introducción

El uso excesivo de plaguicidas en la agricultura con el fin de promover el control de plagas y aumentar la productividad agrícola genera una creciente contaminación de los suelos y las aguas superficiales por estos productos. Por ello, es importante desarrollar soluciones y procesos capaces de minimizar los factores que afectan a la productividad agrícola y los residuos generados [1].

Así, el uso de microorganismos se ha convertido en una práctica importante, ya que proporcionan sustancias útiles para el desarrollo de las plantas, degradan la materia orgánica y eliminan contaminantes. Por lo cual el control biológico por microorganismos se ha convertido en una forma alternativa de controlar enfermedades y de estimular directamente el crecimiento de las plantas al aumentar la absorción de agua y nutrientes [2, 3]. El control biológico es una estrategia de manejo de plagas que utiliza organismos vivos, como depredadores, parasitoides, patógenos o competidores naturales, para controlar las poblaciones de plagas de una manera sostenible y respetuosa con el me-

dio ambiente. Estos organismos, denominados agentes de control biológico, ayudan a reducir la densidad de población de plagas, manteniendo bajo control su nivel y minimizando los daños a los cultivos o al medio ambiente.

En 2009 se aisló *Bacillus aryabhatai*, que es una bacteria que se encuentra asociada a las raíces (rizobacteria), es del tipo grampositiva y tiene forma de bastón. Hay varios estudios con *Bacillus aryabhatai*, uno de ellos es el trabajo de Elarabi et al. (2020) donde se muestra el uso de la cepa para la degradación de los residuos dejados por el herbicida glifosato, a través del proceso de biorremediación basado en este microorganismo; por su parte Kavamura et al. (2013) demostraron que la aplicación del microorganismo en cultivos de *Zea mays* L. mejora los efectos resultantes del estrés hídrico. La empresa Verde Agritech Ltd, ha desarrollado un fertilizante mineral, que contiene *Bacillus aryabhatai*, el cual ha mostrado muchas ventajas como la mejora de la disponibilidad de fósforo, la fijación de nitrógeno, el aumento de zinc, la resistencia al estrés hídrico y la protección de

las raíces de las plantas y la resistencia a plagas y enfermedades.

No obstante, para utilizar microorganismos como este a gran escala, es fundamental cultivarlos considerando un bajo costo de producción. Una forma de reducir el costo es el uso de medios y sustratos alternativos más económicos; o bien, usar cantidades menores de los ingredientes. La fermentación líquida, como su nombre lo indica, los microorganismos crecen en medio líquido; este tipo de fermentación es el más utilizado por la industria biotecnológica, y para la multiplicación de bacterias del género *Bacillus*. La fermentación es un proceso metabólico que ocurre en organismos microscópicos; durante la fermentación, las moléculas orgánicas, como los azúcares o los almidones, se descomponen en compuestos más simples. Algunas ventajas de este tipo de fermentación son que se tiene un mejor control de las condiciones de fermentación, tiene una alta escalabilidad, y su alta eficiencia para producir grandes cantidades de biomasa. No obstante, este proceso tiene desventajas como el alto costo

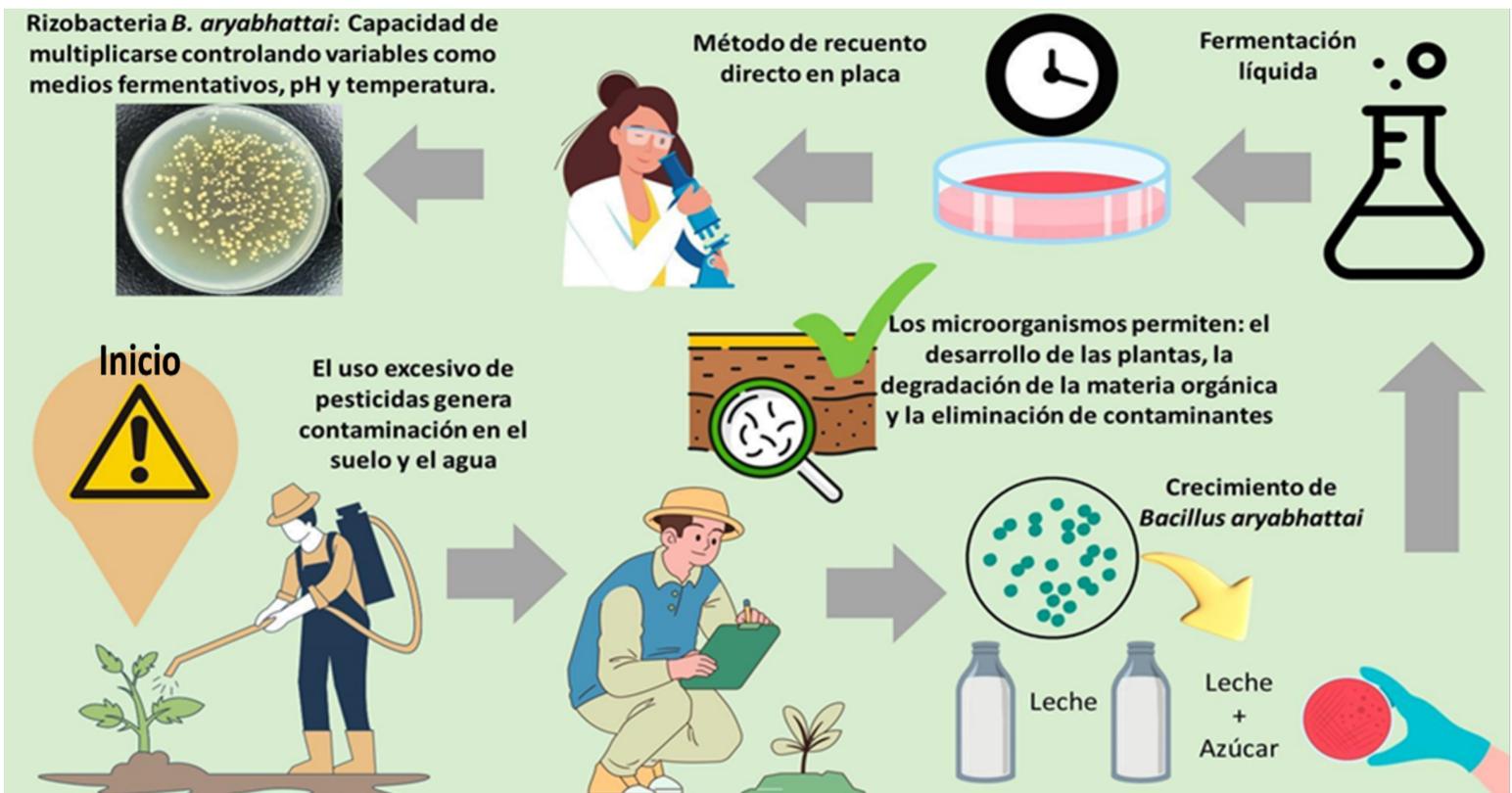


Figura 1. Importancia y alcance de este estudio.

de inversión, el alto consumo de agua y nutrientes, la generación de residuos es mayor en comparación con otros tipos de fermentación. En vista de ello, considerando que en Brasil una de las principales actividades económicas es la agricultura y que se ha encontrado *Bacillus aryabhattai* en el cactus mandacaru de la región de Caatinga, Brasil [4], se realizó una investigación exploratoria de la multiplicación de *Bacillus aryabhattai* por fermentación líquida en diferentes medios de cultivo (Figura 1), para encontrar un medio alternativo adecuado para esta rizobacteria; que permitirá plantear nuevos experimentos estudiando el efecto de otras variables y, posteriormente, hacer el análisis económico correspondiente.

### Metodología

Se utilizó *Bacillus aryabhattai* comercial Auras CMAA 1363, y se emplearon tres medios de fermentación, ricos en carbohidratos y lípidos, ya que los medios sintéticos en los que crecen adecuadamente las bacterias del género *Bacillus* contienen estos componentes. Los medios fueron:

- L.S (Leche con sacarosa). El medio de fermentación consistió en 25 g de leche instantánea en polvo, 3 g de sacarosa, 10 mL de la cepa bacteriana *Bacillus aryabhattai* diluida en 200 mL de agua desionizada.
- L (Leche). El medio de fermentación consistió en 25 g de leche instantánea en polvo, 10 mL de la cepa bacteriana *Bacillus aryabhattai* diluida en 200 mL de agua desionizada.
- M.2 (Medio sintético con nutrientes). El medio de fermentación estuvo compuesto por 1.5 g de sacarosa, 1.3 g de extracto de levadura, 0.1 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.025 g de MgSO<sub>4</sub>, 0.5 g de NaCl, 01 g de MnSO<sub>4</sub> y 10 mL de la cepa bacteriana *Bacillus aryabhattai* diluida en 200 mL de agua desionizada.

Las pruebas se realizaron a nivel laboratorio, en matraces Erlenmeyer de 250 mL, en los que se adicionaron 100 mL de medio, y que se mantuvieron en agitación utilizando a 150

rpm y a una temperatura de 30°C durante 120 h. A continuación, las muestras se diluyeron y se inocularon mediante la técnica de extensión superficial en agar, extendiendo 0.1 mL de cada dilución en placas de Petri. Las placas se incubaron a 30°C durante 24-120 h para obtener el número de colonias.

El crecimiento de *Bacillus aryabhattai* se determinó por el método de recuento directo en placa tras 24 h de fermentación y hasta que transcurrieron 120 h. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) [6]. Para el cálculo de la cantidad de UFC por 0.1 mL de la muestra original se usó la siguiente fórmula:  

$$\text{UFC por 0.1 mL} = (\text{Número de colonias}) \times (\text{dilución}) / 10 = x \text{ por 0.1 mL.}$$

El recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) es una medida importante en microbiología que cuantifica el número de células u organismos viables presentes en la muestra. Se utiliza para garantizar la calidad y seguridad de los productos, y así asegurar que los productos estén libres de patógenos o contaminantes nocivos para la salud, mediante el monitoreo de la multiplicación de microorganismos.

### Resultados

El estudio del crecimiento de la rizobacteria por fermentación líquida mostró resultados de recuentos bacterianos superiores al recuen-

Tabla 1. Recuento de germinación de esporas y multiplicación de células vegetativas en los tres medios empleados.

	L.S	L	M.2
Tiempo (h)	UFC/mL	UFC/mL	UFC/mL
24	7.50 x10 <sup>7</sup>	6.55 x10 <sup>8</sup>	4.00 x10 <sup>7</sup>
36	1.00 x10 <sup>8</sup>	1.45 x10 <sup>8</sup>	9.55 x10 <sup>8</sup>
48	1.25 x10 <sup>9</sup>	1.65 x10 <sup>8</sup>	8.95 x10 <sup>8</sup>
72	1.48 x10 <sup>9</sup>	1.72 x10 <sup>9</sup>	9.60 x10 <sup>8</sup>
96	1.45 x10 <sup>9</sup>	1.41 x10 <sup>9</sup>	7.05 x10 <sup>8</sup>
120	1.45 x10 <sup>9</sup>	1.92 x10 <sup>9</sup>	8.00 x10 <sup>8</sup>

to inicial, lo que indica la ocurrencia de germinación de las esporas y multiplicación de las células vegetativas dentro de las 120 h de fermentación.

La tabla 1 muestra los resultados del crecimiento de *Bacillus aryabhatai* en los medios de fermentación probados. La bacteria se adaptó a los medios con leche, y creció mejor, y más rápido, en los medios L y L.S en comparación con el medio M.2. El mejor resultado de la prueba con el L.S se alcanzó a las 72 h de fermentación y con el medio L la mayor concentración de células se obtuvo a las 120 h. Con el medio L, las células aumentaron constantemente hasta el final de la fermentación, lo que no sucedió con los otros medios, es notable que en este medio hubo una mejor multiplicación de *Bacillus* debido a su crecimiento constante durante todo el período de prueba. En la figura 2, se presenta como se veía una de las placas a las 72 h, cuando se usó el medio L.



Figura 2. Caja petri con colonias de la Rizobacteria grampositiva *Bacillus aryabhatai*, cultivadas en medio L a las 96 h de incubación.

Además de los nutrientes, las condiciones ambientales como el pH y la temperatura también afectan el crecimiento bacteriano. En este trabajo, no se determinó el efecto de tales condiciones, las cuales pudieron haber afectado los resultados.

## Conclusiones

Con los valores obtenidos a partir de 120 h de fermentación, los resultados son prometedores en los medios de cultivo de multiplicación y esporulación en un ambiente más viable económicamente para el agricultor, utilizando la técnica de fermentación líquida y conteo de colonias. En esta investigación se encontró que *Bacillus aryabhatai* es capaz de multiplicarse por fermentación líquida utilizando medios que contienen nutrientes como la sacarosa, en esta investigación fue el medio L el más favorable para el crecimiento de esta rizobacteria.

En este estudio preliminar se encontraron dos medios alternativos L y L.S para el cultivo de *Bacillus aryabhatai*, que además son más económicos que el medio sintético M.2. Sin embargo, se requieren hacer más pruebas considerando otras variables como el pH, la temperatura y la velocidad de agitación, que también afectan el crecimiento de las bacterias; y posteriormente, determinar si es económicamente viable usar esos medios. **iBIO**

## Agradecimiento

A Olga Berenice Benítez López por la revisión y edición de este artículo de divulgación.

## Referencias

- [1] Elarabi, N. I., Abdelhadi, A. A., Ahmed, R., Saleh, I., Arif, I. A., Osman, G., & Ahmed, D. S. (2020). *Bacillus aryabhatai* FACU: A promising bacterial strain capable of manipulate the glyphosate herbicide residues. *Saudi Journal of Biological*

Sciences, 27(9), 2207-2214. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.050>

[2] Kavamura, V. N., Santos, S. N., Silva, J. L., Parma, M. M., Avila, L. A. (2013). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological Research*, 168 (4), 183-191.

[3] Rezende, C. C., Silva, M., Frasca, L. L., Faria, D., de Filippi, M. C., Lanna, A. C. & Nascente, A. S. (2021). Microorganismos multifuncionais: utilização na agricultura. *Research, society and development*, 10 (2), e50810212725.

[4] Lima, E. (Abril, 2021). *Bactéria encontrada no mandacaru vira bioproduto que promove tolerância à seca*

em plantas. Disponible en: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/60941801/bacteria-encontrada-no-mandacaru-vira-bioproduto-que-promove-tolerancia-a-seca-em-plantas>. Consultado el 15 de febrero de 2023.

[5] Lima, F. A. (2017). *Produção de biossurfactantes por Bacillus amyloliquefaciens IT45*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017. <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2017.62>

[6] Watanuki, MM & Gallo, CR. (2008). Detecção de *Bacillus cereus* em leite e avaliação da germinação dos esporos após tratamento térmico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 67(3):202-207.

