

ENCAPSULACIÓN DEL PRODUCTO DIMARGÓN® EN PERLAS DE ALGINATO DE SODIO.

Yoania Ríos Rocafull¹, Yelenys Hernández Corvo², Vivian León Fernández², Daniel La O Machado¹, Tamara S. León Martínez², Marisel Ortega García¹, Janet Rodríguez Sánchez¹.

RESUMEN

La encapsulación de microorganismos ha arrojado buenos resultados a nivel mundial. Para bacterias promotoras del crecimiento vegetal existen pocos antecedentes. En este estudio se encapsuló en perlas de alginato de sodio el biofertilizante DIMARGÓN®, manteniéndose estables características morfológicas, fisiológicas y metabólicas del microorganismo que constituye su principio activo un mes después de conservar las cápsulas tanto en condiciones de refrigeración como a temperatura ambiente. El efecto estimulador del crecimiento de la nueva formulación sobre el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) resultó similar al del biofertilizante de origen, lo que demuestra la posibilidad de encapsular el producto con grandes perspectivas para el trabajo futuro con biofertilizantes y para la búsqueda de nuevas variantes estables de éstos a temperatura ambiente.

Palabras clave: formulaciones, biofertilizantes.

Dimargon encapsulation in sodium alginate pearls

ABSTRACT

Microorganism's encapsulation had been good results. They are a few researches for plant promoting bacteria. In this case was encapsulated in sodium alginate pearls the biofertiliser DIMARGÓN®. The active principle keeps its morphologic, physiologic and metabolic characteristic after encapsulation and store in freezer condition and ambient temperature by one month. The growth potential effect of the new formulation over tomato (*Solanum lycopersicum* L) was similar to a liquid variant. It was demonstrated that is possible to encapsulate the DIMARGÓN® with big perspective in biofertiliser future work and also for its stability over ambient temperature.

Key words: Formulation, biofertiliser.

¹INIFAT. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt "INIFAT", Cuba.dpagrobiotec@inifat.co.cu; ²ICIDCA. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, Cuba.

INTRODUCCIÓN

La microencapsulación se puede definir como una tecnología para el empaquetamiento de gotas líquidas, partículas sólidas o gaseosas, que se recubren con una película polimérica porosa (Parra, 2010). Su aplicación se ha incrementado debido a la protección que ofrecen estos materiales, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad bajo condiciones adversas como el calor y la humedad (Martín *et al.*, 2009). Uno de los materiales más empleados como agente encapsulante para la inmovilización de microorganismos es el alginato de sodio, un polímero natural biodegradable que ha probado su efectividad en el recubrimiento de diferentes microorganismos (De Jaeger *et al.*, 2011). En este trabajo se encapsuló el biofertilizante DIMARGÓN® empleando alginato de sodio como material de cubierta y se evaluó su comportamiento microbiológico y su efecto sobre el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las microcápsulas se obtuvieron por el método de gelificación iónica, utilizando alginato de sodio al 3 %, mezclado en una proporción 1:2 con el biofertilizante DIMARGÓN®. Se incorporó en el proceso el

CaCl₂·2H₂O. La estabilidad del principio activo del biofertilizante se determinó después de un mes de mantenida la capsula durante un mes a temperatura ambiente (28-30° C) y en refrigeración (4-6° C), a partir de cuantificar la concentración de la bacteria mediante el conteo de viables (UFC.mL⁻¹) sobre el medio Asbhy (citado por Martínez *et al.*, (2006). El enjuague de la cápsula se realizó con agua destilada estéril. Para la liberación del microorganismo una vez encapsulado se utilizó un buffer fosfato (4.92 g de K₂HPO₄ y 3.168 g de KH₂PO₄ en 300 mL de agua destilada). Además, se evaluó su respuesta ante la Tinción de Gram, la morfología de la colonia, la presencia de las enzimas catalasa y citocromo oxidasa, la degradación de proteínas (almidón y gelatina) y su capacidad de fijación biológica de nitrógeno a partir del crecimiento en medio Asbhy semisólido carente de este elemento. Por último se determinó el efecto estimulador de la nueva formulación en condiciones controladas (casa de cristal) empleando tomate (cultivar INIFAT-28), como cultivo indicador. Las cápsulas de alginato se inocularon a una dosis de una cápsula en un litro de agua común, aplicando 25 mL de la suspensión por bandeja. Los resultados se procesaron estadísticamente según ANOVA. Las

medias se compararon mediante la prueba de Duncan al 5% de significación, con el empleo del programa STATGRAPH versión 5.0, previa comprobación de la normalidad de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se pudo constatar la presencia de la bacteria en el interior de la cápsula a una concentración de $3,22 \times 10^{12}$ UFC.mL⁻¹, para la cápsula embebida en el producto y de $4,25 \times 10^{11}$ UFC.mL⁻¹ para la cápsula enjuagada en agua destilada estéril. Destaca la eficiencia del proceso de encapsulación, pues el producto original (DIMARGÓN®) tenía una concentración de $1,3 \times 10^{12}$ UFC.mL⁻¹. Los resultados demostraron además, que la encapsulación del biofertilizante tiene grandes perspectivas para su almacenamiento a temperatura ambiente, pues al mes la concentración del microorganismo se encontraba aun en el orden de las 10^{12} UFC.mL⁻¹, al igual que para el material que se encontraba bajo condiciones de refrigeración.

Las características morfológicas de la bacteria que constituye el principio activo del biofertilizante se mantuvieron estables después de un mes de encapsulación, al presentarse como un bacilo corto Gram negativo, con una colonia de forma circular, bordes enteros, elevación convexa, color traslúcido y consistencia gomosa, la que se

corresponde con la descripción realizada para el microorganismo por Ríos *et al.* (2011). Se destaca la formación de quistes que garantizan la reproducción de la bacteria. Estos constituyen estructuras de resistencia que favorecen el comportamiento del microorganismo ante condiciones adversas.

El resto de las características determinadas (presencia de capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, presencia de la enzima catalasa, ausencia de la enzima citocromo c oxidasa, no degradación de gelatina pero si almidón) coinciden con las referencias de Ríos *et al.* (2011), quienes realizaron la caracterización de la cepa en estudio. Particularmente, la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico constituye un atributo del género *Azotobacter* (Brenner *et al.*, 2004), de gran importancia para su empleo como biofertilizante, de ahí la conveniencia de su selección como carácter indicador.

La nueva formulación del DIMARGÓN® presenta actividad estimuladora del crecimiento, la que inclusive es mayor que de la del producto original (Tabla 1).

El efecto estimulador del crecimiento del producto DIMARGON® ha sido evaluado sobre diferentes cultivos (Martínez y Dibut, 2012). Que la nueva variante potencie el mismo, constituye sin dudas un resultado alentador y podría estar relacionada con la liberación lenta del microorganismo en el

suelo y probablemente, a la puesta a disposición de forma gradual para la planta, de las diferentes sustancias metabólicas liberadas por el microorganismo.

Tabla 1. Estimulación del crecimiento de posturas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) por parte de los productos encapsulados.

Variante	Altura de la planta (cm)	Largo del tallo (cm)	Número de hojas	Peso fresco (g)
Encapsulado frío	15.19 a	7.26 a	3.4 a	1.09 a
Encapsulado temperatura ambiente	11.31 b	6.16 b	2.81 b	0.74 b
DIMARGÓN®	9.28 c	5.13 c	2.7 b	0.78 b
TESTIGO	6.28 d	3.59 d	1.25 c	0.35 c
Esx	0.5250	0.2105	0.1039	0.071
CV (%)	30.33	25.47	28.94	13.88
Media	11.63	6.053	2.756	0.786
Desv	3.5179	1.5419	0.7976	0.377

Nota: media con valores distintos difieren significativamente según ANOVA con un $\alpha=0.05$.

De esta forma se demuestra que es posible encapsular el producto DIMARGÓN sin afectar las propiedades microbiológicas y metabólicas de su principio activo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brenner, D., J. Krieg y J. Staley. (2004). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2do. Edition. Vol. Two

De Jaeger, N.; de la Providencia, I.E.; Rouhier, H.; Declerck, S. (2011). Co-entrapment of *Trichoderma harzianum* and *Glomus* sp. within alginate beads: impact on the arbuscular mycorrhizal fungi life cycle. *Journal of Applied Microbiology* 111, 125–135; 2011.

Martín, M.J., Morales, M.E., Gallardo, V y Ruiz, M.A. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars. Pharm.* 50 (1): 43-50.

Martínez, R y B. Dibut. (2012). *Biofertilizantes Bacterianos*. Editorial Científico-Técnica. 279 pp.

Parra, R. (2010). Microencapsulación de Alimentos. *Rev Fac Nal Agr Medellín*. 63 (2): 5669-5684.

Ríos, Y., M. Ortega, M. Rojas., D. Lugo., L. Fey, K. Cañizares y B. Dibut. (2011). Caracterización de cepas bacterianas con potencial para la elaboración de biofertilizantes. *Agrotecnia de Cuba*. 35 (2): 66-76.