



2019-2020



Quarks

Revista de divulgación científica del
Centro de Automatización Industrial

ISSN 2744-9645

SENNOVA

Sistema de Investigación,
Desarrollo Tecnológico e Innovación



Centro de
Automatización Industrial



Revista de divulgación científica del
Centro de Automatización Industrial

Título:
**INICIACIÓN A LA ESCRITURA
CIENTIFICA REFLEXIVA COMO
RESULTADO DE PROCESOS FORMATIVOS**

Volumen: 2

ISBN: 978-958-15-0362-9

Periodicidad: Biental

Editorial:

SENA

Centro de Automatización Industrial

SENNOVA

Dirección: Kilómetro 10 vía al magdalena

Teléfono: (6) 8748444 Ext 62401- 62009

Ciudad: Manizales, Caldas

Fecha: Marzo 30 de 2020

SENNOVA

Sistema de Investigación,
Desarrollo Tecnológico e Innovación

Título:

**INICIACIÓN A LA ESCRITURA
CIENTIFICA REFLEXIVA COMO
RESULTADO DE PROCESOS FORMATIVOS**

Volumen: 2

Néstor Eduardo Sánchez Ospina

Editor

nesanchezo@sena.edu.co

Carlos Alejandro Ramírez Gómez

Editor

alamirezgo@sena.edu.co

Christian Zetty Arenas

compilador

crizetty@sena.edu.co

CUERPO DIRECTIVO

Carlos Mario Estrada

Director General SENA

Farid De Jesus Figueroa Torres

Director de Formación profesional SENA

Jaime Trejos Londoño

Director Regional Caldas SENA

Luis Alejandro Trejos Ruiz

Subdirector

Centro de Automatización Industrial, Sena
Regional Caldas

**GRUPO DE INVESTIGACIÓN EAYER,
Electrónica, automatización y energías
renovables.**

**Centro de Automatización Industrial
SENA Regional Caldas**

Comité Científico

Mg. Néstor Eduardo Sánchez Ospina

Mg. Carlos Alejandro Ramírez Gómez

Mg. Diana Carolina Vargas Giraldo

DI. Christian Zetty Arenas

Índice

1. Extracción de almidón por método seco y húmedo de papa.
2. Robot desminado humanitario AUTOMIN -1
3. Selección de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en plantas de café variedad castillo naranjal.
4. Establecimiento de un cultivo de hongos comestibles del género pleurotus en Tecnoacademia Manizales.
5. Diseño y fabricación de una máquina Router CNC.
6. La tecnología al servicio de la gestión jurídica.
7. ITIL como herramienta de gestión para la mitigación del riesgo tecnológico.
8. Conociendo las bases de la programación orientada a objetos, en el contexto formativo a través de la construcción de videojuegos educativos con la participación de estudiantes de sexto a noveno grado de colegios de la ciudad de Manizales.



Centro de
Automatización Industrial



Revista de divulgación científica del
Centro de Automatización Industrial

1

Extracción de almidón por método seco y húmedo de papa.

SENNOVA

Sistema de Investigación,
Desarrollo Tecnológico e Innovación



Extracción de almidón por método seco y húmedo de papa

Daniel Alberto Franco Pineda*, Diana Carolina Gálvez Coy, Jhojan Estefan Buitrago Páez,
Eliana Valentina Dávila Vallejo
Grupo de investigación EAYER, Centro de Automatización Industrial,
Tecnoacademia SENA Regional Caldas

Abstract

The potato is one of the most important foods for humanity, in Colombia there are about 250 varieties of which only 7 are consumed, apart from being a food for daily consumption, it is a source of starch. This study aims to evaluate two methods of starch extraction from potatoes. The remaining residues of the potato crops will be taken, as well as all those potatoes that are not sold in supply plants and are specific as waste. The potatoes were peeled and chopped, one part was dried and then ground to flour, while the other part was taken to a 1:1 suspension in deionized water and liquefied to obtain the starch by decanting the juice, this It was taken to an oven to have the starch in dry form. The products were screened to remove impurities and micrographs were done under an SEM microscope, to observe the shape and particle size.

Keywords— Starch, potato, agricultural waste, wet method, dry method.

Resumen

La papa es uno de los alimentos más importantes para la humanidad, en Colombia existen alrededor de 250 variedades de las cuales solo 7 son consumidas, esta aparte de ser un alimento de consumo diario, es una fuente de almidón. Este estudio pretende evaluar dos métodos de extracción de almidón a partir de papa. Se tomarán los residuos que quedan de las cosechas de papa, así como todos aquellos tubérculos que no sean vendidos en centrales de abasto y sean considerados como residuos. A las papas se les quito la cascara y se trocean, una parte fue secada y posteriormente molida hasta harina, mientras que la otra parte fue llevada a suspensión 1:1 en agua desionizada licuada para obtener el almidón por decantación del jugo resultante, este fue llevado a un horno para tener el almidón en forma seca. Los productos fueron tamizados para eliminar impurezas y se les hizo micrografías

*Grupo de investigación EAYER, Tecnoacademia, Centro de Automatización Industrial, Sena Regional Caldas. Correo: dfrancop@sena.edu.co

en un microscopio SEM, para observar la forma y el tamaño de partícula.

Palabras clave— Almidón, papa, residuos agrícolas, método húmedo, método seco.

Introducción

El almidón es ampliamente utilizado en la industria alimentaria, farmacéutica, química y textil, por sus diversas funciones como gelificación, estabilización y espesamiento, además, es un recurso abundante, renovable y biodegradable [1]. Se puede obtener de las raíces y tubérculos de diversas plantas, ya que es su principal componente. Dependiendo de la fuente de obtención los gránulos de almidón pueden tener diferentes formas y tamaños. Para aplicaciones industriales alimentarias el almidón de papa ha sido de gran relevancia debido a su alta pureza en comparación con los obtenidos de otras fuentes y su alto contenido de fosfatos. Los métodos más comunes para la obtención de almidón de papa consisten en una extracción en seco y otro método de extracción en húmedo. Por estos motivos el principal objetivo del trabajo fue extraer almidón de papa comparando el método húmedo y seco, para ambos métodos se usaron papas que no fueron vendidas en centrales de abasto o que, por sus condiciones, ya sean tamaño o condición física, fueron tomadas como residuos de las cosechas.

Metodología

Las papas fueron lavadas con agua, y luego se les removió la cáscara con un cuchillo de cocina, en este punto fueron pesadas y se dividieron en dos partes iguales, para obtener almidón por los dos métodos evaluados.

Método Seco: La materia prima fue lavada con agua desionizada para eliminar impurezas presentes y se procedió con el troceado en rebanadas circulares, dejando un espesor de más o menos 3mm. Posteriormente se pasa a un horno de convección forzada marca Binder y se programó una temperatura de 40°C, la papa se dejó en calentamiento 16 horas para retirar la humedad. Una vez pasado este tiempo, se trituró en un molino de cuchillas hasta harina. Este polvo fino se hace pasar por una serie de mallas para retirar impurezas y se almacena en bolsas de polietileno [2].

Método Húmedo: La otra mitad de las papas se lavan con agua desionizada, posteriormente se cortan en pedazos de más o menos 2cm de lado. Estos trozos pequeños se llevan a un proceso de trituración con agua desionizada en relación 1:1 en una licuadora, la mezcla resultante se hace pasar por una muselina, el jugo se recoge en un Beaker. La masa retenida en la muselina es pesada nuevamente y llevada a la licuadora con agua desionizada en una relación 1:1, y filtrada de nuevo; este proceso se repite tres veces; en cada paso el jugo es recolectado en un Beaker y se deja que el almidón se decante durante 14 horas, pasado este tiempo se elimina el sobrenadante, y el precipitado es puesto en charolas de plástico de 25x35cm en un horno de convección forzada a 40°C durante 12 horas. Obtenido el almidón seco este se tritura en un mortero para obtener un polvo fino que es tamizado para eliminar impurezas y almacenado en bolsas de polietileno [3].

Discusión y análisis de resultados

Se emplearon 6000 kilos de papa sin cáscara que fueron separadas en dos partes, para ser procesadas por los diferentes métodos; por el método húmedo se obtuvieron 268,8gr de almidón seco y tamizado; mientras que por el método seco se obtuvieron 322,5gr de almidón seco y tamizado, lo que da un rendimiento en la obtención de 8,96% y 10,75% respectivamente, como referencia se tiene que la papa contiene entre un 18% a 23% de almidón, por lo cual por ambos métodos se obtuvo entre el 44% y el 53% del almidón presente.

El método seco da un mayor porcentaje en cuanto a la recuperación de almidón, pero este porcentaje puede ser engañoso, ya que al pulverizarse todo el producto deshidratado también hay presentes otros elementos que constituyen los componentes de la papa, tales como minerales, grasas y cenizas.



Figura 1: Aprendices del semillero de Nanotecnología de la Tecnoacademia Manizales, cortando las papas seleccionadas

Las imágenes 4 y 5 muestran las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido del almidón obtenido por el método húmedo y seco respectivamente; como se puede observar en la imagen 5 se ve que los granos de almidón forman aglomeraciones y presentan una morfología más cambiante, que va desde partículas esféricas a ovaladas y amorfas;



Figura 2: Bandejas con almidón decantado en el método húmedo



Figura 3: Bandeja con papa en rebanadas para obtención de almidón por método seco

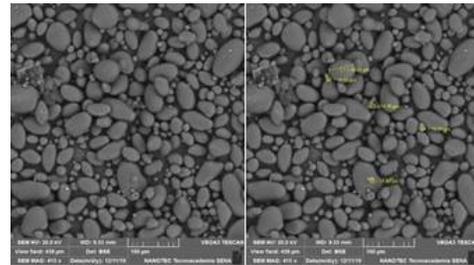


Figura 4: Almidón obtenido por método húmedo

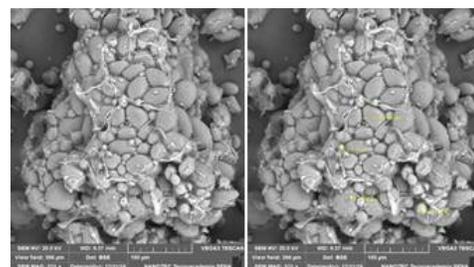


Figura 5: Almidón obtenido por método seco

mientras que en la imagen 4, el almidón no forma ninguna aglomeración y hay más uniformidad en la distribución del tamaño de partículas.



Conclusiones

Ambos métodos dan porcentajes de recuperación de almidón similares, pero el producto final es diferente cuanto al color y la forma como se distribuyen los granos. Los porcentajes no llegan a ser superiores debido a las pérdidas que se tienen en las diferentes etapas del proceso tales como la trituración, procesos de decantación y tamizaje.

Referencias

- [1] Mahyinur Yusuph, Richard F Tester, Ray Ansell, and Colin E Snape. Composition and properties of starches extracted from tubers of different potato varieties grown under the same environmental conditions. *Food Chemistry*, 82(2):283–289, 2003.
- [2] M Cobana and R Antezana. Proceso de extracción de almidón de yuca por vía seca. *Revista Boliviana de Química*, 24(1):78–84, 2007.
- [3] Daniela Elizabeth Melian Subiabre. Ensayo comparativo de dos metodologías de extracción de almidón de papa usando muestras de diez variedades nativas de chiloé y dos variedades comerciales. 2010.



Centro de
Automatización Industrial



Revista de divulgación científica del
Centro de Automatización Industrial

2

Robot desminado Humanitario AUTOMIN -1

SENNOVA

Sistema de Investigación,
Desarrollo Tecnológico e Innovación



ROBOT DESMINADO HUMANITARIO AUTOMIN -1

John Alexander Ortiz Torres *, Alexander Londoño Preciado, Carlos A Chica,
Sebastián Castaño, Brayán Álvarez, Sergio Díaz
Grupo de investigación EAYER, Centro de Automatización Industrial,
SENA Regional Caldas

Abstract

The indiscriminate use of anti-personnel mines in Colombia has been a regular activity of outlaw armed groups for several decades, causing the death and dismemberment of soldiers, children and women. The eradication of anti-personnel mines is a process that, in addition to being costly, is complex because of the difficulty of accessing specialized equipment to mined land, anti-personnel mines are land-type and are designed to kill or incapacitate their Victims. Some mines have inside them toe, balinese, pieces of can and glass, combined with excrement, with acid or poisons to infect or poison people. The CAD PLM, CAD CAM, CNC, electronic, and radio control technologies present at the Industrial Automation Center of the Regional Caldas, become an appropriate means for the construction of a demining robot, compact size, disassembled in several parts and operated by radio control that provides better performance in hard-to-reach terrain, thus reaching farther for easy transport of troops, value-added that do not have the current robust equipment used by the armed forces to this purpose, thus providing better security to personnel in charge in the eradication of anti-personnel mines in Colombia.

Keywords— Demined, robot, Desing, locomotion, spider, load, artifact

Resumen

El uso indiscriminado de minas anti persona en Colombia ha sido una actividad habitual de los grupos armados fuera de la ley durante varias décadas, causando la muerte y desmembramiento de soldados, niños y mujeres. La erradicación de las minas antipersona es un proceso que además de costoso, es complejo por la dificultad que representa el acceso de equipos especializados a terrenos minados, las minas antiper-

sonas son de tipo terrestre y están diseñadas para matar o incapacitar a sus víctimas. Algunas minas tienen en su interior puntillas, balines, pedazos de lata y vidrios, combinados con excremento, con ácido o venenos para infectar o envenenar a las personas. Las tecnologías CAD PLM, CAD CAM, CNC, electrónica, y radio control presentes en el Centro de Automatización Industrial de la Regional Caldas, se convierten en un medio apropiado para la construcción de un robot de desminado, de tamaño compacto, desarmable en varias partes y operado por radio control que proporciona un mejor desempeño en terrenos de difícil acceso, llegando así a lugares más alejados para fácil transporte de las tropas, valor agregado que no tienen los robustos equipos actuales utilizados por las fuerzas armadas para este propósito, brindando así una mejor seguridad al personal encargado en la erradicación de minas antipersonas en Colombia.

Palabras clave— Desminado, robot, diseño, locomoción, araña, carga, artefacto

Introducción

En la construcción del robot de desminado humanitario AUTOMIN-1 en su parte investigativa se evaluó y desarrollo varios prototipos, la topografía colombiana y el clima, hace que este cuente con varias condiciones específicas en su uso y que cumpla su propósito, en el desarrollo se realizaron diferentes tipos de mecanismos, en tracción, dirección, torque, velocidad, radio control y video. Se utilizaron herramientas digitales, la parte de diseño se ejecutó con software SolidWorks y se aplicó PLM y PDM, con software MasterCam mecanizado, programación y rutas de trabajo, el mecanizado de las piezas en los centros mecanizado fresa y torno CNC, en radio control se realizaron mezclas que no son originales de este, en el Body se aplicaron técnicas de diseño, las ruedas diseñadas y mecanizadas en el ambiente de CAD CAM son producto de varias pruebas, la parte de electrónica ensambla un dispositivo para la detonación a control remoto de carga hueca cumpliendo con el protocolo de desminado.

Objetivos del proyecto:

- Disminuir una problemática de carácter social y económico con la cual día a día se ven afectadas más personas en Colombia, desactivar una mina antipersonal y adqui-

*Grupo de investigación EAYER, Centro de Automatización Industrial, Sena Regional Caldas. Correo:johnalex0311@misena.edu.co

rir una prótesis tienen un gran costo.

- Hallar una mina que sea potencialmente causante de daño y detonarla de forma efectiva y segura, sin arriesgar la vida de un ser humano.
- Aporte al bienestar social y económico protegiendo el medio ambiente de diversas regiones principalmente en zonas rurales para el trabajo agrícola y la exploración del campo.
- Diseñar y fabricar un Robot para el desminado humanitario en zonas con campos afectados por minas antipersona.
- Dimensionar el sistema de locomoción mediante prototipo virtual que caracterice las variables mecánicas.
- Implementar banco de pruebas que permita validar el sistema de energía alternativo, locomoción y funcionamiento del prototipo a escala.
- Fabricar e integrar los componentes del robot cumpliendo especificaciones técnicas del diseño.

El Automin-1 se encargaría de implosionar el artefacto, lo que minimizaría el riesgo de pérdidas humanas o lesiones. Después de la demarcación el robot se dirige a la zona guiado con la cámara, se ubica al frente de la mina y allí suelta la araña (contiene una carga hueca dirigida con indugel) al frente del artefacto explosivo. Tras alejarse entre los 80 o 100 metros, el operador del Automin-1 detona el dispositivo que tiene la araña y explota la carga que lleva, esta implosión la mina. El proceso se realiza con un control que envía la señal al chip que tiene la araña.

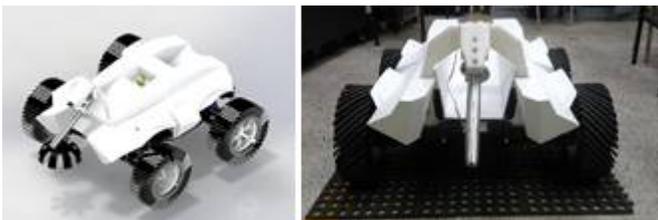


Figura 1: Robot Automin - 1

Metodología

- Administración PLM (Gestión del Ciclo de Vida del Producto)
- Desarrollo CAE (Elaboración Virtual de Prototipos SolidWorks).
- Desarrollo CAD/CAM (Diseño y Fabricación asistida por Computadora).
- Administración documental PDM (Gestión de datos del Producto)

Fase 1: Análisis de información estado del arte y recolección de datos

Se cree que en 1970 aparecieron las minas antipersonal en Colombia. Mientras el Ejército protegía con ellas los batallones y las líneas de comunicación, el Eln y las Farc descubrieron que eran ideales para cuidar cultivos ilícitos y detener la ofensiva del Ejército. Hasta los paramilitares recurrieron a ellas. Por décadas fueron el arma perfecta: evitaban la confrontación directa entre los actores armados. Pero a mediados de los años noventa el mundo tomó conciencia del daño indiscriminado que ocasionaban a los civiles y las prohibió a través del Tratado de Ottawa, firmado el 3 de diciembre de 1997. En Colombia el Ejército retiró las que tenía instaladas, nunca las volvió a usar y desde entonces lucha por erradicarlas. Sin embargo, la guerrilla y los paramilitares aprendieron a hacerlas cada vez más baratas, dañinas y difíciles de detectar.



Figura 2: Foto Ana Vallejo – El Enemigo Oculto

Fase 2: Diseño y evaluación de alternativas.

Prototipo basado en un vehículo todo terreno por gusano o tornillo. Fordson, vehículo para la nieve de 1926 de propulsión a tornillo fue desarrollado por la Armstead.

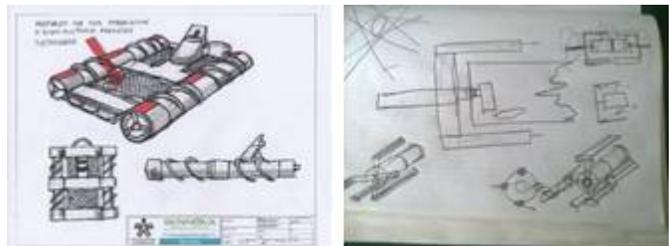


Figura 3: Bocetos Tornillos o Hélice o Gusano

Fase 3: Fabricación de prototipo.

En 1907, James y Peavey Ira, fueron literalmente obligados a crear un tornillo para ayudar a torpes máquinas en Maine. La máquina resultó muy útil, ya que el tornillo de propulsión podía mover todo lo que quería mover a través de la nieve y el barro y todo tipo de condiciones desagradables. Tampoco había que preocuparse por quedar atrapados en las pistas, (lo que pasa con una oruga) y ya que había muchas menos

piezas móviles que eran más fáciles de mantener. Aquí hay una versión 1929 de un tractor de tracción de tornillo -(Ford son concepto de la máquina de nieve).



Figura 4: Prototipo de Tornillos o Hélice o Gusano

Fase 4: Diseño y Desarrollo de sistema de control.

El Automin-1 se encargaría de implosionar el artefacto, lo que minimizaría el riesgo de pérdidas humanas o lesiones. Después de la demarcación el robot se dirige a la zona guiado con la cámara, se ubica al frente de la mina y allí suelta la araña (contiene una carga hueca dirigida con indulgel) al frente del artefacto explosivo. Tras alejarse entre los 80 o 100 metros, el operador del Automin-1 detona el dispositivo que tiene la araña y explota la carga que lleva, esta implosión la mina. El proceso se realiza con un control que envía la señal al chip que tiene la araña.



Figura 5: Prototipo Ruedas de Hélice – Prototipo Araña

Fase 5: Integración de sistemas.

Las tecnologías CAD CAM , CNC, electrónica, y radio control se convierten en un medio apropiado para la construcción de robots de desminado humanitario que cumplan con una

función específica y que tenga un muy buen desempeño en la topografía difícil de nuestro país.

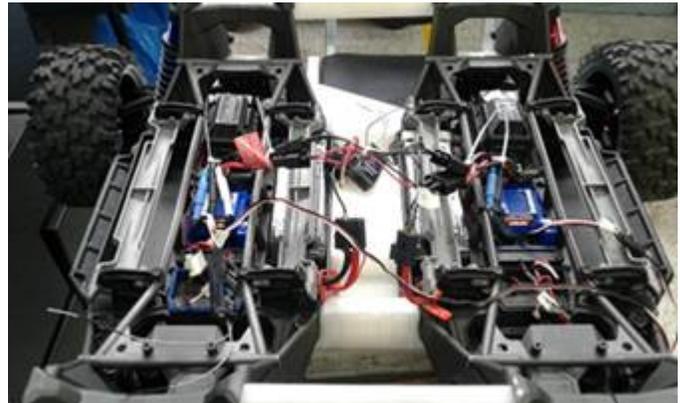


Figura 6: Prototipo Automin -1, sistema eléctrico y electrónico.

Fase 6: Pruebas, validación y ajustes.

Radio control: banda 2.4GHz-1.5km - 2 stick, 10 canales
Dimensiones: longitud 914mm-Ancho 790mm- Altura 510mm
Peso Aprox: 30kg. Velocidad promedio en terreno plano: 38km/h Autonomía: 1:5 Horas Sistema de alimentación: 4 Baterías lipo pack multistar de alta capacidad 6700mAh Sistema de ubicación: Cámara HD FPV, alcance (300 m a 1000 m)



Figura 7: Prototipo Automin-1, sistema Cámara HD FPV y Radio Control.

Discusión y análisis de resultados

Modelo tridimensional con planos de fabricación en software de diseño asistido por computador (CAD) SolidWorks, en donde se identifican plenamente cantidad de componentes, características y materiales con sus dimensiones. Recolección y análisis de datos que permitan mejorar y validar las funciones del prototipo a escala. Sistema de pinza con servos accionados desde el radio control para AUTOMIN-1. Modelado de body software SolidWorks. Modelado de body en material de POLIESTIRENO. El uso y articulación de las tecnologías involucradas en la fabricación del robot de desminado



humanitario, las cuales aportarán su conocimiento específico en la implementación de cada una de las funciones lógicas y mecánicas del robot que se verán reflejadas en un prototipo funcional y pertinente en la solución de un problema social.

Conclusiones

Con la construcción de este robot se logrará la disminución del tiempo y costos de erradicación manual de minas antipersona en zonas de difícil acceso, al igual que podrá dar empleabilidad a personas que se reincorporan a la vida civil. En cuanto al diseño y manufactura, se construyó con materiales confiables, reciclables como acetal, caucho, ABS, aluminio, sus repuestos son comerciales y estandarizados, ayudando así con el medio ambiente. Su bajo peso le permite ser cargado por un militar en su espalda como si fuera un morral militar de campaña. En la parte superior del robot se encuentra una argolla cerrada en acero, que se utilizara para ser cargado por un gancho desde un helicóptero y ser transportado a terrenos de difícil acceso, de igual manera para extraerlo y llevarlo a una nueva ubicación o mantenimiento. Su manejo desde el radio control es muy sencillo, un stick principal para dirección, avance y retroceso, el otro para la pinza de la carga hueca, los canales de control A,B,C,D,E para aceleración, velocidad, cámara. Gafas y cámara HD FPV con un alcance de 1 km. El Body del robot diseñado en su geometría para evitar señales de radar.

Referencias

- [1] Oficina del Alto Comisionado para la Paz - Descontamina Colombia.
- [2] *Landmine Monitor 2015*. 2015.
- [3] Minas, el enemigo oculto.



3

Selección de **microorganismos**
promotores de **crecimiento vegetal**
en plantas de café variedad **castillo**
naranjal.



Selección de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en plantas de café variedad castillo naranjal

Cristian Alonso Rodríguez González *, Juan Diego Silva Arboleda,
Adrián David Betancur Aristizabal,
Grupo de investigación EAYER, Centro de Automatización Industrial,
Tecnacademia SENA Regional Caldas

Abstract

Plant growth promoting microorganisms are called those that are capable of stimulating the development of plants by at least three mechanisms that are well described in the scientific literature, which are: the production of phytohormones, the solubilization of phosphates and the fixation of nitrogen, in this work 36 microorganisms were isolated, which were obtained from the roots of coffee plants of the Castillo Naranjal variety, the microorganisms were evaluated to determine their potential as plant growth promoters, for this the Indole-Acetic Acid (AIA) phytohormone production was quantified, the ability of microorganisms to solubilize phosphates and nitrogen fixation, of the initially isolated microorganisms, three of them showed potential as plant growth promoters, the *Gluconacetobacter diazotrophicus* strain was among all, the best producer of AIA and the only nitrogen fixer, the *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas protogens* strains the only phosphate solubilizers, These microorganisms have a high potential to be used in the formulation of bio-inputs that allow strengthening the productive process of the coffee sector, as they can generate a beneficial impact both environmentally and economically in the coffee growing of the region.

Keywords— Coffee growing, bacteria, fertilizers, bio-inputs

Resumen

Se denominan microorganismos promotores de crecimiento vegetal a aquellos que son capaces de estimular el desarrollo de las plantas mediante al menos tres mecanismos que se encuentran bien descritos en la literatura científica, que son: la producción de fitohormonas, la solubilización de fosfatos y la

fijación de nitrógeno, en este trabajo se aislaron 36 microorganismos, los cuales fueron obtenidos de las raíces de plantas de café de la variedad Castillo Naranjal, los microorganismos fueron evaluados para determinar su potencial como promotores de crecimiento vegetal, para ello, se cuantificó la producción de la fitohormona Acido Indol-Acético (AIA), la capacidad de los microorganismos para solubilizar fosfatos y la fijación de nitrógeno, de los microorganismos aislados inicialmente, tres de ellos mostraron potencial como promotores de crecimiento vegetal, la cepa *Gluconacetobacter diazotrophicus* fue entre todas, la mejor productora de AIA y la única fijadora de nitrógeno, las cepas *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas protogens* las únicas solubilizadoras de fosfatos, estos microorganismos poseen un alto potencial para ser empleados en la formulación de bioinsumos que permitan fortalecer el proceso productivo del sector cafetero, pues pueden generar un impacto beneficioso tanto ambiental como económico en la caficultura de la región.

Palabras clave— Caficultura, bacterias, fertilizantes, bioinsumos

Introducción

El café es actualmente uno de los productos de mayor importancia en la economía colombiana, y uno de los más competitivos en la economía internacional, lo cual lo constituye en un sector de influencia indiscutible en el desarrollo económico del país [1].

Sin embargo el sector caficultor enfrenta diversos problemas que afectan su sustentabilidad, la variabilidad económica ha hecho por ejemplo que no sea estable, fundamentalmente por los precios internacionales, la problemática económica que afecta el mercado nacional (distribución, el consumo, precios) y otros aspectos muy importantes como el comportamiento climático sin duda hacen que la caficultura sea aún más impredecible en el tiempo.

Sumado a esto la baja producción provocada por una paulatina reducción de las áreas cultivadas, de tal manera que en el departamento de Caldas se pasó de tener 88,820 hectáreas cultivadas en 2002 a 66,020 hectáreas en 2018 [2], lo cual provoca la pérdida de empleos directos e indirectos y de empleos

*Grupo de investigación EAYER, Tecnacademia, Centro de Automatización Industrial, Sena Regional Caldas. Correo: carodriguezgo@sena.edu.co



formales o informales.

Los problemas en la rentabilidad del cultivo del café se ven además afectadas por aspectos como costo de la mano de obra y el consumo de agroquímicos, en lo cual el cultivo de café es bastante exigente, en especial de fertilizantes nitrogenados, los cuales tienen un impacto negativo en los agro ecosistemas, pues están asociados a la lixiviación de nitratos, emisiones gaseosas y a la contaminación de los recursos hídricos [3].

Otros aspectos como los cuidados y requerimientos del cultivo también influyen en el éxito en el cultivo de café, el cual está determinado en gran medida por la calidad de las plantas proveniente de los viveros, de tal forma que se busca obtener plantas capaces de resistir condiciones de estrés en el momento del trasplante en campo, pues las nuevas condiciones a las que se enfrenta pueden percibirse como adversas, por lo que el desarrollo de la planta como su supervivencia quedan bajo riesgo, por lo cual se requiere que tanto las raíces de las plantas como su parte aérea estén bien desarrolladas para mejorar la probabilidad del éxito del cultivo [4].

Diversas especies bacterianas que habitan principalmente la rizósfera de las plantas, han mostrado capacidad para estimular su desarrollo, dichas bacterias son conocidas como promotoras de crecimiento vegetal (PGPR del inglés *plant growth promoting rhizobacteria*), estos microorganismos han permitido aumentar la supervivencia de las plantas de diversos tipos de cultivos provenientes del vivero después del trasplante, dado que permiten un mejor desarrollo de las raíces, y por ende una mejor captación de los nutrientes del suelo, en general los PGPR permiten incrementar significativamente la biomasa de la planta antes de ser trasplantadas [5].

Microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyli-loliquefaciens*; *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas spp*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Rhizobium Leguminosarum*, *Paenobacillus polymixa*, *Glomus* intraradiciales entre otros, han sido descritos ampliamente en la literatura como PGPR [6], estos microorganismos pueden poseer mecanismos directos o indirectos de acción para estimular el desarrollo de las plantas.

Las acciones directas se dan por la producción de fitohormonas, como el ácido indolacético (AIA), ácido giberélico (GA), y ácido abscísico (ABA), estas hormonas estimulan el desarrollo de las raíces, los tallos y la producción de un mayor número de hojas en la planta, los mecanismos directos también están relacionados con la solubilización de fosfatos y la fijación biológica de nitrógeno. Los mecanismos indirectos se basan en la modificación del ambiente rizosférico o en la protección de la planta frente a fitopatógenos, esto se logra mediante la producción de sustancias como quitinasas, cianidas, antibióticos, sideróforos y glucanasas por parte de las PGPR frente a bacterias, insectos o cualquier otro organismo que pueda afectar el desarrollo del cultivo [7, 8].

Poco se conoce sobre PGPR asociados a café y su potencial para estimular el desarrollo de este cultivo, ya sea mediante mecanismos directos o indirectos [9], con tales consideraciones el objetivo de este trabajo fue seleccionar microorganismos rizosféricos presentes en café Variedad Castillo Naranjal, con

potencialidades como promotores de crecimiento vegetal que puedan ser considerado posteriormente para la elaboración de bioinsumos.

Metodología

Para el aislamiento de los microorganismos se tomaron 10 muestras de raíces de plantas de un cultivo de café, Las raíces se lavaron con agua destilada estéril hasta eliminar el suelo remanente, posteriormente, se cortaron en secciones de 2cm y se adiciono 1 gramo de cada muestra de raíz a 9ml de agua peptonada para obtener una dilución de 10^{-1} , a partir de esta solución se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-3} , la siembra de cada una de las diluciones se realizó por el método de siembra en superficie en los medios de cultivo NFB, Cetrimide y Agar nutritivo, posteriormente las muestras fueron incubadas por 7 días a 28°C, al finalizar este periodo se aislaron las colonias bacterianas puras y se criopreservaron a -80°C en caldo Tripticasa de soya con glicerol al 10% hasta su posterior uso.

Para la cuantificación de AIA se construyó una curva de calibración, esta se realizó con seis patrones, tomando concentraciones de (5, 10, 15, 20, 25, 30) $\mu\text{g/ml}$ de ácido indolacético, a partir de una solución stock de 100 $\mu\text{g/ml}$, luego a 1ml de cada uno de los patrones se le agrego 2ml del reactivo de Salkowski, el cual se preparó con ácido sulfúrico (H_2SO_4) 7,9M y cloruro férrico (FeCl_3) 40mM. La mezcla se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y se leyeron las absorbancias de los seis patrones de AIA, con los valores obtenidos se formuló la ecuación que relaciona la concentración de AIA en función de la absorbancia.

Posteriormente se realizó la medición de Ácido indolacético producido por cada bacteria, para esto se preparó una suspensión de cada uno de los microorganismos en solución salina a concentración fisiológica, leyendo a una longitud de onda de 540 nanómetros, se ajustó la absorbancia de esta solución a 0,20, dado que esta es equivalente a una concentración de 10^8 cel/ml . Se hizo una dilución en caldo tripticasa de soya suplementado con 5mg/ml de triptófano como inductor para la producción de AIA para favorecer la producción de auxinas [10], hasta obtener una concentración de 10^6 cel/ml , este procedimiento se realizó por triplicado para cada cepa, las cuales se incubaron a 28°C y se mantuvieron en agitación constante a 120rpm durante 96 horas, tiempo en el cual se producen los picos máximos de producción de AIA para los aislados bacterianos [11], en esta prueba se empleó *Azospirillum brasilense* como cepa control, dado que es un microorganismos bien conocido por su capacidad para producir AIA.

La capacidad de los microorganismos de solubilizar fósforo se evaluó mediante el cultivo de los microorganismos en medios de cultivo NBRIP [12] suplementado con fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), posteriormente se determinó el índice de solubilización, mediante la medición de los halos de inhibición en proporción a los tamaños de las colonias.

La capacidad de fijar nitrógeno se determinó mediante una prueba cualitativa, en esta los microorganismos fueron sem-

brados en el medio NFB [13], dicho medio no posee una fuente de nitrógeno, por lo que solamente crecen en él, aquellos microorganismos con capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico.

Finalmente los microorganismos que mostraron las mejores características como promotores de crecimiento vegetal fueron identificados molecularmente mediante la amplificación del ADNr 16s, para lo cual se emplearon los cebadores 27-F [5'- GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3] y 1542-R [5'- AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3']⁵ el análisis de las secuencias permitieron determinar el género y especie de los microorganismos aislados comparándolas con la base de datos de la NCBI mediante el programa BLAST.

Discusión y análisis de resultados

Los microorganismos obtenidos de las raíces de plantas de café fueron en su totalidad 36 cepas, estas fueron evaluadas inicialmente para determinar su capacidad de producir la auxina AIA, los valores obtenidos de la prueba fueron analizados en mediante un ANOVA y con el test de Duncan se determinaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$), la tabla 1, muestra los datos obtenidos y se observan que las cepas 6 y 18 fueron agrupadas en el subgrupo 2, en tanto que la cepa 14 en el subgrupo 3, el subgrupo 1 agrupo 34 microorganismos no productores de AIA, estos resultados implican que la cepa 14 con $44,17\mu\text{g/ml}$ de AIA posee un alto potencial para estimular el desarrollo de las plantas de café, seguido de la cepa 18 y 6, con $12,28\mu\text{g/ml}$ y $9,37\mu\text{g/ml}$ de AIA respectivamente.

Para el hallazgo de estos datos se empleó la ecuación de la recta que relaciona la absorbancia con la concentración de AIA, tal cual se observa en la gráfica 1, en donde se aprecia que el valor R^2 muestra un buen ajuste y explica por tanto que el 99,25% de los datos son bien explicados por dicha ecuación.

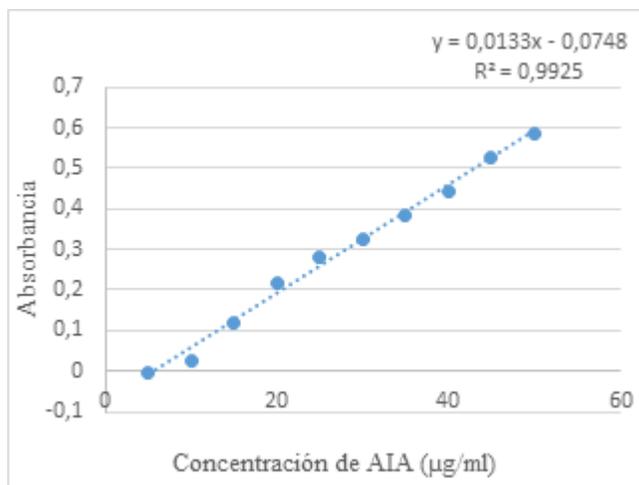


Figura 1: Regresión lineal para la absorbancia en función de la concentración de AIA

| CEPA | n | Coches disponibles | | |
|--|---|--------------------|--------|--------|
| | | SUB. 1 | SUB. 2 | SUB. 3 |
| 1 | 3 | 0.00 | | |
| 2 | 3 | 0.00 | | |
| 3 | 3 | 0.00 | | |
| 4 | 3 | 0.00 | | |
| 5 | 3 | 0.00 | | |
| 7 | 9 | 0.00 | | |
| 8 | 3 | 0.00 | | |
| 9 | 3 | 0.00 | | |
| 10 | 3 | 0.00 | | |
| 11 | 3 | 0.00 | | |
| 12 | 3 | 0.00 | | |
| 13 | 3 | 0.00 | | |
| 15 | 3 | 0.00 | | |
| 16 | 3 | 0.00 | | |
| 17 | 3 | 0.00 | | |
| 19 | 3 | 0.00 | | |
| 20 | 3 | 0.00 | | |
| 21 | 3 | 0.00 | | |
| 22 | 3 | 0.00 | | |
| 23 | 3 | 0.00 | | |
| 24 | 3 | 0.00 | | |
| 25 | 3 | 0.00 | | |
| 26 | 3 | 0.00 | | |
| 27 | 3 | 0.00 | | |
| 28 | 3 | 0.00 | | |
| 29 | 3 | 0.00 | | |
| 30 | 3 | 0.00 | | |
| 31 | 3 | 0.00 | | |
| 32 | 3 | 0.00 | | |
| 33 | 3 | 0.00 | | |
| 34 | 3 | 0.00 | | |
| 35 | 3 | 0.00 | | |
| 36 | 3 | 0.00 | | |
| 6 | 3 | | 9.37 | |
| 18 | 3 | | 12.28 | |
| 14 | 3 | | | 44.17 |
| <i>Azospirillum brasilense</i> (Control) | 3 | | | 33.04 |

Tabla 1: Test de Duncan para la producción de AIA



Figura 2: Aprendices del semillero de biotecnología de la Tecnoacademia Manizales, elaborando la curva de calibración de AIA.

| Microorganismo | Índice de solubilización expresado en el medio NBRIP |
|-----------------------------------|--|
| Pseudomonas fluorescens (Control) | 2.85 |
| Cepa 18 | 2.42 |
| Cepa 14 | 2.08 |
| Cepa 6 | 1.76 |

Tabla 2: Índice de solubilización de los microorganismos aislados

Los resultados para determinar microorganismos solubilizadores de fosfatos se resume en la tabla 2, la cual muestra que las mismas cepas productoras de AIA, fueron las únicas solubilizadoras de fosfatos, esto no es extraño ya que generalmente un PGRP puede expresar varios mecanismos para estimular el desarrollo de las plantas [14, 15].

Las bacterias 18, 14 y 6 por tanto, generaron índices de solubilización de 2.42, 2.08, y 1.76 respectivamente, este parámetro está asociado con el área que es capaz la colonia microbiana de solubilizar cuando hay presencia de fosfatos, los cuales se encuentran formando compuestos en el suelo con iones metálicos que no permiten una buena asimilación del fósforo por parte de la planta. Los mecanismos mediante el cual el microorganismo solubiliza fosfatos pueden ser muy diversos pero se orientan principalmente en la acidificación del medio, formación de complejos metálicos como quelatos, reducción de metales con estados de oxidación variable a un estado de oxidación bajo (generando un fosfato más soluble), disolución de fosfatos mediada por enzimas y disolución indirecta de fosfatos [16].

La cepa 14, fue la única que se desarrolló en medio NBRIP, este medio carece de una fuente de nitrógeno para el desarrollo microbiano, lo cual obliga metabólicamente que el microorga-

nismo exprese una serie de enzimas que le permitan tomar el nitrógeno atmosférico y usarlo para su desarrollo. Estos microorganismos tienen un alto potencial para ser utilizados en los cultivos de importancia económica ya que potencialmente pueden contribuir a disminuir el consumo de fertilizantes nitrogenados.



Figura 3: Cepa 14 aislada en NBRIP

Los PGRP pueden tener dos orígenes, ser rizosféricos o endófitos, los primeros tienen su campo de acción principalmente en la superficie de la planta, en donde se nutren principalmente de los exudados de la raíz, pero algunas bacterias son capaces de entrar en la planta como endófitos que no causan daños y podrían establecer una asociación mutualista [17]. La palabra endófito proviene del vocablo griego “endon” (dentro) y “phyte” (planta). Las bacterias endofíticas por tanto, son aquellas que viven en los tejidos de las plantas sin hacerle daño a esta [18], Kobayashi y Palumbo. 2000. La cepa 14 aislada en este trabajo es un microorganismo endófito que ha sido aislado principalmente en caña de azúcar, su capacidad de invadir internamente los tejidos de la raíz de las plantas le confiere un mejor desempeño como promotor de crecimiento, dado que dicho microorganismo no tendrá que competir por nutriente con aquellos microorganismos que se alojan en la rizosfera de las plantas.

La tabla 3 muestra los resultados de la identificación molecular realizada a las 3 cepas bacterianas seleccionadas en este trabajo y los mecanismos de promoción de crecimiento vegetal que fueron detectados.

Conclusiones

En este trabajo se aislaron y se seleccionaron tres cepas bacterianas procedentes de raíces de café, dichas bacterias poseen un alto potencial para la formulación de bioinsumos de uso específico en la caficultura de la región, estos microorganismos pueden además contribuir a la disminución en el uso de fertilizantes de origen petroquímico y por ende ge-



| CEPA | MICROORGANISMO | MECANISMOS DE ACCIÓN |
|------|---|--|
| 6 | <i>Bacillus subtilis</i> | Solubilización de fosfatos Producción de AIA |
| 14 | <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> | Solubilización de fosfatos Producción de AIA Fijación de nitrógeno |
| 18 | <i>Pseudomonas protegens</i> | Solubilización de fosfatos Producción de AIA |

Tabla 3: Identificación molecular de los microorganismos seleccionados y sus mecanismos de acción como promotores de crecimiento vegetal

nerar una mejor rentabilidad en la producción de café en el departamento de Caldas.

Referencias

- [1] Cristian José Arias Barrera and Juan Felipe Prada Hernández. La producción cafetera y su impacto en el crecimiento económico del departamento del huila, colombia. *Ánfora*, 24(42):45–66, 2017.
- [2] Estadísticas Cafeteras - Federación Nacional de Cafeteros.
- [3] Mahwish Zahid. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from himalayan region of kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (zea mays l.). *Frontiers in microbiology*, 6:207, 2015.
- [4] M Puente, J García, E Rubio, and Alejandro Perticari. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal empleados como inoculantes en trigo. *INTA-Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Publicación Miscelánea*, (116), 2010.
- [5] B Ramos Solano. Pereyra dela iglessia mt, probanza a, et al. screening for pgpr to improve growth of cistus ladaniifer seedlings for rdoestation of degraded m editenanean ecosystems. *Plant and Soil*, 287(1/2):59–68, 2006.
- [6] Mariana Laura Puente, JE Garcia, P Pathauer, Alejandro Perticari, et al. Inoculation with azospirillum brasiliense is a useful tool in eucalyptus globulus management. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 8(2):124–130, 2010.
- [7] AJ Cattelan, PG Hartel, and JJ Fuhrmann. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63(6):1670–1680, 1999.
- [8] C Soto, P Tramón, M Aqueveque, Johannes de Bruijn, et al. Microorganismos antagonistas que inhiben el desarrollo de patógenos en post-cosecha de limones (citrus limon l.). *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 34(2):173–184, 2018.
- [9] M Arenas, S Restrepo, CN Lozano, and CA Ramírez. Efecto de aislados pgpr formadores de endospora sobre café en etapas de germinación y almácigo. In *XVII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. Popayán, Cauca, Colombia. Resúmenes*, page 210, 2014.
- [10] Eric Glickmann and Yves Dessaux. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(2):793–796, 1995.
- [11] LINA XIMENA CELIS Bautista and IVÁN RICARDO Gallardo. Estandarización de métodos de detección para promotores de crecimiento vegetal (ácido indol acético y giberelinas) en cultivos microbianos. *Pontificia Universidad Javeriana*, 2008.
- [12] C Shekhar Nautiyal. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS microbiology Letters*, 170(1):265–270, 1999.
- [13] Jazmín Vanessa Pérez-Pazos and Diana Beatriz Sánchez-López. Caracterización y efecto de azotobacter, azospirillum y pseudomonas asociadas a ipomoea batatas del caribe colombiano. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2):35–46, 2017.
- [14] A Sessitsch, JG Howieson, X Perret, H Antoun, and E Martinez-Romero. Advances in rhizobium research. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(4):323–378, 2002.
- [15] A V Sturz, B R Christie, and Jerzy Nowak. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Critical reviews in plant sciences*, 19(1):1–30, 2000.
- [16] Gloria María Restrepo-Franco, Sandra Marulanda-Moreno, Yeised de la Fe-Pérez, Acela Díaz-de la Osa, Vera Lucia-Baldani, and Annia Hernández-Rodríguez. Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46(1):63–76, 2015.
- [17] João Lúcio Azevedo, Walter Maccheroni Jr, José Odair Pereira, and Wellington Luiz de Araújo. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3(1):15–16, 2000.
- [18] Clarence I Kado. Plant pathogenic bacteria. *prokaryotes*, pages 660–662, 1992.