

Recibido: 20 de mayo de 2015. Aceptado: 9 de junio de 2015

Identificación de microorganismos asociados a residuos de higuera (*Ricinus communis*)

Resumen

El objetivo de este artículo fue aislar e identificar los microorganismos presentes en los residuos de fruto y torta de higuera (*Ricinus communis*). Se utilizaron medios de cultivo selectivos para la caracterización morfológica y bioquímica y para la identificación molecular se usó la técnica de PCR con oligonucleótidos universales RM y RB del gen 16S para bacterias y secuencias intergénicas ITS1 e ITS4 para hongos y levaduras. Las secuencias fueron analizadas identificándose nueve especies de hongos, siendo *Penicillium brevicompactum* predominante; 12 especies de bacterias, donde el género más recurrente fue *Bacillus* sp.; y dos especies de levaduras, *Rhodospiridium paludigenum* y *Pichia burtonni*. La identificación de la microbiota nativa presente en los residuos de higuera es muy promisorio, aportando un amplio conocimiento sobre la versatilidad metabólica de cada una de las cepas aisladas. El mayor número de aislamientos se obtuvieron de la torta por el alto contenido de nutrientes presentes en este residuo.

Palabras clave: bacterias, hongos, desechos lignocelulósicos, secuencia de nucleótidos, agroindustria.

Identification of microorganisms associated with castor waste (*Ricinus communis*)

Abstract

The aim of this article is to isolate and to identify microorganisms present in the fruit and cake waste of castor (*Ricinus communis*). Selective culture media for morphological and biochemical characterization were used. For molecular identification, PCR technique was performed with universal primers RM and RB from the bacterial 16S gene and the ITS5 and ITS4 intergenic sequences from molds and yeasts. Sequences were analyzed identifying 9 fungal species being predominant *Penicillium brevicompactum*; 12 species of bacteria, where genus *Bacillus* sp. was the most recurrent; and two species of yeast *Pichia burtonni* and *Rhodospiridium paludigenum*. The identification of this native microbiota in the waste of castor is very promising, providing a broad knowledge of the metabolic versatility of each of the isolates. The majority of isolates were obtained from the cake by the high content of nutrients in the waste.

Keywords: Bacteria, fungi, lignocellulosic wastes, nucleotide sequence, agribusiness.

Identificação de microorganismos associados resíduos de castor mamona (*Ricinus communis*)

Resumo

O objetivo da pesquisa foi isolar e identificar os microorganismos presentes nos resíduos da fruta e bolo de mamona (*Ricinus communis*). Foram utilizados meios de cultura seletivos para caracterização morfológica e bioquímica. Para a identificação molecular empregou-se a técnica de PCR com primers gerais RM do gen 16S para bactérias e sequências intergênicas ITS1 e ITS4 para fungos e leveduras. As sequências foram analisadas e identificaram-se nove espécies de fungos, sendo o predominante *Penicillium brevicompactum*; 12 espécies de bactérias, nas quais o gênero mais recorrente foi o *Bacillus* sp.; e duas espécies de levedura *Rhodospiridium paludigenum* e *Pichia burtonni*. A identificação da microbiota nativa presente nos resíduos de rícino é muito promissória, proporcionando um amplo conhecimento da versatilidade metabólica de cada uma das cepas isoladas. A maioria das amostras foram obtidas a partir do bolo pelo alto conteúdo de nutrientes nestes resíduos.

Palavras-chave: bactérias, fungos, resíduos lignocelulósicos, sequência de nucleotídeos, agrobusiness.

Introducción

La higuera (*Ricinus communis* L) es una planta de la familia *Euphorbiaceae* considerada una especie silvestre. Su cultivo ha cobrado importancia en los últimos años, debido a las aplicaciones en la producción de biodiesel y en la industria petroquímica que ofrece el aceite de ricino extraído de la semilla (1), pues ha alcanzado gran valor comercial internacionalmente (2), de 100 kg de semilla de higuera se obtienen 45 kg de aceite y 50 kg de torta y harina (3).

En Colombia se está implementando el cultivo e industrialización de la higuera (*Ricinus communis*) incentivado por el programa de sustitución de cultivos ilícitos como alternativa para el desarrollo social y ambiental (4). Una de las metas del Gobierno Nacional consiste en aumentar los empleos rurales formales en torno a los biocombustibles. La higuera se encuentra dentro de los cultivos atractivos porque produce 1.320 litros de biodiesel por hectárea y no constituye fuente de alimento para el hombre (5,6).

Aunque el departamento de Caldas ha promovido el cultivo de esta especie (7), su industrialización produce toneladas de desechos sólidos al año, lo cual ha llevado a los cultivadores a buscar opciones para aprovechar los subproductos generados como las cáscaras del fruto, tallos, cascarrilla de la semilla y la torta producto de la extracción del aceite, entre otros (8). Estos desechos sólidos causan problemas de contaminación ambiental, además de pérdidas de biomasa y de nutrientes importantes que pueden ser utilizados en procesos agroindustriales (9). La biotransformación puede ser una estrategia de solución, pues el aceite que queda en la torta promueve la actividad de los microorganismos que contribuye a aumentar el valor proteico de los residuos agroindustriales (9) y la capacidad enzimática que poseen facilita la degradación e induce el proceso de compostaje (10). Esta potencialidad ha llevado al desarrollo de enzimas industriales y al mejoramiento de las cepas para aumentar la producción (11). Está demostrado que la biomasa residual puede ser utilizada para la producción de combustibles renovables (12).

La torta es un subproducto muy importante que se utiliza principalmente como fertilizante orgánico por su alto contenido de nutrientes (13,14), sin embargo es tóxica y alergénica debido a la presencia de toxinas como ricina y ricinina (15). Esto ha promovido la realización

de investigaciones sobre la detoxificación con el propósito de utilizarla como única fuente de proteína en alimentos para animales (16). Adicionalmente, se considera materia prima potencial para la producción de bioetanol debido a su alto contenido de almidón (17).

Su composición es de 1,91% de nitrógeno; 0,28% de fósforo; 3,02% de potasio y 33,8% de proteína cruda (18). India es el primer productor mundial de aceite de ricino, seguido de China y Brasil (19), la torta resultante se utiliza como fertilizante orgánico por ser una excelente fuente de nitrógeno, potasio y fósforo (6). Se ha demostrado que posee propiedades insecticidas y nematocidas (20).

Los desechos lignocelulósicos generados en el procesamiento de la higuera albergan una microbiota diversa, su aislamiento y caracterización garantizan el conocimiento de microorganismos que privilegian las condiciones climáticas y agroecológicas de la región.

Este estudio tuvo como objetivo identificar hongos y bacterias presentes en los residuos lignocelulósicos generados en el cultivo y procesamiento industrial de la higuera (*Ricinus communis*), con el fin de ofrecer posibilidades de aprovechamiento en la elaboración de biopreparados basados en cepas eficientes y definir su efecto al ser inoculados en cultivos de importancia económica como alternativa de biofertilización, en control de patógenos o en procesos de degradación de residuos. De esta manera se fomenta la utilización de prácticas limpias en la agricultura y se convierte en recurso viable para el manejo y conservación de los recursos naturales.

Materiales y métodos

Toma de Muestras

Se tomaron por triplicado 200 g de muestra de cáscara de fruto y de torta de un cultivo de higuera en una granja ubicada en la vereda Santágueda del municipio de Palestina (Caldas), con las siguientes condiciones climáticas: msnm 1050, Temperatura media 23 °C, precipitación promedio anual: 2200 mm, Humedad relativa: 76%.

Tabla 1. Microorganismos aislados de los residuos del fruto y torta de higuera (*Ricinus communis*)

Aislamientos	Fruto (Código)	Torta (Código)
<i>Bacillus pumilus</i>	GIBI206; GIBI204; GIBI189; GIBI193; GIBI203	GIBI187; GIBI192
<i>Bacillus</i> sp.	GIBI188	GIBI208; GIBI202; GIBI201; GIBI199; GIBI197; GIBI194; GIBI195
<i>Bacillus subtilis</i>	—	GIBI200
<i>Fusarium equiseti</i>	GIBI221	—
<i>Fusarium solani</i>	—	GIBI213
<i>Halomonas</i> sp.	—	GIBI198
<i>Penicillium brevicompactum</i>	GIBI224; GIBI223	GIBI228; GIBI227; GIBI226; GIBI225; GIBI220; GIBI219; GIBI217; GIBI216; GIBI215
<i>Penicillium olsoni</i>	—	GIBI222
<i>Pichia burtonii</i>	—	GIBI212; GIBI211; GIBI210
<i>Rhodosporidium pallidogenum</i>	GIBI209	—
<i>Staphylococcus sciuri</i>	GIBI186	—
<i>Staphylococcus</i> sp.	—	GIBI196
Total general	11	26

Aislamiento de microorganismos

Los microorganismos se aislaron a partir de muestras de residuos de la torta y de la cáscara del fruto de higuera, se tomaron 20 g y se adicionaron a 180 mL de agua destilada estéril para preparar la solución patrón. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas en base 10, se tomaron las diluciones de 10^{-3} hasta 10^{-6} y se sembró por superficie 0,1 mL de cada una en medios Agar Nutritivo para bacterias, Agar Papa Dextrosa y Rosa de Bengala para hongos. Después de describir el tipo de colonia registrada en los medios de cultivo, se realizó una caracterización morfológica de las bacterias y se procedió a realizar su aislamiento en medios de cultivos selectivos, Agar Sangre para las bacterias Gram positivas y Agar MacConkey para las bacterias Gram negativas.

La identificación de los hongos se realizó mediante la técnica de microcultivos empleando la clave taxonómica de hongos imperfectos de Barnett y Hunter 1998 (21).

Para la identificación molecular se realizó la extracción de ADN de las bacterias usando el Kit PureLink® Genomic DNA (Invitrogen®, EUA) y de los hongos con el protocolo de Wendland et al 1996 (22). Se amplificó mediante la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) con oligonucleótidos universales del gen 16S RM y RB para bacterias (5'- AGA GTT TGA TYM TGG CTC AG-3') y RM (5'- GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC C-3') (23), y secuencias intergénicas ITS1 e ITS4 para hongos. Para las dos reacciones se usó un programa de PCR en un volumen final de 25 μ L por reacción (buffer de PCR 1X, dNTPs 0,2 mM, $MgCl_2$ 1 mM, primers 0,5 μ M, taq ADN polimerasa recombinante (Invitrogen®) 1U y 100 ng de ADN bacteriano). Se utilizó el termociclador MS mini (Bio-Rad®, EUA) y el siguiente programa de amplificación: desnaturalización inicial a 95 °C por 5 min, 35 ciclos de 92 °C por 1 min, 57 °C por 30 s, y 72 °C por 1 min. Los productos de PCR se analizaron por electroforesis

en gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio. Se realizó la secuenciación de los productos de PCR en la compañía MacroGen® (Corea del Sur); para lo que se enviaron viales que contenían aproximadamente 20 μ L de los productos de cada reacción de PCR.

Las secuencias fueron analizadas por calidad utilizando el programa CLC main Workbench ver. 6.1.1 2015 CLC bio, QIAGEN y luego anotadas utilizando el programa BLAST ver. 2.2.27+ comparándolas contra la base de datos nt del NCBI, con un valor-*e* umbral de 1×10^{-5} . Estos resultados fueron filtrados con el 80% de similitud y 80% de cobertura de la región amplificada. Se validó la pertenencia al género bacteriano usando la base de datos RDP.

Resultados y discusión

A partir de los residuos de la cáscara del fruto y de la torta de higuera generados en la industrialización, se aislaron de las muestras de torta 7 cepas de *Bacillus* sp., se identificó un aislado de la cáscara del fruto como *Bacillus altitudinis*, 2 aislados de la torta y 5 de la cáscara del fruto fueron identificados como *Bacillus pumilus* y un aislado de la torta identificado como *Bacillus subtilis*.

También fueron identificados *Staphylococcus* sp. aislado de la torta, *Staphylococcus sciuri* aislado de la cáscara del fruto, *Halomonas* sp. aislada de la torta, *Rhodospiridium paludigenum* aislado de la cáscara del fruto y dos especies de *Pichia burtonii* aisladas de la torta; 2 especies del hongo *Penicillium brevicompactum* aisladas de la cáscara del fruto y 6 aisladas de la torta, *Penicillium olsonii*, *Fusarium solani* y *Fusarium equiseti* aislados de la torta. En la Tabla 1 se evidencia que la torta de higuera presentó mayor cantidad de colonias recuperadas de bacterias y hongos respecto a las cepas aisladas de los residuos del fruto.

Tabla 2. Características culturales y micromorfológicas de los microorganismos aislados

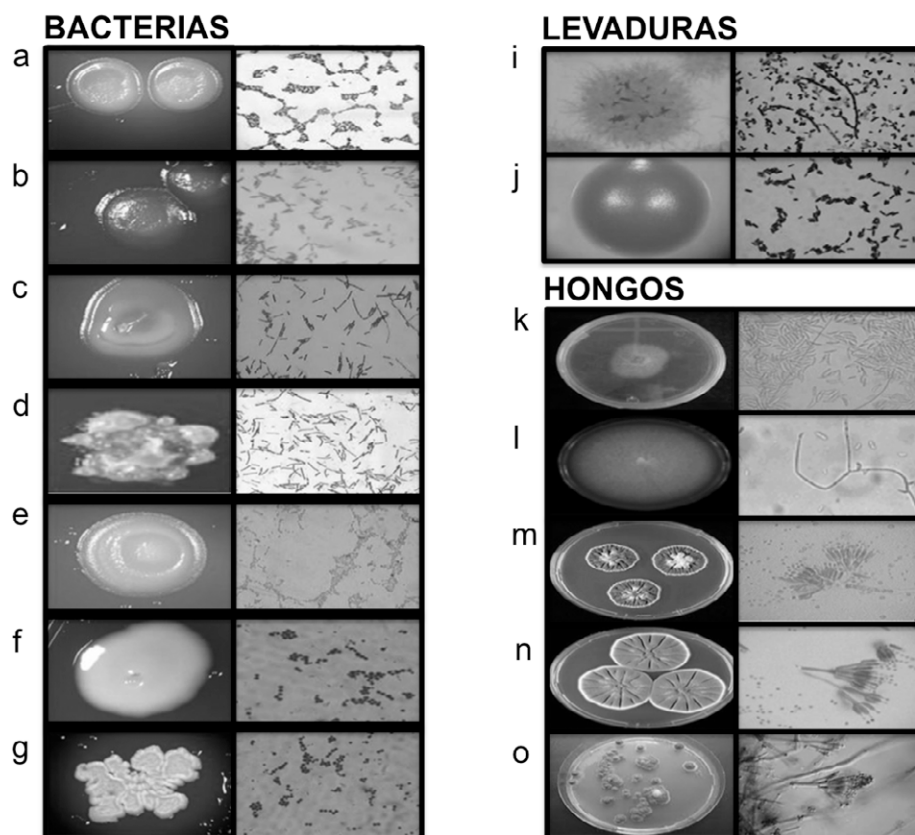


Tabla 3. Identificación de los aislamientos con BLAST usando el gen 16S.

Código	Descripción HIT	E-value	Cobertura (%)	Identidad (%)	Tamaño (pb)
GIBI186	<i>Staphylococcus sciuri</i>	0,0	98	99	774
GIBI187	<i>Bacillus pumilus</i>	0,0	98	99	772
GIBI188	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	74	96	926
GIBI189	<i>Bacillus pumilus</i>	0,0	100	99	768
GIBI192	<i>Bacillus pumilus</i>	0,0	95	98	768
GIBI193	<i>Bacillus pumilus</i>	0,0	98	99	768
GIBI194	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	99	99	767
GIBI195	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	98	99	764
GIBI196	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,0	99	99	748
GIBI197	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	98	92	767
GIBI198	<i>Halomonas</i> sp.	0,0	55	92	410
GIBI199	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	100	99	767
GIBI200	<i>Bacillus subtilis</i>	0,0	99	99	766
GIBI201	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	99	99	763
GIBI202	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	98	99	767
GIBI203	<i>Bacillus pumilus</i>	0,0	97	96	736
GIBI204	<i>Bacillus pumilus</i>	0,0	99	99	769
GIBI206	<i>Bacillus pumilus</i>	0,0	98	98	767
GIBI208	<i>Bacillus</i> sp.	0,0	88	88	290
GIBI209	<i>Rhodosporidium pallidogenum</i>	0,0	98	99	565
GIBI210	<i>Pichia burtonii</i>	$6,6 \times 10^{-157}$	76	99	563
GIBI211	<i>Pichia burtonii</i>	$8,4 \times 10^{-162}$	97	98	642
GIBI212	<i>Pichia burtonii</i>	0,0	87	100	405
GIBI213	<i>Fusarium solani</i>	0,0	98	99	536
GIBI215	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	98	99	549
GIBI216	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	96	99	549
GIBI217	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	98	99	549
GIBI219	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	96	99	549
GIBI220	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	98	99	538
GIBI221	<i>Fusarium equiseti</i>	0,0	98	99	519
GIBI222	<i>Penicillium olsoni</i>	0,0	95	99	549
GIBI223	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	99	97	545
GIBI224	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	96	99	524
GIBI225	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	97	99	548
GIBI226	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	95	99	530
GIBI227	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	100	100	548
GIBI228	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,0	96	99	557

En la Tabla 2 se observan las características culturales y micromorfológicas de los microorganismos aislados. **Bacterias:** a. *Bacillus altitudinis* (GIBI 188) b. *Bacillus pumilus* (GIBI 193) c. *Bacillus* sp. (GIBI 202) d. *Bacillus subtilis* (GIBI 200) e. *Halomona* sp. (GIBI 198) f. *Staphylococcus sciuri* (GIBI186) g. *Staphylococcus* sp. (GIBI 196)

Levaduras: i. *Pichia burtonii* (GIBI 210) j. *Rhodospiridium paludigenum* (GIBI 209) **Hongos:** k. *Fusarium equiseti* (GIBI 221) l. *Fusarium solani* (GIBI 356) m. *Penicillium brevicompactum* (GIBI 227) n. *Penicillium olsonii* (GIBI 222) o. *Penicillium brevicompactum* (GIBI 227).

En la Tabla 3 se discriminan los resultados del BLAST, el cual permite la identificación confiable de los microorganismos (cobertura e identidad mayor a 95%) para el 89% de los aislamientos (33/37).

En Colombia, hasta el momento, no existen reportes de estudios realizados sobre la caracterización de los microorganismos que colonizan los residuos lignocelulósicos cáscara del fruto y torta, generados a partir de la industrialización de la higuera *Ricinus communis*, de ahí la importancia de los resultados de esta investigación.

La torta de higuera es un residuo rico en nutrientes (8) y como consecuencia albergó el más alto porcentaje de los aislamientos 68%, en comparación con los obtenidos de la cáscara del fruto que presentó el 31%. El género bacteriano con mayor frecuencia de aparición en la torta fue *Bacillus* sp., que se caracteriza por formar endosporas que lo hacen resistente al medio ambiente y al calor, además es un gran productor de enzimas hidrolíticas y antagonista de hongos fitopatógenos entre ellos *Fusarium solani* (23).

Las potencialidades de uso de diferentes géneros microbianos para la estimulación del crecimiento vegetal, el control biológico de patógenos y la degradación de compuestos lignocelulolíticos han sido ampliamente documentadas en la literatura (24-26). *Bacillus subtilis* ha sido evaluada como agente de biocontrol contra el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* (27,28), es significativa su importancia como antagonista y bioprotector en diferentes cultivos tales como aguacate (*Persea* spp.), tomate (*Lycopersicon* spp.), frijón (*Phaseolus vulgaris* L) y cebolla (*Allium cepa* L), brindando protección contra fitopatógenos como *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme* y *Alternaria porri* (29).

De igual modo, *Bacillus pumilus* tiene la capacidad de producir enzimas hidrolíticas y tiene actividad antifúngica contra patógenos de la planta de *Arabidopsis* (30), e induce resistencia sistémica en cultivos de algodón (31).

Algunos estudios informan a *Staphylococcus* sp. como productor de enzimas hidrolíticas que facilitan la hidrólisis del xilano; las xilanasas actúan eliminando el complejo lignina hidratos de carbono en el blanqueo y bioprocesamiento de pulpas y papel, además tienen un gran potencial en industrias de alimentos (32).

También las levaduras, *Halomona* sp. que es halotolerante y alcalófila está referenciada como productora de AIA (33) y *Rhodospiridium paludigenum* fue evaluada en tomates cherry *Lycopersicon esculentum* en donde se observó la reducción de la incidencia de la enfermedad postcosecha del moho gris causada por *Botrytis cinerea* (34).

Además en este estudio se aislaron de la torta los hongos *Penicillium olsonii*, *Fusarium solani*, *Fusarium equiseti* que son patógenos de diferentes cultivos y *Penicillium brevicompactum* del cual se obtuvo el mayor número de aislamientos. Este hongo está reportado como productor de sustancias antimicrobianas, fitotóxicas y productor de celulasas, como lo confirma una investigación realizada en Brasil donde comprobaron su actividad celulolítica (35).

Estos investigadores, a partir de residuos y torta de higuera *Ricinus communis*, realizaron 189 aislamientos de cultivos de hongos, de los cuales identificaron 14 géneros y 43 especies. El género que más encontraron en los residuos fue *Aspergillus* y en la torta *Aspergillus brasiliensis*; la torta presentó el porcentaje más alto de aislamientos. El objetivo principal de este estudio fue identificar, a partir de los aislamientos realizados, hongos con potencial celulolítico, entre los 67 cultivos de hon-

gos ensayados en la selección inicial en medios sólidos, 54 expresaron capacidad celulolítica (35).

En nuestra investigación *Penicillium brevicompactum* es el hongo aislado de residuos lignocelulósicos de higuera, especie que tiene importancia ecológica ya que es abundante en la naturaleza y desempeña un papel relevante en la descomposición de materia orgánica, este resultado concuerda con el reportado en Herculano *et al.* (35), La cantidad de aislamientos diferentes a los reportados representan la diversidad microbiana influenciada por las condiciones climáticas y agroecológicas de cada región geográfica. Los aislamientos identificados molecularmente permitieron confirmar el género y algunas especies asociadas a estos residuos. Este estudio es, por lo tanto, un aporte significativo teniendo en cuenta que los microorganismos presentes en estos residuos han sido poco explorados y poseen un alto potencial para ser utilizados en procesos biotecnológicos como el reciclaje y las prácticas limpias en la agricultura, lo que a su vez contribuye a mitigar la contaminación ambiental causada por el uso indiscriminado de agroquímicos y por la disposición y utilización inadecuada de los residuos agroindustriales.

Conclusiones

En este estudio se identificaron varios géneros y especies de microorganismos, lo que demuestra la diversidad microbiana presente en residuos lignocelulósicos de higuera.

De las muestras de torta se identificaron cepas de *Bacillus* sp., *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus* sp., *Halomona* sp., *Pichia burtonii*, *Penicillium brevicompactum*, *Fusarium solani*, *Penicillium olsonii*, *Fusarium equiseti*. Se identificaron en las muestras de la cáscara del fruto las cepas de *Bacillus altitudinis*, *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus sciuri*, *Rhodospiridium paludigenum*, *Penicillium brevicompactum*.

La identificación de la microbiota nativa presente en estos residuos es muy promisoría porque contribuye a incrementar el conocimiento sobre la versatilidad metabólica de cada una de las cepas aisladas, que puede ser utilizado como insumo para estudios futuros dirigidos a conocer, preservar y potenciar sus interacciones y efectos benéficos.

Referencias

1. Córdoba Gaona, O. D. J. Comportamiento ecofisiológico de variedades de higuera (*Ricinus communis* L.) para la producción sostenible de aceite y biodiesel en diferentes agroecosistemas colombianos. Tesis Doctoral. **Universidad Nacional de Colombia**, 2013.
2. Rincón, L. E.; Hernández, V.; Cardona, C. A. Analysis of technological schemes for the efficient production of added-value products from Colombian oleochemical feedstocks. *Process Biochem.* **2014**, *49* (3), 474-489. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2013.11.015>
3. Costa, F. X.; Beltrão, N. D. M.; Júnior, E. N.; Guimarães, M. M.; Damace, F. V. Efeito do lixo orgânico e torta de mamona nas características de crescimento da mamoneira (*Ricinus communis* L.). *Eng. Sanit. Ambiental.* **2009**, *6* (1), 259-268.
4. Sayegh Ordoñez, A. N.; Cárdenas Arias, L. G. Plan de empresa basado en el uso del aceite de higuera para la industria cosmética. M.S. Tesis, Universidad ICESI, 2011.
5. Fonseca Jimenes, J.; Garcia Escoto, T.; Esquivel Rosales, M.; Mogollón, G. M.; Calderón Mendoza, D. Aprovechamiento del *Ricinus communis* L. por proceso a la sosa y su aplicación en la formulación de papel ondulado. *Rev. Forest. Venez.* **2009**, *2* (53), 175-181.
6. Zuchi, J.; Bevilacqua, G. A. P.; Zanoncio, J. C.; Marques, R. L. L.; Temperado, E. C. Rendimiento de Grãos de Trigo e Tricale com Utilização de Torta de Mamona. *Embrapa Clima Temperado. Boletim de*

- Pesquisa e Desenvolvimento*. **2010**, 128.
7. Hurtado-Salazar, A.; Gutiérrez, G.; Restrepo, J. F.; Costa Nobre, D. A. Evaluación de cuatro variedades de higuera (*Ricinus communis* L.) para la producción y rendimiento de aceite en Colombia. *Agrociencia* (Uruguay). **2013**, 17 (2), 25-32.
 8. Kumar, R.; Singh, S.; Singh, O. V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, 35 (5), 377-391. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10295-008-0327-8>
 9. Pinto, G.; Sousa, E.; Rodríguez, A.; Pinheiro, S.; Beltrao, T. Fermentação em estado sólido: uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais tropicais. *Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico*. **2005**, 102.
 10. Castro, C.; Valverde, M.; Paredes, O. Biocombustibles: biomasa lignocelulósica y procesos de producción. *Ide@s CONCYTEG*. **2009**, 4(54), 1246-1270.
 11. Polizeli, M. L.; Corrêa, E. C.; Polizeli, A. M.; Jorge, J. A. Hydrolases from microorganisms used for degradation of plant cell wall and bioenergy. *Routes to Cellulosic Ethanol*; Buckridge, M.; Goldman, G., Ed.; Springer New York, **2011**; pp 115-134. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-92740-4_8
 12. Delgado, A. E.; Chaparro, W. A.; Silva, J. R. Influencia del porcentaje de mezcla del aceite de higuera en la obtención de combustible alternativo para motores diesel. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*. **2011**, 58, 46-52.
 13. Lima, R. L.; Severino, L. S.; Albuquerque, R. C.; de Macêdo Beltrão, N. E.; Sampaio, L. R. Casca e torta de mamona avaliados em vasos como fertilizantes orgânicos. *Rev. Caatinga*. **2008**, 21(5), 102-106.
 14. Severino, L. S.; Costa, F. X.; Beltrão, N. D. M.; Lucena, A. D.; Guimarães, M. M. B. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. *Rev. biol. ciênc. Terra*. **2004**, 5(1), 650-655.
 15. Abdalla, A. L.; Silva Filho, J. C.; Godoi, A. R.; Carmo, C. A.; Eduardo, J. L. D. P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *R. Bras. Zootec.* **2008**, 37, 260-268. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982008001300030>
 16. Ascheri, J.; de Carvalho, C.; Arévalo, A.; Machado, O.; Stephan, M. Caracterización físico-química de pellets extraídos de torta de higuera (*Ricinus comunis* L.) visando su uso en alimentos balanceados. *Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. **2013**, 5.
 17. Macedo, A. L.; Santos, R. S.; Pantoja, L.; Santos, A. S. Pequi cake composition, hydrolysis and fermentation to bioethanol. *Braz. J. Chem. Eng.* **2011**, 28 (1), 9-15. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-66322011000100002>
 18. Severino, L. S.; Tavares, M. J. V.; Nascimento, J. D.; Ferreira, G. B.; Sofiatti, V. Toxidez causada pelo excesso de torta de mamona como fertilizante orgânico. *Embrapa Algodão*. **2007**, 341.
 19. Ogunniyi, D. S. Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresour. Technol.* **2006**, 97 (9), 1086-1091. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.028>
 20. Severino, L. O que sabemos sobre a torta da mamona. *Embrapa Algodão. Documentos*. **2005**, 134.
 21. Kirker, G. T.; Wagner, T. L.; Diehl, S. V. Relationship between wood-inhabiting fungi and *Reticulitermes* spp. in four forest habitats of northeastern Mississippi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2012**, 72, 18-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.04.011>
 22. Wendland, J.; Lengeler, K.; Kothe, E. An instant preparation method for nucleic acids of filamentous fungi. *Fungal Genet Newsl.* **1996**, 54-55.
 23. Guillén-Cruz, R.; Hernández-Castillo, F. D.; Gallegos-Morales, G.; Rodríguez-Herrera, R.; Aguilar-González, C. N.; Padrón-Corral, E. *et al.* *Bacillus* spp. as biocontrol in an infested soil with *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn, and *Phytophthora capsici* Leonian, and its effect on development and yield of pepper crop (*Capsicum annuum* L.). *Rev. Mex. Fitopatol.* **2006**, 24 (2), 105-114.
 24. Pedraza, R. O.; Teixeira, K. R.; Baldani, V. L.; Scavino, A. F.; de Salamone, I. G.; Baca, B. E.; Bonilla, R. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Corpoica cienc. tecnol. agropecu.* **2010**, 11 (2), 155-164.
 25. Hernández-Rodríguez, A.; Heydrich-Pérez, M.; Acebo-Guerrero, Y.; Velázquez-Del Valle, M. G.; Hernández-Lauzardo, A. N. Antagonistic activity of Cuban native rhizobacteria against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. in maize (*Zea mays* L.). *Appl Soil Ecol.* **2008**, 39 (2), 180-186. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.12.008>
 26. Restrepo-Franco, G.M.; Marulanda- Moreno, S.; Y.de la Fe-Pérez.; A.Díaz-de la Osa.; V. L.Baldani.; Hernández – Rodríguez, A. Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potenciales de uso en la promoción de crecimiento de cultivos de importancia económica. *Rev. CENIC Cienc. Biol.* **2015**, 46 (1), 63-76.
 27. Antoun, H.; Prévost, D. Ecology of plant growth promoting Rhizobacteria. In *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*; Siddiqui, Z. A., Ed.; Springer. Printed in the Netherlands: Quebec, Canada, 2005; pp 1-38. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/1-4020-4152-7_1
 28. Gajbhiye, A.; Rai, A. R.; Meshram, S. U.; Dongre, A. B. Isolation, evaluation and characterization of *Bacillus subtilis* from cotton rhizospheric soil with biocontrol activity against *Fusarium oxysporum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, 26 (7), 1187-1194. DOI:<http://dx.doi.org/10.1007/s11274-009-0287-9>
 29. Bhattacharyya, P. N.; Jha, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, 28 (4), 1327-1350. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
 30. Dehestani, A.; Kazemitabar, K.; Ahmadian, G.; Jelodar, N. B.; Salmanian, A. H.; Seyedi, M.; Ghasemi, S. Chitinolytic and antifungal activity of a *Bacillus pumilus* chitinase expressed in *Arabidopsis*. *Biotechnol Lett.* **2010**, 32 (4), 539-546. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-009-0192-1>
 31. Pindi, K.; Sultana, T.; Vootla P. Plant growth regulation of Bt-cotton through *Bacillus* species. *Biotech.* **2013**, 4 (3), 305-315. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-013-0154-0>
 32. Gupta, S.; Bhushan, B.; Hoondal, G. Isolation, purification and characterization of xylanase from *Staphylococcus* sp. SG-13 and its application in biobleaching of kraft pulp. *J. Appl. Microbiol.* **2000**, 88 (2), 325-334. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00974.x>
 33. Gómez, L.; Valero, N.; Morales, E. Bacterias halotolerantes/alcalófilas productoras de ácido indol acético (AIA) asociadas a *Arthrospira platensis* (Cyanophyceae). *Rev. colomb. Biotecnol.* **2012**, 14 (2), 81-88.
 34. Wang, Y.; Yu, T.; Xia, J.; Yu, D.; Wang, J.; Zheng, X. Biocontrol of postharvest gray mold of cherry tomatoes with the marine yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *Biol. Control.* **2010**, 53 (2), 178-182. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.01.002>
 35. Herculano, P.; Lima, D.; Fernandes, M.; Neves, R.; Souza, C.; Porto, A. Isolation of cellulolytic fungi from waste of castor (*Ricinus communis* L.). *Curr Microbiol.* **2011**, 62 (5), 1416-1422. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-011-9879-3>

Article citation:

Cabra-Cendales, T.; Meneses-Cabezas, D. C.; Galeano-Vanegas, N. F. Identificación de microorganismos asociados a residuos de higuera (*Ricinus communis*). *Rev. Colomb. Quim.* **2015**, 44(2), 10-15. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n2.55214>