

ESTUDIO DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO DE PLANTAS AISLADAS DE ZONAS NATURALES PROTEGIDAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO

Oliva García Gabriela del Carmen (1), Gómez Luna Blanca Estela (2)

1 [Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica del Centro] | [olivagarcia_gabriela@aol.com]

2 [[Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato] | [bgomezl2000@yahoo.com] [be.gomez@ugto.mx]

Resumen

Las PGPR (por sus siglas en inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) son bacterias que tienen la capacidad de incrementar el crecimiento vegetal, la obtención de estas bacterias especialmente de ANP'S (Áreas Naturales Protegidas) representan la importancia de cuidar y preservar la riqueza microbiológica que estas guardan. En el presente trabajo se realizó el aislamiento de bacterias promotoras a partir de una muestra de rizosfera de los árboles de mezquite (*Prosopis laevigata*), encino (*Quercus rugosa*) y ciruelillo (*Embothrium coccineum*), presentes en la zona del área natural protegida en estudio "Las Cruces" en Salvatierra, Guanajuato. Se aislaron 100 cepas en el medio selectivo ACC (1- ácido carboxílico, -1- aminociclopropano) desaminasa y fueron seleccionadas 50 cepas para realizar las pruebas de germinación en lenteja (*Lens culinaris*) y rábano (*Rabhanus sativus*), así como para pruebas de antagonismo con hongos Fito patógenos y producción de sideróforos.

Abstract

The PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), they are bacterias which has the capacity of increasing the vegetal growth, the obtaining of these bacterias specially from ANP'S (Natural Area Protected), they represent the importancy of caring and persisting the wealth microbiologic of these, in this work we did the isolation of promoting bacterias from a sample of rhizosphere of mezquite (*Prosopis laevigata*), encino (*Quercus rugosa*) and ciruelillo (*Embothrium coccineum*), they are all present in the zone of the natural protected area in the research , " Las cruces" in Salvaterra, Guanajuato. 100 strains were obtained with activity of ACC (1 - carboxílico, -1 - aminociclopropano) desaminasa that were confirmed with capacity promoter of growth of plants and they were selected 50 strains to do the samples of germination lenteja (*Lens culinaris*) and rábano (*Rabhanus sativus*), as well as antagonism samples with phytopatogenic fungies and production of siderophores.

Palabras Clave

Suelo, Área Natural Protegida, Rizobacterias , Cepa

INTRODUCCIÓN

Las bacterias promotoras como alternativa para la conservación de la biodiversidad

Las PGPR (por sus siglas en inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) son bacterias que habitan la rizósfera, región del suelo que fue descrita por Hiltner en 1904 como el área del suelo influenciada por los exudados de la raíz, la rizósfera incluye el área del suelo unida a la raíz que se extiende a pocos milímetros de la superficie del sistema radicular, ésta se caracteriza por albergar una gran variedad de microorganismos en comparación con el resto del suelo [1].

Las PGPR se encargan de promover la obtención de nutrientes, benefician el crecimiento de las plantas a través de la síntesis de hormonas y enzimas, así como de la Fijación de nitrógeno. En cuanto al efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas, las PGPR pueden actuar de manera indirecta o directa:

Dentro de los mecanismos indirectos: los metabolitos producidos por las PGPR pueden funcionar como determinantes antagónicos, involucran aspectos de control biológico, suprimen o inhiben el crecimiento de microorganismos perjudiciales para el desarrollo de la planta, vía producción de sideróforos, antibióticos, acción de enzimas líticas (glucanasas, quitinasas) o inducción de mecanismos de resistencia.

En el caso de mecanismos directos: ocurren cuando los metabolitos producidos por algunas cepas de rizobacterias son utilizados como reguladores de crecimiento o precursores de éstos por parte de la planta [2].

El uso de bacterias promotoras del crecimiento representan un impacto positivo del aprovechamiento de las Áreas Naturales Protegidas como: medio de investigación, una alternativa para la preservación de la biodiversidad, reforestación, así como mejorar la obtención de cultivos vegetales (hortalizas y granos). Podemos aplicar este conocimiento como

una agrobiotecnología totalmente sustentable y amigable con el ambiente.

Este proyecto de investigación se realizó con el fin de caracterizar las rizobacterias presentes en la rizosfera de los árboles de mezquite (*Prosopis laevigata*), encino (*Quercus rugosa*) y ciruelillo (*Embothrium coccineum*), presentes en la zona del área natural protegida en estudio “Las Cruces” con coordenadas geográficas, 200° 55' 5" latitud Norte, 100° 58' 38" longitud Oeste, en Salvatierra, Guanajuato.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue realizada en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Agroindustrial, en la División de Ciencias de la Salud e Ingenierías del Campus Celaya – Salvatierra de la Universidad de Guanajuato

Muestreo

Se seleccionaron los árboles de mezquite (*Prosopis laevigata*) y encino (*Quercus rugosa*) para el muestreo de suelo obteniendo rizosfera, la zona se encuentra ubicada en la comunidad “Las Cruces” con coordenadas geográficas, 200° 55' 5" latitud Norte, 100° 58' 38" longitud Oeste, en Salvatierra, Guanajuato.

Tratamiento de la muestra y asilamiento de bacterias promotoras

Se tamizó y pesó 20gr de muestra de rizosfera de los árboles seleccionados, se diluyeron en 90ml de agua estéril colocándolas por 90 minutos en un agitador orbital.

Para el aislamiento de las rizobacterias, Las muestras de suelo fueron sembradas en el medio selectivo ACC (1- ácido carboxílico, -1- aminociclopropano) desaminasa. Este medio de cultivo contiene por litro 4 g KH₂PO₄, 6 g NaHPO₄, 0.2 g MgSO₄, 1 mg FeSO₄, 10 µg H, 10 µg MnSO₄, 50 µg CuSO₄, 10 µg MoO₃, 70 µg ZnSO₄, glucosa 0.2%, ac. Glucónico 0.2%, 0.2%, agar bacteriológico al 2% y ACC 3mM (SIGMA). Para sembrar se empleó el equipo Spiral Plater en

modo exponencial y las placas se incubaron por 48 horas. Se seleccionaron las cepas de las muestras de suelo y se aislaron en agar de papa PDA y se dejaron incubar por 24 horas.

A todas las cepas se les realizó tinción de Gram.

Pruebas de germinación

Las cepas aisladas se inocularon en tubos falcón con 10 ml de caldo de papa, colocando 25 semillas de lenteja (*Lens culinaris*) y rábano (*Rabhanus sativus*), se llevaron a agitación por 15 minutos para posteriormente colocar las semillas en placas Petri con papel humedecido estéril colocándose en incubación por 48 h, con previa revisión a las 24 h.

Pruebas de antagonismo

A las cepas aisladas seleccionadas se les realizó una prueba de antibiosis contra hongos fitopatógenos, *Fussarium oxisporum*, *Alternaria ssp*, *Bipolaris ssp*, en medio PDA para su crecimiento de forma radial, permitiendo la confrontación de las bacterias en cuatro puntos de la placa, determinando la capacidad de inhibición de estas. Las placas se dejaron en incubación por 48h a una temperatura de 28°C.

Producción de sideróforos

Se utilizó el medio CAS (cas aminoácidos) para la detección de sideroforos, este se preparó a partir de 4 soluciones, las cuales se esterilizaron por separado antes de mezclarse (Alexander & Zuberer, 1991), Las cepas aisladas se sembraron por picadura en el medio y se incubaron a 28° por 48h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 4 muestras de suelo se obtuvieron 100 cepas presentaron crecimiento en el medio selectivo ACC (1- ácido carboxílico, -1- aminociclopropano) desaminasa, a las cuales fueron seleccionaron 50 y se les aplicó tinción de

Graham conteniendo 45+ positivas y 5- negativas. Del total se seleccionaron 50 fueron para realizar las siguientes pruebas.

Pruebas de germinación

Para ambas pruebas en de lenteja (*Lens culinaris*) y rábano (*Rabhanus sativus*) se realizó un blanco el cual fue considerado como el 100% en porcentaje de germinación, en donde la lenteja tuvo un blanco con 64% y el rábano 100% a partir de estos datos se tomaron en cuenta las cajas que tuvieran un porcentaje mayor o igual.

Las cepas con mejor actividad en lenteja (*Lens culinaris*) fueron las cepas: A1-101, A1-102, A1-103, A1-109, A1-112, A1-116, A1-117, A1-124, B2-202, B2-203, B2-205, B2-206, B2-207, B2-208, B2-215, B2-222, B2-223, C1-252, D1-302, C1-255, C1-256, C1-258, C1-270, D1-302, D1-305, , D1-314, , D1-317 [Imagen 1].

En rábano (*Rabhanus sativus*) también se consideró el crecimiento característico radicular, en donde las cepas con mayor actividad fueron: A1-123, A1-124, B2-205, B2-225, C1-255, D1-317, D1-318, D1-322.

Pruebas de antagonismo

En esta prueba de antibiosis se confrontaron las cepas contra hongos fitopatógenos, las cepas que mostraron resistencia fueron: B2-205, B2-208, C1-258, D1-302, D1-303 [Imagen 2].

Producción de sideróforos

De las 50 cepas probadas, A1-102, A1-111, A1-112, A1-115, A1-116, A1-117, A1-119, B2-205, B2-207, B2-208, B2-218, C1-255, D1-302, D1-308, D1-312, D1-313, D1-317, fueron productoras de sideróforos, las cuales fueron identificadas por que formaron un halo de color naranja en el medio, esto indica la liberación del hierro a partir del complejo colorido Fe-CAS.

CONCLUSIONES

El estudio de las bacterias rizosféricas en las ANP, permite la conservación de estas a través de la caracterización de las PGPR así como la capacidad que estas tienen para estimular significativamente el desarrollo de una planta de forma directa o indirecta. Los mecanismos directos permiten el aumento de los nutrientes en la rizosfera y la identificación de mecanismos indirectos define la capacidad que tiene la bacteria para disminuir la presencia de fitopatógenos, esto también a través de la producción de sideróforos.

Caracterizar las PGPR de un ANP es una alternativa para mejorar el desarrollo de forma eficiente, crecimiento y preservación de especies. En la agricultura su aplicación para la obtención de cultivos vegetales, acelerando el crecimiento, la germinación y controlando las enfermedades a las cuales se ven expuestos.

El papel de las PGPR es sin duda alguna una posibilidad de preservación, desarrollo e innovación que al ser estudiadas de forma multidisciplinaria se obtienen nuevas aplicaciones benéficas para el medio ambiente y la sociedad.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato por su compromiso con la investigación y promoción de la ciencia, a mi casa de estudios la Universidad Politécnica del Centro a mis Padres y la Ing. Yuliana Ramón Morales.

REFERENCIAS

- [1] Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales, M.R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y.E., Santiago-Sáenz, Y., Castañeda-Lucio, M., Muñoz-Rojas, J. *Biológicas*, Vol. 17, No. 2, pp. 24-34.
- [2] Jiménez, D.R., Calleros, V.G., Tabares, F. Portugal, O.V., *Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología Avance y Perspectiva* vol. 20, pp.395-400.
- [3] Do Carmo F., dos Santos H., Martins E., Van Elsas J., Rosado A., Peixoto R. (2011). Bacterial structure and characterization of plant growth promoting and oil degrading bacteria from the rhizospheres of mangrove plants. *J. Microbiol.* 49: 535-43.

[4] Alexander D.B., Zuberer D.A., (1991). Use of Chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Earth and Environmental Science*. 12(1):39-45.

[5] Penrose, DM y Glick, BR., (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol plant*. 118(1):10-15.



IMAGEN 1: Germinación de lenteja (*Lens culinaris*), con cepa B2-222, 76% de germinación.



IMAGEN 2: Confrontación de cepas en hongo Bipolaris.



IMAGEN 3: la liberación del hierro a partir del complejo colorido Fe-CAS, cepa 208.