

# EFECTO DE LAS BACTERIAS DE SUELO DE BOSQUE BENÉFICAS PARA PLANTAS

Contreras Montiel Ricardo Axel (1); Gómez Luna Blanca Estela (2); Veloz García Rafael  
Alejandro (3)

1 [Escuela de Nivel Medio Superior Centro Histórico León, Colegio de Nivel Medio, Universidad de Guanajuato] | [r.contreras99@hotmail.com] [ra.contrerasmontiel@ugto.mx]

2 [Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Camus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato] | [bggomezl2000@yahoo.com.mx] [be.gomez@ugto.mx]

3 [Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Camus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato] | [alejandroveloz@ugto.mx]

## Resumen

En nuestra actualidad existe un grave problema de deforestación y contaminación del aire, para contrarrestar esto se han propuesto diversos mecanismos de acción, entre ellos la reforestación de bosques y Área Naturales Protegidas; sin embargo, los enfoques dentro de los que se trata el sistema de reforestación son poco factibles. Al darse cuenta de ello los organismos gubernamentales y civiles se han propuesto implementar el mejoramiento de semillas y plántulas en invernaderos para su posterior siembra en los programas de reforestación. En este proyecto se ha puesto a prueba un método de mejoramiento de semillas por medio de la inoculación directa de actinomicetos, por medio de cultivo de papa líquido, con lo cual hemos logrado un incremento en el desarrollo embrionario de las semillas y cierto nivel de inhibición de hongos fitopatógenos.

## Abstract

In our present there is a serious problem of deforestation and air pollution, different mechanisms of action have been proposed to counteract this, among them the reforestation of forest and protected areas however approaches which is the system of reforestation inside are little feasible. To realizing this, government and civil agencies have proposed implementing the improvement of seeds and seedling in the green house for subsequent planting in reforestation programs. This project has been to test a method of seeds improvement through direct inoculation of actinomycetes, by means of liquid potato cultivation, whereupon we have achieved an increased in seeds embryonic development and some level of phytopathogen fungi.

## Palabras Clave

Área natural protegida; PGPR; simbiosis; aislamiento; germinación.

## INTRODUCCIÓN

Se denominan Bacterias Promotoras de Crecimiento (PGPR Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) a las bacterias que se relacionan con la planta por medio de la rizosfera a partir de una relación simbiótica ya sea de mutualismo obligado o por mutualismo facultativo.

“... ¿qué debemos entender por rizosfera? Lynch la define como toda aquella porción de suelo que está fuertemente influenciada por las raíces de la planta, la cual a su vez se divide en tres partes: rizoplasma (microorganismos pegados a la raíz), endorrizosfera (microorganismos dentro de la raíz) y ectorrizosfera (microorganismos que actúan de manera circundante a la raíz). Dicha asociación se inicia como respuesta al llamado “efecto rizoférico”, el cual sucede a través de un intercambio de señales que se disparan a partir de la interacción microbio-planta ... [1]

“En años recientes se ha creado cierta controversia respecto de cuándo considerar a una rizobacteria como PGPR, por lo que se han establecido algunas características que definen a este grupo. En primer lugar, que tengan una elevada densidad poblacional en la rizosfera después de su inoculación en las plantas, ya que una población que declina rápidamente tiene una baja capacidad competitiva con la microflora nativa del suelo. Después, que posean capacidad de colonización efectiva en la superficie de la raíz y, como consecuencia, puedan influir positivamente en el crecimiento de la planta. Además, que puedan controlar de manera natural y eficiente a otros microorganismos del suelo capaces de enfermar a las plantas; y por último, que no produzcan daño en el hombre. La aplicación de este tipo de rizobacterias ha dado como resultado la promoción evidente del crecimiento en plantas, observándose un incremento en la emergencia, vigor, biomasa, desarrollo en sistemas radiculares ...” [2]

### Mecanismos de acción de las Bacterias Promotoras de Crecimiento

“La actividad de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal en general se inicia con mecanismos de quimiotaxis que

están relacionados con la presencia de flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente. Estos factores tienen gran importancia sobre la habilidad de colonizar la rizosfera y mantener la comunicación entre las células de la raíz con los microorganismos presentes en el suelo (Landa et al., 2002; Mavrodi et al., 2006). Las bacterias capaces de interactuar con las raíces de las plantas son atraídas por sustancias excretadas por la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia el rizoplasma de la planta y de esta forma dar inicio a una relación de beneficio mutuo.” [3]

“Los mecanismos directos de promoción vegetal encierran varios procesos en los cuales, las bacterias alteran el desarrollo vegetal (Ahmad et al., 2006; Leisinger y Margraff, 1979; Matheron, 2001; Wildermuth et al., 2002). Estos mecanismos, empleados por bacterias, son muy diversos y en algunos casos poco estudiados, sin embargo, se pueden diferenciar claramente dos procesos esenciales: el primero consiste en la producción de sustancias orgánicas, producto del metabolismo secundario de las bacterias, que son capaces de promover respuestas fisiológicas específicas en las células vegetales. El segundo mecanismo se puede encontrar en la intervención directa de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos, en los cuales pueden hacer disponibles compuestos orgánicos e inorgánicos que son aprovechados por las plantas (Ahn et al., 2007).” [4]

### Actinomicetos

De acuerdo con Marcela Franco en su tesis doctoral (2008) los actinomicetos, son ciertos microorganismos clasificados como bacterias presentes y distribuidos considerablemente en la gran mayoría de los sustratos naturales, pudiendo encontrar casi todos los tipos de estos organismos en el suelo, siendo su concentración de  $10^6$  UFC  $\cdot$  g<sup>-1</sup> en suelos fértiles. Sin embargo, bajo condiciones extremas comienzan a disminuir levemente su densidad poblacional. Se ha identificado a algunos de los géneros de los actinomicetos como fijadores de nitrógeno atmosférico, incluso se les ha clasificado como agentes de biocontrol por su capacidad de producción de enzimas biodegradativas como la quitinasas, glucanasas, peroxidasas involucradas en el micoparasitismo que llevan a cabo estos microorganismos. [5]

Con ello, podemos deducir que el grupo de microorganismos identificados como actinomicetos forman parte de la rizosfera, y una parte esencial tomando en cuenta la alta densidad poblacional presente en suelos fértiles, además de su actuación (principalmente metabólica) como fijadores de nitrógeno y microorganismos de biocontrol que los actinomicetos. Por ende, hablamos de Bacterias Promotoras de Crecimiento.

### Justificación

Entendemos como una actividad forestal mediante la cual se busca resembrar o repoblar con bosque o árboles una zona que ha perdido su foresta, es decir sus plantas. Esta acción es una necesidad que año con año adquiere un mayor grado de importancia a casusa debido a las grandes tasas de deforestación. Pero el problema principal existente en este proceso después de la falta conciencia social para disminuir la explotación del recurso, es el enfoque con el que se trata la reforestación, ya que en vez de trabajar por la calidad y eficiencia del crecimiento y salud de las plantas sembradas se busca repoblar con el mayor número de plantas posibles aun y cuando las plantas no sean sanas. Esta actividad forestal requiere de mucha atención principalmente en los aspectos de mejoramiento de la semilla y en el cuidado de las plántulas en el vivero y así incrementar las probabilidades de éxito en los programas de reforestación

### Objetivo

Determinar la eficiencia de actinomicetos identificados como PGPR utilizados en el mejoramiento de semillas para su uso en la reforestación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de investigación y docencia 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 de suelo y Aislamiento de cepas

Se realizó la toma de suelo en el área natural protegida en Sierra de los Agustinos, Tarimoro Guanajuato. Al ubicar los árboles maduros, se dispuso a recolectar de tres a cuatro palas de tierra de la base del árbol: esto se realizó en cinco ocasiones distintas a diferentes alturas del cerro. Finalmente, la tierra se vació sobre charolas de plástico durante una semana aproximadamente para que secase.



1.1 Muestreo de tierra de encino en el Área Natural Protegida "".

Para el aislamiento de las bacterias promotoras de crecimiento:

- Preparación de medio ACC (Dworkin-Foster, 1958)

Se elaboró una solución en agua destilada con las sales (g/L) 4g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 6g NAHPO<sub>4</sub>, 0.2g MgSO<sub>4</sub>, 70micro g MgSO<sub>4</sub>, 10micro g MoO<sub>3</sub>, MnSO<sub>4</sub> y H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 50micro g CuSO<sub>4</sub>, 1mg FeSO<sub>4</sub> y los compuestos orgánicos (p/v) glucosa al 0.2%, ácido gluónico al 0.2%, ácido cítrico al 0.2% y agar bacteriológico al 2%, complementado con ACC desaminasa 3mM, se esterilizó y se vació en cajas Petri.

- Aislado de bacterias

Se preparó una dilución de la tierra recolectada con agua estéril 1 a 10 (esto se realizó por separado con dos de los puntos muestreados). Al tener las soluciones preparadas y previamente agitadas por 30 minutos se sembraron cinco cajas con cada una de las muestras por medio de una espiral de aislamiento. Para concluir se realizó un conteo de colonias por placa y posteriormente se resembro cada colonia por medio de picadura en medio ACC.

**1.2 Aquí se muestra la manera en que fue dispuesto el medio ACC para la resiembra de los actinomicetos de ciruelillo.**

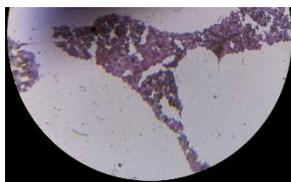


## Identificación de bacterias

Al tener las colonias de bacterias desarrolladas en dentro de los cuadrantes, se reanudó el experimento sembrando cada una de las colonias ya desarrolladas a las 48 horas, en medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar) durante un periodo de 4 días para su posterior caracterización morfológica con la finalidad de nombrar y diferenciar a cada una de las bacterias halladas e incubadas.

Fueron 20 las bacterias utilizadas en la investigación, las cuales ya habían sido recolectadas y aisladas anteriormente con los métodos mencionados. Se recolectaron las muestras de "Las Cruces" en el Cerro del Culiacán de los árboles Ciruelillo.

Para concluir esta etapa, se observaron las colonias en el estereoscopio. Además, se tiñeron las cepas por medio de Tinción Gram para reconocer el tipo de organismo que eran; determinando así su naturaleza como Actinomicetos.



**1.3 Bacteria 258 Tinción Gram**

## Inoculación y siembra de semillas

Se preparo medio de cultivo líquido de papa que se dispuso en cantidades de 15 mL en tubos fálcon donde se realizó la siembra de las bacterias. Se midieron 21 frascos con medio para las semillas de rábano y 21 frascos para las de lenteja; 20 para cada sepa y uno para el control. Las bacterias inoculadas en el medio al igual que el control se incubaron por 24 horas y posteriormente se le añadieron las quince semillas de rábano a los tubos correspondientes y 25 de lenteja de igual manera a los frascos que les correspondía. Al añadir las semillas a los tubos éstos se agitaron durante media hora prosiguió el procedimiento

al traspasar las semillas a cajas Petri para su monitoreo.



**1.4 Semillas sembradas de rábano inoculadas con la cepa 263**

Finalmente se repitió el proceso de inoculación del medio líquido con las cepas, seguidamente se impregnaron 10 semillas para ambas plantas de la misma forma durante media hora, sin embargo, las semillas se plantaron en charolas de germinación con sustrato Peat Moss recuperando el medio en el que se encontraban las semillas.

Posteriormente cada tubo de medio recuperado se aforo a los 15 mL con agua destilada añadiendo 1 mL del aforado a cada planta inoculada con la cepa respectiva para su segunda inoculación mediante el riego con las bacterias en el medio, esto a las 24 horas de haberlas sembrado.

## Confrontación Hongo-Bacteria

Se dispusieron 4 cajas Petri con medio de papa PDA para cada tipo de hongo que se probó; Fox, Alternaria y Bipolaris. Para esta fase de la investigación se cortaron 4 fragmentos circulares de las colonias de cada uno de los hongos, estos se dispusieron en el centro de una placa con PDA y se dejaron incubar hasta que llegaron de los 3.5 a los 5 centímetros de diámetro, luego se sembraron cuatro cepas por caja, tomando como referencia los extremos de los puntos cardinales de la caja.

**1.5 Confrontación Hongo-Bacteria con Bipolaris**



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

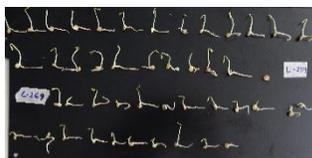
Durante el día 5 de la germinación de semillas de rábano y en el día 4 para las semillas de lenteja dispuestas en las placas, se continuó la

investigación con la medición de raíces de las plantas para determinar el crecimiento promedio que obtuvieron con cada cepa y hacer la comparación con el control.



**1.6 Crecimiento de raíz de rábano inoculado con la cepa 263 vs control.**

**1.7 Medición de raíces de lenteja inoculadas con la cepa 254 y 269.**



Con estos procesos experimentales, se logró identificar las mejores bacterias candidatas como promotoras de crecimiento que pueden utilizarse para la reforestación, basándonos en el porcentaje de germinación y el porcentaje de crecimiento de raíces. De igual manera se han determinado las bacterias con mayor eficiencia en la inhibición de hongos por medio de la confrontación.

Bacterias potenciales en programas de reforestación					
Cepa	% Ger. Rab.	% Ger. Lent.	%Crec. Rab.	%Crec. Lent.	Cepa Selec.
121	100%	100%	3.22 cm	2.04 cm	/
125	100%	96%	3.02 cm	1.72 cm	/
210	100%	100%	4.32 cm	2.82 cm	SI
258	100%	100%	4.62 cm	3.32 cm	SI
263	100%	96%	5.6 cm	2.5 cm	/
265	100%	100%	4.25 cm	2.49 cm	SI
266	100%	96%	3.1 cm	2.3 cm	SI
302	100%	96%	4.1 cm	3.089 cm	SI

Bacterias potencialmente inhibidoras de hongo			
Número	Nivel de inhibición		
	Cepa/Hongo	Bopolaris	Alternaria
258	Alto	Alto	Medio
302	Alto	Alto	Medio
303	Medio	Alto	Alto
304	Alto	Alto	Medio

De acuerdo con la asociación “Vida Sana” en sus reportes “Microorganismos del suelo y biofertilización” la fijación de nitrógeno por medio de bacterias en simbiosis tiene mayor efecto que por medio de bacterias libres. Habla también de las Rhizobium como principales simbiosis en leguminosas.

Sin embargo, es factible agregar a sus anotaciones el efecto de los actinomicetos en el desarrollo de las plantas ya que si bien las Rhizobium son simbiosis propios de leguminosas los microorganismos como actinomicetos generan fácilmente un vínculo con las plantas inhibiendo el crecimiento de

hongos fitopatógenos y acelerando el proceso de crecimiento, además del mejoramiento de las raíces por medio del aumento de pelos radiculares.

## CONCLUSIONES

Las Bacterias Promotoras de Crecimiento actinomicetos, son biofertilizantes que además de aportar nutrientes a la planta y promover su crecimiento, le permiten a la planta disminuir el crecimiento de hongos patógenos por lo cual, son una aplicación perfecta para el mejoramiento de semillas en los procesos de reforestación de bosques.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al programa de Veranos UG por permitirme experimentar esta vivencia que me he visto inmerso en el mundo de la ciencia y la investigación, de igual manera le doy gracias a la Dra. Blanca Estela Gómez Luna por su confianza y acompañamiento dentro de este su proyecto.

## REFERENCIAS

- [1], [2] Escalona Aguilar, M. A., Hernández Montiel, L. G., (2003). Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR. La ciencia y el hombre, 16(1). Recuperado de <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol16num1/articulos/microorganismos/micro.htm>
- [3] Camelo, R. M., Vera, M. S., Bonilla, B. R., (2011). Mecanismos de Acción de las rizobacterias Promotoras de crecimiento vegetal. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 12(2), p. 160. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/4499/449945031010/>
- [4] Camelo, R. M., Vera, M. S., Bonilla, B. R., (2011). Mecanismos de Acción de las rizobacterias Promotoras de crecimiento vegetal. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 12(2), p. 161. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/4499/449945031010/>
- [5] Franco Correa, M. (2008). Evaluación de caracteres PGPR en Actinomicetos e Interacciones de estas Rizobacterias con Hongos Formadores De Micorrizas. Granada: Editorial de la Universidad de Granada.