

EFFECTO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO DEL DESARROLLO VEGETAL DE BACTERIAS DE SUELO DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA CERRO DEL CULIACÁN, GUANAJUATO

Martín Aguilar, Jeconías Salatiel (1), Gómez Luna, Blanca Estela (2),
Veloz García, Rafael Alejandro (2)

1 [Ingeniería Agronómica en Sistemas de Producción Agrícola, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.]
[maraguilar13@hotmail.com]

2 [Ingeniería agroindustrial, Ciencias de salud e ingenierías, Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato][bgomezl2000@yahoo.com.mx][be.gomez@ugto.mx][alejandrovloz@hotmail.com]

Resumen

El estudio y la conservación de áreas protegidas es de suma importancia para mantener el equilibrio mitigando efectos producidos por actividades humanas. El estudio de microorganismos de zonas protegidas entre ellas las PGPR por sus siglas en inglés (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) que son bacterias promotoras de crecimiento de plantas es de mucha importancia en la búsqueda de alternativas biotecnológicas para la producción agrícola debido a la creciente demanda de los consumidores que cada vez son más exigentes en el uso de agroquímicos. En este trabajo se realizó la evaluación de la capacidad promotora de crecimiento y desarrollo de plantas de rábano (*Raphanus sativus*) de PGPR aisladas con medio con actividad ACC (1- ácido carboxílico, -1- aminociclopropano) desaminasa, el suelo utilizado proviene del área protegida cerro del Culiacán, extraído en la rizosfera de plantas de encino (*Quercus rugosa*). Se evaluaron porcentajes de germinación y desarrollo de la planta hasta 4 semanas después de siembra, también la evaluación la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenas, la mayoría de las cepas aceleraron la germinación de las semillas. Las cepas 254, 275, 256, 304, 225 y 113 aumentaron la longitud de raíz y la mayoría de hongos fueron inhibidas por las 10 cepas evaluadas.

Abstract

The study and conservation of protected areas is of utmost importance to maintain balance by mitigating effects produced by human activities. The study of microorganisms in protected areas, including PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), which are bacteria that promote plant growth, is of great importance in the search for biotechnological alternatives for agricultural production due to the growing demand for Consumers who are increasingly demanding in the use of agrochemicals. In this work the evaluation of the growth and development promoter capacity of radish plants (*Raphanus sativus*) of PGPR isolated with medium with ACC activity (1-carboxylic acid, -1-aminocyclopropane) deaminase was carried out, the soil used comes from the area protected hill of Culiacán, extracted in the rhizosphere of oak plants (*Quercus rugosa*). Germination percentages and development of the plant were evaluated up to 4 weeks after sowing, also the evaluation of the ability to inhibit the growth of phytopathogenic fungi, most of the strains accelerated the germination of the seeds. Strains 254, 275, 256, 304, 225 and 113 increased root length and most fungi were inhibited by the 10 strains evaluated.

Palabras Clave

Suelo, PGPR, rizobacterias, área protegida

INTRODUCCIÓN

El hombre a lo largo del tiempo ha ido modificando el estado de los suelos tanto en el paisaje como la pérdida de la biodiversidad. El avance de la frontera agrícola, el crecimiento poblacional, actividades mineras entre otras, han sido las causantes de la degradación de ecosistemas naturales, por tal razón el Ejecutivo del Estado de Guanajuato ha denominado y asignado áreas protegidas con el fin de garantizar la preservación y conservación del patrimonio natural y asegurar el aprovechamiento sustentable y disponibilidad de los recursos naturales en dicho estado [1]. Las áreas naturales vistas como un sistema, todos sus componentes bióticos y abióticos cumplen funciones específicas dentro del sistema, creando ciclos biogeoquímicos lo que mantiene estable el sistema [2], es por ello la necesidad de estudiar algunos factores o componentes del sistema natural como son los microorganismos del suelo debido a su gran diversidad, esto para que en un futuro sea aplicable en un agrosistema y reducir el impacto por la producción tradicional. Cabe destacar que el área de estudio es el área protegida del cerro del Culiacán, con vegetación predominante de encino (*Quercus rugosa*), bosque tropical caducifolio y matorral crasicaule.

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) por sus siglas en inglés (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), son organismos del suelo que se asocian con plantas para ayudarse mutuamente en su mayoría presentes en sistemas naturales, las rizobacterias constituyen una alternativa biotecnológica para la producción agrícola debido a sus diferentes efectos en las plantas tanto por mecanismos Directos como Indirectas, el primero es la capacidad que tienen las PGPR de sintetizar metabolitos reguladores de crecimiento vegetal o fitohormonas, también en la fijación de ciertos nutrientes del entorno para facilitar su aprovechamiento por las plantas [3,4] y el mecanismo indirecto es la capacidad que tienen las PGPR de inhibir parcial o totalmente el crecimiento de organismos fitopatógenas que causan enfermedades a las plantas [3]. Por los beneficios anteriores de las PGPR se han empezado a estudiar en el área agrícola, debido a la creciente presión de los consumidores en contra de los agroquímicos que, por los efectos del uso irresponsable de los mismos, los mercados internacionales han restringido su uso [5].

Se ha demostrado en algunos estudios que las PGPR producen fitohormonas del tipo auxinas, citoquininas y giberelinas, también la fijación de Nitrógeno, fosfatos y degradación de minerales [6,7]. Casi no existe ensayos sobre el uso de las PGPR en desarrollo de plantas de tipo hortícola, por ello se realizó un ensayo en plantas de rábano (*Raphanus sativus*) con el objeto de evaluar el efecto promotor del desarrollo vegetal de las bacterias aisladas, provenientes del cerro del Culiacán.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías del Campus Celaya- Salvatierra, Cede Mutualismo de la Universidad de Guanajuato.

Aislamiento y purificación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Las muestras de suelo utilizadas fueron tomadas en la zona radical de árboles de encino (*Quercus rugosa*) perteneciente al área natural protegida del cerro del Culiacán ubicado en las coordenadas 20°22'00" latitud norte, 100°55'00" longitud oeste y una altitud sobre el nivel del mar de 2,830 metros. Para realizar las diluciones se seleccionaron 3 muestras de tres puntos de muestreo diferentes, la dilución final de suelo/agua se realizó a 1E-2 g/ml. Con las diluciones se inocularon cajas petri utilizando el equipo *Automated Spiral Plater* 4000, con medio selectivo para actividad de la enzima ACC (1- ácido carboxílico, -1-aminociclopropano) desaminasa esto con el fin de aislar rizobacterias de otras bacterias del suelo. El medio de cultivo contiene 4 g/L KH_2PO_4 , 6 g/L NaHPO_4 , 0.2 g/L MgSO_4 , 1 mg/L FeSO_4 , 10 $\mu\text{g/L}$ H_3BO_3 , 10 $\mu\text{g/L}$ MnSO_4 , 50 $\mu\text{g/L}$ CuSO_4 , 10 $\mu\text{g/L}$ MoO_3 , 70 $\mu\text{g/L}$ ZnSO_4 , glucosa 0.2%, ac. glucónico 0.2%, 0.2%, agar bacteriológico al 2% y ACC 3mM/L (SIGMA). Después de incubados a una temperatura de 28°C durante 72 h se seleccionaron colonias para su purificación en medio PDA (Papa Dextrosa Agar) utilizando estría cruzada,

se incubo a 28°C nuevamente durante 72 h, de nuevo se seleccionaron colonias para caracterizarlas con la tinción de Gram, al final se obtuvo 100 cepas.

Prueba de desarrollo de plantas

Se utilizó 10 semillas de rábano (*Raphanus sativus*) evaluando 10 cepas de las aisladas en el inciso anterior y un control con caldo papa y dextrosa. Los anteriores se inocularon en tubos con 25ml de extracto de papa y dextrosa en cámara de flujo laminar, después se incubaron a 28°C durante 96 h, posteriormente los tubos se colocaron en agitación en lapso no menor a 30 minutos en agitador orbital. Una de las pruebas indispensables antes de la siembra de cualquier cultivo es la prueba de germinación para ello se realizó la inmersión de 10 semillas en el caldo con bacterias desarrolladas, nuevamente se colocaron en agitación durante 30 minutos y se sembraron en placas con papel húmedo debidamente esterilizado. Para la siembra del rábano se preparó sustrato con peat moss y suelo de jardín a una relación 1:1, las semillas fueron sembradas a una profundidad aproximadamente 3 veces el diámetro de estas en charola de germinación, una semilla por cavidad. Se aplicaron los aislados o cepas con pipeta en cada fila de la charola asignada para cada cepa.

A los 12 días se trasplantaron las plantas en recipientes individuales de plástico, a partir de este paso se empezó la toma de datos de altura de la planta realizando una por semana. Para la toma de datos finales se optó por el método destructivo, las variables son: altura de raíz, altura aérea, peso fresco de raíz, peso fresco de la parte aérea y el respectivo peso seco. Adicional a las pruebas anteriores se realizó una prueba más para evaluar el mecanismo indirecto de las cepas, se colocaron 8 hongos fitopatógenas en placas individuales, después de 48 horas se realizó la confrontación con las cepas de bacterias en estudio, se evaluó el nivel de inhibición de cada cepa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de germinación

Los datos de esta prueba se tomaron a los 6 días después de la siembra en placas estériles y los resultados fueron contrastantes respecto a control (agua), la mayoría de las cepas tuvieron un porcentaje de germinación de 90-100% mientras que el control fue de 70% (véase tabla 1). Un dato importante es que en el segundo y tercer día hubo germinación de la mayoría de las semillas con tratamiento, mientras que el control fue escaso, esto podría tratarse que las cepas aisladas producen alguna fitohormona del tipo de las giberelinas lo que aceleró el proceso de germinación del embrión, para afirmar lo anterior se debe realizar una prueba que confirme que las cepas estudiadas efectivamente producen esta fitohormona.

Prueba de desarrollo de plantas

Esta prueba indica el nivel de desarrollo de las plantas tanto radicular como foliar tratadas con las PGPR, los datos indican que las cepas no tienen efecto alguno en la promoción del crecimiento ya que la biomasa total no aumentó. Con respecto a las mediciones de longitud de raíz parece ser que las cepas seleccionadas si tienen efecto positivo ya que 6 de las 10 cepas lograron aumentar la longitud de la raíz principal (véase tabla 1). Las cepas 254, 275, 256, 304, 225 y 113 en orden descendente de desarrollo de raíz.

Prueba del mecanismo indirecto de las PGPR (biocontrol)

La mayoría de las cepas evaluadas presentan inhibición ya sea total o media de la mayoría de los hongos seleccionados (imagen 1) y los hongos fitopatógenas *Phytophthora* y *Rhizoctonia* la mayoría de las cepas no inhibieron su crecimiento.

CONCLUSIONES

Las PGPR sin duda contribuyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas ya sea de una forma directa o indirecta, esta investigación refleja que las PGPR evaluadas algunas tienen efectos en la germinación, otras contribuyen en el aumento de longitud de raíz, sin embargo, la mayoría producen efecto de inhibición de hongos patógenos. La búsqueda de alternativas biotecnológicas para la agricultura tiene mucho camino por recorrer ya que son escasas las investigaciones de este tipo relacionadas principalmente con hortalizas como alimento humano.

También con esto se refleja la riqueza en diversidad de microorganismos en el área protegida del cerro del Culiacán, la importancia de su estudio y su conservación. Las áreas protegidas son zonas de mucha importancia no solo para este tipo de estudios, sino que mantienen también el equilibrio del gran sistema en que vivimos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco mucho a la universidad de Guanajuato por brindarme la oportunidad de realizar esta experiencia, a las personas que realizan todo el papeleo en especial a la licenciada Emma Reséndiz por estar al pendiente de todos nosotros.

Enormemente mi agradecimiento a la Dra. Blanca Gomez, asesora de la investigación por aceptarme en su laboratorio y compartir su conocimiento.

REFERENCIAS

- [1] Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (2018). Áreas naturales protegidas. 22 de julio del 2018. Recuperado de: <http://ecologia.guanajuato.gob.mx/sitio/areas-naturales-protegidas>
- [2] Willard, J. J. (1996). Programa de formación continua en educación ambiental para profesores y asesores de ciencias (1st ed). Bilbao: Los Libros de la Catarata; [S.l.]: Unesco. Pp. 22; 32-43
- [3] Gnanamanickam, S. S. (2007). Plant-Associated Bacteria- Plant Growthpromoting Rhizobacteria. (ed). Dordrecht, Netherlands: Springer. Pp 195-230.
- [4] Maheshwari, D. K. (2010). Plant Growth and Health Promoting Bacteria-Pant Growth Promoting Rhizobacteria Biocontrol Agents. Verlag, Berlin. Springer. Pp 211-231.
- [5] FAO. (2002). Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. 22 de julio del 2018. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s08.htm>
- [6] Bonilla G, M.A.(2005). Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la Cordillera Oriental de Colombia- Incidencia de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal PGPR & Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores. (1st ed.). Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Pp 151-177.
- [7] Reddy, M. S; Ila, R. I.; Faylon, P. S. (2014). Recent Advances in Biofertilizers and Biofungicides (PGPR) for Sustainable Agriculture. UK. Cambridge Scholars publishing. Chapter 2-10.

Tabla 1: Resultados de las pruebas de germinación y desarrollo de plantas de rábano.

Prueba de germinación		Prueba de desarrollo de plantas			
cepas	% de germinación	altura radical (cm)	altura foliar (cm)	peso seco radicular (g)	peso seco foliar (g)
control	70%	14.1	25.22	0.032	0.692
275	90%	16.5	21.2	0.042	0.51
304	90%	16.4	19.36	0.0142	0.24
264	100%	13.1	17.72	0.0046	0.146
113	90%	15.44	17	0.0084	0.118
265	90%	12.42	13.76	0.003	0.078
254	100%	20	15.72	0.001	0.09
225	100%	15.58	16.62	0.001	0.148
313	90%	13.2	14.4	0.0066	0.102
256	80%	16.46	13.7	0.001	0.076
302	100%	12.7	10.94	0.001	0.034

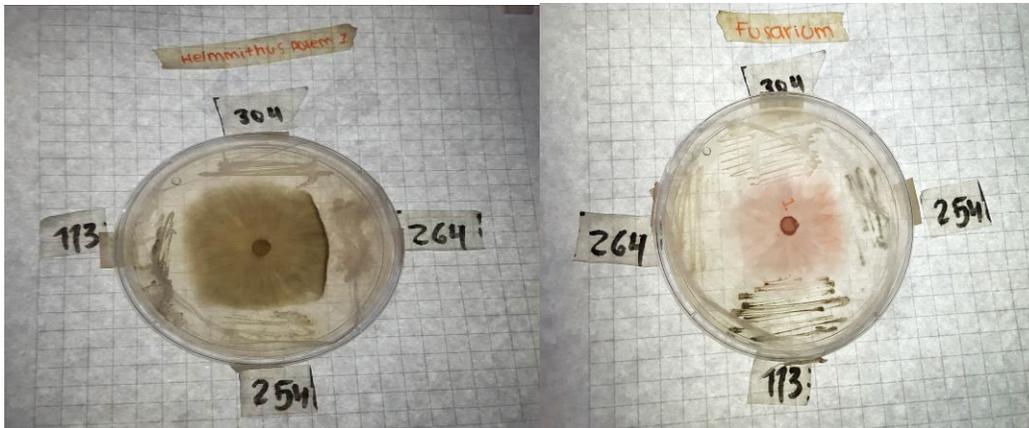


IMAGEN 1: Confrontación del hongo *Helminthosporium*, *Fusarium* y las cepas aisladas