

BACTERIAS DEL SUELO CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EN PLANTAS

Mosqueda Arreguin Nancy Guadalupe (1), Gómez Luna Blanca Estela (2), Díaz Pérez Cesar (2)

1 [Escuela de Nivel Medio Superior de Salvatierra, Colegio de Nivel Medio superior de la Universidad de Guanajuato]
[nanmosqueda040701@gmail.com]

2 [Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato] [bgomez12000@yahoo.com.mx][be.gomez@ugto.mx][cdp276@gmail.com]

Los agroquímicos utilizados en cultivos hace unos años eran una excelente manera de mejorar los cultivos pero su uso desmesurado los ha convertido en un problema, una de las alternativas es el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento (PGPR, por sus siglas en inglés) las cuales tienen un efecto benéfico en la germinación, desarrollo y crecimiento vegetal. Estas bacterias contribuyen al desarrollo de las plantas mediante mecanismos directos e indirectos que influyen positivamente en la raíz de la planta. Para este proyecto se hizo un muestreo de suelo de las áreas naturales protegidas los cerros de Culiacán y La Gavia, durante la investigación se aislaron cepas con actividad ACC desaminasa que se confirmaron con capacidad promotora de crecimiento de plantas. Se seleccionaron 25 cepas aisladas de los cerros de Culiacán y la gavia para caracterización, porcentaje de germinación de semillas de rábano y girasol gigante, confrontación con hongos fitopatogenos, y producción de sideroforos. Se encontró que efectivamente algunas cepas tienen impacto positivo en cuanto a la mejora de germinación y el bloqueo de hongos fitopatogenos.

Abstract

The agrochemicals used in crops a few years ago were an excellent way to improve crops, but their excessive use has made them a problem, one of the alternatives to possible solutions is the use of growth promoting rhizobacteria (PGPR, for its acronyms in English) that have a plausible effect on the germination, development and growth of plants. These bacteria contribute to the development of plants by direct and indirect means establishing among them a series of complex mechanisms that positively influence the root of the plant. During the investigation, soil samples were taken from the protected natural areas of the Culiacán and La Gavia hills. Strains with ACC (1-carboxylic acid, -1-aminocyclopropane) deaminase activity were isolated. Ability to promote the growth of plants. 10 isolates were selected, from the Culiacán and Gavia hills for characterization, germination percentage of giant radish and sunflower seeds, confrontation with phytopathogenic fungi and production of siderophores. It was discovered that, in fact, some strains have a positive impact in terms of improved germination and blocking of phytopathogenic fungi.

Palabras Clave

Rizobacterias; suelo; hongos; fitopatogenos.

INTRODUCCIÓN

La dinámica poblacional de la especie humana ha llevado a que la explotación de los recursos naturales, en búsqueda de suplir las necesidades alimenticias de los miles de millones de personas que habitan el planeta. Esta necesidad ha llevado a la utilización de materiales de alta eficiencia en la agricultura, variedades vegetales resistentes a plagas y enfermedades con ciclos de producción más cortos, agroquímicos que surten las necesidades nutricionales y provean protección frente factores bióticos adversos (plagas y enfermedades). Sin embargo, estas estrategias utilizadas en la agricultura moderna han generado impactos ambientales negativos que aún no comprendemos. Como alternativa a la utilización de estas sustancias, se ha propuesto el uso de bacterias rizosféricas que tienen reconocida acción sobre el crecimiento y desarrollo vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés). Estas bacterias son capaces de estimular el desarrollo de las plantas de manera directa e indirecta y poseen una serie de mecanismos complejos que interactúan entre sí para establecer relaciones benéficas, especialmente con las raíces de las plantas objetivo. [1]

Kloepper definió en 1978, a las bacterias de vida libre, encontradas en la rizosfera de las plantas como Rizo-bacteria Promotora del Crecimiento Vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés, que viene de la denominación Plant Growth Promoting Rhizobacteria) éstas demostraron ser organismos altamente eficientes para aumentar el crecimiento de las plantas e incrementar sus defensas frente a otros microorganismos causantes de enfermedades. Uno de los requerimientos más importantes para que una bacteria sea considerada como PGPR es el tiempo de permanencia en la rizosfera después de la inoculación. Una población introducida que declina rápidamente en el tiempo, tendrá una baja habilidad de competencia con la flora nativa. Otra característica, no menos importante, es la posibilidad de colonizar la superficie de las raíces para ejercer un efecto fisiológico directo sobre el crecimiento de las plantas. Por último, que esas PGPR utilizadas no provoquen daño ni al suelo, ni a las plantas, ni a los animales y al hombre. [2]

Este tipo de bacterias abundan en las las Áreas Naturales Protegidas las cuales son las zonas del territorio nacional y aquellas sobre las que la nación ejerce su soberanía y jurisdicción en donde los ambientes originales no han sido significativamente alterados por la actividad del ser humano o que requieren ser preservadas y restauradas.

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 de la Universidad de Guanajuato.

Muestreo del suelo

Se hizo un muestreo tomando cuatro puntos de suelo del área natural protegida en Guanajuato como son los Cerros del Culiacán y la Gavia, los cuales alcanzan una altitud sobre el nivel del mar de 2,830 y 2,400 metros respectivamente y su localización esta en los municipios de Celaya, Cortazar, Jaral del Progreso y Salvatierra.

Aislamiento, purificación y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento en plantas.

Para realizar el aislamiento de las cepas utilizadas del suelo primero se prepararon botellas con 90 ml de agua estéril en las que posteriormente se agregaron 15 gr de suelo. Seguido de eso se colocaron en agitación 150 minutos y después se dejaron sedimentar media hora. Se preparó el medio ACC desaminase (1 – Amino – Ciclopropano – 1 – Carboxilato, (Dworkin, M y Foster, J. W, 1958), se preparó con: 4 g de KH_2PO_4 , 6 g de NaHPO_4 , 0.2 g de MgSO_4 , 1 mg de FeSO_4 , 10 mg de H_3BO_3 , 10 mg de MnSO_4 , 50 mg de CuSO_4 , 10 mg de MoO_3 , 70 mg de MgSO_4 , glucosa 0.2%, ácido glucónico 0.2%, ácido cítrico 0.2% y agar bacteriológico al

2% y ACC 3mM (SIGMA) como única fuente de nitrógeno, según las indicaciones de Penrose y Glick, 2003. Después se incubaron por 24 h a 28°C y se observó si la bacteria había logrado crecer bajo tales condiciones, lo que indicaría que fue capaz de producir la enzima ACC desaminasa. Las bacterias que efectivamente presentaron actividad ACC desaminasa se purificaron en medio PDA (Papa Dextrosa Agar) [3] por la técnica de estría cruzada y al final se volvieron a inocular en medio ACC para confirmar lo antes visto. Se procedió a realizar la tinción de Gram a los aislados para su caracterización.

Prueba de germinación

Las 10 cepas seleccionadas se inocularon en tubos falcon con 10 ml de caldo de papa y al mismo se agregaron 10 semillas de rábano (*Raphanus sativus*) que posteriormente fueron colocadas en cajas Petri de vidrio anteriormente preparadas con toallas húmedas de papel. Cuando germinaron se calculó el porcentaje y se comparó la radícula de las semillas germinadas de las cepas con las radículas de las plantas de control.

Prueba de control biológico

Las mismas cepas seleccionadas para la prueba de germinación, fueron seleccionadas para utilizarse en la prueba de antibiosis contra hongos fitopatógenos, estos fueron *Fusarium sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Rizoctonia sp.*, *Phytophthora sp.*, *Helminthosporium sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Bipolaris sp.* y *Alternaria sp.* Ésta prueba se realizó en placas de PDA a temperatura ambiente por 24 hrs, se monitoreo y tomaron datos cada 24 hrs por una semana.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad ACC desaminasa y caracterización

Gracias a un medio selectivo se aislaron las 10 cepas que se utilizaron en las pruebas posteriores.

En el total de las 10 cepas el 6 cepas se caracterizaron como Gram positivo y como Gram negativo apreciándose en su mayoría bacterias de tipo bacilo como se observa en la imagen 1.

Prueba de germinación

La prueba de control tuvo una germinación del 70%; por otro lado todas las demás semillas inoculadas tuvieron una germinación arriba del 80%. El 40 % de las cepas consiguieron el 100 % de germinación, estas fueron la 254, 302, 225 y 109. Otra característica fue que el 50 % de las semillas inoculadas la raíz creció más a comparación del control y también presentaron mayor desarrollo de pelos radiculares.

Prueba de control biológico

Las pruebas de confrontaciones entre hongos fitopatógenos y bacterias arrojaron los siguientes resultados:

El 90% de las cepas tuvieron una inhibición total o significativa del hongo *Helminthosporium sp.* El 90% de las cepas no tuvo ningún o casi ningún efecto inhibitorio contra el hongo *Phytophthora sp.* El 80% de cepas pudo contrarrestar el crecimiento del hongo *Alternaria sp.* Con *Colletotrichum* el 50% de las cepas lo contuvo total o muy significativamente mientras que el otro 50% solo lo hizo parcialmente. El 30% de cepas confrontadas con

el hongo *Rhizoctonia sp.* Lograron una inhibición parcial del mismo mientras que el 70% restante no tuvo efecto de inhibición. El 10 % de las cepas inhibió totalmente al hongo *Fusarium sp.* Mientras que el 70% lo hizo parcialmente. El 60% de las cepas confrontadas con el hongo *Bipolaris sp* resultaron ser buenas inhibidoras de este. Finalmente el 50% de las cepas lograron contrarrestar parcialmente al *Fusarium oxisporum*.

CONCLUSIONES

La relación bacteria-planta con este tipo de rizobacterias, es de ayuda mutua pues para que la planta pueda beneficiarse de la bacteria la primera le tiene que proporcionar un ambiente adecuado donde pueda crecer y desarrollarse y a cambio de esto la bacteria le da a la planta un aumento de la cantidad de nutrientes a través de la solubilización de nutrientes que no están biodisponibles o en un estado químico que la planta no puede tomar y aporte de fitohormonas para el crecimiento.

En conclusión, las rizobacterias son efectivas como biofertilizantes y biofungicidas colaborando al desarrollo agrícola y al mismo tiempo colaborando al ambiente al hacer posible la reducción de fertilizantes y plaguicidas químicos que contaminan. Además de tener potencial para recuperar y proteger las áreas naturales protegidas del estado.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a la Universidad de Guanajuato por darme la oportunidad de realizar este verano que fue de gran aprendizaje para mí, agradezco también a mis compañeros de trabajo que siempre estuvieron para apoyarme así como mi asesora la Dra. Blanca Estela Gómez Luna y mi familia.

REFERENCIAS

- [1] Mauricio Camelo R., S. P. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 159-166. Recuperado de: <http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/view/227>
- [2] Bach, T., Díaz, M., Ferreira, A., Laurent, A. (2007). Estudio de las características de promoción Del desarrollo vegetal de *Pseudomonas fluorescens* utilizada en el biofertilizante Rizofos. VI Reunión Nacional Científico Técnica de Biología de Suelo. VI Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno, ISBN 978-950-665437-5. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. Recuperado de: <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/las-rizobacterias-promotoras-crecimiento-t40593.htm>
- [3] 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: muestra de bacteria de tipo bacilo, Gram negativo.



IMAGEN 2: se aprecia el crecimiento de un mayor número de pelos radiculares



IMAGEN 3: confrontación de un hongo fitopatogeno y cuatro rizobacterias