

Caracterización cualitativa de aislados bacterianos de suelo de la Sierra de los Agustinos

Lucero Alejandra Gonzalez Tejeda¹, Cesar Díaz Pérez¹, Rafael Alejandro Veloz García¹ y Blanca Estela Gómez Luna¹

¹División de Ciencias de la Salud e Ingenierías. Campus Celaya-Salvatierra. Universidad de Guanajuato
la.gonzaleztejeda@ugto.mx¹

Resumen

En la actualidad, el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal ha surgido como una alternativa para la aplicación de agroquímicos como biofertilizantes, aumentando la salud y productividad de los cultivos y disminuyendo el impacto ecológico en el suelo. No obstante, estos beneficios pueden verse afectados si las plantas no son capaces de resistir las condiciones ambientales y ecológicas de las regiones en las que se aplican. Debido a esto, las rizobacterias inducen el crecimiento y protección de la planta a través de diferentes mecanismos de acción como los mecanismos directos e indirectos, los cuales incrementan la disponibilidad de nutrientes, generan fitohormonas y reducen las enfermedades. En este trabajo, se evaluó la capacidad de producir sideróforos y ACC desaminasa en 52 cepas obtenidas del Área Natural Protegida “Sierra de los Agustinos”, de las cuales 35 pueden producir sideróforos y todas las cepas presentan actividad de ACC desaminasa. Estos aislados pueden ser utilizados en la formulación de biofertilizantes.

Palabras clave: rizobacterias; biofertilizantes; sideróforos.

Introducción

Actualmente, una de las problemáticas más importantes a nivel global es la disminución en los rendimientos de sistemas agrícolas, ya que de estos dependen la alimentación y el sustento económico de un gran número de países. Aunado a esto, el desgaste provocado por la agricultura intensiva y la aplicación desmedida de agroquímicos ha comenzado a comprometer la calidad de los ecosistemas, afectando la sustentabilidad y calidad de los suelos. Es por esto por lo que desde los últimos años se han estado desarrollando estrategias que permitan aumentar estos rendimientos a través de tecnologías ecológicas. Entre estos, destaca el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) como biofertilizantes, siendo estos una alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes minerales (Grageda y otros, 2018). Las rizobacterias inducen el crecimiento de las plantas y las protegen contra patógenos a través de mecanismos. Los mecanismos directos ayudan a mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo a través de la solubilización de minerales o a la producción de fitohormonas y los mecanismos de acción indirectos ayudan a la reducción de enfermedades a través de la producción de compuestos y a la estimulación de mecanismos de resistencia (Delgado y otros, 2021).

Enzimas como la 1-aminociclopropano-1-carboxilo, también conocida como ACC desaminasa, desempeña un papel en la regulación del etileno, el cual es una fitohormona gaseosa que se produce en la mayoría de las plantas y que media una amplia gama de respuestas y procesos de desarrollo, teniendo efectos estimulantes o inhibitorios sobre el crecimiento vegetal de acuerdo con sus concentraciones. Las PGPR son capaces de hidrolizar el ACC en α -cetobutirato y amoniaco, los cuales son compuestos más amigables para la planta y que ayudan a promover el crecimiento de las raíces (Sher y otros, 2013).

Los sideróforos son compuestos de bajo peso molecular y que contienen grupos como hidroxamatos y catecoles capaces de unir el hierro de manera reversible. Son secretados por las bacterias afectando la competitividad del suelo, pues inhiben el crecimiento de otros microorganismos gracias a su acción antimicrobiana, constituyendo así además un mecanismo de defensa frente al estrés abiótico (Benjumeda, 2017). El objetivo de este trabajo fue utilizar rizobacterias provenientes de una Área Natural Protegida (ANP) del estado de Guanajuato para evaluar su producción de sideróforos y ACC desaminasa.



Metodología

Se trabajó con una colección de 52 cepas bacterianas recolectadas de suelo del ANP Sierra de los Agustinos (20°13'24.2"N 100°42'29.1"W). Para determinar cualitativamente la producción de ACC desaminasa, se utilizó el medio selectivo Dworkin-Foster modificado por Penrose y Glick (Penrose y otros, 2001). Toda la colección se resembró en el medio Dworkin-Foster mediante estría en diagonal y las placas resultantes se incubaron a 30°C por siete días para observar el crecimiento de la biomasa bacteriana y verificar su capacidad de sintetizar ACC desaminasa. Esta metodología se realizó por triplicado.

Para la evaluación cualitativa de la producción de sideróforos, se utilizó la metodología descrita por Schwyn y Neilands para la preparación el medio CAS (Schwyn & Neilands, 1987). Los aislados bacterianos se sembraron por punción y las placas se incubaron a 30°C en oscuridad por siete días. Se realizaron triplicados y el cambio de coloración del medio a amarillo indica un resultado positivo. Se utilizó un vernier para medir la longitud de los halos producidos.

Resultados y discusión

El cambio de color del medio azul (#28667d por su código en hexadecimal) a amarillo (#d6d24d) es un indicativo de producción de sideróforos por los aislados bacterianos, debido a la eliminación del hierro presente en el medio por los sideróforos. Este cambio ocurrido en las cepas productoras de hidroxamatos provoca cambio en la coloración azul a un naranja-rojo (Pérez-Miranda y otros, 2007). Asimismo, se observó un incremento proporcional de la biomasa bacteriana respecto al diámetro de los halos, siendo 35 cepas las que destacan en este apartado (Figura 1.a-c).

Para la producción de ACC desaminasa, se observa un crecimiento positivo de toda la colección, visualmente fácil de distinguir debido al color transparente del medio selectivo y en el cual se observan las cepas con mayor producción de biomasa bacteriana (Figura 1.d). De estos aislados, destacan 5 cepas (401, 404, 417, 421 y 423) por encima del resto de la colección, pues éstas presentan una alta producción de biomasa bacteriana y sus halos formados tienen un diámetro mayor a 1 cm. La presencia de la enzima ACC desaminasa en plantas favorece la tolerancia de estrés provocado por sequía, anegación, salinidad y presencia de metales pesados (Luna-Martínez y otros, 2013).

En la Tabla 1 se muestra el diámetro de las colonias y el halo para la producción de sideróforos y la biomasa para la producción de ACC desaminasa.



Tabla 1. Análisis de las pruebas de producción de sideróforos y ACC desaminasa.

Cepa	Producción de sideróforos		Producción de ACC desaminasa
	Diámetro de la colonia (cm)	Diámetro del halo (cm)	
400	1.167 ± 0.06	1.643 ± 0.07	*
401	1.117 ± 0.09	1.494 ± 0.09	**
402	S/P	S/P	*
403	1.777 ± 0.07	1.953 ± 0.03	*
404	1.380 ± 0.09	1.851 ± 0.13	**
405	1.111 ± 0.14	1.243 ± 0.06	*
406	1.521 ± 0.18	1.762 ± 0.05	*
407	0.614 ± 0.3	1.049 ± 0.04	*
408	0.461 ± 0.14	0.711 ± 0.05	*
409	1.346 ± 0.31	1.649 ± 0.08	*
410	1.860 ± 0.13	2.091 ± 0.12	*
411	S/P	S/P	*
412	2.132 ± 0.13	2.324 ± 0.25	*
413	0.518 ± 0.03	0.620 ± 0.03	*
414	1.820 ± 0.06	2.275 ± 0.25	*
415	0.517 ± 0.05	0.708 ± 0.09	**
416	0.391 ± 0.04	0.486 ± 0.06	*
417	1.222 ± 0.08	1.368 ± 0.05	**
418	0.347 ± 0.03	0.594 ± 0.04	*
419	S/P	S/P	**
420	S/P	S/P	*
421	2.011 ± 0.03	2.475 ± 0.23	**
422	0.278 ± 0.03	0.497 ± 0.05	*
423	0.887 ± 0.07	1.013 ± 0.03	**
424	0.520 ± 0.04	0.635 ± 0.05	**
425	S/P	S/P	*
426	1.577 ± 0.06	1.961 ± 0.05	*
427	1.769 ± 0.11	1.648 ± 0.16	*
428	1.135 ± 0.07	1.397 ± 0.02	*
429	S/P	S/P	*
430	S/P	S/P	*
431	1.552 ± 0.16	1.654 ± 0.09	*
432	S/P	S/P	*
433	S/P	S/P	*
434	0.483 ± 0.03	0.637 ± 0.04	*
435	0.683 ± 0.02	0.919 ± 0.03	**
436	S/P	S/P	*
437	S/P	S/P	*
438	0.585 ± 0.02	0.969 ± 0.03	*
439	S/P	S/P	*
440	1.747 ± 0.1	2.022 ± 0.21	*
441	0.939 ± 0.06	1.251 ± 0.05	*
442	S/P	S/P	*
443	S/P	S/P	**
444	0.189 ± 0.09	0.280 ± 0.03	*
445	1.044 ± 0.11	1.151 ± 0.06	*
446	1.026 ± 0.05	1.330 ± 0.08	*
447	S/P	S/P	**
448	S/P	S/P	*
449	S/P	S/P	**
450	1.795 ± 0.09	2.289 ± 0.23	*
451	1.609 ± 0.11	2.211 ± 0.17	*

S/P: Sin presencia; *: Producción media de biomasa; **: Producción alta de biomasa.
 Fuente: elaboración propia.



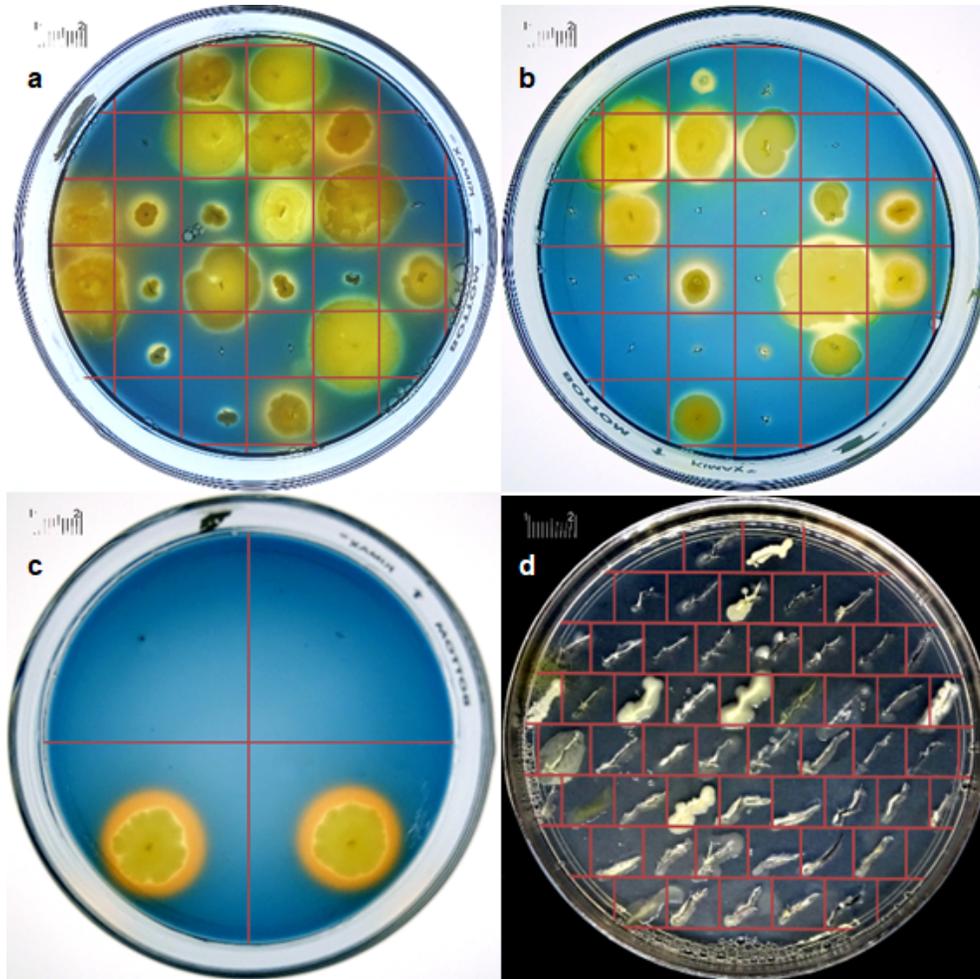


Figura 1. De izquierda a derecha y de arriba hacia abajo: Producción de sideróforos a) cepa 400 a la 423, b) cepa 424 a la 447, c) cepa 448 a la 451; Producción de ACC desaminasa d) cepa 400 a la 451.
Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

La capacidad de producción de sideróforos y ACC desaminasa está presente la gran mayoría de la colección obtenida de las Sierra de los Agustinos, destacando de ésta 5 cepas con una amplia producción de dichos compuestos. Estos aislados bacterianos puede poseer un potencial biotecnológico beneficioso en la aplicación de cultivos con dificultades de asimilar hierro y/o en su regulación de etileno, así como ser pieza clave para la formulación de alternativa a los fertilizantes químicos.

Agradecimientos

Este trabajo fue posible gracias a la Universidad de Guanajuato, la cual prestó sus instalaciones, equipos para el desarrollo de esta investigación, además de una beca de investigación otorgada.



Referencias

Benjumeda, D. (2017). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones [Trabajo de Fin de Grado en Farmacia]. Universidad de Sevilla.

Delgado, C. S., Hernández, R., & Sepúlveda, E. (2021). Rhizobacteria Associated with a Native Solanaceae Promote Plant Growth and Decrease the Effects of *Fusarium oxysporum* in Tomato. *Agronomy*, 11(3), 579. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030579>

Grageda, O. A., Díaz, A., Peña, J. J., & Vera, J. A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(6), 1261-1274. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i6.1376>.

Luna-Martínez, L., Martínez-Peniche, R. A., Hernández-Iturriaga, M., Arvizu-Medrano, S. F., & Pacheco-Aguilar, J. R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 63-69. <https://doi.org/10.35196/rfm.2013.1.63>

Penrose, D. M., Moffatt, B. A., & Glick, B. R. (2001). Determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) to assess the effects of ACC deaminase-containing bacteria on roots of canola seedlings. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(1), 77-80. <https://doi.org/10.1139/w00-128>

Pérez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio-Rivera, L. S., & Fernández, F. J. (2007). O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of Microbiological Methods*, 70(1), 127-131. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.03.023>

Schwyn, B., & Neilands, J. B. (1987). Universal CAS assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160(1), 47-56. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)

Sher, M. S., Muhammad, S. A., Muhammad, R., Zafar, I., & Muhammad, A. (2013). PGPR with varied ACC-deaminase activity induced different growth and yield response in maize (*Zea mays* L.) under fertilized conditions. *European Journal of Soil Biology*, 57, 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.04.002>

