

METODOLOGÍA PARA EL EMPLEO DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN LA BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

Resumen Ampliado

Autores: Annia Hernández¹, Mayra Heydrich¹, Marcia Rojas¹, Julia Manzano¹, Ivan Trujillo¹, Maria E. González² y Yanelis Acebo¹

(1) Facultad de Biología. Universidad de la Habana

(2) Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)

Resumen.

Una de las alternativas más prometedoras dentro del contexto agrícola mundial, lo constituye el uso de biopreparados a partir de microorganismos. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) se destacan por sus efectos beneficiosos tanto para las plantas como para los ecosistemas. Sin embargo, el nivel de conocimientos sobre las poblaciones microbianas asociadas a los cultivos y los factores que inciden en la interacción planta – bacteria, en la actualidad es escaso e incompleto, aspecto que se refleja en los resultados contradictorios y variables que se han obtenido con la aplicación de bioproductos. Este trabajo tiene como objetivos el establecimiento de nuevas metodologías para el aislamiento y caracterización de PGPB en la interacción planta –bacteria, así como el estudio de su repercusión en cultivos de importancia económica. Como resultados se logró establecer una nueva metodología que permite el aislamiento, identificación y rápida evaluación de PGPB de los géneros *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Azotobacter*, a través del uso de técnicas inmunoquímicas y de biología molecular, para lo cual fueron obtenidos nuevos antisueros hiperinmunes y se diseñaron e informaron por primera vez cebadores específicos para el diagnóstico de los microorganismos rizosféricos en estudio. Se demuestra que la aplicación de productos biológicos, a partir de cepas nativas eficientes en la estimulación del crecimiento vegetal y biocontrol de patógenos, en las cuales se conozca los verdaderos mecanismos de acción, permite obtener resultados con repetibilidad en el tiempo, factibilidad económica (ahorro de 25.5-26.93CUC en fertilizantes químicos y 83.25-166.43CUC en plaguicidas por hectárea), así como una mayor contribución al mejoramiento de los cultivos y al ecosistema potenciando el uso de técnicas biotecnológicas en la agricultura sostenible. Los resultados de este trabajo han sido aplicados en diferentes universidades y centros de investigación y producción relacionados con el tema.

Desarrollo

Una de las alternativas más prometedoras dentro del contexto agrícola mundial, lo constituye el uso de biopreparados a partir de microorganismos, utilizándose diferentes grupos microbianos para estos fines. Entre ellos, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) se destacan por sus efectos beneficiosos tanto para las plantas como para los ecosistemas. El efecto beneficioso de las PGPB se manifiesta a través de diferentes mecanismos de acción, entre los que se destacan el aumento en la toma de agua y nutrientes por la planta, la producción de fitohormonas y el control biológico de patógenos, dado fundamentalmente por la producción de sideróforos, la antibiosis y la inducción de resistencia en los cultivos contra un amplio espectro de plagas y enfermedades.

Sin embargo, el nivel de conocimientos sobre las poblaciones microbianas asociadas a los cultivos y los factores que inciden en la interacción planta – bacteria, en la actualidad es escaso e incompleto y este aspecto se refleja en los resultados contradictorios y variables que se han obtenido con la aplicación de bioproductos de origen bacteriano. Además, las técnicas utilizadas para el diagnóstico e identificación de

estos microorganismos requieren de largos periodos de tiempo, no resultando factibles desde el punto de vista económico. A partir de lo antes expuesto, se hace necesario estandarizar nuevos métodos de clasificación, rápidos y precisos, que permitan esclarecer algunos aspectos de la interacción planta-bacteria y que contribuyan a elucidar los verdaderos mecanismos por los cuales se ejerce su acción, así como trabajar con productos a partir de cepas nativas promisorias.

Para solucionar esta problemática se ha trabajado en el establecimiento de metodologías para el aislamiento, identificación y caracterización de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB), estandarizada en el cultivo del maíz y aplicable a otros cultivos de interés y géneros bacterianos. Así como en la selección de cepas nativas potencialmente eficientes, cuyos mecanismos de acción en la interacción planta - bacteria sean conocidos. También se trabajó en la introducción y generalización en la agricultura, de nuevos productos obtenidos a partir de estas cepas nativas.

Como resultado de este trabajo: Se estableció una nueva metodología que permite el aislamiento, identificación y rápida evaluación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal a través del uso de técnicas inmunoquímicas y de biología molecular (Anexo1). Dentro de estas metodologías se incluye la obtención de nuevos antisueros hiperinmunes con un alto título y especificidad para la detección de bacterias de los géneros *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Azotobacter*. Además, la estandarización de las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y de aglutinación en latex para el diagnóstico de microorganismos rizosféricos en condiciones naturales y controladas. Se diseñaron e informaron por primera vez cebadores específicos para el diagnóstico de microorganismos rizosféricos.

Se señalaron cuales eran los verdaderos mecanismos de acción en esta interacción, el papel de las rizobacterias como antagonistas y en la elicitación de respuestas de defensa en la planta. En este sentido, se demostró que las cepas autóctonas de *Pseudomonas fluorescens* J-143 y *Burkholderia cepacia* 0054 ejercen efecto antagónico ante los hongos patógenos de la caña de azúcar *Fusarium sp.* y *Curvularia sp.*, y ante el patógeno del maíz *Fusarium verticillioides*, lograndose en todos los casos inhibir del 95 al 100% el crecimiento de los patógenos. Se esclareció el papel rector de los metabolitos activos, producidos por las cepas bacterianas, en este mecanismo a través del cual se efectúa el biocontrol.

Se establecieron nuevos modelos estadísticos para el estudio de la rizosfera, la selección de cepas eficientes en la promoción del crecimiento vegetal y en el biocontrol de patógenos, demostrándose la eficiencia de los productos de origen bacteriano en estos mecanismos de acción, con un papel rector en la inducción de resistencia a la planta en los sistemas planta-patógeno tomate – *Botrytis cinerea*, frijol- *Colletotricum lindemuthianum*, maíz-*Fusarium verticillioides*, Gladiolos- *Fusarium oxysporum* y café- *Capnodium sp.*

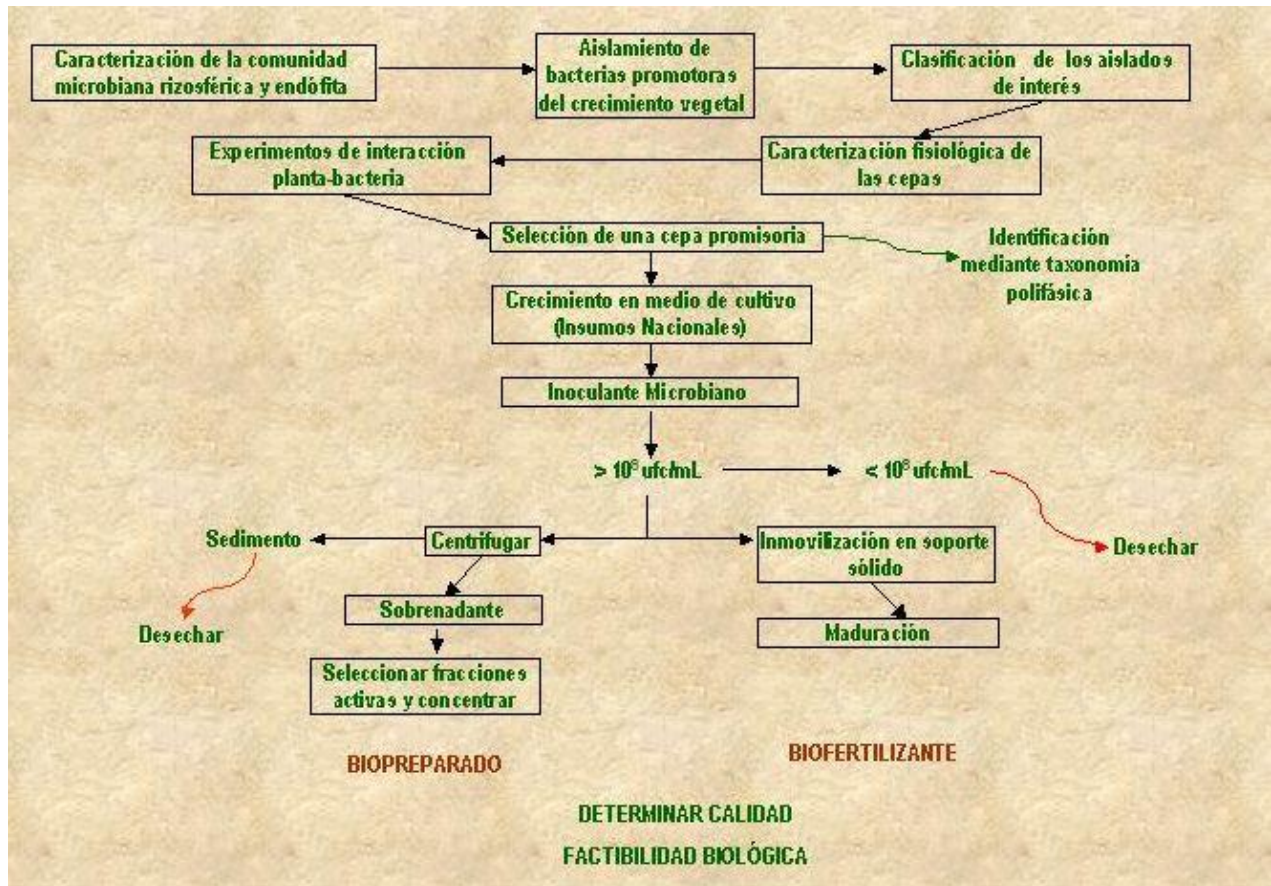
Se diseñó una nueva metodología para la producción de biopreparados a partir de metabolitos activos de origen bacteriano (Anexo 1), obteniéndose productos naturales efectivos en la estimulación del crecimiento vegetal y biocontrol de patógenos en diferentes cultivos de importancia económica, demostrándose también su factibilidad en estudios de producción de plantas por vía biotecnológica, lo que demuestra su efectividad en la promoción del crecimiento de los cultivos. Esta metodología incluye un nuevo procedimiento a seguir para la optimización de medios de cultivo, utilizando insumos nacionales que permiten un ahorro de \$49.18 Moneda Nacional y 1.689 CUC por cada 35 L del biopreparado.

En este trabajo se demostró además, que la aplicación de productos biológicos, a partir de cepas nativas potencialmente eficientes, en las cuales se conozca los verdaderos mecanismos de acción, permite obtener resultados con repetibilidad en el tiempo, factibilidad económica (Anexo 1) y ecológica, así como

una mayor contribución al mejoramiento de los cultivos y al ecosistema potenciando el uso de técnicas biotecnológicas en la agricultura sostenible.

Los resultados de este trabajo han sido aplicados en diferentes universidades y centros de investigación relacionados con el tema. Entre las universidades se destacan la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana; la Facultad de Agronomía de la Universidad de Matanzas; Facultad de Agronomía de Guantánamo; la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria de La Habana y Facultad de Agronomía de Ciego de Ávila. Los resultados se encuentran aplicados además, en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA); el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Instituto de Investigaciones del Arroz (IIA), el Instituto de investigaciones de Fruticultura y la Agricultura Tropical (INIFAT) y la Empresa Tropiflora.

Anexo 1. Metodología para el empleo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la Biotecnología Agrícola



Análisis económico

Tabla 1. Análisis económico para la producción de 35 litros de biopreparado, utilizando un medio de cultivo diseñado a partir de insumos nacionales (Medio Sp)

| Partidas | Medio King B | | Medio Sp | | Ahorro | |
|-------------------|--------------|------|----------|------|--------|------|
| | MN | MLC | MN | MLC | MN | MLC |
| Gastos Directos | 131.64 | 3.20 | 106.80 | 1.51 | 24.84 | 1.69 |
| Gastos Indirectos | 129.00 | | 104.66 | | 24.34 | |
| Total de Gastos | 260.64 | 3.20 | 211.46 | 1.51 | 49.18 | 1.69 |

Tabla 2. Análisis económico para la sustitución de fertilizantes químicos y plaguicidas por hectarea, aplicando biopreparados bacterianos

| Partidas | Ahorro fertilizantes | | Ahorro plaguicidas | |
|----------------------|----------------------|---------------|--------------------|---------------|
| | Importado | Biopreparados | Importado | Biopreparados |
| Total de gastos | 36-48 | 10.5-21.07 | 93.75-187.5 | 10.5-21.07 |
| Ahorro | 25.5-26.93 | | 83.25-166.43 | |
| Porcentaje de ahorro | 70.83-56.10 | | 89 | |

Soluciones

1. Se diseñó una nueva metodología para la producción de biopreparados y biofertilizantes a partir de metabolitos activos de origen bacteriano biodegradables y factibles desde el punto de vista ecológico, obteniéndose productos naturales efectivos en la estimulación del crecimiento vegetal y biocontrol de patógenos en diferentes cultivos de importancia económica, demostrándose también su factibilidad en estudios de micropropagación, lo que demuestra su efectividad en la promoción del crecimiento de los cultivos.

2. Se estableció una nueva metodología para la optimización de medios de cultivo, utilizando insumos nacionales, eficiente para la multiplicación y producción de metabolitos secundarios de *Burkholderia cepacia*, ahorrándose \$49.18 Moneda Nacional y 1.689 USD por cada 35 L del biopreparado y aplicable a otros géneros bacterianos.

3. Se esclarecen aspectos relacionados con la interacción planta-bacteria y su influencia sobre el crecimiento y desarrollo de diferentes cultivos, sin contaminación del medio ambiente.

Recomendaciones

1. Utilizar las metodologías propuestas para la producción de biopreparados a base de bacterias ya sea utilizando el microorganismo como un todo o los metabolitos activos producidos por las mismas

2. Emplear las técnicas propuestas con el objetivo de evaluar la factibilidad de los biopreparados en la estimulación del crecimiento, el control biológico de patógenos y la inducción de resistencia en plantas.

3. Incorporar los resultados obtenidos en la formación de nuevos especialistas y en la docencia postgraduada.
4. Aplicar el biopreparado obtenido en beneficio de cultivos de interés agrícola.