

INTERACCIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO *Bacillus* CON LAS BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO DE UN SUELO DEL ORIENTE ANTIOQUEÑO

Molina Sarah¹, Cuervo Claudia²

¹ Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia.

² Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Grupo de Investigación Biociencias

RESUMEN

Las comunidades microbianas cumplen una función fundamental en el ecosistema y la evaluación de la interacción bacteriana permite conocer si es posible la co inoculación de bacterias en un suelo para mejorar su rendimiento, además de que las bacterias pueden desarrollar funciones en comunidad que no se revelan al estudiarse de manera individuales por esto que se evaluó la interacción de especies del género *Bacillus mycoides*, *B. subtilis* y *Sporosarcina pasteurii* con las bacterias solubilizadoras de fosfato aisladas de un suelo Andisol, identificadas mediante secuenciación genómica, usando la técnica de difusión en agar con inóculo en forma de punto de la bacteria completa y rectángulo cruzado, además de estimar de manera cuantitativa la solubilización de fosfato de las bacterias de forma individual y en consorcio, en la que se evidencia compatibilidad y sinergia entre estas bacterias.

INTRODUCCIÓN

Una estrategia prometedora para mejorar el crecimiento y rendimiento de muchos cultivos sin causar un daño ambiental es el uso de biofertilizantes, entre los grupos funcionales de interés se encuentran los microorganismos solubilizadores de fosfato, puesto que se encargan de transformar el fosfato insoluble en fósforo soluble para la nutrición de las plantas por diversos mecanismos, evitando así el uso desmesurado de fertilizantes, estos microorganismos solubilizan mejor cuando son co inoculados ya sea con otros solubilizadores o con otros grupos funcionales (Santos Torres , 2020).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental, donde se evaluó la interacción de los aislados bacterianos con propiedades calcificantes previamente obtenidos y depositados en la colección biológica de la CIB MicroCIB, con la actividad solubilizadora de fósforo de microorganismo aislados de dos suelos horizonte B de tipo Andisol del oriente antioqueño, proporcionado por la empresa Sobiotech.

Aislamiento de bacterias solubilizadoras de fosfato del suelo: se aislaron con el método de dilución del suelo y purificación mediante repiques en el medio modificado de Osorio y Habe, utilizando roca fosfórica alcalina y como indicador de acidificación azul de bromotimol, las bacterias formadoras de

un halo amarillo fueron consideradas como solubilizadoras de fosfatofósforofosfato , se utilizó como control positivo el hongo *Trichoderma* spp.

identificación y conservación de los aislados: Las bacterias sospechosas de ser solubilizadoras de fósforo fueron identificadas con el equipo VITEK system 2, posteriormente a partir de cultivos líquidos se realizó la extracción de ADN utilizando el protocolo descrito para bacterias con el kit de Wizard® HMW, se evaluó la calidad del ADN con la relación 260/280 dada por el equipo Nanodrop, y finalmente se realizó una PCR convencional amplificando el gen 16S. Los aislados se conservaron en BHI con glicerol a una temperatura de -70°C.

Pruebas de interacción: se utilizó la metodología de difusión en agar con inóculo en forma de punto de la bacteria completa (León J, 2011). también se evaluó la interacción de los consorcios bacterianos de cada suelo con ensayos de rectángulo cruzado (Rojas Ruíz, Vázquez Cruz , Sanchez Alonso, & Sansinenea Royano, 2010),

Evaluación cuantitativa de la solubilización bacteriana de fosfato individual y en consorcio: fue evaluada la solubilización de fosfato usando el método azul de molibdato descrito en el protocolo del IDEAM (Sanabria Suarez, 2004).

Bioinformática y análisis estadístico: se utilizó el programa SPSS para realizar el análisis estadístico descriptivo, se evaluó normalidad, homogeneidad, se aplicó estadística no paramétrica, Kruskal Wallis y correlación de Pearson.

RESULTADOS

Se aislaron 12 bacterias de los dos suelos, los cuales corresponden a 16.6% de cocos grampositivos, 58.3% de bacilos gramnegativos y 33.3% colonias de bacilos grampositivos, de las cuales fueron seleccionadas del suelo 1 tres bacterias y del suelo 2 cuatro bacterias.

En cuanto a la evaluación cuantitativa de la solubilización se observa que la bacteria que presentó mayor solubilización de fósforo fue SB2 del suelo 1 con 0.05mg/L, pero esta bacteria no fue la que presentó una mayor acidificación como se observa en la tabla 2.

Tabla 1. Identificación molecular y bioquímica de los aislados.

CODIFICACIÓN	BIOQUÍMICA	RESULTADO	MOLECULAR
SB2 SUELO 1	Oxidasa	positivo	Ralstonia pickettii
	Pirrolidonil arilamidasa	positivo	
	Adonitol	positivo	
	Ureasa	positivo	
	Glucosa	positivo	
	Maltosa	negativo	
	Manosa	positivo	
	Manitol	positivo	
	Citrato	positivo	
	H2S	negativo	
	Trealosa	positivo	
Sorbitol	positivo		
SB4 SUELO 2	Xilosa	positivo	Bacillus wiedmannii
	hidrólisis de la urea	negativo	
	Arginina di hidrolasa	positivo	
	Maltosa	positivo	
	Sorbitol	negativo	
	crecimiento en NaCl al 6.5%,	positivo	
	Resistencia a la optoquina.	Positivo	

Tabla 2. Solubilización de fosfato de manera individual y en consorcios bacterianos, en relación con el pH.

Bacteria	pH				P soluble mg/L					
	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza		Mediana	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza		Mediana
			max	min				max	min	
SB1	3,9000	0.1228	4.20	3.59	3.85	0.01	0.01	0.04	-0.01	0.022
SB2	2.93	0.011	2.96	2.90	2.93	-0.01	0.005	0.002	-0.02	-0.01
SB3	7.86	0.026	7.93	7.80	7.88	-0.02	0.03	0.07	-0.12	-0.007
SB4	7.16	0.25	7.80	6.53	7.15	0.120	0.210	0.64	-0.40	0.008
SB1 suelo 1	7.45	0.05	7.59	7.31	7.44	0.003	0.005	0.015	-0.009	0
SB 2 suelo 1	6.61	0.38	7.56	5.66	6.58	0.039	0.032	0.120	-0.04	0.05
SB 3 suelo 1	7.53	0.22	8.09	6.97	7.45	0.034	0.034	0.119	-0.05	0.031
B. wiedmannii mycoides	7.39	0.08	7.60	7.17	7.38	0.008	0.015	0.045	-0.02	0
B. cereus subtilis	7.32	0.04	7.44	7.20	7.34	0	0	0.001	-0.01	0

En las pruebas de interacción se evidenció compatibilidad y sinergia, ya que se frota por contacto con las bacterias solubilizadoras.

Discusión. Este es el primer reporte de la bacteria *Ralstonia pickettii* como solubilizadora de fosfato, se han reportado otras propiedades para esta bacteria como su crecimiento en ambientes hostiles con la presencia de metales pesados, mostrando un potencial para la biorremediación de suelos contaminados con compuestos orgánicos tóxicos; sin embargo, este género es considerado patógeno para algunas especies de plantas y como oportunista nosocomial en humanos, además se ha reportado que este género presenta homogeneidad de su genotipo con otros aislados de diferentes entornos (Huang, Liu, Price, Li, & Wang, 2021).

Por otra parte, al co inocular solubilizadores de fósforo en cultivos in vitro se observa un mayor índice de vigor y longitud de radícula en cultivos de frijol (Flores Zárate, Bautista Cruz, Aragón Cuevas, & Martínez Gallegos, 2018), esto se debe a que las bacterias obtienen concentraciones más altas de fósforo disponible de una manera más rápida cuando producen simultáneamente ácidos orgánicos, mejorando su rendimiento y productividad como lo evaluaron con bacilos gramnegativos de un suelo de Boyacá, los cuales solubilizaron un máximo de 96.5 mg/L de fósforo (Rodríguez Gacha & Sánchez Castro, 2019), a pesar de que en nuestro estudio se encontraron valores de fosfato solubilizados muy por debajo de estos, son significativos ya que para cultivos como los del café la cantidad requerida de fósforo soluble es de 0.2 mg/L (González Osorio, 2018). En las pruebas de interacción realizadas en este estudio se evidencia compatibilidad y sinergia entre las bacterias, lo cual es un factor muy importante para que puedan desempeñar correctamente su función (Fitriatin, Manurung, Trinurani Sofyan, & Rochimi Setiawati, 2020).

CONCLUSIÓN

Las bacterias evaluadas interactúan de manera sinérgica y potencian su función ecológica, a su vez se requiere de más estudios para identificar una bacteria no reportada antes, y evaluar que estos consorcios no generen un daño a la salud humana y animal por conformarse de especies como *B. cereus* y *R. pickettii*.

BIBLIOGRAFÍA

Flores Zárate, M., Bautista Cruz, A., Aragón Cuevas, F., & Martínez Gallegos, V. (2018). Coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato y su efecto en la germinación y desarrollo del frijol. *Interciencia*, 137-143.

Fitriatin, B., Manurung, D., Trinurani Sofyan, E., & Rochimi Setiawati, M. (2020). Compatibility, Phosphate Solubility and Phosphatase Activity by Phosphate Solubilizing Bacteria. *The Saudi Journal of Life Sciences*, 281-284.

González Osorio, H. (2018). *Alternativas biotecnológicas para mejorar el suministro de fósforo en el cultivo del café (doctorado)*. Universidad Nacional de Colombia, Antioquia. Medellín: Universidad Nacional de Colombia

Huang, J., Liu, C., Price, G. W., Li, Y., & Wang, Y. (2021). Identification of a novel heavy metal resistant *Ralstonia* strain and its growth response to cadmium exposure. *Journal of Hazardous Materials*, 416, 125942. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.125942.

León J, A. J. (2011). Estudio de actinomicetos marinos aislados de la costa central del Perú y su actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes y *Enterococcus faecalis* vancomicina resistente. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* , 237-246.

Rojas Ruíz, N., Vázquez Cruz , C., Sanchez Alonso, P., & Sansinenea Royano, E. (2010). Análisis poblacional de células vegetativas de *Bacillus thuringiensis* en interacción in vitro con bacterias del suelo. *Agrociencia*, 1-13.

Rodríguez Gacha, L., & Sánchez Castro, N. (2019). *Selección y producción de bacterias solubilizadoras de fósforo empleando roca fosfórica como sustrato (pregrado)*. Pontificia Universidad Javeriana, Boyacá. Boyacá: Pontificia Universidad Javeriana.

Sanabria Suarez, D. (2004). *Fósforo total en agua por digestión ácida, método del ácido ascórbico* . Bogotá: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales.

Santos Torres , M. (2020). *Mejoramiento de la fertilización fosfatada en la asociación ryegrass y trébol rojo mediante el uso de bacterias solubilizadoras de fosfato (tesis en magister en Ciencias - Microbiología)*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.