

Recibido: 30.10.2020 • Aceptado: 23.02.2020

Palabras clave: Bacteria, biorremediación, cadmio, planta, *pseudomonas*.

Pseudomonas rhodesiae una bacteria benéfica para la planta *Typha latifolia*

GISELA ADELINA ROLÓN CÁRDENAS

gisela.rolon@uaslp.mx

ESTUDIANTE DE DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS, UASLP

ALEJANDRO HERNÁNDEZ MORALES

FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES ZONA HUASTECA, UASLP

JACKELINE LIZZETA ARVIZU GÓMEZ

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO, CENTRO NAYARITA DE
INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA (CENITT), UAN

Las raíces de las plantas son el hábitat de numerosos microorganismos, los cuales establecen una relación simbiótica o de beneficio mutuo con éstas (Pérez *et al.*, 2010). Dentro de este grupo de microorganismos se encuentran las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) que, como su nombre lo indica, son bacterias cuya función en el ambiente es proporcionar diferentes nutrimentos a las plantas con el fin de favorecer su desarrollo y adaptación a las diferentes condiciones del suelo en el que se desarrollan.

En esta relación, las plantas proveen el hábitat y nutrientes para el desarrollo de las BPCV; mientras que éstas producen fitohormonas, suministran vitaminas esenciales y reducen el estrés al disminuir la producción de etileno (hormona que regula los procesos asociados a la maduración y senescencia de frutas, verduras y flores) mediante la actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa que promueve el crecimiento de plantas influenciadas por el estrés ambiental. Las BPCV también benefician el metabolismo vegetal al mejorar la absorción de agua y de elementos nutritivos tales como el nitrógeno (N), el fósforo (P) y el hierro (Fe) (figura 1) (Ma et al., 2011).

La gran capacidad de las BPCV para adaptarse y colonizar las raíces de diferentes tipos de plantas, permite su aplicación en la agricultura, la biorremediación y la restauración de suelos contaminados.

Interacción planta-bacteria-metales pesados

En los últimos años se ha incrementado el estudio integral de la interacción entre las plantas que acumulan metales pesados con las bacterias asociadas a sus raíces. Esto debido a que se ha observado que las BPCV pueden disminuir el estrés ocasionado por los contaminantes y contribuir en la adaptación de las plantas a las condiciones del entorno (Kong y Glick, 2017).

Uno de los grupos de investigación mencionados es el de Paredes-Páliz et al. (2016), quienes aislaron tres BPCV: *Pantoea agglomerans* RSO6, *P. agglomerans* RSO7 y *Bacillus aryabhattai* RSO25, a partir de las raíces de *Spartina densiflora* (conocida comúnmente como esparto o espartillo) adaptada al crecimiento en sitios contaminados con arsénico, cobre, plomo y

zinc. Los tres BPCV mencionados son tolerantes a arsénico, cobre, plomo y zinc. Además, realizan actividades que ayudan al crecimiento vegetal como la producción de hormonas vegetales, proporcionan fósforo y nitrógeno asimilable para la planta, y producen sideróforos, moléculas que capturan el hierro del ambiente y se lo facilitan a las plantas. La aplicación de los tres aislados en plantas de *S. densiflora*, cultivadas en condiciones de estrés por metales pesados, mejora el crecimiento de las plantas en comparación con las plantas control, en las cuales no se aplicaron las bacterias. Se ha demostrado que *B. aryabhattai* RSO25 promueve el crecimiento de las hojas y las raíces de *S. densiflora*, disminuye los signos de estrés causado por los metales pesados y, además, incrementa la acumulación de arsénico, cobre, plomo y zinc en las raíces de la planta. En lo que respecta a los dos aislados de *P. agglomerans*, promueven el crecimiento de la planta y disminuyen los signos de estrés causado por los metales pesados (Paredes-Páliz et al., 2017).

Por su parte, Chiboub et al. (2016) aislaron y caracterizaron BPCV a partir de los nódulos de las raíces de *Sulla coronaria* adaptada al crecimiento en sitios contaminados con cadmio. Los aislados identificados como *Pseudomonas* spp. y *Rhizobium sullae* toleran cadmio y muestran actividades promotoras de crecimiento vegetal como la producción de auxinas (hormonas vegetales que ayudan al crecimiento y desarrollo de la planta) y síntesis de sideróforos (molécula soluble que capta hierro para facilitar el transporte de este por los microorganismos). La aplicación de *Pseudomonas* spp. y *R. sullae* en plantas de *S. coronaria* mejora el crecimiento de la planta en condiciones de estrés causado por cadmio. Las plantas inoculadas con las bacterias incrementan la biomasa y las capacidades para la acumulación del cadmio (Chiboub et al., 2016).

Estos estudios demuestran que la inoculación de BPCV mejora el crecimiento e incrementa la capacidad de acumulación de metales pesados en las raíces de la planta. Esta estrategia integral puede ser aplicada para recuperación *in situ* de sitios contaminados, mediante el desarrollo de tecnologías de remediación utilizando la diversidad vegetal asociada a poblaciones de bacterias, para con ello lograr el saneamiento de sitios impactados con metales pesados.

En el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, nos hemos interesado en el aislamiento de BPCV a partir de la rizósfera de *T. latifolia* (Espadaña) y su caracterización bioquímica y molecular. Nuestro principal interés es comprender la participación de los microorganismos del suelo en la adaptación de la planta al sitio contaminado, así como en los procesos de fitorremediación. Al respecto, hemos aislado y caracterizado un grupo de bacterias del género *Pseudomonas* con alta tolerancia a metales pesados, de las cuales *P. rhodesiae* GRC140 es la bacteria en la que hemos centrado nuestra atención por presentar características particulares.

***Pseudomonas rhodesiae* GRC140, una bacteria tolerante a metales pesados**

A partir de las raíces de *T. latifolia* colectadas en un sitio contaminado con Arsénico (As), Plomo (Pb) y Cadmio (Cd), en el estado de San Luis Potosí, se aislaron 205 bacterias tolerantes a Cd. Una bacteria Gram negativa identificada bioquímicamente como *Pseudomonas*, fue seleccionada entre los 205 aislados iniciales debido a su capacidad para crecer en medio de cultivo adicionado con elevadas concentraciones de cadmio, de 600 miligramos por litro (mg/l). Además de su tolerancia a metales pesados, esta bacteria también mostró ser

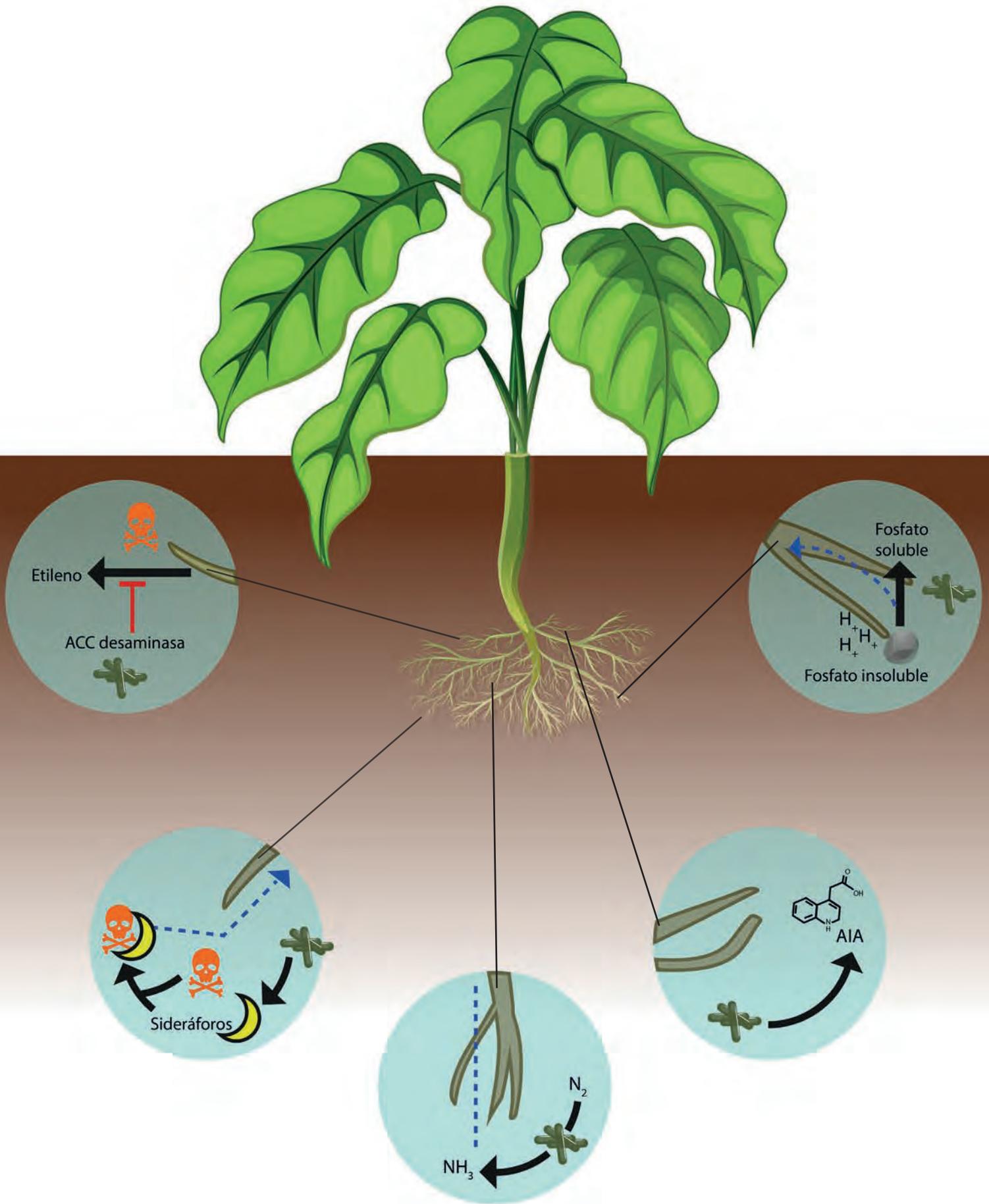


Figura 1.
Actividades bioquímicas presentes en BPCV

multirresistente a diferentes antibióticos (ampicilina, carbenicilina, cefalotina, cefotaxima, ceftriaxona, cloranfenicol, nitrofurantoína, trimetoprim-sulfametoxazol).

La bacteria se identificó comparando las secuencias de los genes 16S rRNA, *gyrA* y *rpoD* con secuencias almacenadas en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos de América (NCBI, por sus siglas en inglés). El análisis mostró que las secuencias de *P. rhodesiae* GRC140 son similares en un 99 por ciento a secuencias de *P. rhodesiae* depositadas en las bases de datos. Adicionalmente, se obtuvieron secuencias del gen *gyrA* del NCBI, con las cuales se construyó un árbol filogenético para determinar cómo se agrupa el gen *gyrA* de *P. rhodesiae* GRC140. El árbol filogenético muestra que la secuencia del gen *gyrA* del aislado GRC140 se agrupa con especies de *P. rhodesiae*, confirmando la identidad de la bacteria (figura 2).

***P. rhodesiae* GRC140, BPCV que promueve el crecimiento de *Arabidopsis thaliana* Col 0**

Las BPCV se caracterizan por presentar actividades bioquímicas que son útiles para

promover el crecimiento de las plantas hospederas, también favorecen la adaptación a las condiciones de la rizósfera, es decir, el entorno en el cual se desarrollan. En condiciones *in vitro* se observó que *P. rhodesiae* GRC140 presenta la enzima ACC desaminasa, capaz de solubilizar fosfatos inorgánicos, de liberar sideróforos en condiciones de deficientes de hierro y de producir dos fitohormonas del tipo auxinas: el ácido indol acético (AIA) y el ácido fenilacético (AFA). La presencia de estas características bioquímicas en *P. rhodesiae* GRC140 indican que es una BPCV.

A. thaliana es una planta pequeña utilizada en los laboratorios como planta de estudio para entender diferentes procesos biológicos. Para determinar si *P. rhodesiae* GRC140 era capaz de favorecer el crecimiento vegetal, se realizaron ensayos de interacción con *A. thaliana* L. Col-0. Para estos ensayos, se utilizaron plántulas de cinco días de germinación y se pusieron en contacto con *P. rhodesiae* GRC140. La interacción se llevó a cabo en medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) y se mantuvieron en las condiciones adecuadas para el crecimiento de la planta y de la bacteria. Los resultados obtenidos después de la interacción se muestran en la figura 3. En las plantas inoculadas

con *P. rhodesiae* GRC140, se observaron varios cambios importantes con respecto a las plantas que crecieron en ausencia de la bacteria. Se observó que se incrementaba el peso fresco total de las plántulas, posiblemente por un aumento en la elongación del hipocótilo (alargamiento del tallo de una planta embrionaria) y por un incremento en el tamaño de las hojas. En lo que respecta al sistema radicular (conjunto de raíces), se observó que *P. rhodesiae* GRC140 favorece la formación de raíces secundarias y de pelos radiculares. Estos resultados indican que *P. rhodesiae* GRC140 promueve el crecimiento de *A. thaliana* Col 0.

***P. rhodesiae* GRC140 modifica el sistema radicular de plántulas de *Arabidopsis thaliana* Col 0 expuestas a cadmio**

El cadmio (Cd) es un metal pesado que puede causar toxicidad en las plantas, generando clorosis, marchitamiento y alteraciones en la orientación de las hojas. Esto se debe a la inhibición de la biosíntesis de clorofila y la interferencia del Cd en la entrada, el transporte y la utilización del calcio, magnesio, fosfato, potasio y del agua, lo que provoca alteraciones nutricionales e hídricas a la planta (Rodríguez-Serrano *et al.*, 2008).

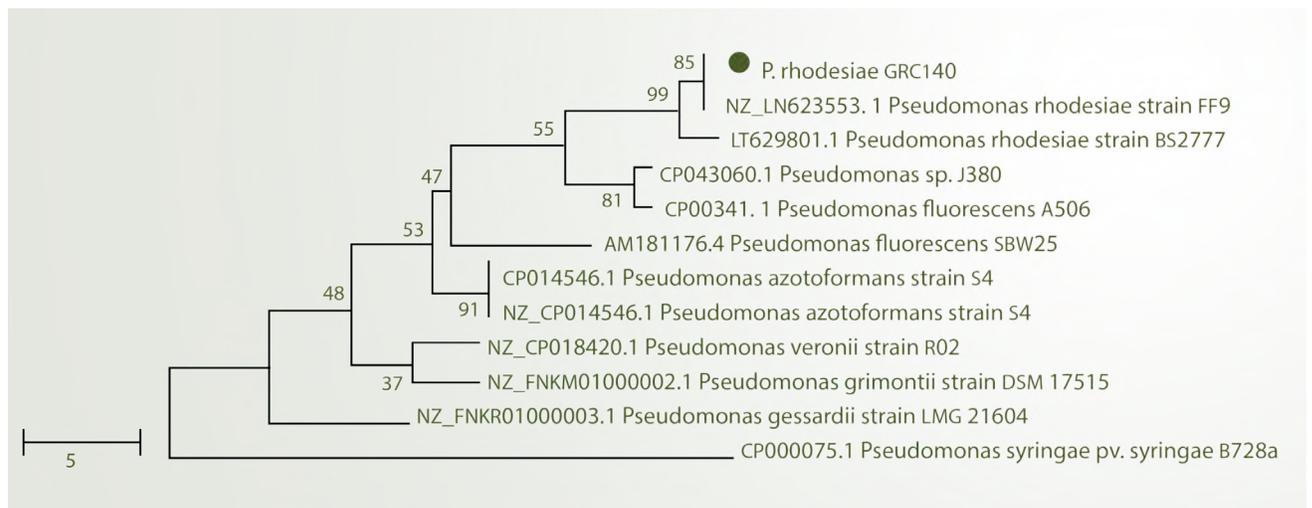


Figura 2. Árbol filogenético realizado con la secuencia del gen *gyrA* de *P. rhodesiae* GRC140.



Figura 3. Plantas de *A. thaliana* cultivadas en presencia o ausencia de *P. rhodesiae* GRC140.

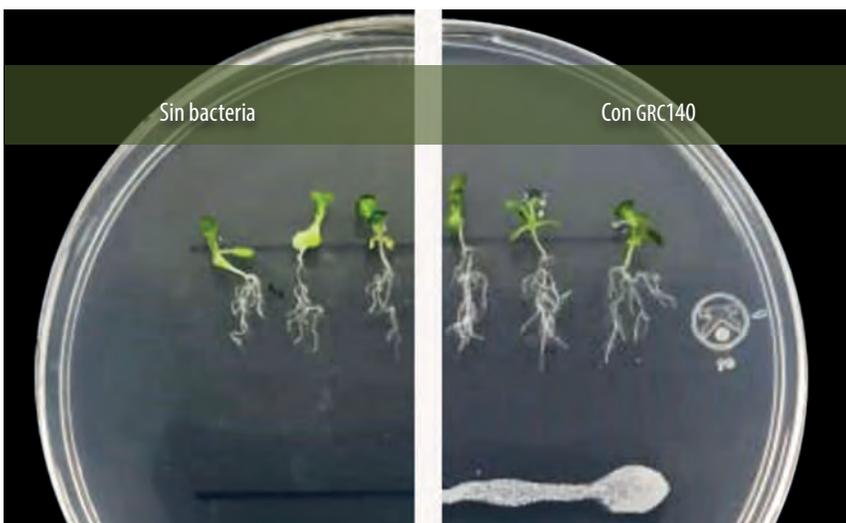


Figura 4. Efecto de *P. rhodesiae* GRC140 en plantas de *A. thaliana* crecidas en presencia de Cd.

En *A. thaliana* el Cd afecta el crecimiento general de la plántula, el desarrollo de sus hojas y disminuye el crecimiento de la raíz primaria y la generación de número de raíces laterales. Los efectos tóxicos se ven potenciados al aumentar la concentración del Cd (figura 4).

P. rhodesiae GRC140 al ser una bacteria tolerante a Cd, se pensó que podría conferir tolerancia a Cd a plantas de *A. thaliana* Col-0 crecidas en presencia de este ion metálico. Para probar esto, plántulas de *A. thaliana* Col 0 germinadas *in vitro* y expuestas a 2.5 partes por millón (ppm) de Cd, se pusieron en contacto con *P. rhodesiae* GRC140 durante 10 días. Posterior a los 10 días de incubación se observó que la bacteria promueve la generación de raíces laterales en comparación con las plántulas sin bacteria, indicando que la presencia de la bacteria en el medio de cultivo con Cd mejora el crecimiento en estas condiciones (figura 4).

Perspectivas

Hasta el momento se desconoce cuál de las actividades de promoción de crecimiento vegetal identificadas en *P. rhodesiae* GRC140 está involucrada en los efectos observados en *A. thaliana* Col 0. Sin embargo, de acuerdo con los antecedentes revisados en la bibliografía, estos efectos podrían ser consecuencia de las auxinas bacterianas. Por tal motivo, nuestro grupo de investigación está interesado en entender la contribución del AIA y AFA sintetizados por *P. rhodesiae* GRC140 en la promoción de crecimiento y la tolerancia a Cd en plantas. Se hace énfasis en el estudio de la interacción de *P. rhodesiae* GRC140 con *A. thaliana* DR5::uidA para determinar la participación de las auxinas en la promoción de crecimiento y tolerancia a Cd.

Como parte de los proyectos de investigación del Cuerpo Académico Consolidado UASLP-262 Biotecnología, Medio

Maestra en Ciencias Químicas por la UASLP y estudiante del Doctorado en Ciencias Químicas. Es profesora en la Carrera de Bioquímica de la Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca de la UASLP, y trabaja en el proyecto "Estudio de la interacción *Typha latifolia*-*Pseudomonas rhodesiae* y su papel en la fitoextracción de Cd".



Ambiente y Sustentabilidad, se evalúa el efecto promotor de crecimiento de *P. rhodesiae* GRC140 en su planta hospedera, *T. latifolia*. En el Proyecto CONACYT CB2017-2018 A1-S-40454 se espera determinar la contribución de *P. rhodesiae* GRC140 en la tolerancia y fitoextracción de cadmio, determinando los cambios a nivel fenotípico, bioquímico y molecular en *T. latifolia*. ^{UP}

Agradecimientos

Al Fondo Sectorial de Investigación para la Educación CB2017-2018 A1-S-40454 otorgado a Alejandro Hernández Morales.

Referencias bibliográficas:

- Chiboub, M., Saadani, O., Fatnassi, I. C., Abdelkrim, S., Abid, G., Jebara, M. y Jebara, S. H. (2016). Characterization of efficient plant-growth-promoting bacteria isolated from *Sulla coronaria* resistant to cadmium and to other heavy metals. *Comptes Rendus Biologies*, 339(9-10), pp. 391-398.
- Kong, Z. y Glick, B. R. (2017). The role of plant growth-promoting bacteria in metal phytoremediation. *Advances in Microbial Physiology*, pp 97-132.
- Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M. y Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, 29(2), pp. 248-258.
- Paredes-Páiz, K. I., Mateos-Naranjo, E., Doukkali, B., Caviedes, M. A., Redondo-Gómez, S., Rodríguez-Llorente, I. D. y Pajuelo, E. (2017). Modulation of *Spartina densiflora* plant growth and metal accumulation upon selective inoculation treatments: A comparison of Gram negative and Gram positive rhizobacteria. *Marine Pollution Bulletin*, 125(1-2), pp. 77-85.
- Rodríguez-Serrano, M., Martínez-De La Casa, N., Romero-Puertas, M. C., Del Río, L. A. y Sandalio, L. M. (2008). Toxicidad del cadmio en plantas. *Ecosistemas*, 17(3), pp. 139-146.

