

PREPARACIÓN DE INÓCULOS BACTERIANOS PARA LA BIOESTIMULACIÓN DE PLANTAS DEL DESIERTO FLORIDO DE ANTOFAGASTA, CHILE

PREPARATION OF BACTERIAL INOCULA FOR THE BIOSTIMULATION OF “DESIERTO FLORIDO” PLANTS OF ANTOFAGASTA, CHILE.

Andrea Jara • Carolina Cubillos • Catalina Bazaes • Héctor Barrazas • Carlos Godoy • Gabriela O’Shee • Arantxa Ruz
 Sharey Martínez • Víctor O’Shee • Franshesca Barraza • David Morales • Pablo Morales
 Profesora Guía: Andrea Jara
 Asesor Científico: Carolina Cubillos
 Escuela República del Ecuador E-79 • Antofagasta
 ajarasandoval@gmail.com

Resumen

El fenómeno de florecimiento de los cerros del sector de la Chimba Alto “Los Arenales”, del año 2015, en la ciudad de Antofagasta, fue considerado un evento de alto interés para los ciudadanos antofagastinos. Los estudios científicos realizados hasta la fecha, abarcan temáticas meteorológicas, sismológicas y geológicas; sin embargo, no ha sido analizada microbiológicamente. Se planteó la interrogante de determinar que microorganismos habitan en los suelos del Desierto Florido Antofagastino, además, dilucidar el rol de los microorganismos en el florecimiento de estos suelos “estériles”, a través, del mecanismo de bioestimulación microbiana de las semillas presentes en dichos suelos. Para esto se realizó una salida a terreno, análisis de parámetros físicos-químicos de suelos, cultivo de microorganismos, aislamiento, identificación micro y macroscópica y ensayos de bioestimulación. Fueron obtenidos 27 aislados microbianos con características interesantes, como, color, dureza y con “olor a tierra”. De los resultados obtenidos en esta investigación, a través de los ensayos se determina la capacidad bioestimulante de las cepas obtenidas y marca un precedente en el interés científico y regional en la actualidad.

Palabras claves: desierto, bioestimulante, semillas, florecimiento.

Abstract

The phenomenon of flowering of the hills of the sector of Chimba Alto “Los Arenales”, of the year 2015, in the city of Antofagasta, was considered an event of high interest for the antofagastine citizens. Scientific studies carried out to date cover meteorological, seismological and geological topics; however, it has not been analyzed microbiologically. The question of determining what microorganisms inhabit the soils of the Antofagastine Flowering Desert, in addition, elucidate the role of microorganisms in the flowering of these “sterile” soils, through the microbial biostimulation mechanism of the seeds present in such soils. For this, a field trip was carried out, analysis of physical-chemical parameters of soils, cultivation of microorganisms, isolation, micro and macroscopic identification and biostimulation tests. 27 microbial isolates with interesting characteristics were obtained, such as color, hardness and “smell of earth”. From the results obtained in this research, the biostimulating capacity of the strains obtained is determined through the tests and sets a precedent in the scientific interest and Regional at present.

Keywords: desert, biostimulant, seeds, flowering.



Introducción

La ciudad de Antofagasta, se encuentra ubicada en la Segunda Región de Chile y se emplaza en una angosta franja costera, ubicada al pie del borde occidental de la Cordillera de la Costa del “Norte Grande”. Antofagasta, se encuentra inmersa en el Desierto de Atacama, este desierto es considerado el más seco y el más antiguo existente en la Tierra (Fuenzalida, 1965), sin embargo, los fenómenos meteorológicos de precipitaciones intensas ocasionales han permitido el florecimiento del conocido Desierto Florido de la Región de Atacama (Noy-Meir, 1973). En abril del año 2015, en la ciudad de Antofagasta se produce un fenómeno, similar al anteriormente mencionado, un manto de plantas y flores cubrieron los cerros en el Norte de la ciudad, denominado como “Desierto Florido Antofagastino”.

Este fenómeno se desarrolló después de la presencia de abundantes precipitaciones en dicha ciudad, de alrededor de 24,4 mm de agua caída (www.meteochile.gob.cl). Hasta la fecha, hay una ausencia de estudios microbiológicos relacionados a la zona. Los microorganismos, pueden ser considerados cosmopolitas, ya que se encuentran presentes en todos los hábitats del mundo (Baas-Becking, 1934). Las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) benefician a éstas, a través de diferentes mecanismos, la mayoría de los microorganismos se encuentran interactuando en el suelo alrededor de la raíz de la planta influenciada por su metabolismo, donde el ambiente es distinto del resto de la zona. En consecuencia, se plantea la siguiente hipótesis: Los microorganismos presentes en

los suelos con vegetación del Desierto Florido Antofagastino producirían la bioestimulación del crecimiento de plantas. Como objetivo general se plantea: obtener inóculos bacterianos del Desierto Florido Antofagastino, capaces de bioestimular el crecimiento de plantas.

Metodología

Se realizó una toma de muestra de 50 gramos de suelo en dos lugares de muestreo, un sitio con vegetación (CV) y otro sin vegetación (SV). Se midieron parámetros físico-químicos de suelos, como análisis de pH, humedad, se determinó la salinidad, concentración de sulfatos, cloruros, carbonatos, carbono total, fósforo total, nitrógeno total, fosfatos, nitratos y nitritos.

Obtención de microorganismos: se realizó una dilución seriada con dos medios de cultivo R2A y Luria Broth, posteriormente, desde cada tubo de ensayo se tomó 1 mL y fue agregado a una Placa Petri, con el mismo medio, pero en forma sólida. Desde los resultados obtenidos, se tomó una colonia y se sembró por estría dejándolo en una estufa a 37° C por 3 días, este procedimiento se realizó 3 veces.

Caracterización microscópica de aislados: Se realizó una tinción Gram, que consiste en agregar tinción de cristal violeta, luego lugol y posterior a esto safranina. Posteriormente, se caracterizaron los microorganismos por forma y tinción (Gram positiva, Gram negativa).



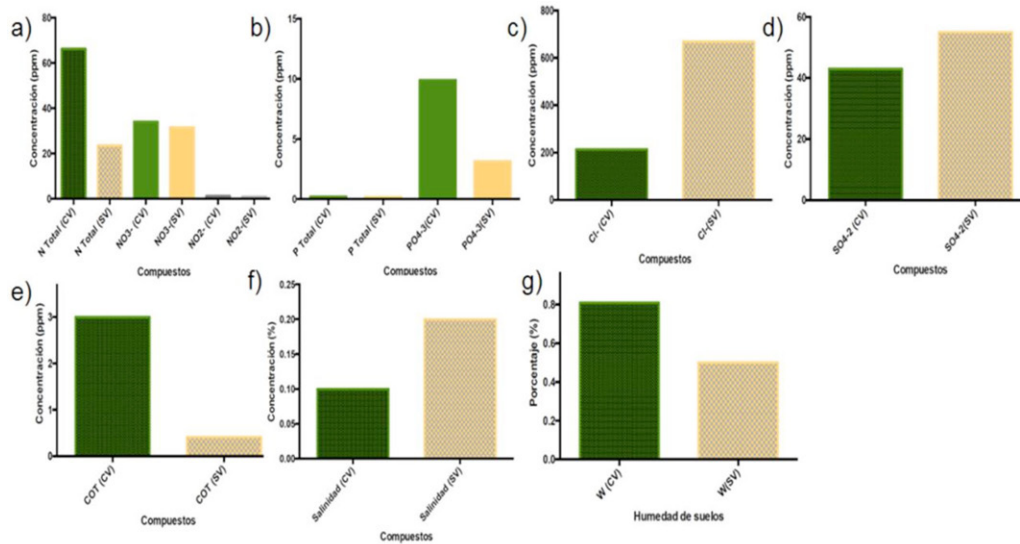


Figura 1. a) Concentración de compuestos nitrogenados, b) Fosfatados, c) Cloruros, d) Sulfatados, e) Carbono total, f) Salinidad y g) Porcentaje de humedad.

Ensayo de bioestimulación de germinación de porotos: El objetivo de este ensayo, fue dilucidar si los cultivos microbianos, obtenidos desde el Desierto Florido Antofagastino tendrían un rol estimulante en la germinación de semillas. Para esto fueron utilizadas semillas de porotos *Phaseolus vulgaris*. Se tomaron 9 semillas de porotos, los cuales fueron sometidos a un tratamiento de UV, por 15 minutos y lavados con etanol al 70%, siendo esto esencial para lograr la obtención de semillas estériles que no posean bacterias que interfieran con las bacterias utilizadas en el ensayo (Gonzalez-Dector, 2006). Cada poroto fue plantado en una placa de Petri con algodón estéril los cuales fueron regados periódicamente con agua potable estéril, y cultivos líquidos de las cepas, para después dejarlas al sol por dos semanas. Las cepas fueron las siguientes: R1, R2, R7, R9, R10, L1, L7 y L11.

Resultados y Discusión

A través de la medición de pH, se determinó que ambos sitios corresponden a un ambiente básico en el rango de pH 8. A nivel microbiano, los cambios de pH en la rizosfera puede afectar a las poblaciones microbianas (Acuña *et al.*, 2006). En la Figura 1, se muestran los resultados de los análisis químicos, los cuales presentan las características que diferencian un suelo con vegetación de un suelo sin vegetación, destacándose la cantidad de humedad y compuestos nitrogenados.

En suelos áridos y semiáridos, la densidad bacteriana no pasa de 10^3 a 10^4 células/g de suelo, lo que concuerda con los resultados de la Tabla 1.

Tabla 1. Recuento de unidades formadoras de colonias de sitio con vegetación (CV) y sitio sin vegetación (SV).

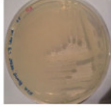
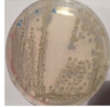
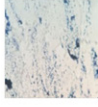
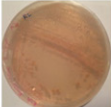
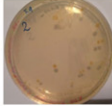
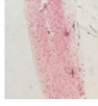
Medio de Cultivo			
Sitio de muestreo	Dilución	R2A (UFC/mL)	LB (UFC/mL)
Con Vegetación (CV)	-1	8,40E+04	3,80E+04
Sin Vegetación (SV)	0	4,80E+03	3,40E+03

Las cepas obtenidas, presentan diversas características, la más interesante es el color de las colonias que presentan tonalidades rojizas. La cepa R7 presenta color blanco y con un leve “olor a tierra”. La mayoría de estas colonias eran secas y duras (Tabla 2). El “olor a tierra” presentes en las cepas estudiadas, es llamado Geosmina, un metabolito volátil producido por *Streptomyces* (Nárdiz-Ávila, 2016).

Se realizó el ensayo de bioestimulación del crecimiento de semillas de porotos estériles, regados con la cepas bacterianas R7 y R2, presentaron los primeros brotes. Un aspecto a considerar, es que los porotos estériles regados con las cepas bacterianas presentaron creci-



Tabla 2.
Análisis macroscópico de los aislados seleccionados.






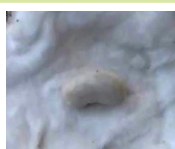
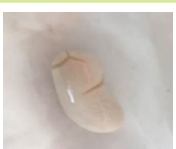
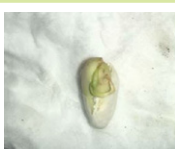
Cepa	Sitio de muestreo	Fotografía	Forma	Tinción	Cepa	Sitio de muestreo	Fotografía	Forma	Tinción
R1	Sin vegetación		Bacilo		R7	Sin vegetación		Bacilo	
R2	Sin vegetación		Coco		R9	Con vegetación		Coco	
					L7	Sin vegetación		Bacilo	

miento, en menos tiempo (6 días), al ser comparados con los porotos regados con agua, grupo control (14 días). La capacidad que poseen las bacterias de estimular el crecimiento de plantas, a través de la aceleración de la germinación, fue evidenciada anteriormente por Santillana *et al.* (2002). En consecuencia, debido a que los primeros brotes observados, fueron los porotos regados con las cepas R1, R2, R7, R9 y L7, esto podría ser atribuido a la posible capacidad bioestimulante de estas cepas del Desierto Florido Antofagastino;

sin embargo son necesarios ensayos posteriores. Cabe destacar que por espacio, solo son visualizados los resultados que presentaron mayor germinación que corresponde a las cepas R2 y R7.

Debido a lo anteriormente señalado, de acuerdo al crecimiento de la raíz de la semilla de poroto y a la aceleración en el crecimiento, en comparación con el control que no tenían cepas bacterianas del Desierto Florido Antofagastino, la hipótesis es aceptada.

Tabla 3.
Ensayo de bioestimulación del crecimiento de semillas de porotos estériles (*Phaseolus vulgaris*).

Sitio Muestreo	Cepa	Tiempo 1 (6 días)	Tiempo 2 (8 días)	Tiempo 3 (14 días)
CV	R2			
SV	R7			
-	Agua Control Negativo			



Conclusión

Esta investigación se trabajó en una temática regional de alto interés público, siendo posible cultivar aislados microbianos, como también determinar la carga microbiana presente. Fue posible determinar que la cepa R2 y R7 presentaban una posible capacidad bioestimulante. En conclusión, esta investigación marca un precedente, entregando a la comunidad en general y científica, los primeros análisis y datos microbiológicos de estos suelos e informar de la capacidad de microorganismos con potencial bioestimulante del proceso de germinación. Las proyecciones de esta investigación son: Cuantificar la carga bacteriana utilizada en el ensayo de bioestimulación, determinar e identificar las cepas obtenidas, a través de análisis de biología molecular, considerar la búsqueda de hongos, realizar ensayos de bioestimulación con otras semillas y determinar si sintetizan compuestos bioactivos, que puedan ser utilizados por la industria biotecnológica.

Bibliografía

Acuña O, Peña W, Serrano E, Pocasangre L, Rosales F, Delgado E, Ferrera-Cerrato Y, Pérez-Moreno J. 2006. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. XVII Reunión Internacional para la Cooperación en Investigaciones sobre Banano en el Caribe y América Tropical. ACORBAT 15: 222 - 233.

Baas-Becking LGM. 1934. Geobiologie of inleiding tot de milieukunde. Editorial Den Haag: WP Van Stockum & Zoon, The Hague, the Netherlands.

González-Dector D. 2006. Desinfección de semillas de alfalfa con luz ultravioleta de onda corta (UVC). Tesis. Universidad de las Américas, Puebla, México.

Fuenzalida P. 1965. Biogeografía. Geografía Económica de Chile. CORFO. Editorial Universitaria S.A., Santiago, Chile.

Noy-Meir I. 1973. Desert ecosystems: environment and producers. Annual Review of Ecology and Systematics 4: 25 - 51.

Nárdiz-Ávila NM. 2016. Efecto de reguladores específicos y reguladores globales en la biosíntesis de antibióticos de *Streptomyces clavurigerus*. Tesis, Universidad de León, España.

Santillana N, Arellano C, Zúñiga D. 2005. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) PGPR Capacity of *Rhizobium* on *Lycopersicon esculentum* Miller. (Tomato). Ecología Aplicada 4: 1 - 2.

