

Evaluación del antagonismo entre distintas cepas de rizobacterias aisladas de suelo en proceso de restauración ecológica en la localidad de Usme

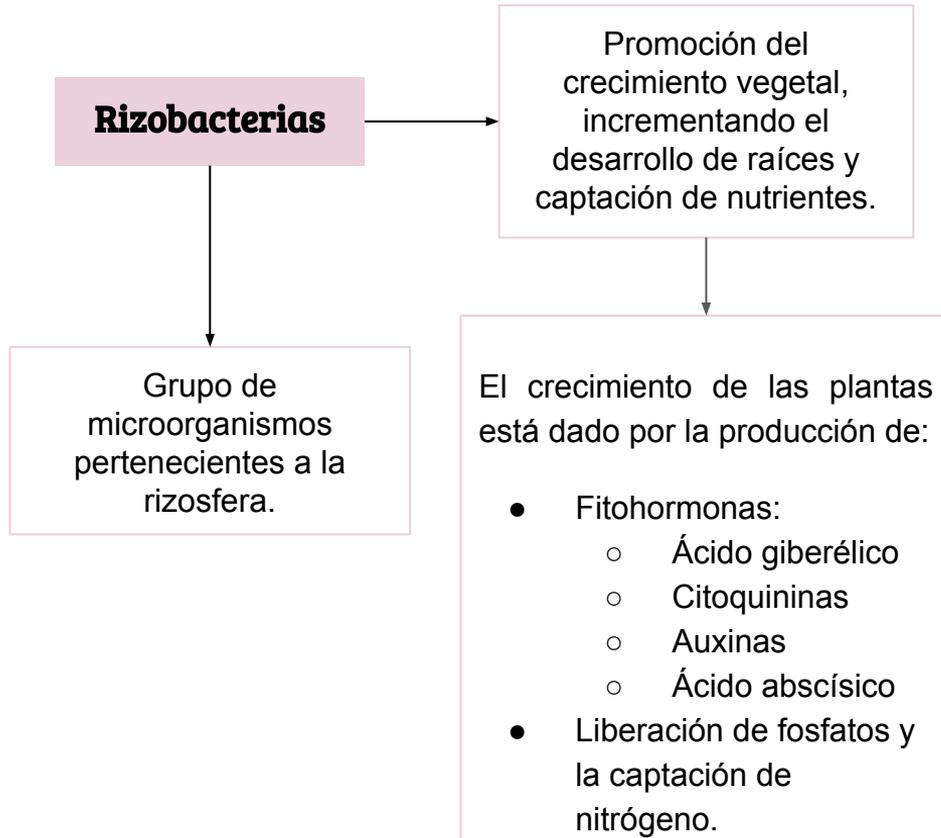
Stefany Calderón Alonso
Verónica López Romero
Yinneth Paola Peña Fonseca

Asesora interna: Carolina Jaime Rodriguez
Asesor externo: Camilo de los Ángeles Cárdenas
(Universidad Antonio Nariño)

Trabajo de grado para optar por el título de:
Bacteriólogo y Laboratorista Clínico

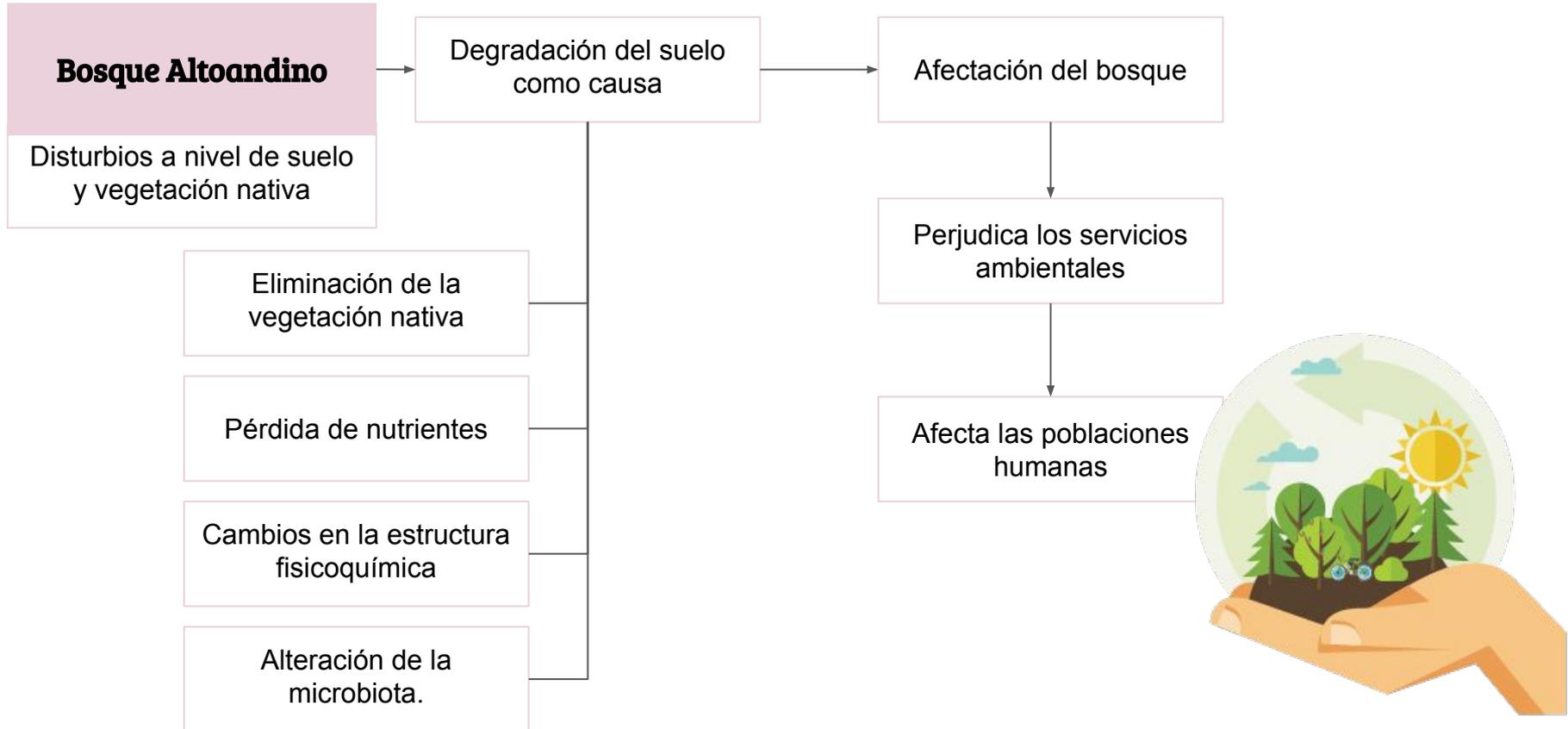


INTRODUCCIÓN



Rizósfera, imagen tomada de:
https://lavidanelsuelo.files.wordpress.com/2015/06/b9fcd-micorrizas_ab.jpg

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

Favorecer el crecimiento y establecimiento de plantas nativas.



Imagen tomada de:

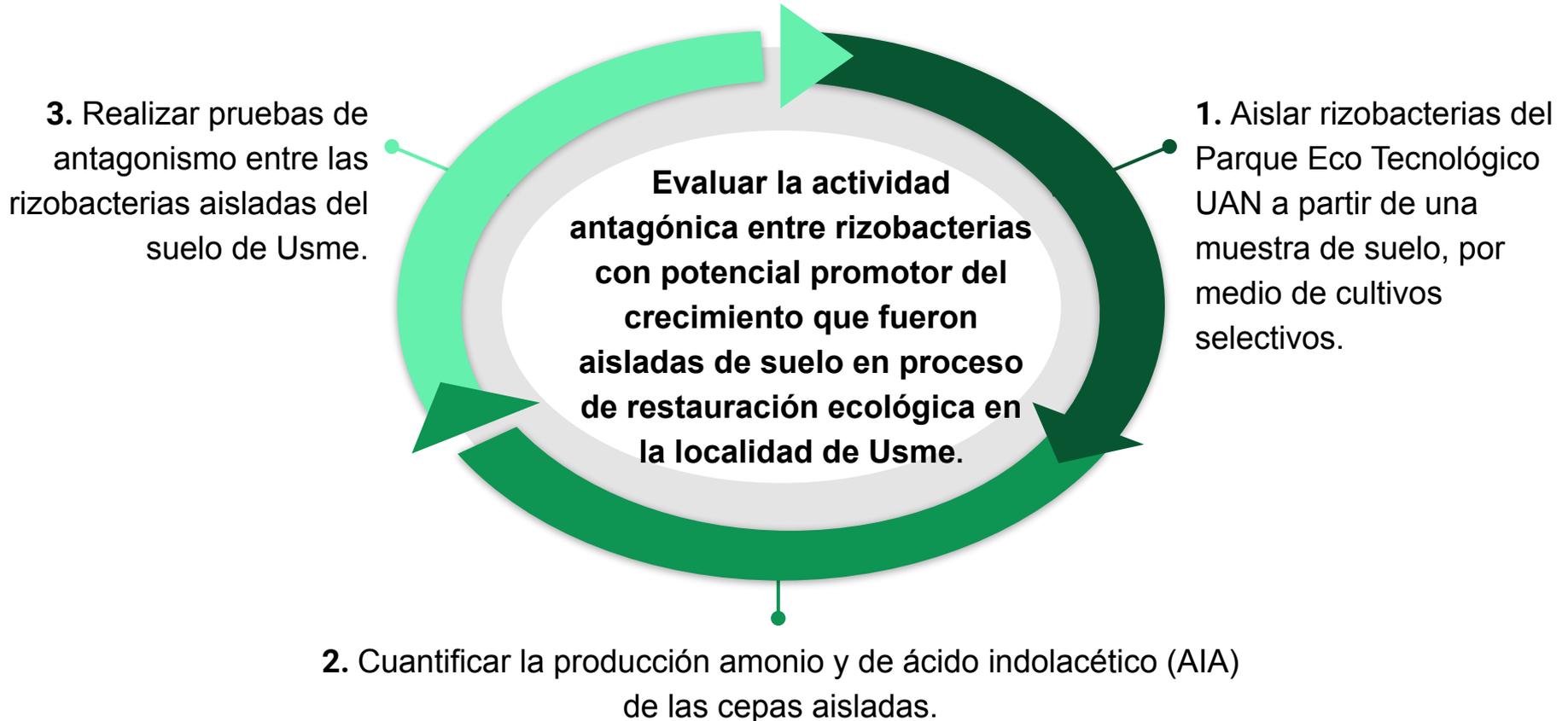
<https://i1.wp.com/0limites.mx/wp-content/uploads/2017/11/unnamed-27-3.jpg?resize=800%2C445&ssl=1>

Pregunta de investigación

¿Cuál es el efecto antagónico producido entre rizobacterias con características de promoción del crecimiento procedentes del suelo en restauración del Bosque Altoandino, localidad Usme?



OBJETIVOS



ANTECEDENTES

García y colaboradores

Rizobacterias interfieren con la rizósfera de la planta ayudando al desarrollo de la especie vegetal.

Días y colaboradores

La producción de auxinas, ácido abscísico y sideróforos de las rizobacterias promueven el crecimiento de raíces.

Lara y Negrete

Los parámetros que favorecen a las plantas sometidas a tratamientos con rizobacterias son: el fortalecimiento de las raíces, área foliar, longitud de la raíz y peso seco



Bosque alto andino, imagen tomada de: <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/8284>



DISEÑO METODOLÓGICO

UNIVERSO

Rizobacterias presentes en el suelo del Bosque Alto Andino de Colombia.

Modelo descriptivo

POBLACIÓN

Rizobacterias del suelo Parque Eco Tecnológico UAN, coordenadas: 4° 28'58,5N 74°07'15.5"W.

MUESTRA

Rizobacterias fijadoras de nitrógeno, amilolíticas, solubilizadoras de fósforo y con características ácido lácticas.

DISEÑO METODOLÓGICO

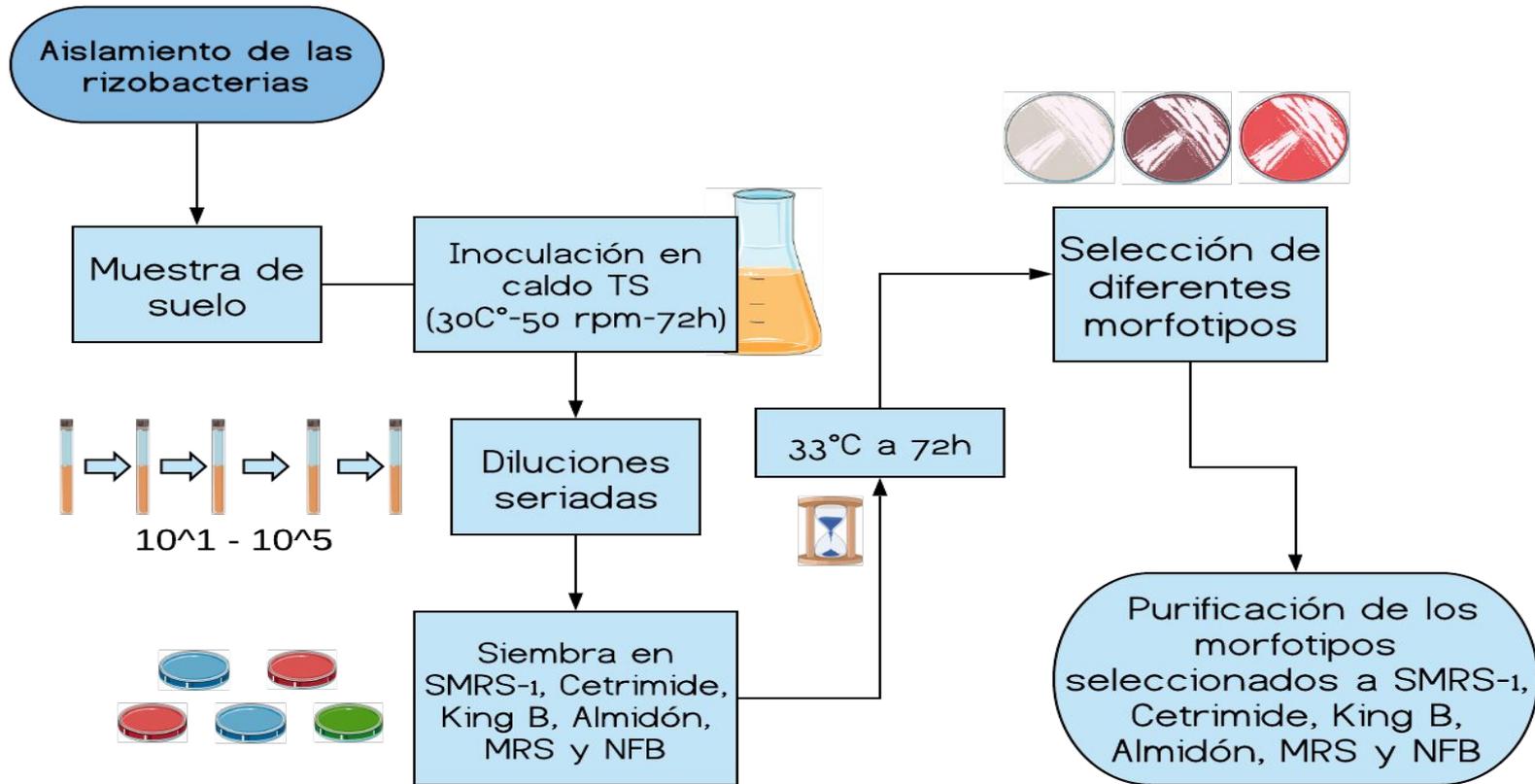
Hipótesis



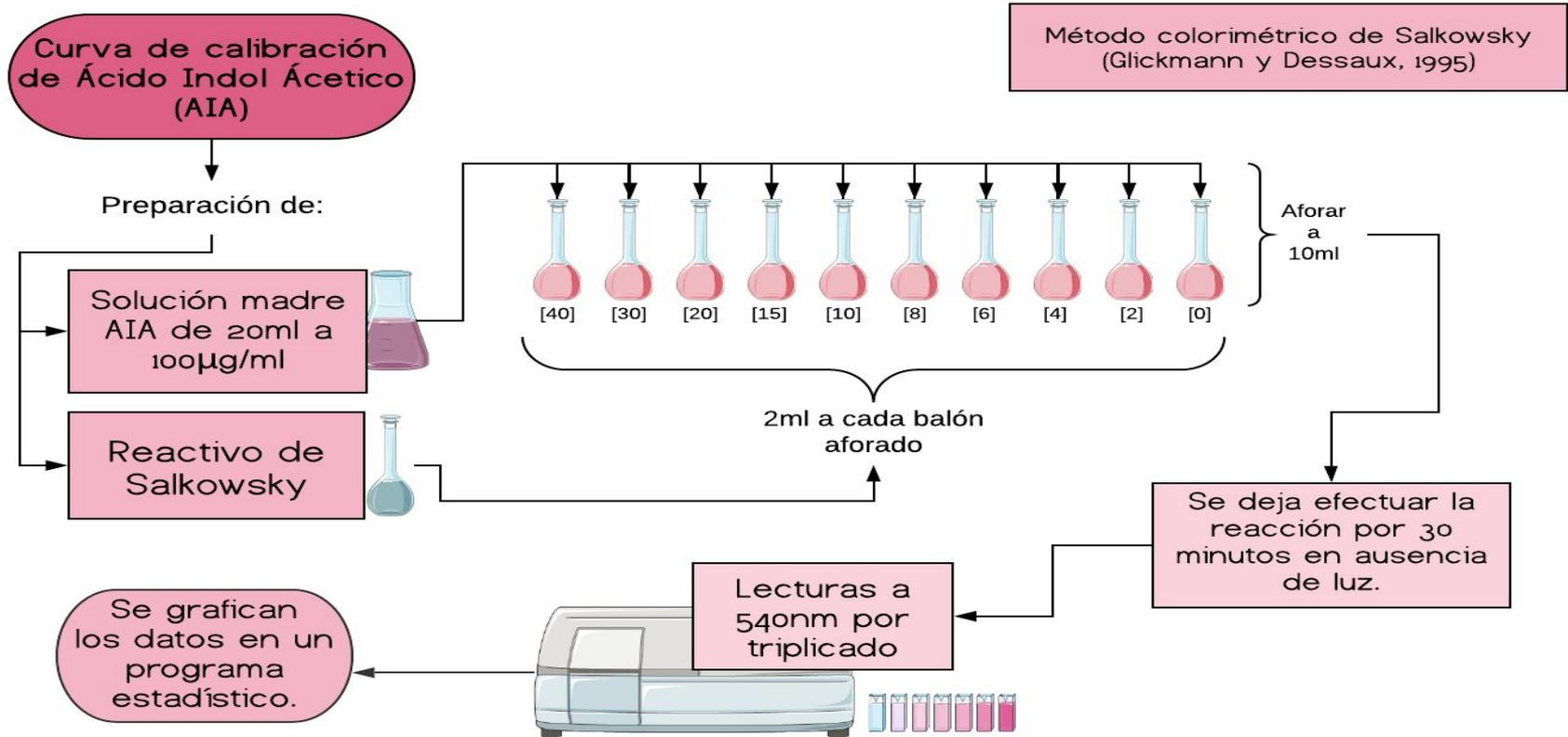
Existen Rizobacterias no antagónicas en el suelo del Bosque alto andino productoras de metabolitos que promueven el crecimiento de plantas nativas para ser usadas en restauración ecológica.

Independiente	Suelo del Bosque Altoandino	<ul style="list-style-type: none">• Sitio toma de muestra
Independiente	Medios de cultivo selectivos	<ul style="list-style-type: none">• Formulaciones de medios de cultivo
Dependiente	Cantidad de metabolitos PGPR	<ul style="list-style-type: none">• Producción de AIA.• Producción de amonio.
Dependiente	Antagonismo entre las cepas	<ul style="list-style-type: none">• Inhibición del crecimiento entre las cepas seleccionadas.

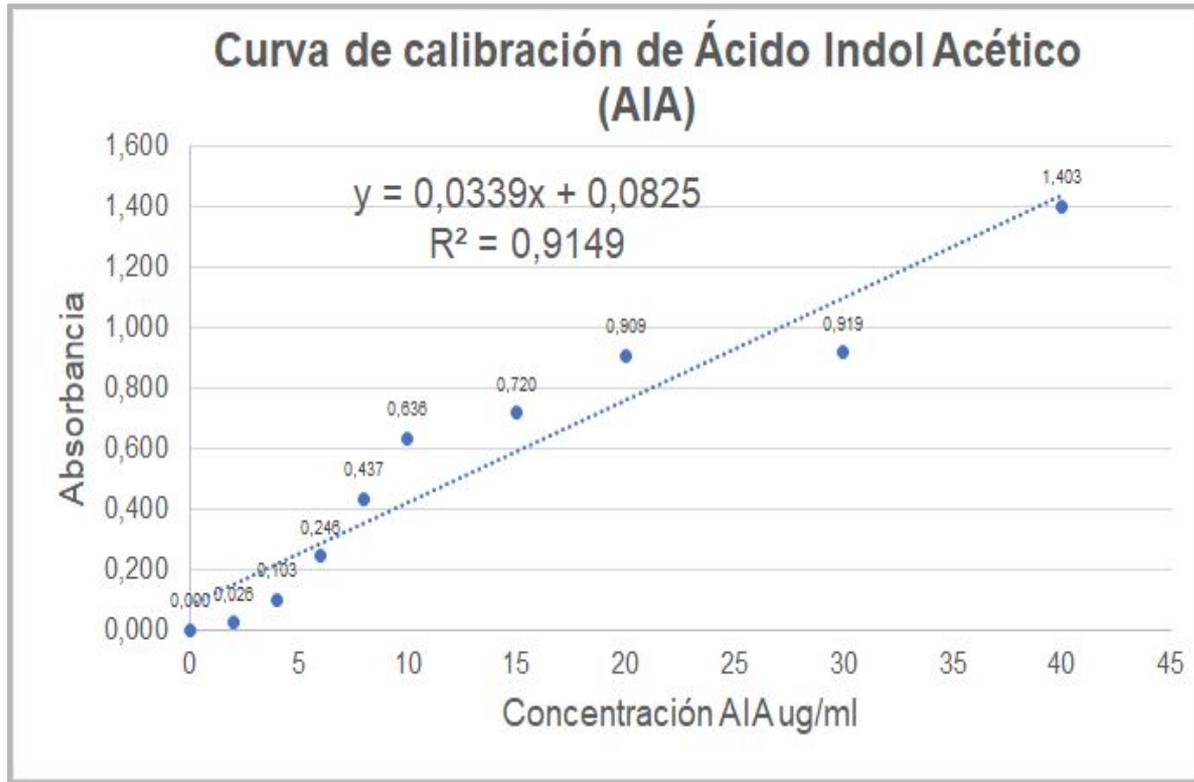
DISEÑO METODOLÓGICO (objetivo N°1)



DISEÑO METODOLÓGICO (objetivo N°2)

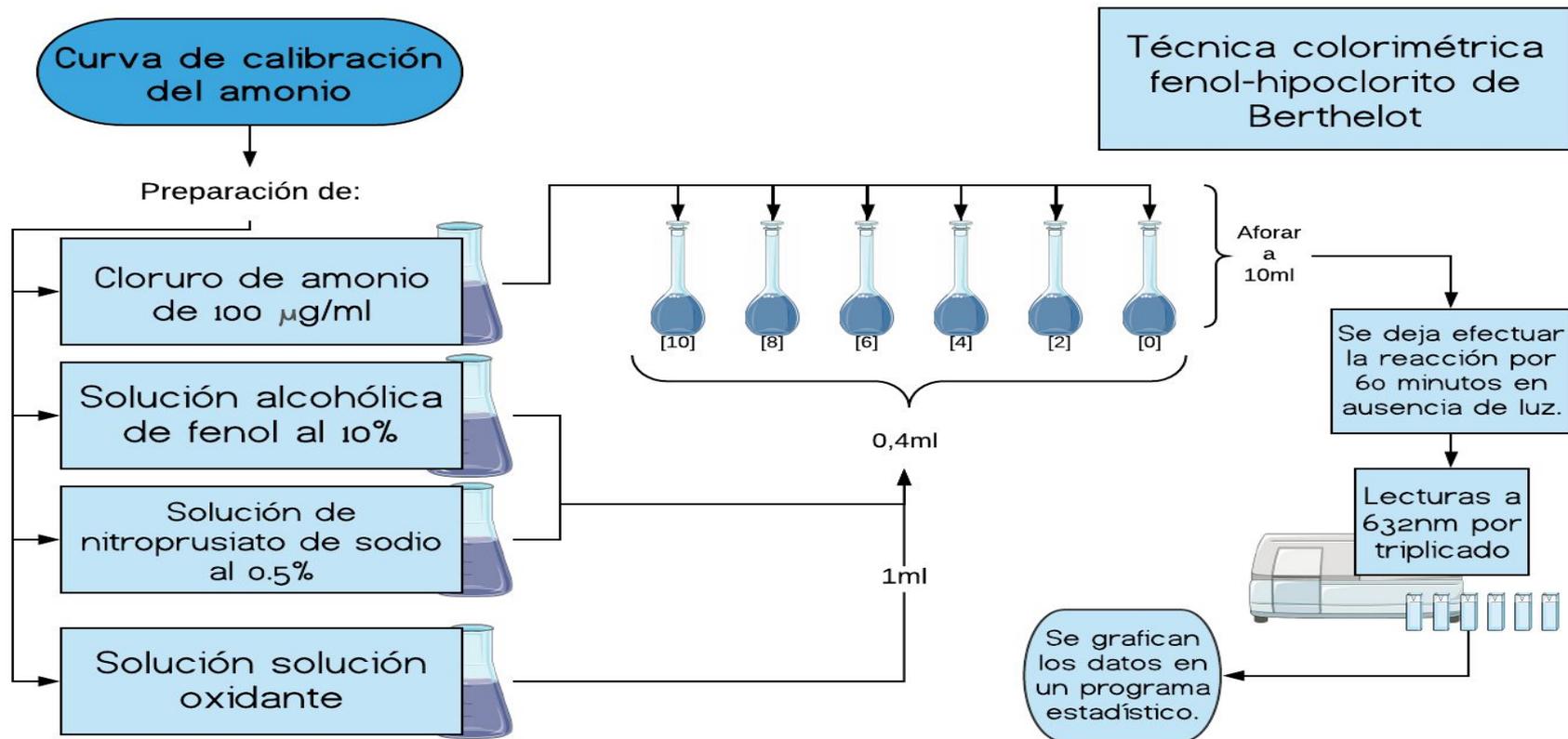


DISEÑO METODOLÓGICO (objetivo N°2)

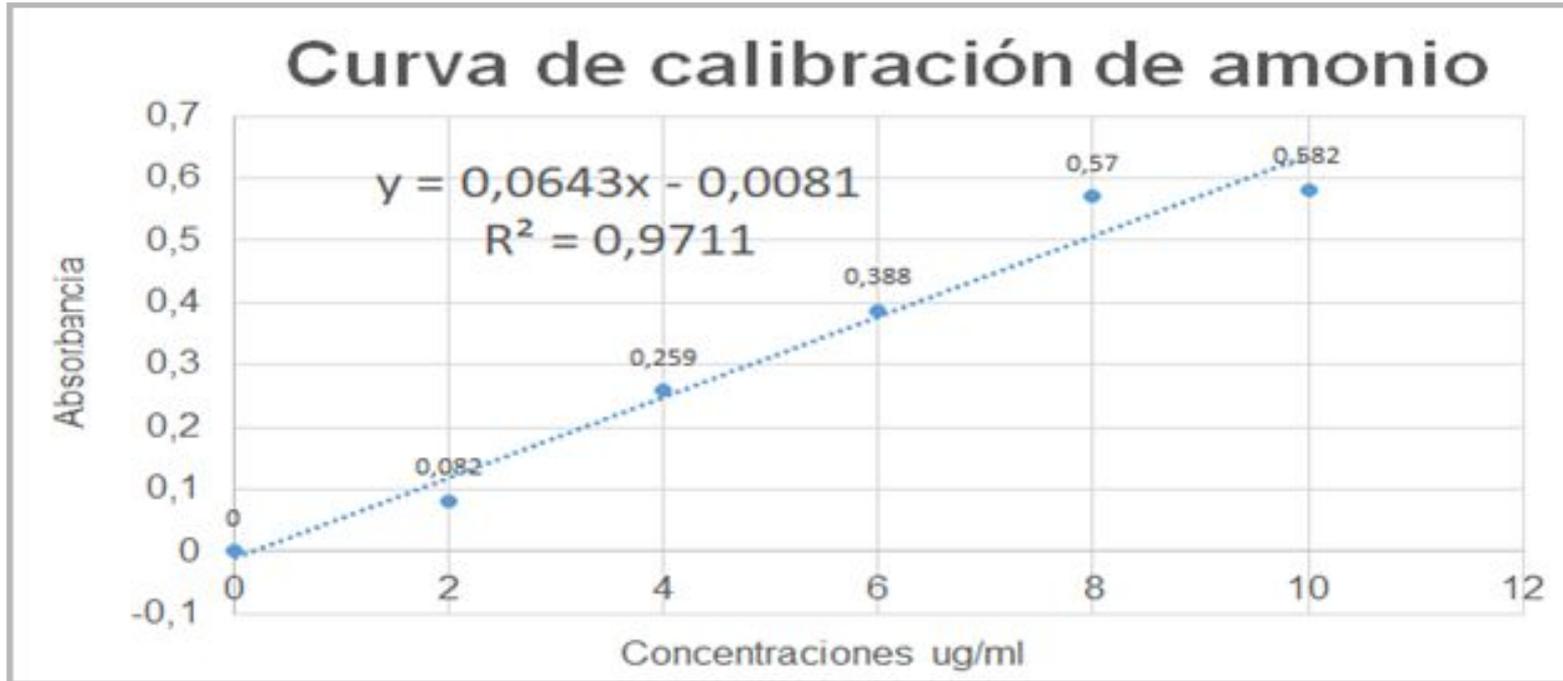


Gráfica N°3. Curva de calibración de Ácido Indol Acético.

DISEÑO METODOLÓGICO (objetivo N°2)

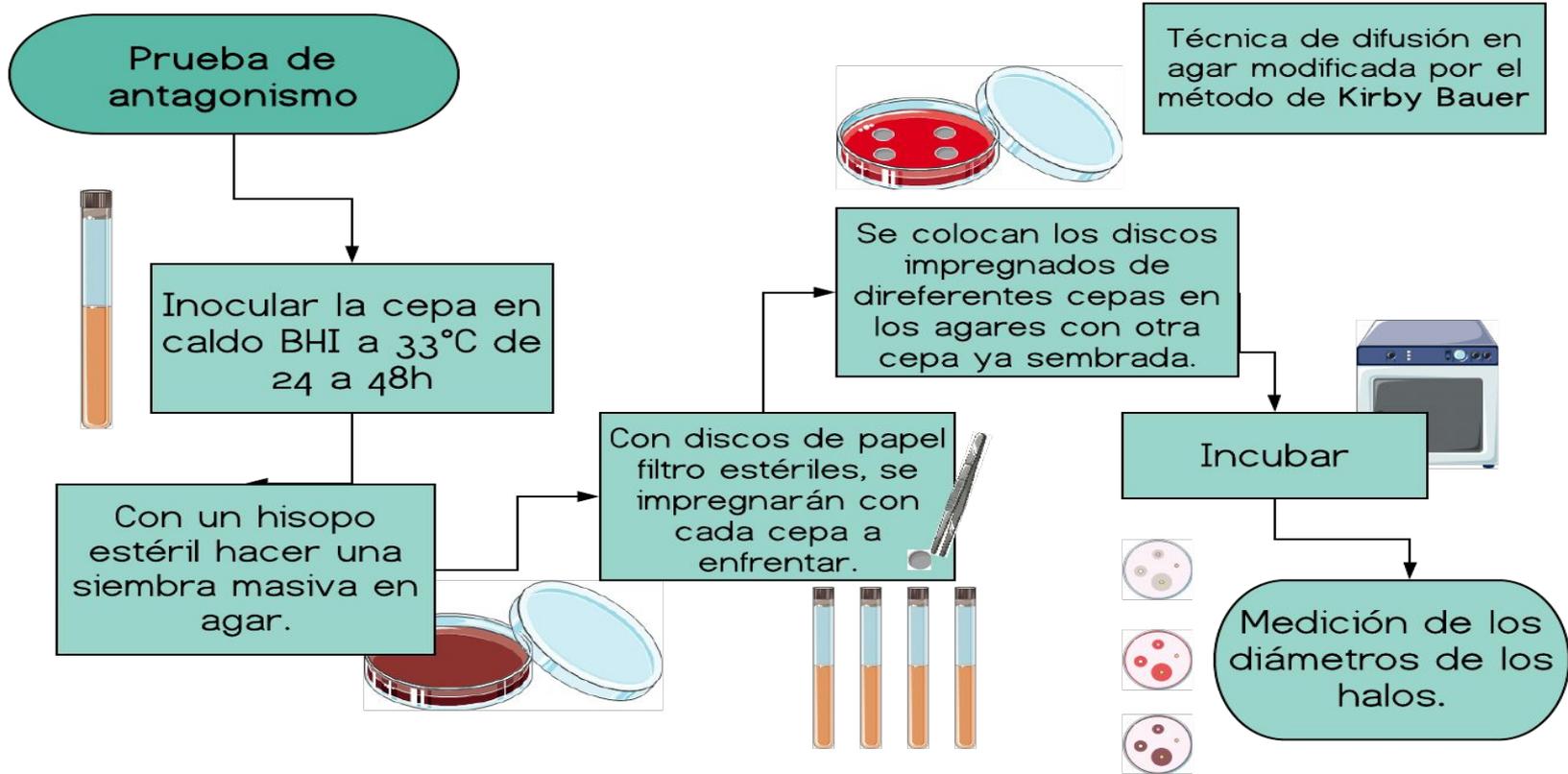


DISEÑO METODOLÓGICO (objetivo N°2)



Gráfica N°5. Curva de calibración de amonio.

DISEÑO METODOLÓGICO (objetivo N°3)

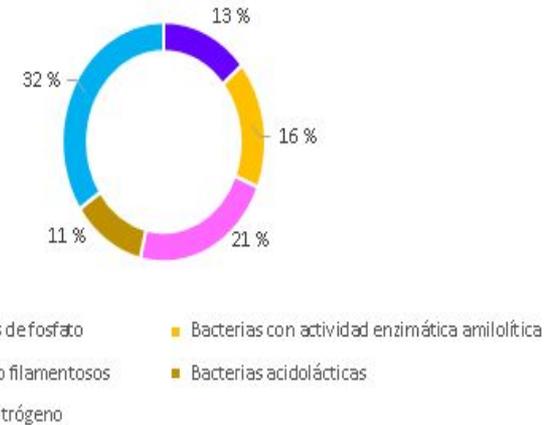


RESULTADOS Y DISCUSIÓN (objetivo N°1)

Rizobacterias aisladas del Parque Eco Tecnológico UAN

Número	Código de la cepa	Número	Código de la cepa
1	RB-RB5	20	RB-AL23
2	RB-RB15	21	RB-ALX
3	RB-RB24,2	22	RB-AL25
4	RB-RB304	23	RB-KB23
5	RB-RB24	24	RB-KB103
6	RB-RB32	25	RB-KB33
7	RB-RB103	26	RB-KB25
8	RB-RB43	27	RB-KB13
9	RB-C23	28	RB-KB304
10	RB-C35	29	RB-MRS14
11	RB-C25	30	RB-MRS13
12	RB-SM13	31	RB-MRS2
13	RB-SM34	32	RB-MRS24
14	RB-SM23	33	RB-MP14
15	RB-SM1	34	RB-MP15
16	RB-SM01	35	RB-MP34
17	RB-AL24	36	RB-MP24
18	RB-AL33	37	RB-NFB102
19	RB-AL13	38	RB-NFB103

Grupos de microorganismos aislados en suelo

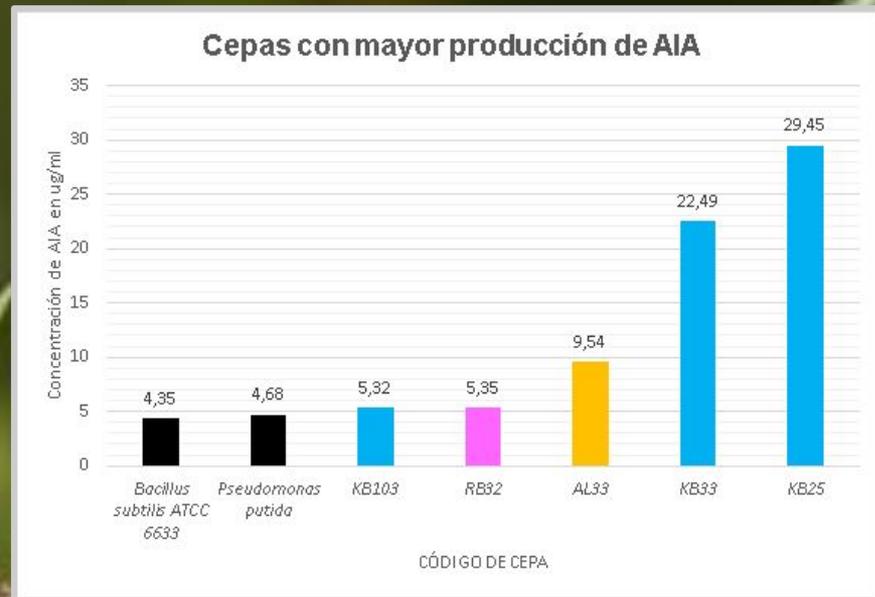


Gráfica N° 2. Tipo de cepa aislada según sus características

Tabla N°2. Rizobacterias aisladas del Parque Eco Tecnológico UAN con sus respectivos códigos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (objetivo N°2)

Concentración de ácido indol acético en µg/ml			
Código de la cepa	Concentración AIA	Código de la cepa	Concentración AIA
RB-RB5	0	RB-AL25	0,92920354
RB-RB15	0	RB-KB103	5,324483776
RB-RB24,2	3,790560472	RB-KB33	22,49162537
R7B-RB304	0	RB-KB25	29,45427729
RB-RB24	4,94100295	RB-KB23	0,575221239
RB-RB32	5,353982301	RB-KB13	0
RB-RB103	0	RB-KB304	0
RB-RB43	2,640117994	RB-MRS14	0
RB-C23	0	RB-MRS13	1,696165192
RB-C35	0	RB-MRS2	0
RB-C25	0	RB-MRS24	0
RB-SM13	0	RB-MP14	1,288135841
RB-SM34	0	RB-MP15	0
RB-SM23	0	RB-MP34	1,814159292
RB-SM-1	2,787610619	RB-MP24	1,781710914
HG-01	0	RB-NFB102	0
RB-AL24	0	RB-NFB103	1,843657817
RB-AL33	9,542772861	RB-ALX	0
RB-AL13	0	<i>Bacillus subtilis</i>	4,35132448
RB-AL23	0	<i>Pseudomonas putida</i>	4,675516224



Gráfica N°7. Cepas con mayor producción de Ácido Indol Acético (AIA)

Resultados desde 0,575µg/ml hasta 29,4µg/ml

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (objetivo N°2)

Lara et al. (2011)
Zona del Sinú Medio de
Cordoba

y Flores et al. (2017)
Norte de Santander

45ppm y 158µg/ml de AIA

Pacheco et al. (2015)

Efectos fitotóxicos o
promotores de
crecimiento de AIA en
raíces de plántulas de
lechuga.

Hernández et al. (2004)

Ceparío Nacional de
Biofertilizantes (U. de la
Habana) y Colección de
cultivos (U. Bélgica)
5.30µg/ml hasta 21.53µg/ml

Hoyos et al. (2008)

Concentración de AIA
en brotes de plátano

Promedio de 0.5mg/L

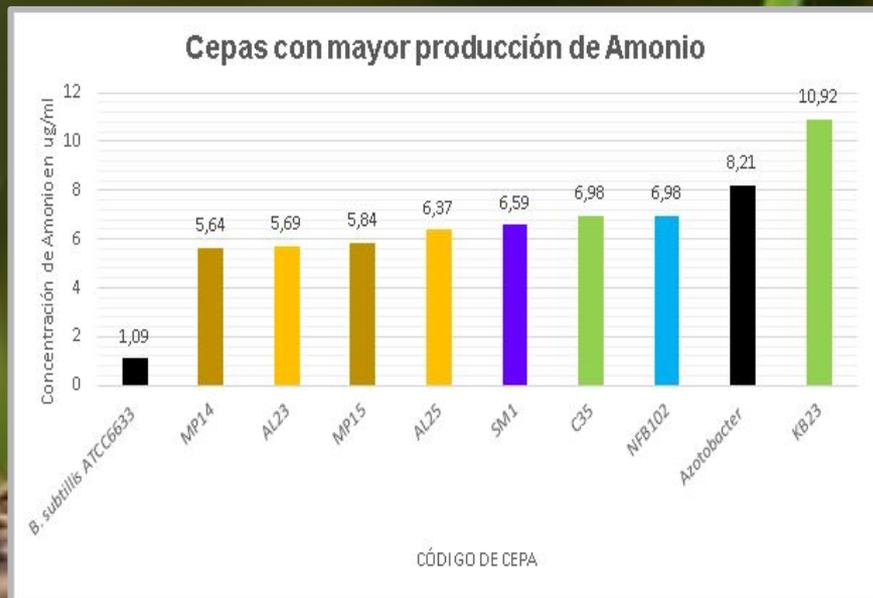
Liceta (2015)

Producción de AIA y
fijación de nitrógeno
simultáneamente

36.23µg/ml

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (objetivo N°2)

Concentración de amonio en µg/ml			
Código de la cepa	Concentración amonio	Código de la cepa	Concentración amonio
RB-RB5	0	RB-AL25	6,374805599
RB-RB15	4,041990669	RB-KB23	10,91601866
RB-RB24,2	2,844479005	RB-KB103	2,720062208
RB-RB304	2,548989114	RB-KB33	3,279937792
RB-RB24	3,777604977	RB-KB25	3,886469673
RB-RB32	0	RB-KB13	0
RB-RB103	2,580093313	RB-KB304	0
RB-RB43	3,171073095	RB-MRS14	3,8788677
RB-C23	2,9844479	RB-MRS13	4,987676544
RB-C35	6,981337481	RB-MRS2	3,9087654
RB-C25	3,8765678	RB-MRS24	4,244167963
RB-SM13	2,987656	RB-MP14	5,643856921
RB-SM34	3,987765	RB-MP15	5,846034215
RB-SM23	1,66251944	RB-MP34	3,404354588
RB-SM-1	6,592534992	RB-MP24	3,987675899
HG-01	0	RB-NFB102	6,981337481
RB-AL24	3,9876756	RB-NFB103	3,777604977
RB-AL33	2,786757489	RB-ALX	4,477449456
RB-AL13	3,9876859	<i>Bacillus subtilis</i>	1,094712286
RB-AL23	5,690513219	<i>Azotobacter</i>	8,209953344



Gráfica N°9. Cepas con mayor producción de Amonio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (objetivo N°2)

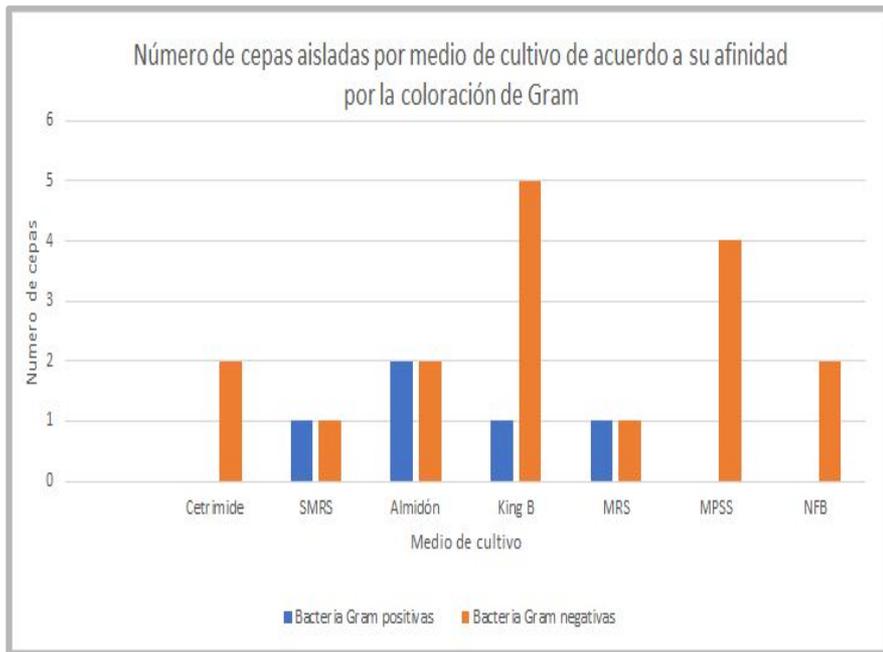
Silva y Zuñiga (2017)
12.52 y 37.52 ppm
Bacterias fijadoras de
nitrógeno aisladas de
Asparagus officinalis L.

Romero Terrones (2017)
10.465 y 25.869 ppm
Pseudomonas del
rizoplano y rizosfera de
Asparagus officinalis L.

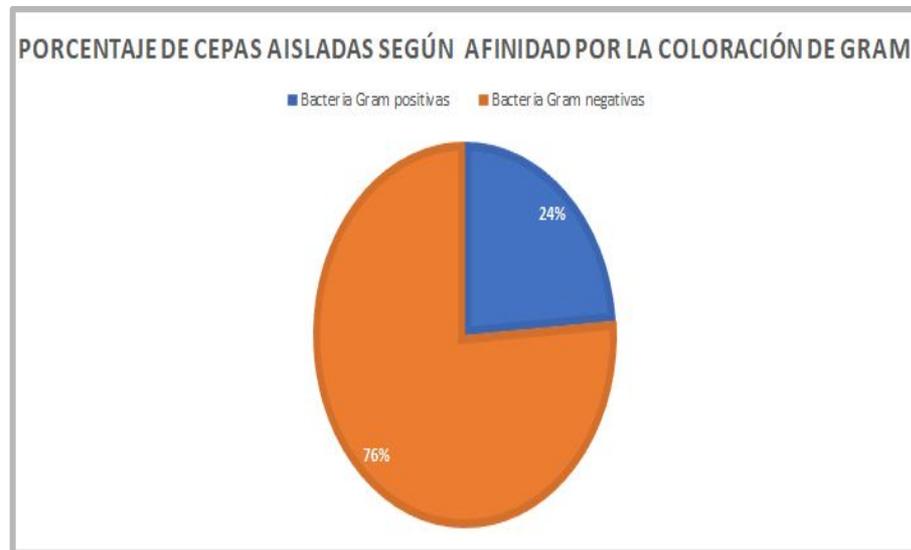
Lara y colaboradores
(2007)
0.90 a 5.17 mg/l
zona de San Carlos,
Valle del Sinú

Aguilar y Deza (2014)
24.74ppm
rizobacterias de
Jatropha curcas L.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Gráfica N°11 Porcentaje de cepas aisladas de acuerdo a la afinidad por la coloración de Gram



Gráfica N°10 Número de cepas aisladas por cada medio de cultivo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (objetivo N°3)

Resultados pruebas de antagonismo entre las cepas de rizobacterias			
Medio de cultivo	Cepas enfrentadas		Resultado en mm
	Siembra masiva en medio	Inóculo en disco	
King B	RB-C35	RB-KB103 RB-KB33 RB-KB25 RB-KB23 <i>Pseudomonas putida</i>	RB-C35 vs RB-KB103= 0 RB-C35 vs RB-KB33= 0 RB-C35 vs RB-KB25= 0 RB-C35 vs RB-KB23= 2 RB-C35 vs <i>Pseudomonas putida</i> = 4
King B	RB-KB103	RB-KB33 RB-KB25 RB-KB23 <i>Pseudomonas putida</i>	RB-KB103 vs RB-KB33= 0 RB-KB103 vs RB-KB25= 0 RB-KB103 vs RB-KB23= 2 RB-KB103 vs <i>Pseudomonas putida</i> = 10
King B	RB-KB33	RB-KB25 RB-KB23 <i>Pseudomonas putida</i>	RB-KB33 vs RB-KB25= 0 RB-KB33 vs RB-KB23= 2 RB-KB33 vs <i>Pseudomonas putida</i> = 20
King B	RB-KB25	RB-KB23 <i>Pseudomonas putida</i>	RB-KB25 vs RB-KB23= Crecimiento inhibido RB-KB25 vs <i>Pseudomonas putida</i> = 6
Almidón	RB-AL33	RB-ALX RB-AL25 <i>Bacillus subtilis</i>	AL33 vs ALX= 4 AL33 vs AL25= 0 AL33 vs <i>Bacillus subtilis</i> = 0
Almidón	RB-ALX	RB-AL33 RB-AL25 <i>Bacillus subtilis</i>	ALX vs AL33= 4 ALX vs AL25= 0 ALX vs <i>Bacillus subtilis</i> = 0
MPSS	RB-MP14	RB-MP34 RB-MP24 <i>Azotobacter</i>	RB-MP14 vs RB-MP34= 2 RB-MP14 vs RB-MP24= 2 RB-MP14 vs <i>Azotobacter</i> = 0
MPSS	RB-MP34	RB-MP24 <i>Azotobacter</i>	RB-MP34 vs RB-MP24= 2 RB-MP34 vs <i>Azotobacter</i> = 4
NFB	RB-NFB102	RB-NFB103 <i>Azotobacter</i>	RB-NFB102 vs RB-NFB103= 2 RB-NFB102 vs <i>Azotobacter</i> = 0

Tabla N°4. Resultados pruebas de antagonismo

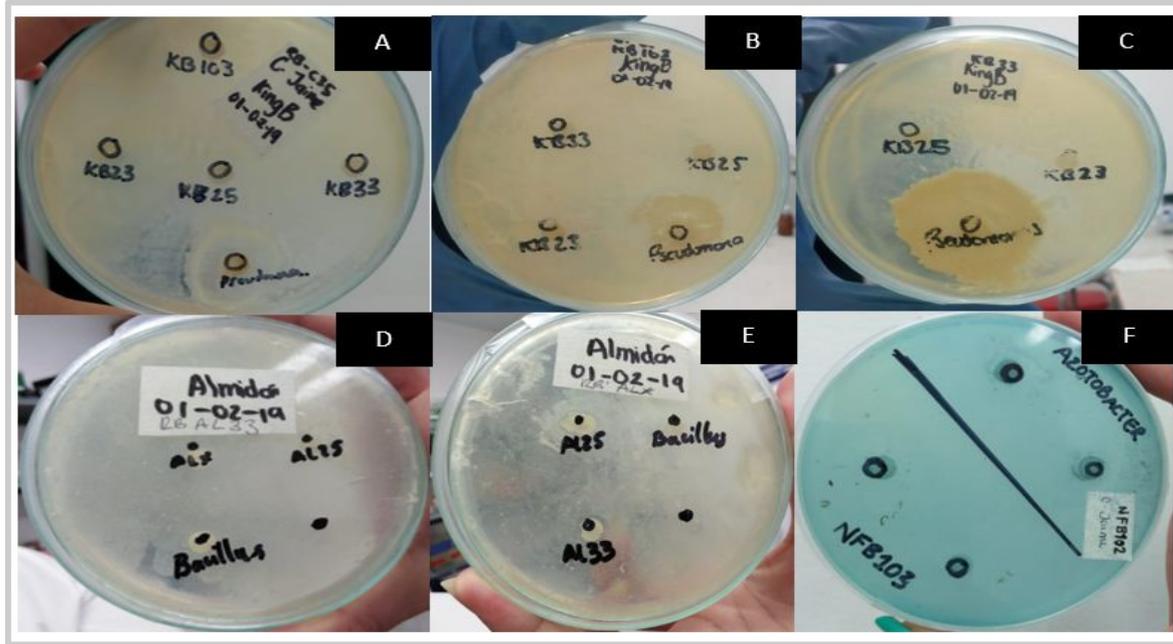


Figura N° 6. Pruebas de antagonismo en medios de cultivo entre las cepas de rizobacterias. (A) Medio King B con cepa masiva RB-C35 contra KB-103, KB-25, KB-23, KB-33 y *Pseudomonas*. (B) Medio King B con cepa masiva KB-103 contra KB-25, KB-23, KB-33 y *Pseudomonas*. (C) Medio King B con cepa masiva KB-33 contra KB-25, KB-23 y *Pseudomonas*. (D) Medio Almidón con cepa masiva RBAL-33 contra RBALX, RBAL-25 y *Bacillus*. (E) Medio Almidón con cepa masiva RBALX contra RBAL-33, RBAL-25 y *Bacillus*. (F) Medio NFB con cepa masiva NFB102 contra NFB103 y *Azotobacter*.

CONCLUSIONES

1. Se aislaron cepas nativas de una muestra de suelo del Bosque Alto Andino, con potencial efecto promotor de crecimiento vegetal.
2. Se cuantificó la producción de AIA y amonio de las rizobacterias aisladas, determinando la producción de metabolitos de crecimiento vegetal.
3. Se escogieron cepas de rizobacterias que no generan competencia entre ellas, lo que las hace excelentes candidatas para la creación de un consorcio microbiano para usarse como bioinóculo, que pueda ser usado los procesos de restauración ecológica favoreciendo el establecimiento y crecimiento de especies vegetales nativas, quienes no pueden crecer en suelos alterados y presentan bajas tasas de crecimiento que las deja en desventaja frente a especies exóticas.

RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas bioquímicas y moleculares a las cepas aisladas con mayor producción de ácido indol acético, amonio, determinando cepas patógenas y no patógenas.
- Seleccionar las cepas no patógenas y que no presenten antagonismo entre ellas para la creación del inóculo microbiano.
- Probar las rizobacterias en modo consorcio (3 mínimo) en la zona de restauración para observar los efectos promotores de crecimiento vegetal, midiendo criterios como: 1. Número de hojas, 2. Grosor de tallo y 3. Altura.



Imagen tomada de:

<http://activatres.es/blog/wp-content/uploads/2018/08/5-Consejos-para-saber-que%CC%81-carrera-estudiar.-800x360.png>

AGRADECIMIENTOS



PARTICIPACIONES



DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
SEDE BOGOTÁ

HACE CONSTAR QUE

Carolina Jaime Rodríguez

PARTICIPÓ COMO PONENTE EN EL

V BOGOTÁ MICROBIAL MEETING BoMM

CON EL PÓSTER TITULADO
**EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO ENTRE DISTINTAS
CEPAS DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE SUELO EN
PROCESO DE RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN LA
LOCALIDAD DE USME.**

CUYOS AUTORES SON

**Carolina Jaime Rodríguez, Stefany Calderón Alonso, Verónica López Romero,
Yinneth Paola Peña Fonseca, Camilo de los Ángeles Cárdenas, Liceth Cabreza,
Diego Fajardo Gómez.**

REALIZADO DEL 25 AL 26 DE JULIO DE 2019 EN LA CIUDAD DE BOGOTÁ D.C.

DADO EN BOGOTÁ D. C. EL 26 DE JULIO DE 2019.

YIH WEN FUNG
COORDINADORA DE EXTENSIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

2019 Bogota Microbial Meeting
25-26 DE JULIO
Ecología Microbiana - Biotecnología Microbiología Ambiental y Clínica
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO ENTRE DISTINTAS CEPAS DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE SUELO EN PROCESO DE RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN LA LOCALIDAD DE USME
Jaime C.J., Calderón S., Peña Y., López V., Cárdenas C., Cabreza L., Fajardo D.

INTRODUCCIÓN
El estudio de las relaciones entre microorganismos y su entorno es fundamental para comprender los procesos biológicos que ocurren en los ecosistemas. En particular, el estudio del antagonismo entre diferentes cepas de rizobacterias aisladas de suelo en un proceso de restauración ecológica en la localidad de USME es de gran importancia para comprender los mecanismos de acción de estas bacterias y su papel en la restauración del suelo.

OBJETIVO GENERAL
Evaluar el antagonismo entre diferentes cepas de rizobacterias aisladas de suelo en un proceso de restauración ecológica en la localidad de USME.

MATERIALES Y MÉTODOS
Se utilizaron diferentes cepas de rizobacterias aisladas de suelo en un proceso de restauración ecológica en la localidad de USME. Se realizaron experimentos de antagonismo in vitro y in vivo para evaluar el efecto de estas bacterias en la restauración del suelo.

RESULTADOS
Se obtuvieron resultados que indican que diferentes cepas de rizobacterias aisladas de suelo en un proceso de restauración ecológica en la localidad de USME presentan diferentes niveles de antagonismo. Los resultados obtenidos sugieren que algunas cepas de rizobacterias aisladas de suelo en un proceso de restauración ecológica en la localidad de USME pueden ser utilizadas para la restauración del suelo.

CONCLUSIONES
Los resultados obtenidos sugieren que algunas cepas de rizobacterias aisladas de suelo en un proceso de restauración ecológica en la localidad de USME pueden ser utilizadas para la restauración del suelo.

GRUPO DE CIENCIAS PLANETARIAS Y ASTROBIOLOGÍA
Departamento de Biología
Departamento de Geociencias
Sede Bogotá

GCPA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

BIBLIOGRAFÍA



Angulo VC, Sanfuentes EA, Rodríguez F, Sossa KE. Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. Revista Argentina de Microbiología [Internet].2014[citado 26 de octubre de 2018] ;46(4):338-347.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754114700938>



Perez Terron R, Gonzalez Montfort TS, Muñoz Rojas J. Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) y maíz (*Zea Mays*).Revista Iberoamericana de ciencias [Internet].2014[citado 25 junio 2019].Disponible en: <http://www.reibci.org/publicados/2014/agosto/3300118.pdf>



Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Plan Nacional de Restauración Ecológica, Rehabilitación y Recuperación de Áreas Degradadas-PNR. [Internet].Sede Bogotá. 2014 [Citado 15 abril 2018]. Disponible en: <http://www.minambiente.gov.co/index.php/bosques-biodiversidad-y-servicios-ecosistematicos/gestion-en-biodiversidad/restauracion-ecologica>



Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. ¿Restauración Ecológica?.2014[Internet].Sede Bogotá.[Citado 15 abril 2018]. Disponible en: <http://www.humboldt.org.co/es/actualidad/item/635-restauracion-eco>



SER (Society for Ecological Restoration International Science & Policy Working Group). 2004.[Internet].Tucson, Arizona.[Citado 15 abril 2018].Disponible en: <http://www.ser.org/resources/resources-detail-view/ser-international-primer-on-ecological-restoration>

BIBLIOGRAFÍA

-  Biotecnología ambiental. Aplicaciones biotecnológicas en la mejora del medio ambiente. [Internet]. Barcelona. 2004. [Citado 18 octubre 2018]. Disponible en: http://economia.gencat.cat/web/.content/70_economia_catalana/arxius/ne-97-98_e_blanch.pdf
-  Jose A. Lucas García, Jezabel Domenech, Carmen Santamaría, María Camacho Antonio Daza Javier Gutiérrez Mañer. Growth of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with rhizobacteria: relationship with microbial community structure and biological activity of its rhizosphere. *Environmental and experimental Botany*. [Internet]. 2004 Dec. [Cited in october 18th of 2018]. 52(3):239-251. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847204000280>
-  Freitas SS, Aguilár Vildoso CI. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [Internet]. 2004 [Citado em 18 outubro de 2018]. 28(6):987-994. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180214041007>
-  Castillo G, Altuna B, Michelena G, Sánchez Bravo J, Acosta M. Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. In *Anales de Biología*. [Internet]. 2005 [citado 25 Oct 2018]. (Vol. 27: pp. 137-142) Disponible en: [https://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/2255/1/AB27%20\(2005\)%20p%20137-142.pdf](https://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/2255/1/AB27%20(2005)%20p%20137-142.pdf)
-  Letícia Arruda; Anelise Beneduzi; Adriana Martins; Bruno Lisboa; Cristiane Lopes; Fernanda Bertolo; Luciane Maria P. Passaglia; Luciano K. Vargas. Screening of rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) in Rio Grande do Sul State (South Brazil) and analysis of their potential to improve plant growth. *Applied Soil Ecology* [Internet]. 2013 [Cited in october 26th of 2018]. 63 (2013): 15-22. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139312002247>

MUCHAS

GRACIAS



Investigar es ver lo que todo
el mundo ha visto,
y pensar lo que nadie más
ha pensado

Albert Szent-Györgyi
Fisiólogo (1893-1986)

