



Evaluación de la actividad de tres microorganismos psicrófilos frente al crecimiento y desarrollo vegetal de plántulas de Albahaca (*Ocimum basilicum*) y Menta (*Mentha piperita*) susceptibles a bajas temperaturas

Nicolas Andres Buitrago Tovar

Asesora: Ligia Consuelo Sánchez Leal, MSc

Bacteriología y Laboratorio Clínico
Mayo 2022

Tabla de contenido

1.Introducción

2.Objetivos

3.Antecedentes

4.Marco teórico

5.Metodología

6.Resultados y discusion

8.Conclusiones

Introducción



Imágenes: Pattanayak,2010 y Nuñez 2022



Según estudios en la región de Sumapaz Cundinamarca, los cultivos de plantas aromáticas se vieron afectados por distintos factores que ocasionaron pérdidas incluso del 50%.

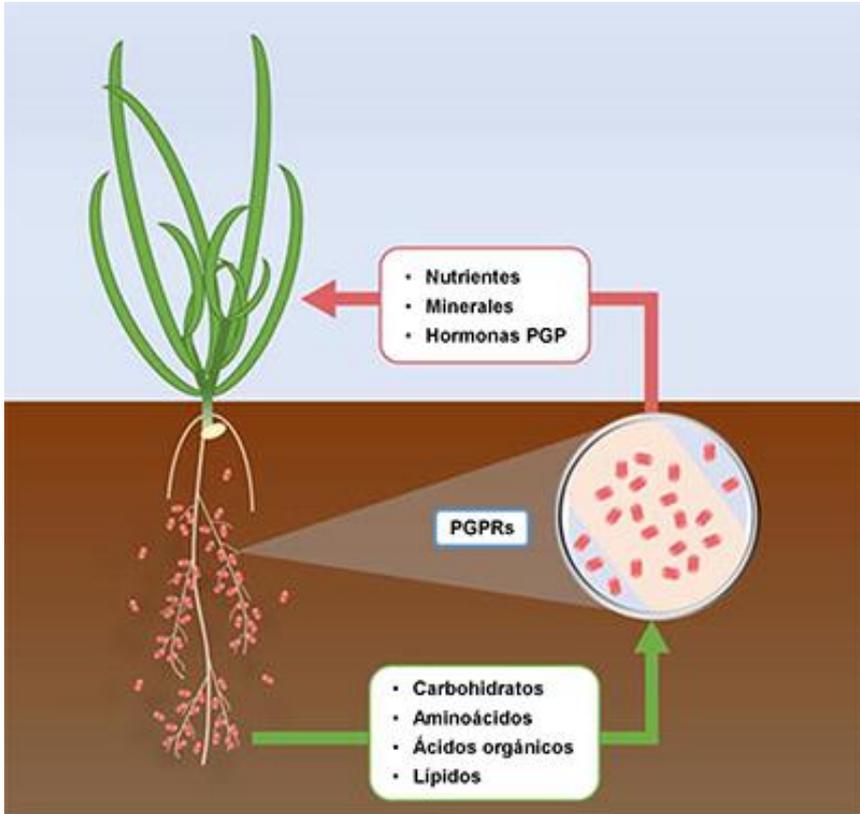
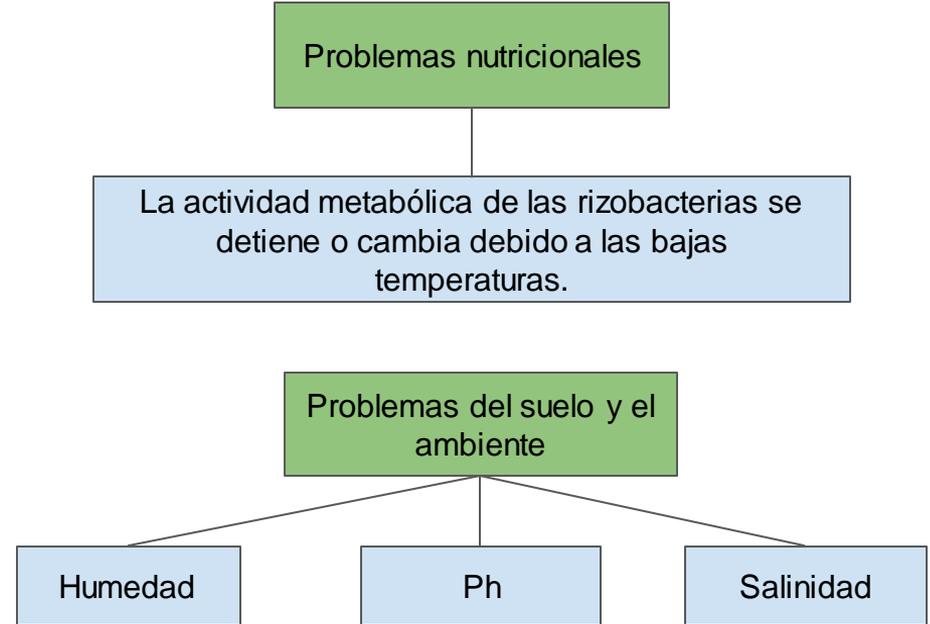


Imagen: Gamboa,2020

Dificultades para el desarrollo vegetal



Microorganismos psicrófilos

Benefician el crecimiento en plantas en climas fríos, ya que logran darles protección, nutrición y promueven su crecimiento.

Objetivo general

Determinar la actividad de tres microorganismos psicrófilos frente al desarrollo vegetal de las plantas aromáticas de Albahaca (*Ocimum basilicum*) y Menta (*Mentha piperita*) susceptibles a disminuir su producción por las bajas temperaturas, mediante el uso de bioensayos.

Objetivos específicos

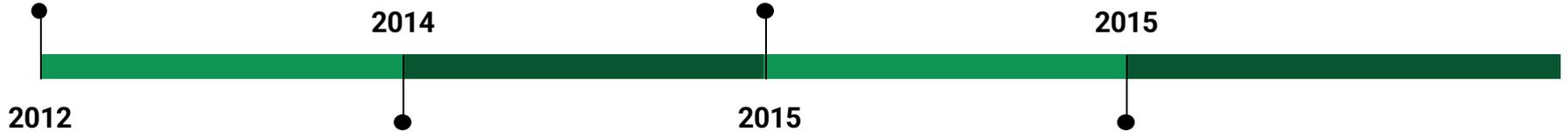
1. Verificar la pureza y viabilidad de las cepas bacterianas procedentes de la Antártida conservadas en el cerapio de la UCMC.
2. Conocer in vitro la funcionalidad bioquímica de los microorganismos y su utilidad en el desarrollo y crecimiento de las plantas.
3. Desarrollar un bioensayo en plantas aromáticas de Albahaca y Menta susceptibles al frío para comprobar si los microorganismos psicrófilos seleccionados eran capaces de mejorar las condiciones de desarrollo y crecimiento de las plantas en estudio.

Montañes et al

Identificaron 22 bacterias endofíticas mediante la presencia de nifH, producción de IAA, sideróforos y fosfatos. Observando su efecto en plantas de maíz.

Balcazar et al

describen la diversidad de los microorganismos obtenidos de glaciares y cuáles de éstos son metabólicamente versátiles a múltiples ambientes.



2014

2015

2015

Nath et al

evaluaron 232 cepas del Himalaya y observaron sus atributos como promotores de crecimiento.

Yarzabal et al

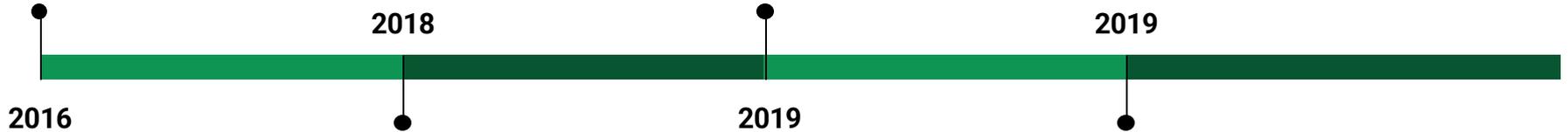
Aisló promotores de crecimiento activos en frío de suelos antárticos y probó sus efectos en cultivos de trigo.

Montejo et al

Evaluaron el efecto de *A. agilis* UCMV2 demostrando la capacidad de incrementar el índice de germinación en las raíces.

Tapia et al

Aislaron microorganismos psicrófilos del volcán Xinantécatl en México y fueron usados como promotores evaluando la producción de enzimas y producción de IAA



2018

2019

2019

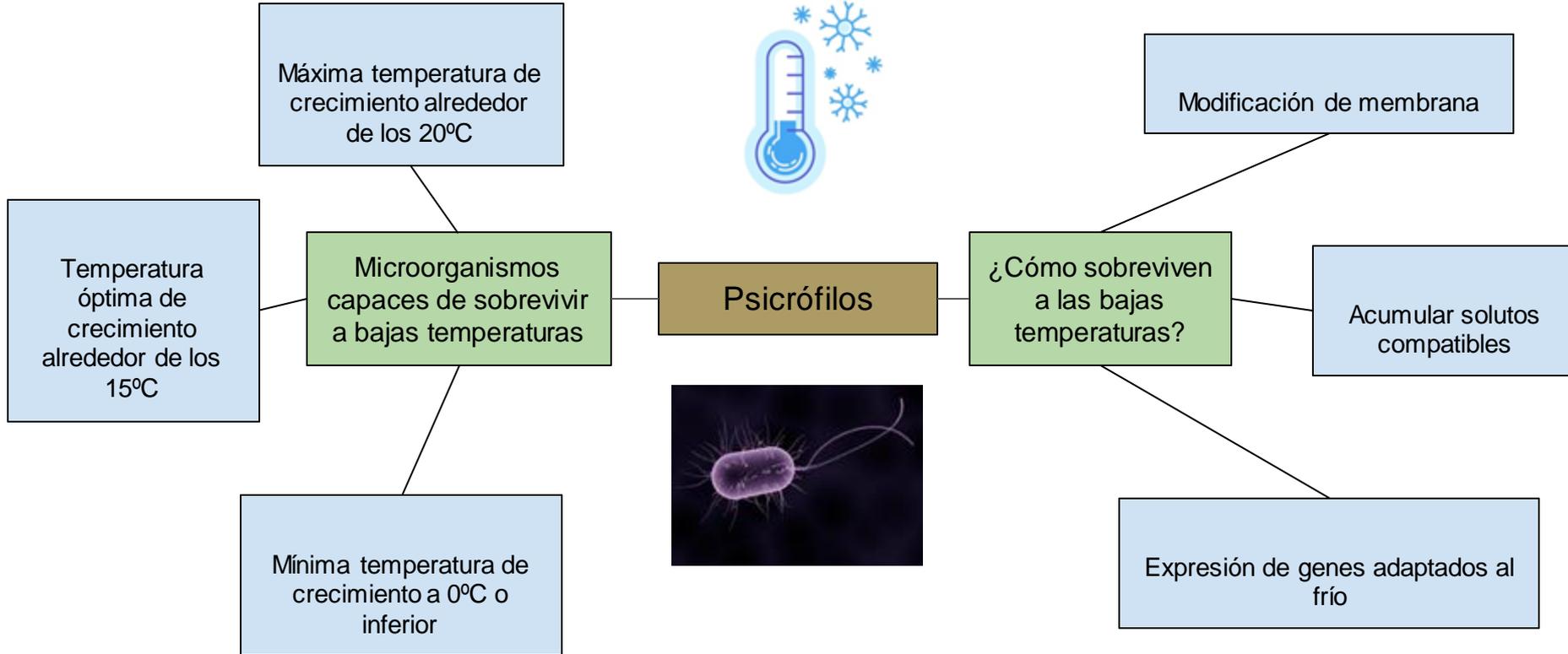
Pandey et al

Describen entornos montañosos y como los microorganismos se adaptan al mismo, además de recalcar el papel que juegan en el suelo como PGPM

Rondón et al

Selecciono 4 especies de *Pseudomonas* aisladas de glaciares venezolanos y se probó su actividad como PGPR en plántulas de trigo.

Marco teórico



Utilidad en el crecimiento vegetal

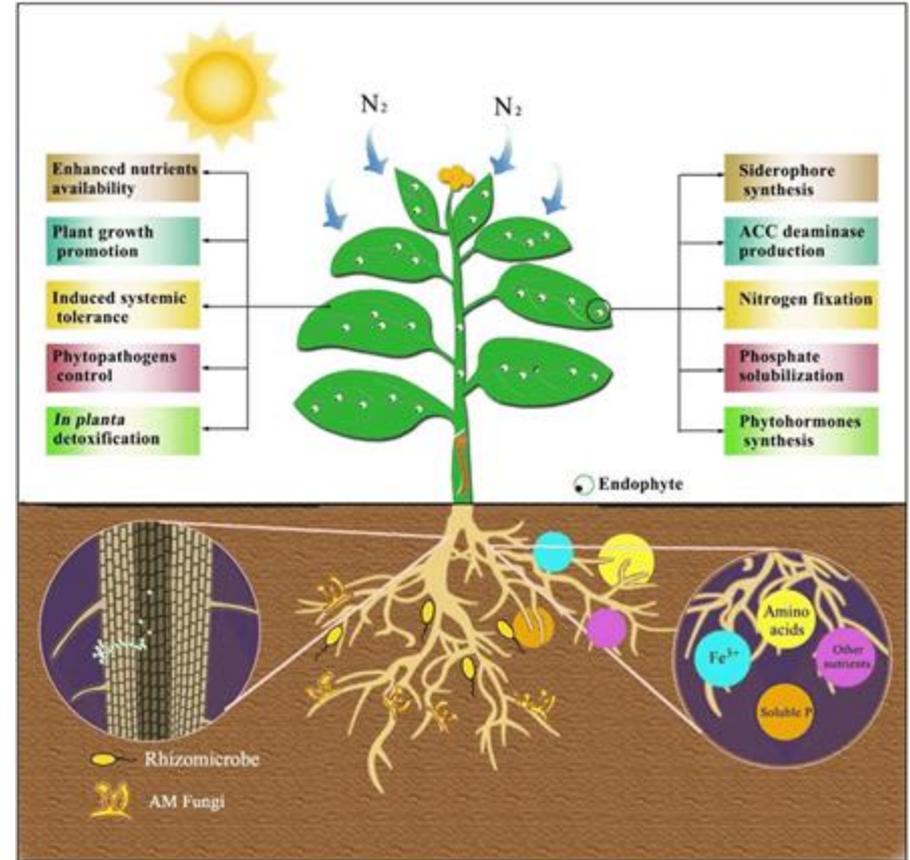
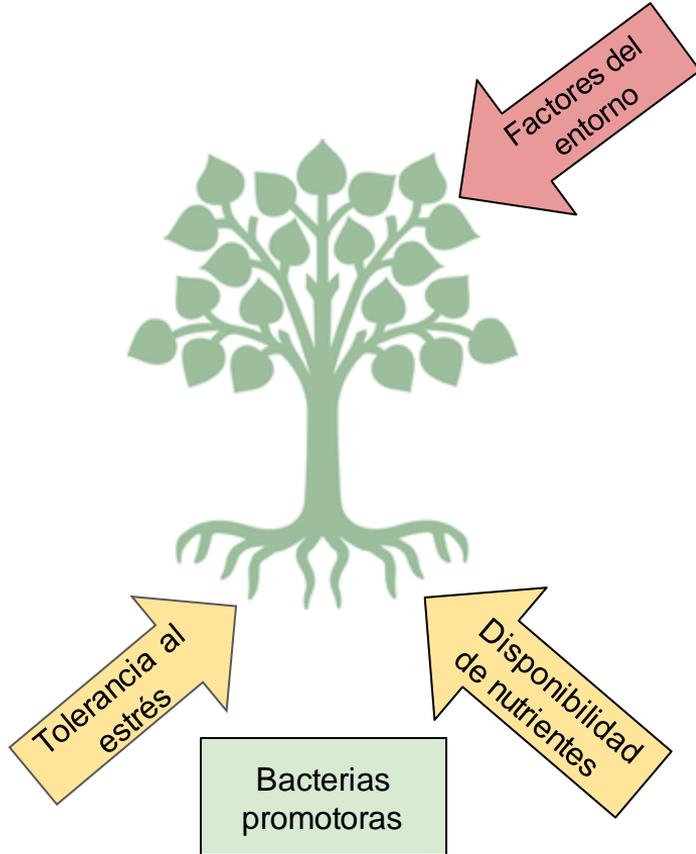


Imagen: Innoplant,2021

Marco teórico

Menta
(*Mentha piperita*)



Pertenece a la familia de las Labiadas, presenta raíces y brotes laterales muy superficiales.

Planta bastante sensible al frío. se debe mantener cubierta ante los cambios bruscos de temperatura.

Prefieren climas húmedos y templados para su desarrollo normal y buena iluminación.

Albahaca (*Ocimum basilicum*)



Pertenece a la familia de las Labiadas, presenta tallos erectos y ramificados.

Los cultivos de se realizan en climas templados o cálidos, sin variaciones bruscas de T°.

Prefieren suelos ligeros, húmedos y bien drenados, ricos en materia orgánica.

Metodología

Etapa 1: Estabilización de las cepas congeladas y verificación de la funcionalidad bioquímica in vitro relacionada con crecimiento y desarrollo de plantas

Reactivación de cepas psicrófilas aisladas de los suelos en agar LB

Afinidad a la coloración de Gram

Morfología Macroscópica

Funcionalidad en medios específicos

Etapa 2: Desarrollo del bioensayo en plantas aromáticas susceptibles al frío

Preparación de soluciones bacterianas en 100 ml de agua peptonada a 1 McFarland

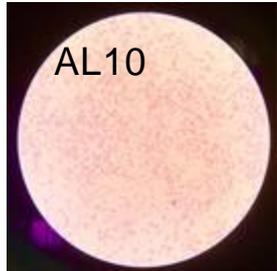
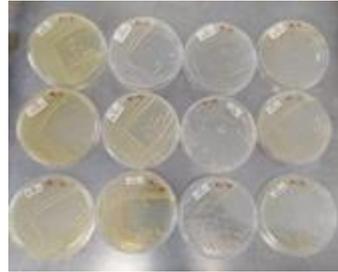
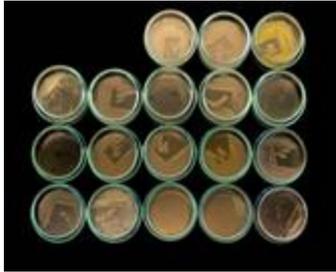
Inocular 44 plantas en total con 6 repeticiones + 3 controles

Dos plántulas de cada variedad para controlar la seguridad del lote de plántulas

Observación y recolección de datos de variables a medir

Resultados

Etapa 1



Aislamiento de las 19 cepas en agar LB y coloración de Gram de los 3 microorganismos seleccionados.

Nombre	Características	Gram
AL-10	Crecimiento reducido, colonias grandes, redondas con bordes definidos, color blanco, cremosas.	Bacilos Gram Negativos
AL-11	Colonias medianas, blancas, cremosas y mucosas brillantes.	Bacilos Gram Positivos
AL-16	Colonias medianas transparentes, planas con centro elevado	Cocobacilos Gram Negativos

Descripción de las características macroscópicas y microscópicas.

Etapa 2

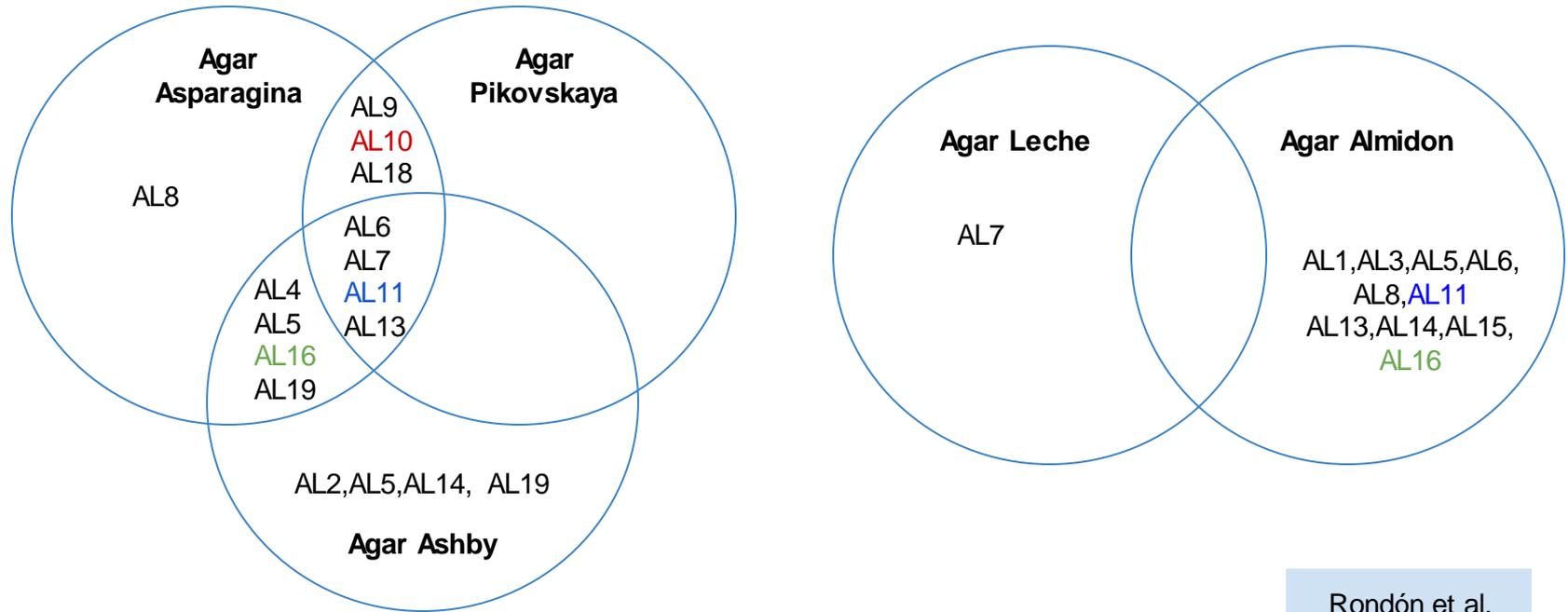
Selección de los microorganismos a utilizar en la fase 2 en base a sus características bioquímicas (fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfato)

Bacteria	Agar Pikovskaya	Agar Ashby	Agar Leche	Agar Almidón	Agar Asparagina
AL-1	Sin halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-2	Sin halo	Crecimiento	Sin halo	Sin halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-3	Sin halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-4	Sin halo	Crecimiento	Sin halo	Sin halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-5	Sin halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-6	Halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento con fluorescencia

AL-7	Halo	Crecimiento	Halo	Sin halo	crecimiento con fluorescencia
AL-8	Sin halo	Sin crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento con fluorescencia
AL-9	Halo	Sin crecimiento	Sin halo	Sin halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-10	Halo	Sin crecimiento	Sin halo	Sin halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-11	Halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-12	Sin halo	Sin crecimiento	Sin halo	Sin halo	Sin crecimiento

AL-13	Halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento con fluorescencia
AL-14	Sin halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	Sin crecimiento
AL-15	Halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento con fluorescencia
AL-16	Sin halo	Crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento con fluorescencia
AL-17	Sin halo	Sin crecimiento	Sin halo	Halo	Sin crecimiento
AL-18	Halo	Sin crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento sin fluorescencia
AL-19	Sin halo	Sin crecimiento	Sin halo	Halo	crecimiento sin fluorescencia

Diagrama Funcionalidad



Montejo et al.

EFFECT OF *Arthrobacter agilis* UMCV2 ON GERMINATION AND GROWTH OF PINUS DEVONIANA LINDLEY.

Antarctic *Pseudomonas* spp. promote wheat germination and growth at low temperatures.

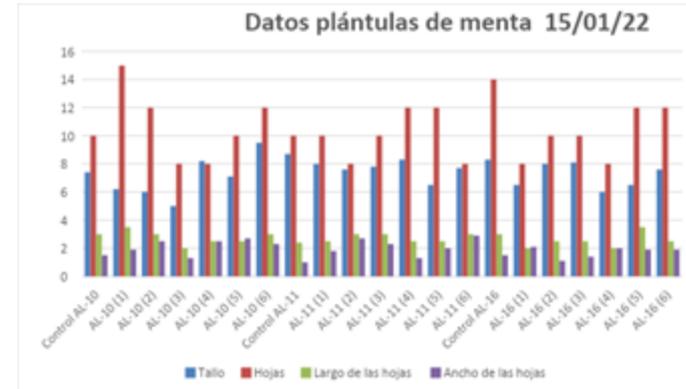
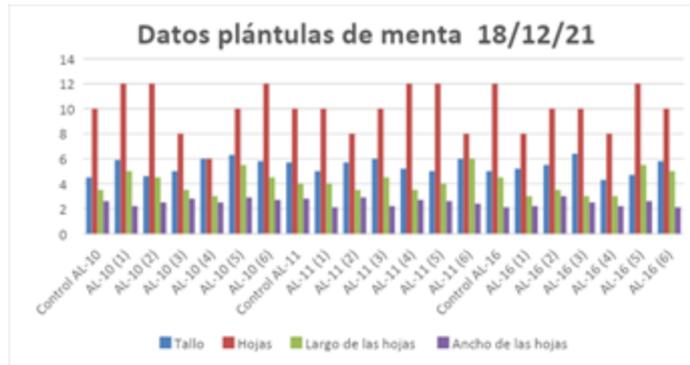
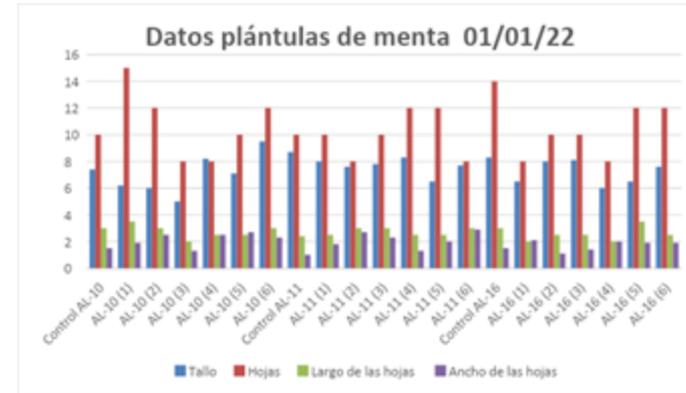
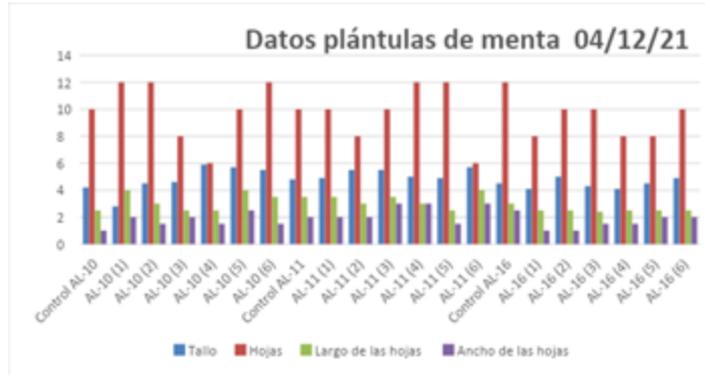
Yarzabal et al.

Rondón et al.

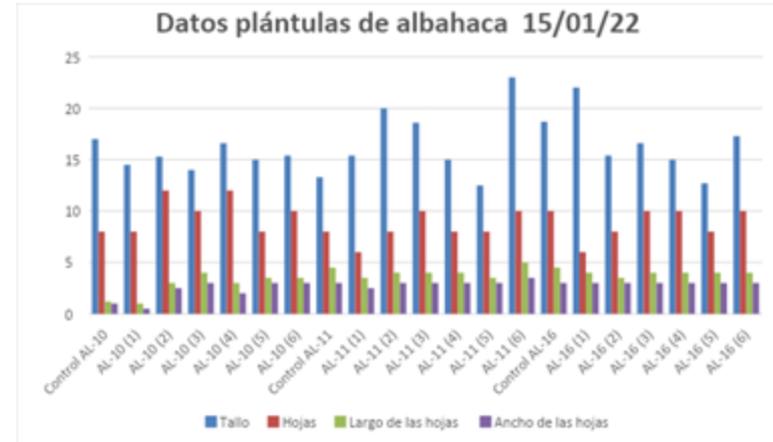
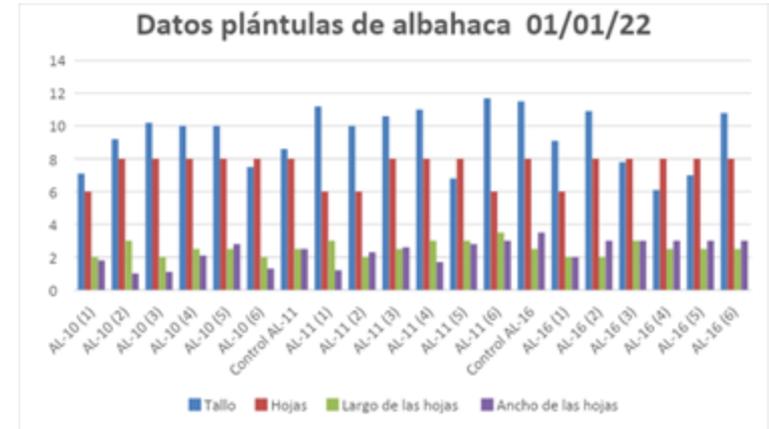
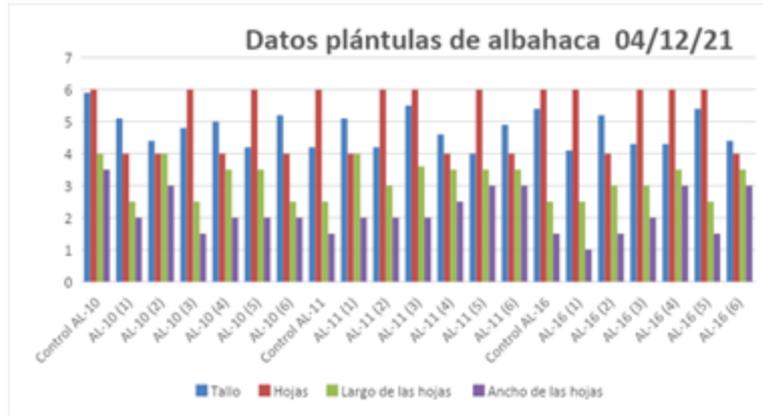
Eurypsychrophilic *Pseudomonas* spp. isolated from Venezuelan tropical glaciers as promoters of wheat growth and biocontrol agents of plant pathogens at low temperatures.

Resultados (datos recolectados de las plántulas de menta)

FASE 2



Resultados (datos recolectados de las plántulas de albahaca)



Resultados (Comparación de crecimiento de los controles Menta)

Control protegido menta



Control en condiciones de campo AL-10



Control en condiciones de campo AL-11



Control en condiciones de campo AL-16



Resultados (Comparación de crecimiento de los controles Albahaca)



Control en condiciones de campo AL-11



Control en condiciones de campo AL-16



Conclusiones

- Los microorganismos de la Antártida utilizados en el ensayo demostraron funcionalidades relacionadas con la fijación del nitrógeno y solubilización de fosfatos, procesos esenciales para el desarrollo y crecimiento vegetal.
- En los bioensayos, se logró demostrar que las bacterias psicrófilas actuaron como promotores de crecimiento en las plantas de albahaca debido a que lograron llegar a la fase reproductiva en varios casos. Sin embargo, en los ensayos con menta, no se evidenció un efecto protector o de participación por parte de las bacterias porque las plántulas frenaron su crecimiento y se marchitaron.
- Los bioensayos permitieron identificar variables que pueden ser implementadas en futuros ensayos como por ejemplo: un control más drástico en las temperaturas, realizar el ensayo en otra época del año en las mismas condiciones, e incluso esterilizar el suelo para evitar la intervención de otros microorganismos que pueden afectar las acciones de los microorganismos que se quieren probar.

Agradecimientos

- Principalmente a mis padres que son lo mas importante para mi y siempre me muestran su apoyo en cualquier decisión que tomo.
- A mi hermana, por motivarme a ser un buen ejemplo para ella y para todos los demás.
- A toda mi familia y amigos por darme el cariño que necesito y mostrarse orgullosos de mis logros.
- A la Universidad y al semillero neonature de la profesora Ligia Consuelo por darme las herramientas y compartir su conocimiento para elaborar este trabajo.

Referencias

1. Rojas PB. Hierbas aromáticas culinarias para exportación en fresco manejo agronómico, producción y costos. p. 13.
2. Costos EDE, Aromaticas H. Monografía - Cultivos De Más Alto Valor En Colombia (Hvc).
3. Diaz Merchán J. Caracterización del mercado colombiano de plantas medicinales y aromaticas. 2003. 82 p.
4. Cardona JO, Barrientos JC. Producción, uso y comercialización de especies aromáticas en la región Sumapaz, Cundinamarca. Rev Colomb Ciencias Hortícolas. 2012;5(1):114–29.
5. ICA. Plantas aromáticas y medicinales Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos. Medidas para la Tempor invernall. 2011;1:48.
6. Fernández V. Fichas de cultivo de especies aromáticas tradicionales. Estud en Domest y cylvivo especies Med y aromáticas Nativ [Internet]. 2012;205–25. Available from: www.cbi.nl
7. Mateus-Perez LM, Vanegas-Forero Z. Caracterización de la Agrocadena de la Albahaca (*Ocimum basilicum*) en San Antonio Del Tequendama – Cundinamarca, Bajo el Enfoque del Desarrollo Territorial. Repositorio Universidad Distrital. 2015. 122 p.
8. Beltrán Pineda ME. La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu. 2015;15(1):101.
9. Helgason BL, Kenschuh HJ, Bedard-Haughn A, VandenBygaart AJ. Microbial distribution in an eroded landscape: Buried A horizons support abundant and unique communities. Agric Ecosyst Environ [Internet]. 2014;196:94–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2014.06.029>
10. Pandey A, Yarzabal LA. Bioprospecting cold-adapted plant growth promoting microorganisms from mountain environments. Appl Microbiol Biotechnol. 2019;103(2):643–57.
11. Bacteria of ice and snow in antartica. 1918;
12. García-López E, Alcázar P, Postigo M, Cid C. The effect of climate change on microbial communities fromglaciers. Glaciers Form Clim Chang their Eff. 2016;(April):71–88.
13. Para M, Al O, De Doctor G, Por P, García L, Directores D, et al. TESIS DOCTORAL Mecanismos moleculares de adaptación a los cambios de temperatura en la bacteria antártica *Shewanella frigidimarina*. 2014;
14. Bartha R. Ecología microbiana y Microbiología ambiental.
15. Michael M, Martinko J, Bender K, Buckely D, Stahl D. Biología de los microorganismos. 1377;68–70.
16. Borges N, Ramos A, Raven NDH, Sharp RJ, Santos H. Comparative study of the thermostabilizing properties of mannosylglycerate and other compatible solutes on model enzymes. Extremophiles. 2002;6(3):209–16.
17. Horn G, Hofw eber R, Kremer W, Kalbitzer HR. Structure and function of bacterial cold shock proteins. Cell Mol Life Sci. 2007;64(12):1457–70.
18. Ramírez D. N, Serrano R. JA, Sandoval T. H. Actinomicetos halófilos en México. Rev Mex Ciencias Farm [Internet]. 2006;37:56–71. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/579/57937307.pdf>
19. Sarmiento F, Peralta R, Blamey JM. Cold and hot extremozymes: Industrial relevance and current trends. Front Bioeng Biotechnol. 2015;3(OCT).
20. Cavicchioli R, Charlton T, Ertan H, Omar SM, Siddiqui KS, Williams TJ. Biotechnological uses of enzymes frompsychrophiles. Microb Biotechnol. 2011;4(4):449–60.
21. Huston AL. Biotechnological aspects of cold-adapted enzymes. Psychrophiles From Biodivers to Biotechnol. 2008;347–63.

22. Margesin R. Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology: Second Edition. Psychrophiles From Biodivers to Biotechnol Second Ed. 2017;1–685.
23. Fornbacke M, Clarsund M. Cold-Adapted Proteases as an Emerging Class of Therapeutics. *Infect Dis Ther.* 2013;2(1):15–26.
24. Belmar AR, Alfonso V, Microbiología M, Predoctoral A. Microorganismos extremófilos. Psicrófilos y sus mecanismos de adaptación. 2018;622–8.
25. FAO. El daño producido por las heladas: Fisiología y Temperaturas críticas. Protección contra las heladas Fundam práctica y Econ [Internet]. 2010;15(4):73–98. Available from: <http://www.fao.org/docrep/012/y7223s/y7223s00.htm>
26. Balcazar W, Rondón J, Rengifo M, Ball MM, Melfo A, Gómez W, et al. Bioprospecting glacial ice for plant growth promoting bacteria. *Microbiol Res* [Internet]. 2015;177:1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.001>
27. Oliart-Ros R, Manresa-Presas Á, Sánchez-Otero M. Utilization of microorganisms from extreme environments and their products in biotechnological development. *CienciaUAT.* 2016;11(1):79–90.
28. Rondón JJ, Ball MM, Castro LT, Yarzabal LA. Eurypsychrophilic *Pseudomonas* spp. isolated from Venezuelan tropical glaciers as promoters of wheat growth and biocontrol agents of plant pathogens at low temperatures. *Environ Sustain* [Internet]. 2019;2(3):265–75. Available from: <https://doi.org/10.1007/s42398-019-00072-2>
29. Yadav AN, Sachan SG, Verma P, Saxena AK. Prospecting cold deserts of north western Himalayas for microbial diversity and plant growth promoting attributes. *J Biosci Bioeng* [Internet]. 2015;119(6):683–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.11.006>
30. Tapia-Vázquez I, Sánchez-Cruz R, Arroyo-Domínguez M, Lira-Ruan V, Sánchez-Reyes A, del Rayo Sánchez-Carbente M, et al. Isolation and characterization of psychrophilic and psychrotolerant plant-growth promoting microorganisms from a high-altitude volcano crater in Mexico. *Microbiol Res.* 2020;232.
31. Al-Ghanayem AA, Joseph B. Current prospective in using cold-active enzymes as eco-friendly detergent additive. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020;104(7):2871–82.
32. Schachtman DP, Reid RJ, Ayling SM. Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiol.* 1998;116(2):447–53.
33. Massaccesi L, Benucci GMN, Gigliotti G, Cocco S, Corti G, Agnelli A. Rhizosphere effect of three plant species of environment under periglacial conditions (Majella Massif, central Italy). *Soil Biol Biochem* [Internet]. 2015; 89:184–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.010>
34. Rudrappa T, Czymmek KJ, Paré PW, Bais HP. Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. *Plant Physiol.* 2008;148(3):1547–56.
35. Aviles-García ME, Flores-Cortez I, Hernández-Soberano C, Santoyo G, Valencia-Cantero E. La rizobacteria promotora del crecimiento vegetal *Arthrobacter agilis* UMCV2 coloniza endofíticamente a *Medicago truncatula*. *Rev Argent Microbiol.* 2016;48(4):342–6.
36. Li M, Guo R, Yu F, Chen X, Zhao H, Li H, et al. Indole-3-acetic acid biosynthesis pathways in the plant-beneficial bacterium *arthrobacter pascens* zz21. *Int J Mol Sci.* 2018;19(2).
37. Hernández-Soberano C, Ruiz-Herrera LF, Valencia-Cantero E. Endophytic bacteria *Arthrobacter agilis* UMCV2 and *Bacillus methylotrophicus* M4-96 stimulate achene germination, in vitro growth, and greenhouse yield of straw berry (*Fragaria x ananassa*). *Sci Hortic (Amsterdam).* 2020;261(October).
38. Montejó-Mayo W, Valencia-Cantero E, López-Albarrán P, Velázquez-Becerra C. Efecto de *Arthrobacter agilis* UMCV2 sobre la germinación y crecimiento de *Pinus devoniana* Lindley. *Polibotánica.* 2016;0(41):79–90.
39. Fernández-González AJ, Martínez-Hidalgo P, Cobo-Díaz JF, Villadas PJ, Martínez-Molina E, Toro N, et al. The rhizosphere microbiome of burned holm-oak: Potential role of the genus *Arthrobacter* in the recovery of burned soils. *Sci Rep.* 2017;7(1):1–12.
40. Naqqash T, Imran A, Hameed S, Shahid M, Majeed A, Iqbal J, et al. First report of diazotrophic *Brevundimonas* spp. as growth enhancer and root colonizer of potato. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):1–14. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69782-6>
41. Kumar V, Gera R. Isolation of a multi-trait plant growth promoting *Brevundimonas* sp. and its effect on the growth of Bt-cotton. *3 Biotech.* 2014;4(1):97–101.
42. I AH, Ii NR, I YA. Potencialidades de las bacterias diazotróficas asociativas en la promoción del crecimiento vegetal y el control de *Pyricularia oryzae* (Sacc.) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Rev Protección Veg.* 2014;29(1):1–10.

43. Yarzabal LA, Monserrate L, Buela L, Chica E. Antarctic *Pseudomonas* spp. promote wheat germination and growth at low temperatures. *Polar Biol* [Internet]. 2018;41(11):2343–54. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2374-6>
44. Yarzabal LA. Perspectives for using glacial and periglacial microorganisms for plant growth promotion at low temperatures. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020;104(8):3267–78.
45. Roig Mesa JT. Plantas medicinales y aromáticas. *Rev Cuba farm*. 1968;2(3):89–95.
46. Urriaga ML. Plantas aromáticas para huertos urbanos. 1377;68–70.
47. Lastra H, Piquet R. Artículos de Revisión CALENDULA OFFICINALIS. *Rev Cuba Farm* [Internet]. 1999;33(3):188–94. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v33n3/far07399.pdf>
48. Varias EDE, Fertilizante DDE, En N, Comportamiento EL, Del M, Hierbabuena CDE, et al. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL INGENIERO AGRÓNOMO TEMA : AUTOR: Jessica Viviana Orellana López DIRECTOR DE TESIS : 2013;
49. Castro D, Diaz J, Serna R. Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales. 2013.
50. Huerto urbano. El romero. El Huerto Urbano [Internet]. 2012;27:1. Available from: <http://www.elhuertourbano.net/aromaticas/el-romero/>
51. CAR. Informe del registro e impactos de heladas en el territorio car
52. Valero Urbina. Daños por heladas en frutales.2015.