ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/338594438

# Estimulación del crecimiento de Echinocactus platyacanthus con bacterias PGPR

**Article** · June 2013

CITATION
1

READS
214

**7 authors**, including:



Alatorre-Cruz Julia Maria
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
**15** PUBLICATIONS **33** CITATIONS
SEE PROFILE



María del Rocío Bustillos
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
**42** PUBLICATIONS **411** CITATIONS
SEE PROFILE



Yolanda Elizabeth Morales-García
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
**83** PUBLICATIONS **448** CITATIONS
SEE PROFILE



Dalia Molina-Romero
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
**29** PUBLICATIONS **146** CITATIONS
SEE PROFILE

**Some of the authors of this publication are also working on these related projects:**



Microbiología View project



Microbiología View project

All content following this page was uploaded by Jesús Muñoz-Rojas on 15 January 2020.

The user has requested enhancement of the downloaded file.



# Estimulación del crecimiento de **Echinocactus platyacanthus** con bacterias **PGPR.**

Julia María Alatorre-Cruz[1]
María del Rocío Bustillos Cristales[1]
Héctor Gutiérrez Sánchez[1]
Yolanda Elizabeth Morales-García[1]
Dalia Molina Romero[1]
Alma Rosa Netzahuatl Muñoz[2]
Jesús Muñoz-Rojas[1]

[1]Laboratorio de Ecología Molecular Microbiana
Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, BUAP
[2]Laboratorio de Biotecnología
Universidad Politécnica de Tlaxcala

# Estimulación del crecimiento de Echinocactus platyacanthus con bacterias PGPR.

**Resumen**

Echinocactus platyacanthus es una cactácea globosa, endémica de México, forma parte de la flora de la Reserva de la Biosfera "Tehuacán-Cuicatlán". Actualmente este cactus se encuentra amenazado, debido a sus diversos usos entre los cuales destaca la elaboración de un dulce. El crecimiento de la planta es muy lento puede llegar a alcanzar una edad de 200 a 500 años, por este motivo es importante plantear estrategias que aseguren su desarrollo y supervivencia. Una alternativa podría ser el uso de bacterias benéficas para el cactus, por esta razón en el trabajo presente se exploró la capacidad de 10 cepas para estimular el crecimiento de E. platyacanthus bajo condiciones de cámara de cultivo. Cinco de las 10 cepas exploradas resultaron efectivas para otorgar incrementos en la altura y diámetro del cactus en referencia a controles, por lo que estas cepas podrían acoplarse a E. platyacanthus para asegurar su crecimiento en su ambiente natural.

## Introducción

Echinocactus platyacanthus, es una cactácea globosa suele conocerse con el nombre de "viznaga". Es una especie endémica de México (Nuevo León, Tamaulipas, San Luís Potosí, Aguascalientes, Querétaro, Hidalgo, Puebla y Oaxaca). La cactácea E. platyacanthus forma parte de la flora de la Reserva de la Biosfera "Tehuacan-Cuicatlán" (Jiménez-Sierra et al., 2007).

E. platyacanthus se utiliza a nivel industrial como fuente de mucílagos, gomas, pectinas, colorantes y fibras, a nivel culinario es utilizado en platillos típicos como chiles en nogada, como dulce cristalizado en rosca de Reyes, entre otros. Con respecto a las características químicas de la planta se le acuñan propiedades curativas alternas a la alopatía (Castillo and Trujillo, 1991).

El crecimiento de E. platyacanthus es muy lento y las plantas de esta especie pueden alcanzar una edad de 200 a 500 años, presentan un tallo cilíndrico y llegan a medir más de dos metros de altura por 1 metro de diámetro (Castillo and Trujillo, 1991). Su tallo está dividido en 35 a 50 costillas, cada una posee areolas redondas separadas a 1 cm una de otra, cubiertas de lana amarilla. De cada areola emergen de 5 a 7 espinas radiales duras de 5 cm de longitud, de color amarillo claro con las puntas de tono oscuro. La parte alta de la planta está cubierta de lana de color amarillo suave de la cual emergen flores amarillas de 3 cm de diámetro por 1 cm de longitud. Los frutos son cilíndricos de 3 cm de longitud por 1 cm de diámetro, dentro contienen decenas de semillas de color café oscuro de 3 mm de diámetro. Su rango de distribución es muy amplio, crece tanto en pendientes de lomeríos rocosos, como en planicies rocosas de vegetación xerófita, es decir plantas adaptadas a los climas secos o con períodos de sequía largos.



Actualmente E. platyacanthus se encuentra amenazado (Jiménez-Sierra et al., 2007) por lo que ha sido protegido por una Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010).

A pesar de que existe una Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT- 2001) de impacto regional, nacional e internacional para proteger, conservar y disminuir el impacto de las actividades humanas sobre las poblaciones naturales de cactáceas, la recolecta de especies por parte de aficionados y comerciantes; así como el comercio ilegal de plantas y semillas se realiza prácticamente todo el año.

Hay bacterias benéficas reconocidas en prácticas agrícolas que promueven el crecimiento en plantas, llamadas PGPR (por sus siglas en inglés "Plant Growth Promoting Rhizobacteria"), que pueden contribuir a la transformación de la materia mineral y orgánica del suelo y a su fertilidad, además mejoran la salud de las raíces vegetales (Beneduzi et al., 2012). La promoción del crecimiento en plantas con bacterias, conlleva a una mayor resistencia a las condiciones adversas (Bashan et al., 1999).

Las bacterias que se usan con el propósito de estimular el crecimiento de las plantas deben tener una buena capacidad de colonizar las raíces, además de contar con mecanismos que aceleren el crecimiento de sus tejidos como ejemplo las fitohormonas (Caballero-Mellado, 2001); entre ellas las auxinas, giberilinas y citocininas. Los trabajos relacionados con la inoculación de bacterias en cactus son escasos (Bashan et al., 1999), una de las bacterias más explorada en estas plantas es Azospirillum brasilense que pese a ser una bacteria con gran potencial en el crecimiento de raíz de algunas cactáceas, se podrían encontrar otras bacterias con potencial de estimular el crecimiento en la zona aérea de la planta.

Debido al panorama actual de amenaza sobre E. platyacanthus, es deseable contar con estrategias que permitan el aseguramiento de su crecimiento. En el presente trabajo se exploró la capacidad de bacterias benéficas para estimular el crecimiento de E. platyacanthus. Se exploraron bacterias que han sido reportadas como PGPR para otras plantas y otras bacterias fueron aisladas de las mismas zonas áridas.

## Material y Métodos

Se analizaron 10 cepas, 4 cepas reportadas como colonizadoras de plantas (Corral-Lugo et al., 2012): Azospirillum brasilense Sp. 7 y Burkholderia unamae MTI-641T, descritas como PGPR. Pseudomonas putida KT2440 y Sphingomonas sp. OF178 descritas como degradadoras de tóxicos orgánicos. Además de 6 cepas metilotróficas aisladas de plantas de Tehuacán-Cuatitlán (Bustillos-Cristales et al., 2006): 3MRh7 (aislado de rizósfera de maíz), 4Mepi8 (aislado de zona epífita de maíz), EndEp3 (aislado del región endófita de E. platyacanthus), EpiEp5 (aislado de zona epífita de E. plantyacanthus) y las cepas RhPf4 y RhPf3 (aisladas de la rizósfera de Pseudomitrocereus fulviceps).



## Germinación e inoculación de semillas de E. platyacanthus.

Las semillas de E. platyachantus fueron donadas por el Jardín Botánico de la BUAP. Para su germinación las semillas fueron desinfectadas (Morales-García et al., 2011) y colocadas en macetas con vermiculita estéril de un litro de capacidad. Un total de 10 semillas fueron colocadas en cada maceta. Para su inoculación, las semillas fueron adicionadas con 11 ml de suspensión bacteriana y regadas con una solución de MS (Morales-García et al., 2011). Las macetas se colocaron en una cámara de cultivo de plantas a una temperatura de 23 °C de noche y 30°C de día, con un fotoperiodo luz/obscuridad 16/8.

Para la preparación de la suspensión bacteriana se realizó lo siguiente: las bacterias fueron crecidas en 10 ml de medio líquido LB hasta fase estacionaria, después las células fueron lavadas por centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Una vez que el sobrenadante fue descartado, las células se resuspendieron en el mismo volumen de agua destilada estéril. El número de bacterias de la suspensión generada fue determinado mediante el método de "Goteo por Sellado en Placa Masivo (GSPM)" (Corral-Lugo et al., 2012). La suspensión generada fue diluida en factor 1:10 para inocular 10 semillas de E. platyacanthus. Semillas sin inocular fueron consideradas para su comparación. Los sistemas se regaron con 1 ml de solución MS cada 15 días y con 50 ml de agua destilada estéril. Los brotes se observaron en un periodo de 12 días.

## Medición de altura y diámetros de tallos

Los parámetros métricos que se determinaron para realizar comparaciones en el tamaño de plantas entre tratamientos inoculados y no inoculados fueron la altura y el diámetro de E. platyacanthus, en tres períodos de crecimiento del cactus: 40, 80 y 120 días posteriores a la inoculación del cactus (dpi).

## Análisis estadístico.

Todos los datos fueron comparados mediante la prueba estadística t-student, con ayuda del programa Sigma Plot de Handel Scientific Software.

## Resultados

El número de bacterias presente en las suspensiones bacterianas usadas estuvo en el rango de 1 X108 a 3X108 UFC/ml.
A los 40 dpi la altura de las plantas inoculadas se observó mayor al de plantas no inoculadas (figura 1), especialmente para los tratamientos inoculados con las cepas RhPf4, RhPf3, EpiEp5, Sphingomonas sp. OF178 y B. unamae MTl-641, quienes mostraron niveles significativamente diferentes en esta etapa experimental. A los 80 dpi la tendencia de mejor crecimiento en la altura de las plantas fue observada en plantas inoculadas con las cepas 4Mepi8, RhPf4, RhPf3 y Sphingomonas sp. OF178, en referencia a las plantas no inoculadas. Interesantemente Azospirillum brasilense Sp7 no incrementó la altura de la región aérea de las plantas.

A los 120 dpi la tendencia fue similar observando que las plantas que muestran incrementos significativos en la altura son las inoculadas con las cepas 4Mepi8, RhPf4, RhPf3, Sphingomonas sp. OF178 y P. putida KT2440; esta última había mostrado tendencias positivas desde los 40 dpi, sin embargo la variación de tamaños no permitió diferencias estadísticas significativas con referencia a controles en etapas tempranas de crecimiento. Nuevamente se observa que las plantas inoculadas con algunas cepas como A. brasilense Sp7 no tienen incrementos en altura en comparación a controles no inoculados (figura 1).

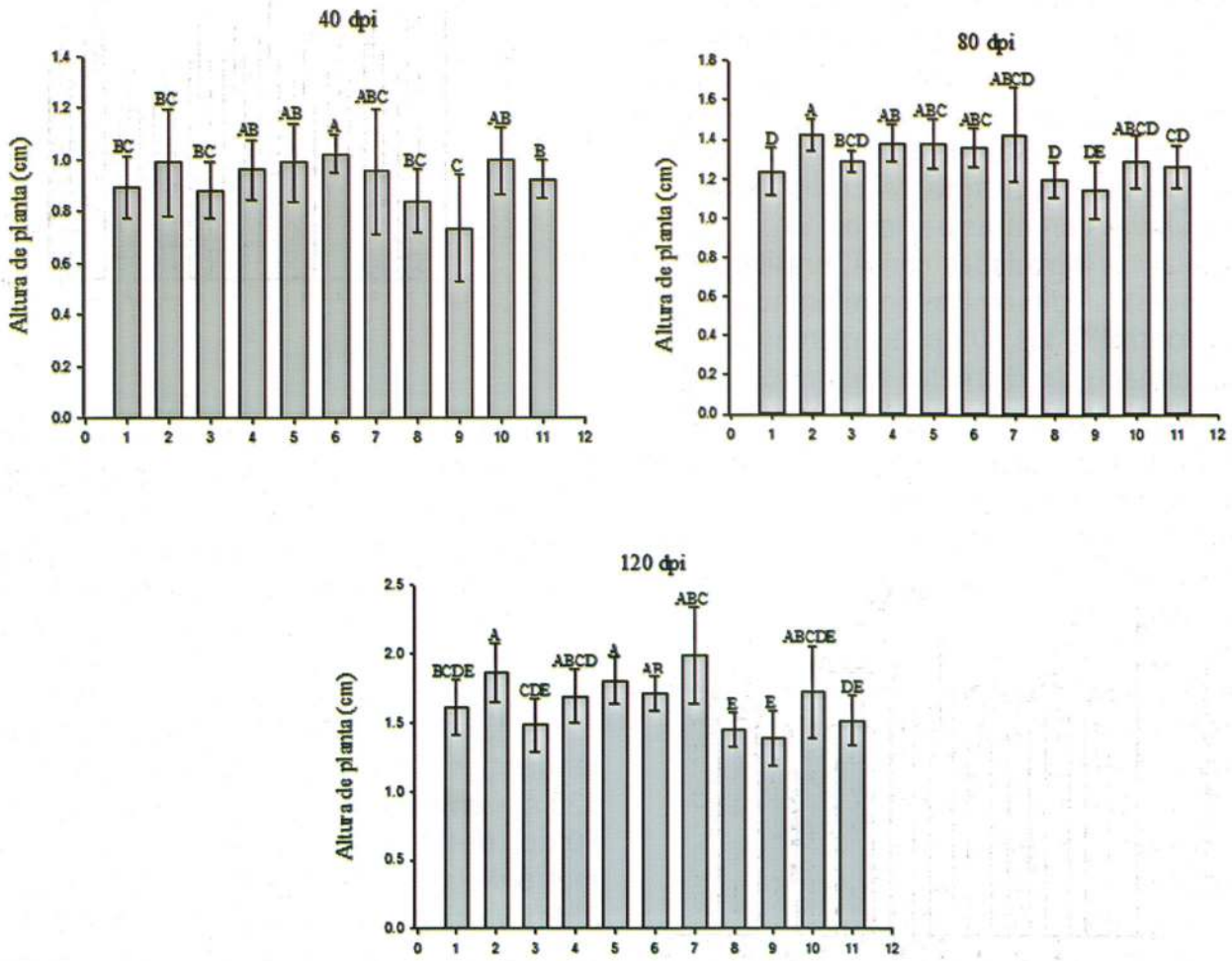
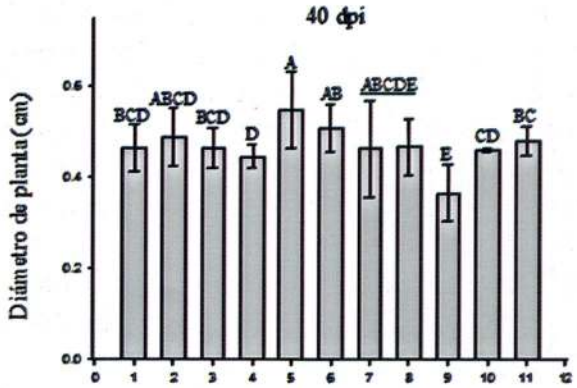



Figura 1. Altura de plantas de E. platyacanthus inoculadas con diferentes bacterias (1:3MRh7, 2:4MePi8, 3:EndEp3, 4:RhPf4, 5:RhPf3, 6:OF178, 7:KT2440, 8:AbSp7, 10:EpiEp5, 11:MTI-641) y no inoculadas (9). Los datos fueron registrados en tres etapas del crecimiento de las plantas (40, 80 y 120 dpi) y muestran las medias de las determinaciones con su respectiva desviación estándar. Letras iguales sobre las barras en cada gráfico, significa que los tratamientos no difieren estadísticamente mediante la prueba t-student a una $P \leq 0.05$.

En referencia al diámetro de las plantas se observó un panorama diferente en comparación con la altura de las plantas. En general el diámetro de las plantas inoculadas fue mayor al de plantas no inoculadas (figura 2). A los 40 dpi las plantas inoculadas con las diferentes cepas bacterianas muestran incrementos significativos en sus tamaños excepto para plantas inoculadas con las cepas P. putida KT2440 y A. brasilense Sp7. En esta etapa experimental las plantas con mayor tamaño en su diámetro fueron aquellas inoculadas con las cepas RhPf3 y Sphingomonas sp. OF178. A los 80 dpi las plantas inoculadas con P. putida KT2440 muestran incrementos de diámetro de forma significativa en referencia a plantas testigo, así como las plantas inoculadas con otras bacterias. Sin embargo, las plantas inoculadas con A. brasilense Sp7 no muestran diferencias en referencia a plantas control. A los 80 dpi las plantas que mayor tamaño de diámetro mostraron, fueron aquellas inoculadas con las cepas EndEp3, RhPf3 y Sphingomonas sp. OF178 (figura 2).



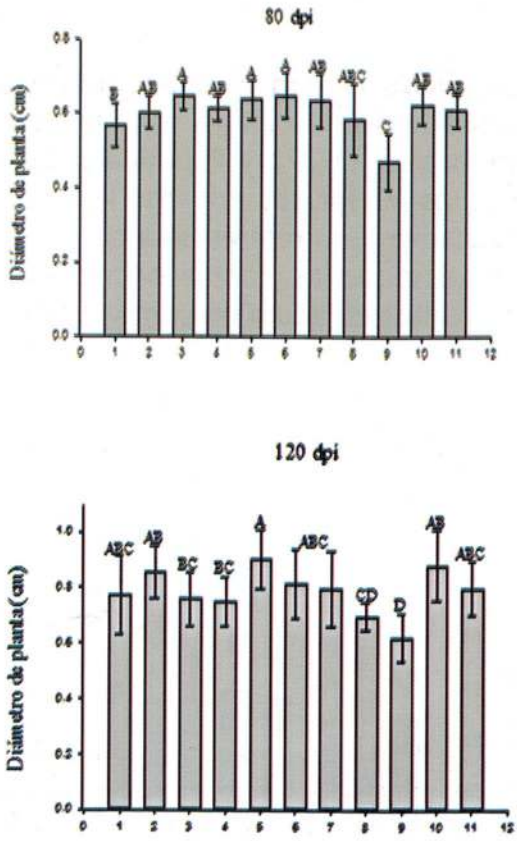




Figura 2. Diámetro de plantas de E. platyacanthus inoculadas con diferentes bacterias (1:3MRh7, 2:4MePi8, 3:EndEp3, 4:RhPf4, 5:RhPf3, 6:OF178, 7:KT2440, 8:AbSp7, 10:EpiEp5, 11:MTI-641) y no inoculadas (9). Los datos fueron registrados en tres etapas del crecimiento de las plantas (40, 80 y 120 dpi) y se muestran las medias de las determinaciones con su respectiva desviación estándar. Letras iguales sobre las barras en cada gráfico, significa que los tratamientos no difieren estadísticamente mediante la prueba t-student a una $P \leq 0.05$.

Los diámetros de plantas mostraron tendencias de crecimiento similares a los 120 dpi en referencia a los observados a los 80 dpi, destacando los crecimientos del diámetro de las plantas inoculadas con 4Mepi8, RhPf3 y EpiEp5, ya que muestran valores mayores a los otros tratamientos. Las tendencias de crecimiento de plantas inoculadas se mantuvieron en etapas más avanzadas y un ejemplo se muestra en la figura 3, donde se observa que el tamaño de las plantas inoculadas con la cepa RhPf3 son mucho más grandes que las plantas no inoculadas a los 140 dpi.



Figura 3. Ejemplo de comparación de plantas no inoculadas de E. platyacanthus y plantas inoculadas con la cepa RhPf3. La edad de las plantas corresponde a 140 días.

## Discusión

E. platyacanthus es una cactácea que se encuentra en un estado de vulneración (Jiménez-Sierra et al., 2007). Las zonas áridas y semiáridas cuentan con una vegetación particular de cactáceas, que tienen diversas funciones en su ecosistema como mantener la biodiversidad específica: flora y fauna, también evitan que el suelo se erosione debido a que sus raíces mantienen la firmeza del suelo. Los resultados de este trabajo podrían significar un aporte para mantener este tipo de ecosistema. En el trabajo presente se exploró la capacidad de 10 cepas bacterianas para promover el crecimiento de E. platyacanthus, observando de forma constante que las plantas inoculadas con bacterias tienen mejor semblante y tamaño con respecto a las plantas no inoculadas, como ha sido observado en múltiples trabajos para otras plantas inoculadas, como el caso del maíz (Morales-García et al., 2011), la caña de azúcar, el frijol y los nopales (Caballero-Mellado, 2001). A pesar de que A. brasilense es una de las bacterias más ampliamente reportada como PGPR en diversas plantas (Cabalero-Mellado, 2001) y que promueve el crecimiento de cactus como Pachycereus pringlei, Stenocereus thurberi, and Lophocereus schottii (Bashan et al 1999), en este tra bajo observamos que esta bacteria no fue capaz de incrementar el tamaño de la región aérea de las plantas de E. patyacanthus. Sin embargo otras cepas bacterianas si estimulan bastante bien la altura y diámetro de las plantas en referencia a las plantas no inoculadas, entre las que destacamos a RhPf4, RhPf3, Sphingomonas sp. OF178, 4Mepi8 y P. putida KT2440, quienes fueron capaces de estimular tanto altura como diámetro de tallo de las plantas de forma clara a los 120 dpi. Sphingomonas sp OF178 es una bacteria degradadora de lindano y P. putida KT2440 es degradadora de diversos solventes orgánicos tóxicos (Segura et al., 2009), razón por la que adicionalmente estas cepas podrían tener la ventaja de bioremediar contaminantes en zonas áridas acopladas a plantas de tipo cactácea. Las cepas metilotróficas RhPf4, RhPf3 y 4Mepi8, aún están en fase de caracterización, no obstante su potencial promotor de crecimiento para E. platyacanthus las hacen sobresalir como prioritarias para explorar sus características moleculares y para estudiar cuáles son sus mecanismos para promover el crecimiento de plantas.

La inoculación de bacterias en E. platyacanthus podría significar una gran ventaja para la propagación y supervivencia de la cactácea en su ambiente natural como fue observado con la inoculación de A. brasilense en otras cactáceas (Bashan et al., 1999). Al incrementar el tamaño de las plantas estas están mejor nutridas, razón por la que podrían soportar mejor las adversidades ambientales en la que habitan este tipo de plantas. La reforestación de E. platyacanthus en su ambiente natural podría asegurarse con cactus inoculados con las bacterias que mejor promuevan su crecimiento.

## Conclusión

Las cepas bacterianas RhPf4, RhPf3, Sphingomonas sp. OF178, 4Mepi8 y P. putida KT2440 estimulan el crecimiento (altura y diámetro) de E. platyacanthus, un cactus en peligro de extinción. La fitoestimulación por bacterias para los cactus en peligro de extinción, podría significar una estrategia de reforestación efectiva en zonas áridas, similar a lo que se ha reportado para árboles en los bosques deforestados (Bashan et al., 2005).

## BIBLIOGRAFIA


Bashan, Y., Rojas A., y Puente M. E. (1999), "Improved establishment and development of three cactus species inoculated with Azospirillum brasilense transplanted into disturbed urban desert soil", Canadian Journal of Microbiology, 45, 441-451.

Bashan, Y., Puente M. E., Salazar B., de-Bashan L. E., Bacilio M., Hernández J. P., Leyva L. A., Romero B., Villalpando R., y Bethlenfalvay G. J. (2005), "Reforestación de tierras erosionadas en el desierto: el papel de las bacterias promotoras de crecimiento en plantas y la materia orgánica", Suelos Ecuatoriales, 35, 70-77.

Beneduzi, A., Ambrosini A., y Passaglia L. M. P. (2012), "Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents", Genetics and Molecular Biology, 35, 1044-1051.

Bustillos-Cristales, R., Fuentes-Ramírez L. E., Muñoz-Rojas J., Sánchez-Saaveedra A., Téllez-Torres J. G., Florencia-Torres L. E. (2006), "Promoción de crecimiento de cactáceas en riesgo, por bacterias metilotróficas", Sociedad Mexicana de Bioquímica y Bioingeniería (smbb.com.mx), http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_VI/CARTELES/CVI-17.pdf

Cabalero-Mellado, J. (2001), "El género Azospirillum", en Martínez-Romero E., y Martínez-Romero J. (eds.), Microbios en Línea, Universidad Nacional Autónoma de México, capítulo 10. http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap10/

Castillo, R. F., and Trujillo S. (1991), "Ethnobotany of Ferocactus histrix and Echinocactus platyacanthus (Cactaceae) in the semiarid central México: past, present and future", Economic Botany, 45, 495-502.

Corral-Lugo, A., Morales-García Y. E., Pazos-Rojas L. A., Ramírez-Valverde A., Martínez-Contreras R. D., y Muñoz-Rojas J. (2012), "Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de goteo en placa por sellado (o estampado) masivo", Revista Colombiana de Biotecnología, XIV(2), 147-156.

Jiménez-Sierra, C., Mandujano M. C., y Eguiarte L. E. (2007), "Are populations of the Candy barrel cactus (Echinocactus platyacanthus) in the desert of Tehuacán, México at risk? Population projection matrix and life table response analysis", Biological conservation, 135, 278-292.

Morales-García Y. E., Juárez-Hernández D., Aragón-Hernández C., Mascarua-Esparza M. A., Bustillos-Cristales M. R., Fuentes Ramírez L. E. Martínez-Contreras R. D., y Muñoz Rojas J. (2011), "Growth response of maize plantlets inoculated with Enterobacter spp., as a model for alternative agriculture", Revista Argentina de Microbiología, 43, 287-293.

Segura, A., Rodríguez-Conde S., Ramos C., y Ramos J. L. (2009), "Bacterial responses and interactions with plants during rhizoremediation", Microbial Biotechnology, 2, 452-464.

**Referencias recomendadas**


Bashan, Y., Puente, M.E., Salazar, B., de Bashan, L.E., Bacilio, M., Hernandez, J.P., et al. (2005) Reforestacion de tierras erosionadas en el desierto: El papel de las bacterias promotoras de crecimiento en plantas y la materia orgánica. *Suelos Ecuatoriales* **35**: 70–77.

Bashan, Y., Rojas, A., and Puente, M.E. (1999) Improved establishment and development of three cactus species inoculated with Azospirillum brasilense transplanted into disturbed urban desert soil. *Can. J. Microbiol.* **45**: 441–451.

Beneduzi, A., Ambrosini, A., and Passaglia, L.M.P. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.* **35**: 1044–1051.

Bustillos-Cristales, R., Fuentes-Ramírez, L.E., Muñoz-Rojas, J., Sánchez-Saavedra, A., Téllez-Torres, G.J., and Florencia-Torres, L.E. (2007) Promoción de crecimiento de cactáceas en riesgo , por bacterias metilotróficas. In, *XII Congreso Nacional de Bioingeniería y Biotecnología*., p. 1.

Caballero-Mellado, J. (2001) El género Azospirillum. In, Martínez-Romero,E. and Martínez-Romero,J. (eds), *Microbios en Línea*. Universidad Autónoma de México, Cuernavaca, México, pp. 1–10.

del Castillo, R.F. and Trujillo, S. (1991) Ethnobotany of Ferocactus histrix and Echinocactus platyacanthus (Cactaceae) in the semiarid central Mexico: past, present and future. *Econ. Bot.* **45**: 495–502.

Corral-Lugo, A., Morales-García, Y.E., Pazos-Rojas, L.A., Ramírez-Valverde, A., Martínez-Contreras, R.D., and Muñoz-Rojas, J. (2012) Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “goteo en placa por sellado (o estampado) masivo.” *Rev. Colomb. Biotecnol.* **14**: 147–156.

Jiménez-Sierra, C., Mandujano, M.C., and Eguiarte, L.E. (2007) Are populations of the candy barrel cactus (Echinocactus platyacanthus) in the desert of Tehuacán, Mexico at risk? Population projection matrix and life table response analysis. *Biol. Conserv.* **135**: 278–292.

Morales-García, Y.E., Juárez-Hernández, D., Aragón-Hernández, C., Mascarua-Esparza, M.A., Bustillos-Cristales, M.R., Fuentes-Ramírez, L.E., et al. (2011) Growth response of maize plantlets inoculated with Enterobacter spp., as a model for alternative agriculture. *Rev. Argent. Microbiol.* **43**: 287–293.

Segura, A., Rodríguez-Conde, S., Ramos, C., and Ramos, J.L. (2009) Bacterial responses and interactions with plants during rhizoremediation. *Microb. Biotechnol.* **2**: 452–464.


View publication stats