

Identificación de bacterias productoras de biosurfactantes aisladas a partir de compostas del Estado de Guerrero

GUEVARA-LUNA, Joseph^{*†}, ALFARO-ROMERO, Rama Iraís[`], ROMERO-RAMÍREZ, Yanet[`], TORIBIO-JIMÉNEZ, Jeiry[`]

[`] Laboratorio de Investigaciones en Biotecnología y Genética Microbiana. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, UAGro.

Av. Lázaro Cárdenas s/n. Ciudad Universitaria, Chilpancingo, Gro. México. Tel. 4719310 ext.4525

Recibido Junio 7, 2013; Aceptado Diciembre 3, 2013

Resumen

Los biosurfactantes (BS) son compuestos anfífilos estructuralmente diversos y complejos producidos y secretados como metabolitos secundarios por diferentes grupos de microorganismos durante la fase estacionaria de su crecimiento. Estos organismos son muy diversos y se han aislado de una amplia variedad de ambientes, incluyendo suelo, agua de mar, sedimentos marinos, campos de petróleo e incluso en ambientes extremos. Las ventajas de los BS microbianos sobre sus contrapartes químicas es su baja toxicidad, son biodegradables, mayor compatibilidad con el ambiente, el aumento en la formación de espuma, alta selectividad y una actividad específica a temperaturas, pH y salinidad extremas (Toribio-Jiménez et al., 2011). Los BS también cumplen funciones fisiológicas naturales ya que incrementan la biodisponibilidad de las moléculas hidrofóbicas, pueden formar complejos con metales pesados y promover la mejora de la degradación de contaminantes químicos como ciertos pesticidas que se encuentran acumulados en suelos agrícolas, además pueden contribuir en la promoción del crecimiento de las plantas gracias a que poseen actividad antimicrobiana contra fitopatógenos, así como mejorar la asociación entre las raíces de las plantas y los microorganismos de la rizosfera (Sachdev y Cameotra, 2012).

Dado que los microorganismos productores de BS se encuentran en diversos ambientes y gracias a las múltiples funciones que pueden llevar a cabo, es posible aislarlos de suelos agrícolas. La incorporación de fertilizantes y abonos orgánicos (compostas) en las últimas décadas ha cobrado cada vez más importancia por diversas razones. Desde el punto de vista ecológico, se ha incrementado la preocupación por fomentar las prácticas agrícolas que armonicen con el cuidado del ambiente, tal es el caso de la biorremediación de suelos agrícolas. El uso de estos fertilizantes mejora las condiciones de suelos que han sido deteriorados por el uso excesivo de agroquímicos y su sobre-explotación (Nieto-Garibay et al., 2002).

Por todo lo descrito anteriormente, en este trabajo se pretende identificar las cepas autóctonas presentes en las compostas que se distribuyen entre los agricultores en el estado de Guerrero y evaluar su capacidad de producir BS con la finalidad de, a mediano plazo, utilizarlas para estudios de biorremediación y de promoción de crecimiento vegetal en los suelos agrícolas donde se emplean dichas compostas.

Biosurfactantes, Compostas, Guerrero.

Abstract

Biosurfactants (BS) are structurally different amphiphilic compounds and complexes produced as secondary metabolites and secreted by different groups of microorganisms during the stationary phase of growth. These organisms are very diverse and have been isolated from a wide variety of environments including soil, seawater, marine sediments, oil fields and even in extreme environments. The advantages of microbial BS on their chemical counterparts is their low toxicity, are biodegradable, greater compatibility with the environment, increased foaming, high selectivity and a specific activity at temperatures, pH and extreme salinity (Toribio-Jiménez et al., 2011).

The BS also serve as natural physiological functions that increase the bioavailability of hydrophobic molecules can form complexes with heavy metals and further improving the degradation of certain chemical contaminants such as pesticides in agricultural soils are accumulated also can contribute in promoting the growth of plants by possessing antimicrobial activity against pathogens and improve the association between plant roots and rhizosphere microorganisms (Sachdev and Cameotra, 2012).

Since BS producing microorganisms found in different environments and thanks to the multiple functions that can be performed, it is possible to isolate them from agricultural soils. The incorporation of fertilizers and organic fertilizers (compost) in recent decades has become increasingly important for several reasons. From the ecological point of view, has increased concern for promoting agricultural practices that harmonize with the care of the environment, as in the case of agricultural soil bioremediation. The use of these fertilizers improves soil conditions that have been damaged by overuse of agrochemicals and overexploitation (Nieto-Garibay et al., 2002).

For all the above, this work is to identify indigenous strains present in the compost distributed among farmers in the state of Guerrero and assess their ability to produce BS in order to medium term, to use them for studies bioremediation and promote plant growth in agricultural soils where these composts are used.

Biosurfactants, Compost, Guerrero.

Citación GUEVARA-LUNA, Joseph, ALFARO-ROMERO, Rama Iraís, ROMERO-RAMÍREZ, Yanet, TORIBIO-JIMÉNEZ, Jeiry. Identificación de bacterias productoras de biosurfactantes aisladas a partir de compostas del Estado de Guerrero. Foro de Estudios sobre Guerrero. Mayo 2013 – Abril 2014, 1-1: 365-368

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: josephgl_15@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

Los biosurfactantes (BS) son compuestos anfífilos estructuralmente diversos y complejos producidos y secretados como metabolitos secundarios por diferentes grupos de microorganismos durante la fase estacionaria de su crecimiento.

Estos organismos son muy diversos y se han aislado de una amplia variedad de ambientes, incluyendo suelo, agua de mar, sedimentos marinos, campos de petróleo e incluso en ambientes extremos.

Las ventajas de los BS microbianos sobre sus contrapartes químicas es su baja toxicidad, son biodegradables, mayor compatibilidad con el ambiente, el aumento en la formación de espuma, alta selectividad y una actividad específica a temperaturas, pH y salinidad extremas (Toribio-Jiménez et al., 2011).

Los BS también cumplen funciones fisiológicas naturales ya que incrementan la biodisponibilidad de las moléculas hidrofóbicas, pueden formar complejos con metales pesados y promover la mejora de la degradación de contaminantes químicos como ciertos pesticidas que se encuentran acumulados en suelos agrícolas, además pueden contribuir en la promoción del crecimiento de las plantas gracias a que poseen actividad antimicrobiana contra fitopatógenos, así como mejorar la asociación entre las raíces de las plantas y los microorganismos de la rizosfera (Sachdev y Cameotra, 2012).

Dado que los microorganismos productores de BS se encuentran en diversos ambientes y gracias a las múltiples funciones que pueden llevar a cabo, es posible aislarlos de suelos agrícolas. La incorporación de fertilizantes y abonos orgánicos (compostas) en las últimas décadas ha cobrado cada vez más importancia por diversas razones.

Desde el punto de vista ecológico, se ha incrementado la preocupación por fomentar las prácticas agrícolas que armonicen con el cuidado del ambiente, tal es el caso de la biorremediación de suelos agrícolas. El uso de estos fertilizantes mejora las condiciones de suelos que han sido deteriorados por el uso excesivo de agroquímicos y su sobreplotación (Nieto-Garibay et al., 2002).

Por todo lo descrito anteriormente, en este trabajo se pretende identificar las cepas autóctonas presentes en las compostas que se distribuyen entre los agricultores en el estado de Guerrero y evaluar su capacidad de producir BS con la finalidad de, a mediano plazo, utilizarlas para estudios de biorremediación y de promoción de crecimiento vegetal en los suelos agrícolas donde se emplean dichas compostas.

Objetivos

Aislar y determinar la capacidad de producir biosurfactantes de bacterias provenientes de muestras de compostas.

Identificar bioquímicamente las bacterias productoras de biosurfactantes.

Metodología

Aislamiento e identificación de bacterias a partir de composta

Se realizó el análisis microbiológico de 14 muestras de composta proporcionadas por la Secretaría de Desarrollo Rural (SEDER) mediante diluciones seriadas de 10⁻¹ a 10⁻³, tomando 100µL de la última y dispersando en placas de agar sangre las cuales se incubaron a 30°C durante 24 h. Posteriormente se llevó a cabo el recuento de UFC/g de muestra y la identificación se realizó mediante perfil bioquímico utilizando el sistema semiautomatizado VITEK 2 y se les realizó tinción de Gram.

Determinación de la producción de biosurfactantes

Para evaluar la capacidad de producción de BS, las colonias que produjeron hemólisis en agar sangre se cultivaron en caldo PPGAS durante 72 h a 30°C en agitación constante para evaluar la capacidad de producción de espuma. Posteriormente se obtuvo el sobrenadante libre de células con el cual se realizaron los ensayos de dispersión del aceite, gota colapsada, índice de emulsificación de 24 h (IE24) y adhesión bacteriana a hidrocarburos (BATH) como pruebas complementarias. (Yuseff et. al., 2004, Toribio-Jiménez et al., 2011)

Resultados

Se lograron aislar 12 cepas capaces de producir BS (tabla 1), de las cuales 7 son bacilos Gram (-), 1 coco Gram (-) y 5 son bacilos Gram (+). Sólo 5 cepas pueden emulsificar hidrocarburos y adherirse a compuestos hidrofóbicos.

A partir de la caracterización bioquímica sólo el 41.66% de las cepas productoras de BS pudieron ser identificadas, mostrando así a las cepas CH4, C2-1 y C2-6 como *Pseudomonas aeruginosa*, la cepa CH8 fue identificada como *Enterobacter cloacae* y la cepa CH10 se identificó como *Acinetobacter haemolyticus*.

Cepa	Hemólisis	Estabilidad de espuma	Gota colapsada	Dispersión del aceite
CH2	+	Estable	+	+
CH3	+	Estable	+	+
<i>P. aeruginosa</i> (CH4)	+	Estable	+	+
CH5	+	Estable	+	+
CH6	+	Estable	+	+
CH7	+	Estable	+	+
<i>E. cloacae</i> (CH8)	+	Estable	+	+
CH9	+	No estable	+	+
<i>A. haemolyticus</i> (CH10)	+	Estable	+	-
CH11	+	Estable	+	+
<i>P. aeruginosa</i> (C2-1)	+	Estable	+	+
<i>P. aeruginosa</i> (C2-6)	+	Estable	+	+
<i>P. aeruginosa</i> PA0-1	+	Estable	+	+

(+): Positivo; (-):

Tabla 1 Determinación cualitativa de la capacidad para producir BS de las cepas hemolíticas

Discusión

El presente estudio reveló la presencia de bacterias en compostas con capacidad de producir biosurfactantes, estos son eficientes en reducir la tensión superficial e interfacial de sustancias inmiscibles entre sí, además pueden actuar como bioemulsificantes aunque ésta última característica sólo se observó en el 41.66% de las cepas; el bajo porcentaje de emulsificación puede atribuirse a la ausencia de hidrocarburos en la muestra, además algunos estudios han demostrado que la fuente de carbono utilizada para el crecimiento microbiano, influye en la producción de diferentes tipos de BS (Makkar y Cameotra, 1999). Por lo que se sugiere el estudio de estas cepas con diferentes fuentes de carbono hidrofóbicas para optimizar su capacidad emulsificante.

Conclusión

Con este trabajo se revela la presencia de bacterias autóctonas del estado de Guerrero con capacidad de producir BS en las compostas utilizadas en los suelos agrícolas de dicho estado, lo que a mediano plazo podrá ayudar a mejorar estos fertilizantes orgánicos y así comenzar la biorremediación de estos suelos deteriorados.

Referencias

Awasthi, N., Kumar, A., Makkar, R., Cameotra, S.S. (1999). Biodegradation of soil-applied endosulfan in the presence of a biosurfactant. *J. Environ. Sci. Health, Part B* 34, 793–803.

Nieto-Garibay, A., Murillo-Amador, B., Troyo-Diéguez, E., Larrinaga-Mayoral, J.Á., García-Hernández, J.L. (2002). El uso de compostas como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (*Capsicum annum* L.) en zonas áridas. *Interciencia* 27, 417–421.

Sachdev, D.P. & Cameotra, S.S., (2013). Biosurfactants in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(3), pp.1005–1016.

Toribio, J., Escalante, A.E., Caballero-Mellado, J., González-González, A., Zavala, S., Souza, V., Soberón-Chávez, G. (2011). Characterization of a novel biosurfactant producing *Pseudomonas koreensis* lineage that is endemic to Cuatro Ciénegas Basin. *Syst. Appl. Microbiol*, 34, 531–535.

Youssef, N.H., Duncan, K. E., Nagle, D. P., Savage, K. N., Knapp, R. M., McInerney, M. J. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *Journal of microbiological methods*, 56(3), pp.339–347.