

# Bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato en la rizósfera del manglar en San Andrés Isla

Javier VANEGAS, Biología, sede Bogotá  
javanegas100@hotmail.com

## Resumen

El objetivo de este trabajo, desarrollado bajo la tutoría del profesor Jaime Polanía, es identificar cepas nativas con actividad promotora de crecimiento vegetal en plántulas de mangle para el diseño de inoculantes bacterianos, como alternativa de restauración y conservación de manglares deteriorados. Para ello se aislaron y caracterizaron bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) de dos grupos funcionales de la rizósfera de plántulas de *Avicennia germinans* y *Rhizophora mangle*: Fijadoras de Nitrógeno (BFN) y Solubilizadoras de Fosfato (BSF). Los resultados preliminares permitieron aislar 18 BFN en medio NFB carbón combinado y ocho BSF en medio SRS.

**Palabras clave:** bacterias, manglar, promotoras de crecimiento vegetal, BPCV, fijadoras de nitrógeno, BFN, solubilizadoras de fosfato, BSF.

## Introducción

Los manglares cubren el 60-75% de las costas tropicales y subtropicales del mundo y en América Latina ocupan aproximadamente 4.000.000 de ha en las costas del Pacífico y del Atlántico. En Colombia abarcan aproximadamente 379.954 ha entre ambas costas. Los manglares juegan un importante papel como zonas de cría, refugio y alimentación para numerosos organismos y la descomposición de sus hojas sostiene una cadena alimenticia muy extensa, basada en el detri-

tus, rico en contenido calórico, proteico y carga microbiana.

| 67

Los organismos que se alimentan del detritus incluyen crustáceos, moluscos, larvas de insectos, nemátodos, poliquetos, peces, etc. (Odum y Heald, 1975), algunos de ellos de importancia comercial (camarón, ostiones, mejillones y muchos otros). Los organismos detritívoros, a su vez, pueden servir de alimento a peces de importancia pesquera, tales como juveniles de pargos, róbalos y corvinas (Holguín et al., 2001). Varios estudios han demostrado la importancia de los manglares en pesquerías costeras, estuarinas e incluso de profundidad (Ronnback, 1999). Cerca del 25 % del material detrítico del ecosistema es transportado a mar abierto por efecto de las mareas, lo que lo constituye en un exportador de nutrientes (Holguín et al., 1999). De los manglares dependen aves, tanto residentes como migratorias, que se encuentran amenazadas o están sujetas a protección especial.

Varios ecosistemas de manglar son deficientes en nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo (Holguín et al., 2001) y, sin embargo, altamente productivos. Esta paradoja puede explicarse por un muy efectivo reciclaje de nutrientes, que permite conservarlos dentro del ecosistema. Se ha propuesto que las altas actividad y diversidad microbianas del manglar son responsables de retener nutrientes dentro del sistema y que la restauración de ecosistemas tropicales depende de la salud de las comunidades microbianas



FOTO 1. Mangle (Foto J. Polanía).

bentónicas y de su ambiente geoquímico (Alongi, 1994).

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) se encuentran en elevada concentración en la rizósfera por los altos niveles de nutrientes exudados por las plantas, utilizados por las bacterias como fuentes de energía y carbono. A través de diferentes mecanismos, tales como fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de fitohormonas, entre otros, las BPCV promueven el crecimiento de las plantas y las ayudan a tolerar mejor la tensión ambiental (Glick et al., 1999).

## Antecedentes

La aplicación de microorganismos benéficos en plántulas de mangle ha demostrado resultados promisorios, con incrementos significativos en el

crecimiento mediante la utilización de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato. Se han logrado aislamientos de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) a partir de la rizósfera de *R. mangle*, *A. germinans* y *Laguncularia racemosa*, con actividad similar a la observada en bacterias diazótrofas de ambientes terrestres (Holguín et al., 1992; Rojas et al., 2001). En algunos casos la fijación biológica de nitrógeno puede proveer hasta un 40-60% de los requerimientos de nitrógeno de los árboles de mangle (Van der Valk y Attiwill, 1984).

Los aislamientos a partir de sedimentos y rizósfera de *R. mangle*, *A. germinans* y *L. racemosa* incluyen varias cepas de BFN, como *Listonella anguillarum*, *Phyllobacterium* sp., *Vibrio aestuarianus* y *V. campbelli* que, sin embargo, no mostraron ninguna especificidad por el mangle (Holguín et al., 1992).

La inoculación de *A. germinans* con la cianobacteria diazótrofa *Microcoleus chthonoplastes* ha incrementado la actividad de fijación de N y su concentración total. Esta asociación soporta el uso de *M. chthonoplastes* como inoculante para la reforestación y rehabilitación de manglares parcial o totalmente destruidos (Holguín et al., 2001).

Holguín et al. (1999) registran el aislamiento a partir de *A. germinans* de diferentes bacterias solubilizadoras de fósforo, incluyendo *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. taylorae* y *Kluyvera cryocrescens* y dos especies BSP en raíces de mangle blanco: *Chryseomonas luteola* y *Pseudomonas stutzeri*.

Vásquez et al. (2000) lograron aislar seis cepas de bacterias solubilizadoras de fosfato a partir de raíces de *A. germinans* y otras tres a partir de raíces de *L. racemosa*, encontrando *in vitro* que una solubilizó un promedio de 400 mg de fosfato por litro de suspensión bacteriana (108 ufc/ml de cultivo). Teóricamente, esta cantidad sería suficiente para proveer los requerimientos diarios de fosfato de una pequeña planta terrestre y la mitad de los requerimientos de una grande (Holguín et al., 1999).

## Justificación

La cobertura de los ecosistemas de manglar se reduce en muchas partes del mundo como resultado de proyectos de acuicultura, tala de árboles para obtención de leña y taninos, cultivo de tierras, construcciones costeras y contaminación, entre otras. El uso de los manglares para verter aguas servidas urbanas e industriales a nivel mundial es una amenaza para el futuro de los ecosistemas. La deforestación de áreas de manglar es considerada como una de las principales razones para la disminución de la pesca costera en muchos países del trópico y subtrópico del mundo (Bashan y Holguín, 2002; Farnsworth y Ellison, 1997). La situación de estos ecosistemas en el Caribe de Colombia es crítica: se calcula que una superficie de 40.000 hectáreas ha sido alterada y deteriorada, al punto de perder su

arbolado y en la actualidad se presentan como zonas de alta salinidad y sus componentes faunísticos disminuidos (Polanía et al. 2001).

Por otra parte, la sobrevivencia de plántulas de mangle durante procesos naturales parece ser baja, lo que ha dado lugar a programas de reforestación artificial para incrementarla (Holguín et al., 1999). El presente trabajo, supervisado localmente por el profesor Jaime Polanía, se propone contribuir a la promoción del crecimiento de plántulas en mangle, a partir de la identificación de precursores para biofertilizantes, que podrían suplir las deficiencias nutricionales y generar fitohormonas.

## Objetivo general

Diseñar inoculantes bacterianos a partir de cepas nativas con actividad promotora de crecimiento vegetal en plántulas de mangle.

## Objetivos específicos

1. Aislar de la rizósfera de mangle bacterias promotoras de crecimiento vegetal y caracterizarlas.
2. Evaluar la eficiencia en la promoción del crecimiento vegetal en plántulas de mangle.
3. Realizar pruebas preliminares para la formulación de inoculantes bacterianos.

## Metodología

El aislamiento de las bacterias capaces de fijar nitrógeno ( $N_2$ ) se hace en medios sin éste, donde sólo crecen los organismos que poseen el sistema enzimático tal que les permite reducir el  $N_2$  y utilizarlo en su metabolismo. Se usó medio de cultivo libre de sales nitrogenadas NFB semisólido carbón combinado, preparado con agar de alta pureza y la eficiencia se obtendrá más adelante por medio de pruebas de reducción de acetileno para evaluar la actividad de la nitrogenasa.

El aislamiento de bacterias solubilizadoras de fosfato se hace con medios selectivos que posean una fuente de fósforo insoluble. Sólo las

bacterias capaces de solubilizar el fósforo podrán crecer en este medio. El medio utilizado fue SRS con fósforo de Ca. La eficiencia se medirá por prueba en líquido de solubilización de fosfato tricálcico. Los aislamientos más eficientes permitirán realizar pruebas *in vivo* para comprobar su papel en campo.

## Resultados

Se encontraron 18 morfotipos de BFN en medio NFB carbón combinado, en concentración de  $10^5$  ufc·g<sup>-1</sup> para *R. mangle* y  $10^7$  ufc·g<sup>-1</sup> para *A. germinans*. *Rhizophora mangle* aportó cinco morfotipos, *A. germinans* nueve más, y cuatro más estuvieron asociadas a las dos. La distribución de las especies BFN estuvo determinada por sus exigencias metabólicas y las microcondiciones rizosféricas de las plantas.

Para fijar nitrógeno atmosférico las bacterias necesitan de la nitrogenasa. Esta es altamente sensible al O<sub>2</sub>. Para proteger la nitrogenasa las BFN han desarrollado diferentes estrategias que hemos podido identificar como el crecimiento a diferentes niveles de concentraciones de oxígeno, formación de cúmulos por secreción de mucilagos y la formación de endosporas, quistes y cápsulas.

La fijación biológica del nitrógeno (FBN) es un proceso energéticamente muy costoso y sólo se

puede dar en ambientes rico en fuentes de carbono disponible y donde las concentraciones de sales nitrogenadas no sean altas, ya que inhiben la nitrogenasa. La FBN de organismos de vida libre está subsidiada por las fuentes de carbohidratos del medio y los exudados de la rizósfera de mangle. La alta disponibilidad de fuentes de carbohidratos, los suelos anegados y las bajas concentraciones de nitrógeno hacen de los manglares lugares propicios para que la FBN sea un proceso recurrente.

Se encontraron ocho morfotipos de BSF en medio SRS, en concentraciones de  $10^6$  ufc·g<sup>-1</sup> para *R. mangle* y  $10^6$  ufc·g<sup>-1</sup> para *A. germinans*. Cada especie de mangle presentó cuatro morfotipos exclusivos y de todos ellos dos presentaron acidificación y solubilización de fosfatos, cinco acidificación únicamente y uno tuvo buen crecimiento pero no solubilización ni acidificación, posiblemente por requerir pocos fosfatos para su crecimiento.

En este trabajo sólo fueron aisladas bacterias que emplean glucosa y manitol como fuentes de carbohidratos. Medios de cultivo con diversas fuentes de carbohidratos pueden permitir reconocer mayor diversidad de las comunidades bacterianas. Los manglares son reservorio de microorganismos de gran espectro metabólico con potencial como biofertilizantes y para prácticas de biorremediación o usos industriales.