

ESTUDIO DE ALGUNOS GÉNEROS BACTERIANOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LOS CULTIVOS DE GERBERA (*Gerbera jamesonii*) Y CLAVEL (*Dianthus barbatus*, *Dianthus caryophyllus*)

Annia Hernández, Damarys García, María R. Soroa y Ana N. Hernández

ABSTRACT. The characterization of some bacterial genera present in the plant rhizosphere of gerbera (*Gerbera jamesonii*) and carnation (*Dianthus barbatus* and *Dianthus caryophyllus*) was carried out on a Compacted Red Ferralitic soil located in San José de las Lajas. The rhizobacteria studied (*Pseudomonas* (*Burkholderia*) *cepacia*, *P. fluorescens* and *Azospirillum brasilense*) showed chemoattraction of root exudates. In both cases, the Spermospheric Model was used. Results demonstrated that *Pseudomonas* is a dominant population over *Azospirillum*, *Bacillus* and *Streptomyces*. *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *cepacia* showed the maximum chemotactic responses to root exudates of gerbera and carnation after 14 days and 40 minutes of exposure.

Key words: cut flower, *Gerbera jamesonii*, *Dianthus barbatus*, *Dianthus caryophyllus*, rhizobacteria, *Pseudomonas cepacia*, biofertilizers

RESUMEN. En este trabajo se realizó la caracterización de algunos géneros bacterianos presentes en la rizosfera de los cultivos de gerbera (*Gerbera jamesonii*) y clavel (*Dianthus barbatus* y *Dianthus caryophyllus*), en un suelo Ferralítico Rojo compactado de San José de las Lajas. También se estudió la quimioatracción de los exudados radicales de estos cultivos hacia diferentes rizobacterias (*Pseudomonas* (*Burkholderia*) *cepacia*, *P. fluorescens* y *Azospirillum brasilense*). En ambos casos se utilizó el Modelo Espermosférico. Los resultados obtenidos demostraron que *Pseudomonas* constituye una población dominante en relación con *Azospirillum*, *Bacillus* y *Streptomyces*. *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *cepacia* fue la cepa más fuertemente atraída por los exudados radicales de gerbera y clavel, a los 14 días y 40 minutos de exposición.

Palabras clave: flor cortada, *Gerbera jamesonii*, *Dianthus barbatus*, *Dianthus caryophyllus*, rizobacterias, *Pseudomonas cepacia*, biofertilizantes

INTRODUCCIÓN

La ocurrencia y predominancia de grupos específicos o tipos de microorganismos en un sistema natural y en ecosistemas individuales es una tarea básica para la ecología microbiana. Resulta obvio que para comprender el funcionamiento de las interrelaciones que se establecen dentro de esta comunidad en la rizosfera, es preciso comprender sus componentes individuales para poder abordar posteriormente el estudio del complejo funcionamiento de la comunidad en sí y sus potencialidades (1).

La rizosfera de varios cultivos en diferentes condiciones edafoclimáticas ya ha sido descrita; sin embargo, se han realizado muy pocos trabajos en flores, donde el conocimiento en la actualidad es pobre o muy escaso.

Igualmente ocurre en estudios relacionados con la quimiotaxis planta-bacteria.

La gerbera (*Gerbera jamesonii*) es una especie ornamental muy difundida en Europa, Estados Unidos y Asia (2). En Cuba es introducida en 1921 y es utilizada tradicionalmente como flor de corte.

Por otra parte, el cultivo del clavel (*Dianthus*) se inició hace más de 2000 años. Dentro de este género se incluyen cuatro especies fundamentales, *Dianthus caryophyllus* es una de las de mayor importancia como flor de corte. En Cuba, el tipo de clavel del que se dispone es el chino (*Dianthus chinensis*) y el español (*Dianthus barbatus*), ambos como flor cortada (3).

Este trabajo tiene como objetivos caracterizar los géneros bacterianos presentes en la rizosfera de gerbera y clavel, así como estudiar la quimioatracción de los exudados radicales de estos cultivos hacia diferentes rizobacterias.

Ms.C. Annia Hernández, Investigador Agregado (annia@inca.edu.cu), Damarys García y Ana N. Hernández, Investigadoras del departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, María R. Soroa, Investigador del departamento de Fitotecnia, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se determinaron algunos géneros bacterianos presentes en la rizosfera de plantas de gerbera (*Gerbera jamesonii*) y clavel (*Dianthus barbatus* y *Dianthus caryophyllus*), en un suelo Ferralítico Rojo compactado procedente de la localidad de San José de las Lajas. Para ello se tomaron plantas de tres semanas de sembradas, a partir de las cuales se conformó y procesó una muestra de rizosfera por variedad (4).

Semillas de gerbera (*Gerbera jamesonii*) y de tres variedades de clavel (*Dianthus barbatus* y *Dianthus caryophyllus*) previamente desinfectadas (1) y germinadas, se colocaron en tubos espermosféricos (5) que contenían medio mineral semisólido Watanabe (6). Posteriormente, las plántulas se inocularon (7) y se incubaron con un fotoperíodo de 14 horas luz-10 oscuridad durante siete días.

Para el aislamiento, las raíces de las plántulas inoculadas (dilución 10^{-3} a 10^{-6}) se maceraron y diluyeron en solución fisiológica (PBS). Se realizó su siembra en los medios de cultivo Agar Nutriente (Microbiota total), King B (*Pseudomonas*), Watanabe (*Bacillus*), Caseína almidón agar (*Streptomyces*) y Rojo Congo agar (*Azospirillum*). Los tres primeros se incubaron durante 24 horas y los dos últimos durante 72 horas a 37°C.

Para la selección y caracterización de las cepas se realizaron determinaciones micromorfológicas y culturales en los medios estudiados (8).

También se analizó la quimioatracción de los exudados radicales de los cultivos en estudio hacia diferentes rizobacterias (*Pseudomonas (Burkholderia) cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*), pertenecientes a los géneros dominantes en la rizosfera. Para ello se enfrentaron las rizobacterias en estudio mediante la cámara de quimiotaxis a exudados radicales de siete días de edad (9). Posteriormente, la cepa que resultó más atraída se enfrentó a exudados de 7, 14 y 21 días. En ambos casos se establecieron diferentes tiempos de exposición: 20, 40, 60 minutos.

En ambos experimentos se realizaron cinco réplicas por tratamiento y los experimentos se realizaron tres veces cada uno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Géneros bacterianos asociados a los cultivos en estudio. El análisis de la estructura de la comunidad bacteriana (Figura 1) demostró que *Pseudomonas* constituye una población dominante en relación con *Azospirillum*, *Bacillus* y *Streptomyces*. En gerbera se obtuvieron mayores poblaciones microbianas que en clavel, excepto en *Streptomyces*, donde en las variedades se observa un ligero incremento.

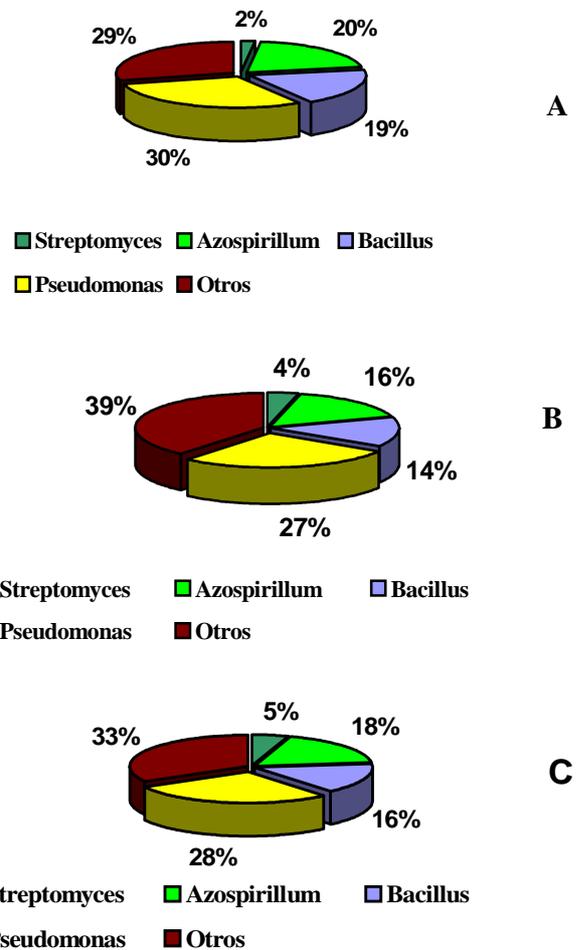


Figura 1. Frecuencia de aparición de los géneros estudiados en gerbera (A) y clavel (*Dianthus barbatus* (B) y *D. caryophyllus* (C))

Se ha demostrado la presencia abundante de este grupo en la rizosfera de otros cultivos de interés agrícola, dado fundamentalmente por su capacidad de metabolizar una amplia gama de sustancias carbonadas exudadas por las raíces de las plantas, además de su metabolismo versátil, corto período de latencia y rápida velocidad de crecimiento (10).

Este género también constituye una población sobresaliente en la rizosfera del cultivo de trigo (11). Asimismo, la caracterización de la rizosfera del cultivo del maíz en tres localidades edafoclimáticas demostró que *Pseudomonas* constituye un género dominante (4). Otros autores plantearon que en este cultivo las poblaciones de *Pseudomonas* representan el 88 % de la microbiota total (12).

Azospirillum se comporta como una población codominante. Bacterias de este género han sido aisladas de distintas regiones geográficas a partir de una gran variedad de plantas pertenecientes a diferentes familias botánicas. Se ha encontrado dominando la rizosfera del cultivo del arroz en suelo Ferralítico Rojo compactado y Ferralítico amarillento (13). También se han hallado poblaciones sobresalientes de esta rizobacteria en caña de azúcar (14).

Bacillus sp., a pesar de no ser de los géneros que dominan en la rizosfera de los cultivos de gerbera y clavel, abunda en las condiciones estudiadas. Resultados similares fueron encontrados en suelos típicos para el cultivo del maíz donde existen entre 15.58 y 15.60 % de bacterias pertenecientes a este grupo bacteriano (7).

De los géneros estudiados, *Streptomyces* presentó los menores valores, resultados que coinciden con los encontrados en poblaciones muy pequeñas en la rizosfera del trigo (11). Sin embargo, se ha informado como un género codominante en la rizosfera del maíz (4). También se ha demostrado su presencia abundante en caña de azúcar (15).

Quimioatracción de rizobacterias hacia los exudados radicados de los cultivos en estudio. Conocer el comportamiento de las especies bacterianas ante exudados vegetales constituye uno de los principios básicos de la interacción planta-microorganismos. Los exudados radicados son utilizados por los microorganismos como fuente nutritiva, influyendo indirectamente en las interrelaciones entre los microorganismos colonizadores a través de la acción selectiva que ejercen sobre especies o grupos particulares (9).

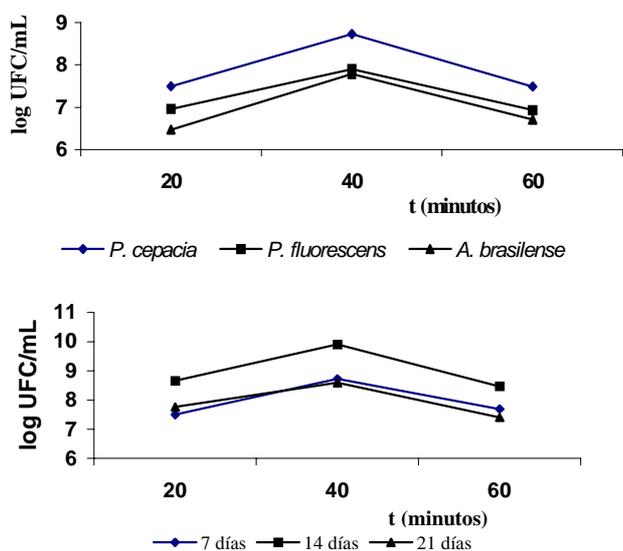


Figura 2. Quimioatracción de diferentes rizobacterias hacia los exudados radicados de gerbera (A), *P. cepacia* a diferentes tiempo de exposición (B).

La cepa más atraída quimiotácticamente por los exudados radicados de gerbera es *Pseudomonas (Burkolderia) cepacia* (Figura 2), seguida por *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*. Se ha demostrado que los microorganismos más fuertemente atraídos por los exudados radicados son los que más rápidamente colonizan la raíz. Teniendo en cuenta esto, se estudió la interacción *P. cepacia*-planta, a diferentes tiempos de exposición, demostrándose que la mayor atracción se establece a los 14 días y 40 minutos de exposición.

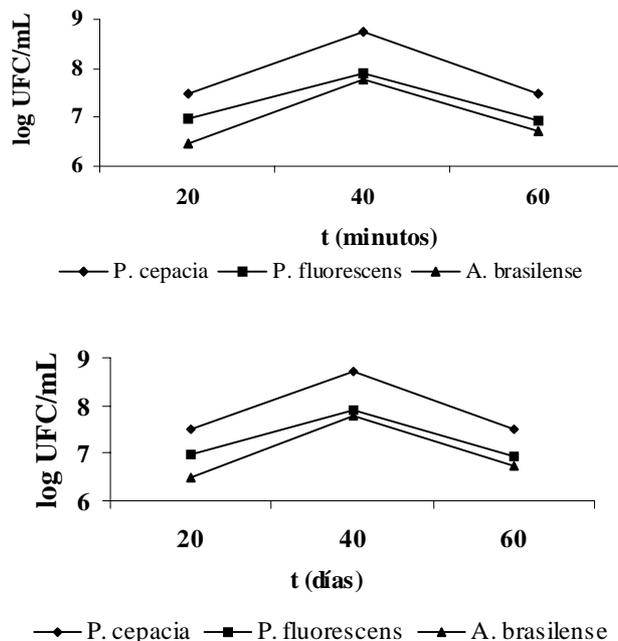


Figura 3. Quimioatracción de diferentes rizobacterias hacia los exudados radicados de clavel (*Dianthus barbatus*) (A), *P. cepacia* a diferentes tiempos de exposición (B)

La quimiotaxis ha sido demostrada en un gran número de bacterias asociadas a las plantas; se plantea que este evento es el primer paso necesario para que una rizobacteria se establezca y colonice la raíz (16).

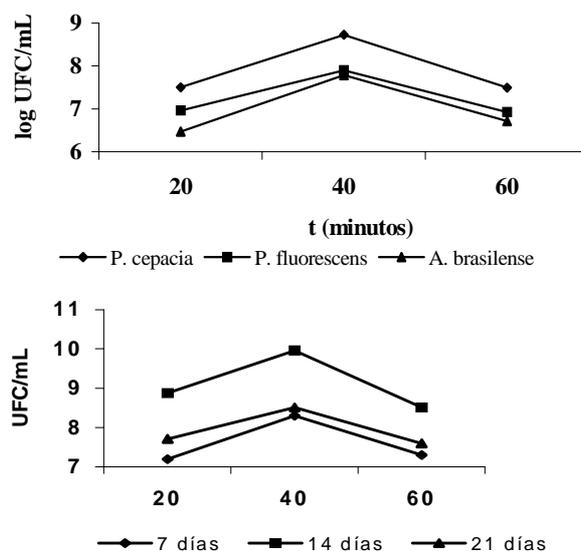


Figura 4. Quimioatracción de diferentes rizobacterias hacia los exudados radicados de clavel (*Dianthus caryophyllus*): A (7 días), B (14 días) y C (21 días)

Como se observa en las Figuras 3 y 4, las tres cepas estudiadas resultaron estimuladas por los exudados radicales de las plántulas de clavel, mostrando mayor afinidad la cepa de *Pseudomonas cepacia* en ambos casos. Esta afinidad se desencadena, finalmente, en el efecto beneficioso del sistema planta-microorganismo.

Estos resultados coinciden con estudios que demostraron que *P. cepacia* es fuertemente atraída por los exudados radicales de maíz (4) y que el tiempo óptimo para medir el potencial de quimiotáctico es alrededor de los 40 minutos. Se demostró que cepas de *Pseudomonas* migraron activamente hacia semillas de soya.

Pseudomonas cepacia se caracteriza por producir una gran cantidad de metabolitos secundarios. Se ha demostrado que esta cepa produce sideróforos y fitohormonas, específicamente AIA (17). Recientemente se ha demostrado la producción de ácido salicílico y compuestos quinolisidínicos de naturaleza antibiótica (9).

En esta investigación se demostró que *Pseudomonas* constituye un género dominante en la rizosfera de gerbera y clavel en las dos variedades estudiadas. Los resultados obtenidos brindan la posibilidad de utilizar las rizobacterias para la biofertilización de estos cultivos, sugiriendo aplicar, preferentemente, el biopreparado elaborado a partir de *Pseudomonas cepacia*, como una alternativa para el buen desarrollo de estas plantas ornamentales.

REFERENCIAS

1. García, D. Aislamiento y caracterización de algunos géneros bacterianos presentes en la rizosfera del maíz. [Trabajo de Diploma]. UH, 1996.
2. Caetano y Molini. Folleto de micropropagación de plantas ornamentales. Brazil, 1998.
3. Montes, S., et al. Micropropagación de variedades de clavel (*Dianthus caryophyllus* y *Dianthus plumarius*) mediante el cultivo de meristemas. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, no. 1, p. 75-81.
4. Hernández, A. N. Estudio de rizobacterias para la biofertilización del cultivo del maíz. [Tesis de Maestría]. UH, 1996.
5. Thomas-Bauzon, D., et al. The spermosphere model: I. Its use in growing, counting and isolating N₂-fixing bacteria from the rhizosphere of rice. *Can. J. Microbiol.*, 1982, vol. 28, p. 922-928.
6. Watanabe, I. y Barraquio, W. Low levels of fixed nitrogen required for isolation of free living N₂-fixing organism from rice roots. *Nature*, 1979, vol. 277, p. 565-566.
7. Hernández, A. N., et al. Determinación de algunos géneros bacterianos presentes en la rizosfera del maíz. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, no. 3, p. 10-14.
8. Pallerony, N. *Bergey's Manual of Systematic bacteriology*. Baltimore : The Willian and Wilkins. Co., 1984.
9. Hernández, A. N. Rizobacterias para la biofertilización del maíz. Reporte a las Naciones Unidas. México, 1998, 22 p.
10. Marschner, P. y Crowley, D. Iron stress and Pyoverdinin production by a fluorescent pseudomonad in the rhizosphere of white lupine (*Lupinus albus*) and barley (*Hordeum vulgare* L.). *Applied and Environmental Microbiol.*, 1997, vol. 63, no. 1, p. 277-281.
11. Santander, J. L. Caracterización de géneros asociados al cultivo del trigo (*Triticum aestivum*). En II Taller Internacional de Química aplicada a la Agricultura Sostenible. La Habana, 1999.
12. Hebbar, K., Davey, A. y Hart, P. Rhizobacteria of maize antagonistic to *Fusarium moniliforme*, a soil-borne fungal pathogen isolation and identification. *Soil. Biol. Biochem.*, 1992, vol. 24, no. 10, p. 979-987.
13. Lorenzo, Y. Aislamiento y caracterización de cepas de *Azospirillum* asociadas al cultivo del arroz. [Trabajo de Diploma]. UH, 1999.
14. Fernández, A. I. *Azospirillum lipoferum* y *A. brasilense*. Sus relaciones con maíz y caña de azúcar. [Tesis de Maestría]. UH, 1995.
15. Heydrich, M., Fernández, A. I. y Fernández, C. Taxonomía y serología de cepas de actinomicetos aislados del rizoplaneo de caña de azúcar. *Ciencias de la Agricultura*, 1986, vol. 29, p. 99-111.
16. Lam, S. T., Ellis, D. M. y Ligon, J. M. Genetic approaches for studying rhizosphere colonization. The rhizosphere and plant growth. *Kluwer Academic Publishers*, 1991, p. 43-50.
17. Hernández, A. Caracterización de cepas de *Pseudomonas cepacia* y *P. fluorescens* aisladas de la rizosfera del maíz. [Tesis de Maestría]. UH, 1998.

Recibido: 12 de octubre de 1999

Aceptado: 22 de diciembre de 1999