



RESISTENCIA DE *PSEUDOMONAS PUTIDA* KT2440 A LA DESECACIÓN.

Abisaí Pazos-Rojas, Ligia Catalina Muñoz-Arenas, Maritza Chávez-Ortiz, Yolanda Elizabeth Morales-García, Rocío Bustillos-Cristales, Cristian Toribio-Rosales, y Jesús Muñoz-Rojas*. Laboratorio de Microbiología del Suelo CICM-ICBUAP, Edificio 76, Complejo de Ciencias, C. U. San Manuel, Puebla. Fax: (222) 2 33 46 43. Correo electrónico*: jesus@clubsantander.com.

Palabras clave: desecación, *Pseudomonas*, inoculantes.

Introducción. *Pseudomonas putida* KT2440 es una bacteria saprófita bien caracterizada, su genoma está secuenciado (2), no posee plásmidos y fue certificada como biosegura para clonar genes foráneos. Esta bacteria usa diversos compuestos aromáticos como fuente de carbono (4), coloniza la raíz de plantas y estimula su crecimiento; sugiriendo que la interacción *P. putida*-planta es una buena alternativa para la rizoremediación de compuestos xenobióticos. Sin embargo, *P. putida* es muy sensible a la desecación que ocurre durante su liofilización, dependiendo de la cantidad de C17:ciclopropano presente en su membrana (1).

En este trabajo exploramos la capacidad de *P. putida* para resistir a la desecación natural (aire, suelo e interacción con plantas).

Metodología. Desecación en aire y suelo. Las células de *P. putida* en fase estacionaria, se lavaron y resuspendieron en agua o en diversas soluciones "protectoras" (200 mM de: azúcares, aminoácidos, polialcoholes). La suspensión bacteriana fue alicuotada (replicas de 500µl) y sometida a desecación ambiental (25 y 30°C). El No. UFC/ml se determinó a los 0, 3, 6, 9, 12 y 15 días posteriores a la desecación (dpd). La humedad y la supervivencia bacteriana (BSR) se determinaron en todas las etapas experimentales (1). Para ensayos en suelo las alícuotas contuvieron 0.5 g de suelo y 500 µl de suspensión bacteriana. Desecación en asociación con plantas. La suspensión bacteriana (agua), se usó para inocular semillas de maíz axénicas germinadas (var. Girona), que se colocaron en tubos con vermiculita estéril (10 g) y se regaron con 50 ml de MSJ (dosis única). Las plantas se colocaron en cámaras de cultivo a 28°C (periodo luz/obscuridad (16/8)), la humedad relativa y el No. de bacterias rizosféricas viables se evaluaron en diversos periodos. Análisis estadístico. Método *t*-student.

Resultados y discusión. A raíz del potencial agrícola y el interés industrial de *P. putida* KT2440, en el presente trabajo exploramos la tolerancia de la cepa a condiciones de desecación natural. Observamos que cuando la bacteria está asociada a la raíz de plantas de maíz, ésta resiste más a la desecación que cuando se deseca en aire y suelo. Las plantas exudan una gran diversidad de sustancias (3) (Ej. aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, lípidos), que podrían proteger a la bacteria durante el proceso de desecación. Por esta razón, exploramos la capacidad de distintas sustancias, reportadas en los exudados de plantas, para proteger a *P. putida* KT2440 del proceso de desecación bajo condiciones ambientales controladas (30°C). Se observó

que a medida que ocurre la pérdida de agua de las muestras, la BSR disminuye independientemente de si la muestra contiene o no una sustancia protectora. Cuando no se usa una sustancia protectora la BSR disminuye drásticamente, en cambio en presencia de algunas sustancias como la glucosa, la sacarosa, los polialcoholes y los monosacáridos, la supervivencia es favorecida (Ej. tabla 1). Los aminoácidos explorados no protegen a *P. putida* KT2440 de la desecación, al igual que los ácidos orgánicos. El mecanismo mediante el cual los azúcares y polialcoholes son capaces de proteger a las células de la desecación ambiental, está aun por ser explorado, no obstante podría significar una de las formas que las bacterias usan en los diversos ambientes para protegerse del proceso de desecación.

Cuadro 1. BSR de *P. putida* KT2440 con y sin protector.

	0 dpd	3 dpd	6 dpd	9 dpd	12 dpd	15 dpd
Glucosa	100	90.00	85.62	85.13	84.36	83.84
Agua	100	92.32	35.21	21.94	3.62	0

Conclusión. La asociación planta-bacteria es esencial para la supervivencia de esta última durante la desecación, sin embargo, no todos los exudados de la planta son útiles para la resistencia bacteriana. Será interesante determinar la presencia y concentración de disacáridos, monosacáridos y polialcoholes en exudados de plantas de maíz y correlacionarlos con la BRS de *P. putida* KT2440. El conocimiento de los mecanismos mediante los cuales esta bacteria persiste, podría servir para rizoremediar efectivamente un ambiente contaminado aun en zonas con escasez de agua.

Agradecimientos. Agradecemos a la VIEP-BUAP por financiar parcialmente este trabajo, a través del proyecto 46/NAT/06-G.

Bibliografía.

- Muñoz-Rojas, J., Bernal, P., Duque, E., P. Godoy, A. Segura and Ramos, J. L. 2006. Involvement of cyclopropane fatty acids in the response of *Pseudomonas putida* KT2440 to freeze-drying. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(1):472-477.
- Nelson, K. E., et al. 2002. Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environ. Microbiol.* 4(12):799-808.
- Nguyen, C. 2003. Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie* 23:375-396.
- Ramos, J.L., Díaz, E., Dowling, E., de Lorenzo, V., Molin, S., O'Gara, S., Ramos, C. and Timmis, K. 1994. The behavior of bacteria designed for biodegradation. *Biotech.* 12(13): 1349-1356.