



La diversidad bacteriana en el cultivo de arroz

Dra. Ana Fernández Scavino - Prof. Agreg. Microbiología
Dpto. Biociencias, Fac. Química - Universidad de la República
(afernand@fq.edu.uy)

El sector arrocero se ha caracterizado por su pujanza y apertura hacia la innovación. En este sentido ha mantenido una fluida relación con diferentes grupos de investigación de la Universidad de la República por su interés en los aspectos del cultivo relacionados con el impacto ambiental y la producción sustentable.

Es bien conocido que en el suelo habita una gran cantidad de micro y macroorganismos que forman un ecosistema complejo, con gran incidencia en el desarrollo de los cultivos. La actividad de estos microorganismos puede resultar perjudicial (microorganismos patógenos), inocua o beneficiosa para las plantas.

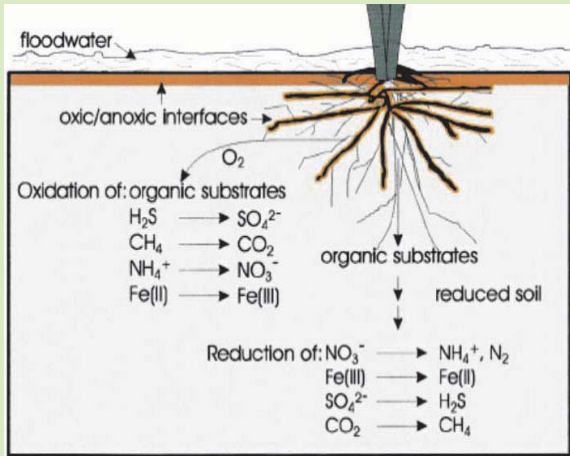
El mejor ejemplo de este último caso es la asociación entre bacterias del género *Rhizobium* y similares con leguminosas, la cual constituye uno de los mayores sucesos biotecnológicos en la agricultura porque ha reducido considerablemente la utilización de fer-

tilizante nitrogenado. Es así que gran parte del desarrollo de la microbiología asociada a plantas se ha enfocado a los microorganismos patógenos y a las asociaciones simbióticas de los rizobios. Sin embargo, la demanda creciente de mejora de rendimiento y producción sustentable ha favorecido que se preste atención a un espectro más amplio de microorganismos.

El cultivo de arroz inundado tiene la particularidad de que durante gran parte del ciclo los procesos que ocurren en las inmediaciones de la raíz son anaerobios. La escasa difusión del oxígeno en el agua de

inundación, a pesar del transporte de gases a través del aerénquima de la planta, así como la disponibilidad de materia orgánica en suelo y agua, hacen que el oxígeno sea uno de los elementos limitantes para la actividad metabólica microbiana (Fig.1).

Figura 1



Esquema de los procesos bioquímicos que ocurren en la vecindad de la raíz de *Oryza sativa*. En marrón se marcan las zonas óxicas (donde hay oxígeno disponible). Tomado de Liesak et al. 2000 (1).

Sin embargo, la limitación de oxígeno no restringe la actividad microbiana en ese ecosistema, que es particularmente apto para el desarrollo de bacterias que no toleran el oxígeno o que pueden sustituirlo por otras moléculas en su metabolismo respiratorio.

En el laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Ambiental de la Cátedra de Microbiología (Facultad de Química, UDELAR) hemos trabajado con bacterias que pueden crecer en condiciones anaerobias, particularmente las que actúan en procesos de descontaminación de efluentes industriales y domésticos. En los últimos años comenzamos a estudiar el rol de estas bacterias en el ecosistema arrocero, con especial énfasis en su potencial uso como herramientas biotecnológicas para la producción sustentable.

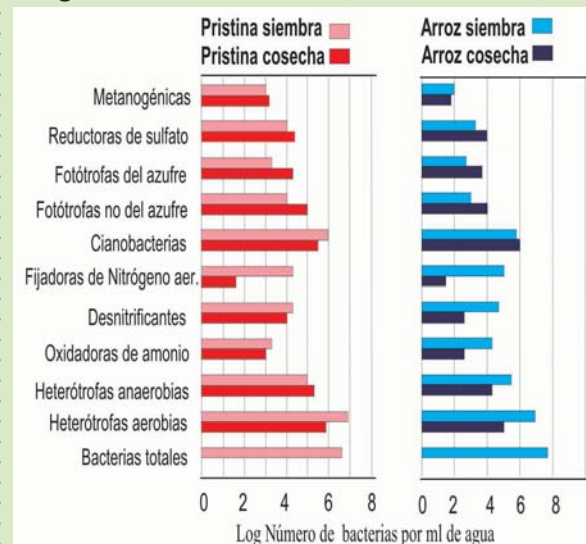


Biodiversidad bacteriana: su uso potencial para evaluar el impacto ambiental (2)

La reducción de la biodiversidad es una de las razones que más frecuentemente se invocan a nivel popular contra la producción de arroz. Con el objetivo de determinar si la diversidad bacteriana está afectada por el cultivo, cuantificamos e identificamos distintos grupos de bacterias (aerobias y anaerobias) en aguas prístinas y en aguas de inundación en una chacra de la zona de Lascano.

Los resultados de este trabajo indican que la diversidad bacteriana en aguas prístinas y aguas de riego es similar, tanto al comienzo de la inundación como cuando se aproxima la cosecha. De hecho, las diferencias mayores en la composición de la comunidad bacteriana ocurren en el mismo sitio de muestreo como consecuencia del cambio de estación (Fig. 2).

Figura 2



Principales grupos de bacterias cuantificados en el agua de inundación de una zona prístina y una zona con cultivo de arroz.

Esto corrobora las observaciones realizadas en otros hábitat, en los cuales sólo impactos muy drásticos -como un incendio o una disminución brusca de pH- se manifiestan en una reducción significativa de la diversidad bacteriana.

Actividad bacteriana relacionada con los gases del efecto invernadero

Estudiamos también la actividad de las bacterias directamente involucradas en la generación o consumo de gases que contribuyen al efecto invernadero. Estos gases son metano (CH_4) -resultante de la degradación anaerobia de compuestos de carbono- y óxido nitroso (N_2O) que se genera a partir de compuestos con nitrógeno ya sea por bacterias capaces de oxidar amonio (o urea) o por bacterias que realizan una reducción incompleta de nitrato. Afortunadamente en el mismo ecosistema coexisten bacterias productoras (metanogénicas) y bacterias consumidoras (metanótrofas) de CH_4 . Estas últimas son capaces de mitigar el impacto causado por la emisión de metano. Los estudios realizados en nuestro laboratorio permitieron establecer que las bacterias metanótrofas (Fig. 3) están presentes tanto en la rizósfera como en la interfase suelo-agua y que su actividad en la rizósfera es mayor y se estimula con la fertilización nitrogenada (3) (4).

Figura 3



Bacterias metanótrofas aisladas de la interfase suelo-agua de los cultivos de arroz en la estación experimental de INIA en Treinta y Tres.

A la izquierda se observan estas bacterias por Microscopía de contraste de fases; a la derecha por microscopía de fluorescencia donde se muestran todas las bacterias (marcadas con un fluoróforo azul) y sólo las bacterias metanótrofas marcadas con una sonda de ADN específica estas bacterias en rojo.

Actualmente, con la Ing. Agr. Pilar Irisarri, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Agronomía, se realizan ensayos de invernáculo y de campo en la estación experi-

mental Paso de la Laguna de INIA en Treinta y Tres para medir la emisión de metano y óxido nitroso durante el ciclo completo de rotación arroz-pastura en diferentes condiciones de manejo del cultivo (Figura 4) (5).



Figura 4

Dispositivo utilizado para medir la emisión de gases de efecto invernadero.



Muestras en invernáculo y en campo en P.de la Laguna de emisiones de gases efecto invernadero.

La cuantificación de la emisión en diferentes condiciones de manejo del cultivo generará información que permita evaluar el tenor de la emisión de nuestros cultivos y oriente los esfuerzos para lograr una producción más sustentable.

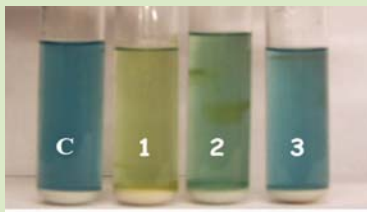
Las bacterias pueden aportar nutrientes o proteger al cultivo

El otro aspecto que hemos estudiado se refiere a las bacterias que pueden beneficiar directa o indirectamente al cultivo y reducir, por tanto, el empleo de agroquímicos en el ciclo productivo. Se conoce poco sobre las actividades bacterianas que ocurren en el suelo inundado no rizosférico. En particular interesa conocer el ciclo de algunos nutrientes que pueden perderse durante el retiro del agua previo a la

cosecha. Hemos determinado que durante la inundación hay fijación biológica de nitrógeno llevada a cabo por bacterias fijadoras libres en el suelo desnudo (Figura 5) (6).

Figura 5

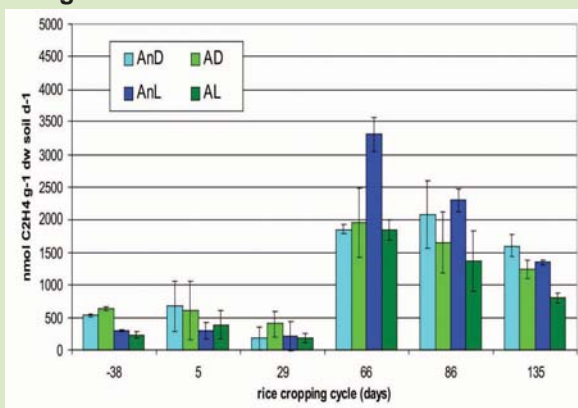
Bacterias fijadoras de nitrógeno. C es el tubo de medio de cultivo control sin crecimiento y los demás tubos muestran colonias de bacterias que crecen diferente. La flecha indica la película de crecimiento de las bacterias fijadoras microaerófilicas.



Bacterias fotótrofas anaerobias no dependientes del azufre, que pueden fijar nitrógeno atmosférico. Se observan los cultivos líquidos de bacterias que tienen diferentes pigmentos rojos

La luz, la materia orgánica y las condiciones anaerobias generadas por la inundación favorecen la transformación del nitrógeno elemental de la atmósfera en compuestos de nitrógeno orgánico que las

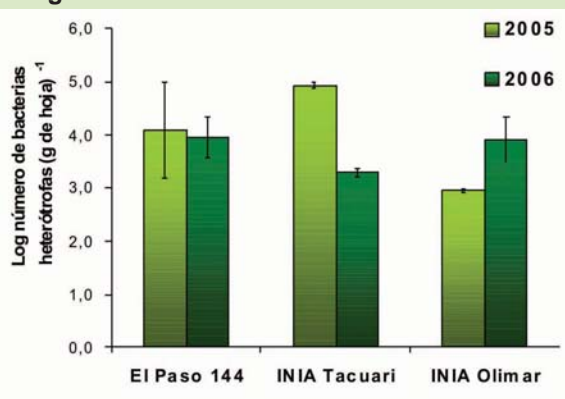
Figura 6



Velocidad de fijación de nitrógeno por bacterias del suelo durante el ciclo del cultivo de arroz. El experimento se realizó en la estación P. de la Laguna, de INIA Treinta y Tres; se plantó el día 0 y se inundó el día 30. El suelo se suplementó con compuestos carbonados y se midió la reducción de acetileno en el laboratorio después de incubar en diferentes condiciones (A = Aerobiosis; An = Anaerobiosis; L = exposición a la luz; D = incubación en oscuridad).

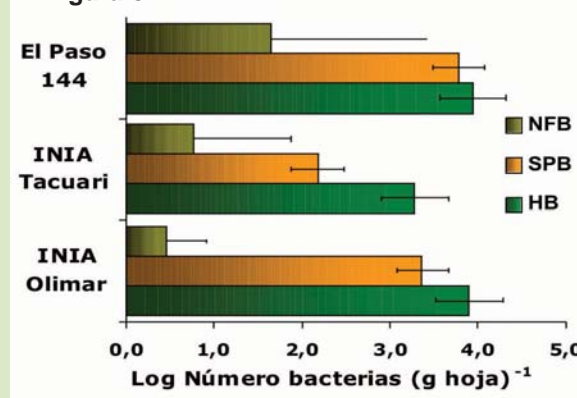
bacterias fijadoras asimilan y -por tanto- inmovilizan (Fig. 6). Si bien la fuerte asociación bacteria-planta de las leguminosas no se ha observado en las gramíneas, se sabe que hay bacterias que colonizan los tejidos internos de muchas plantas sin causarles daño. Estas bacterias, llamadas endófitas, podrían estimular el desarrollo vegetal o proteger la planta contra la invasión de otros microorganismos patógenos. Nos ha interesado conocer cuáles son las bacterias endófitas en el arroz que se cultiva en nuestro país y cuál es su diversidad (7). Pudimos establecer que las tres variedades más comunes (El Paso 144, INIA Tacuarí e INIA Olimar) tienen asociadas a sus hojas un conjunto diverso de bacterias que se mantiene en ciclos sucesivos (Fig. 7 y Fig. 8). Algunas de ellas

Figura 7



Recuento bacterias endófitas heterótrofas en las tres variedades de *Oryza sativa* cultivadas en las mismas condiciones en dos años sucesivos.

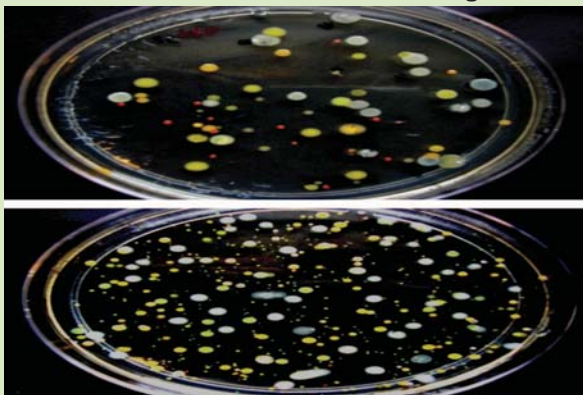
Figura 8



Recuento de distintos grupos de bacterias endófitas en tres variedades de arroz: Heterótrofas (HB), productoras de sideróforos (SBP) y fijadoras de nitrógeno (NFB). Cosecha 2006.

tienen propiedades que podrían suministrar nutrientes, estimular el desarrollo vegetal o inhibir el crecimiento de otros microorganismos patógenos (Fig. 9).

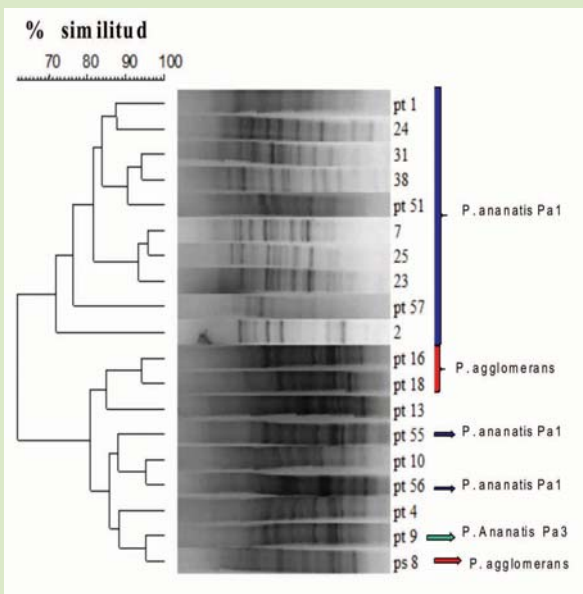
Figura 9



Bacterias heterótrofas endófitas aisladas de hojas de *O. sativa*. Se observa la diversidad de forma y color de las colonias cultivadas en aerobiosis.

Actualmente estamos estudiando la dinámica de esa comunidad de bacterias durante el crecimiento de la planta (8). Es importante conocer la diversidad, las estrategias de colonización y propiedades fisiológicas de estas bacterias en las distintas etapas del desarrollo del cultivo (Fig. 10).

Figura 10



Diversidad genética de cepas endófitas del género *Pantoea* aisladas de hoja de *O. sativa* cultivadas en Uruguay. En cada carril se observan una serie de bandas de ADN de diferente tamaño y cada carril es específico de una cepa aislada. Estas cepas pertenecen mayoritariamente a dos especies: *Pantoea ananatis* y *Pantoea agglomerans*. El dendrograma de la izquierda indica cuán similares son esas cepas por comparación del número de bandas comunes.

Los resultados obtenidos en estas investigaciones no se limitan a los mostrados en este artículo. Los métodos de análisis de ADN y otras técnicas de desarrollo reciente nos han permitido también detectar bacterias que hasta ahora no se han podido cultivar y describir nuevos microorganismos.

En estas investigaciones participan Pilar Irisarri, Silvana Tarlera, Lucía Ferrando, Inés Loaces, Mariana Urriburu, Leticia Pérez y Virginia Pereyra. Han participado también Susana Gonnet, Javier Menes, Guadalupe Paulino, Jimena Fernández, Dayana Travers y Estefanía Geymonat, Los ensayos de campo se realizaron en la estación experimental Paso de la Laguna de INIA en Treinta y Tres, a cuyos técnicos debemos un gran agradecimiento por su disposición y colaboración, especialmente al Ing. Agr. Enrique Deambrosi, quien nos ha alentado desde el comienzo en este emprendimiento.

REFERENCIAS

- (1) Liesak et al., 2000. Microbiology of flooded rice paddies. FEMS Microbiological Rev. 24: 625-645.
- (2) Proyecto "Biodiversidad bacteriana: su uso potencial para evaluar el impacto ambiental". Financiado por CSIC (Comisión Sectorial de Investigación Científica, Universidad de la República) y apoyado por PROBIDES (Programa de Conservación de la Biodiversidad y Desarrollo Sustentable en los Humedales del Este) y por el Ing. Agr. Aníbal García Ricci. 2000-2001.
- (3) Ferrando L., Tarlera S. 2009. Activity and diversity of methanotrophs in the soil-water interface and rhizospheric soil from a flooded temperate rice field. J. Appl Microbiol., 106:306-316.
- (4) Proyecto "Impacto de factores ambientales en la emisión biológica del gas invernadero metano en suelos de arroz en el Uruguay". Financiado por el Fondo Clemente Estable. 2001-2005. Tesis de Maestría de Lucía Ferrando.
- (5) Proyecto "Emisiones de metano y óxido nitroso en la rotación arroz-pastura en el este uruguayo". Financiado por Fondo Promoción de Tecnología Agropecuaria INIA (2006 -2009).
- (6) Proyecto "Dinámica y diversidad de la comunidad bacteriana fijadora libre de nitrógeno en suelos de arroz". Tesis de Maestría de Guadalupe Paulino. Financiado por PEDECIBA, área Química. 2006.
- (7) Proyecto "Diversidad molecular de bacterias endófitas en los cultivos de arroz en Uruguay". Financiado por PDT (Programa de Desarrollo Tecnológico, DICYT, MEC) 2004-2006.
- (8) Proyecto "Estrategia de colonización de bacterias endófitas adaptadas a plantas de arroz en Uruguay". Financiado por CSIC, UDELAR. 2007- 2009.