



# CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE BIOFILM EN *Bacillus subtilis* Y SU USO COMO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO SOBRE *Solanum lycopersicum* EN CONDICIONES DE CONTAMINACIÓN POR PLOMO



Cristóbal Miguez, J<sup>1</sup>; Sarti, G<sup>1</sup>.; Curá, A<sup>2</sup>; Bracco, R<sup>1</sup>. Alegre, B<sup>1</sup>; Iorio, A. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Química Inorgánica y Analítica. <sup>2</sup> Cátedra de Bioquímica. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires, Argentina. [karibu@agro.uba.ar](mailto:karibu@agro.uba.ar)

## INTRODUCCIÓN

En Argentina, la mayoría de las grandes ciudades cuenta con un área cercana destinada al cultivo de hortalizas, "cinturones hortícolas o cinturones verdes", cuyos suelos pueden presentar contaminación por metales pesados. Entre ellos, el plomo puede causar efectos negativos en el desarrollo de los cultivos y microbiota del suelo. El género *Bacillus* pertenece a un grupo de microorganismos llamados promotores del crecimiento vegetal, los cuáles influyen positivamente en el crecimiento de las plantas e incrementan su tolerancia a otros microorganismos causantes de enfermedades. *B. subtilis* es capaz de desarrollar un biofilm constituido por ADN, células, agua y una matriz de exopolisacáridos. Esta matriz le provee a la bacteria un ambiente protegido ante condiciones desfavorables.

Los objetivos de este estudio fueron:

- 1) Evaluar la tolerancia de *B. subtilis* y su capacidad para formar biofilm a dosis crecientes de plomo.
- 2) Evaluar si la aplicación del biofilm sobre semillas de *Solanum lycopersicum* actúa como promotor del crecimiento cuando las plantas crecieron en un sustrato con elevados niveles de plomo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron las curvas de crecimiento y la capacidad de *B. subtilis* para formar biofilm. La cepa se cultivó en medio mínimo con glicerol 1% y ácido-L glutámico 55mM a distintas concentraciones de Pb (II): 50, 100, 200 y 300 ppm Pb (II) y un tratamiento control libre de Pb (II). La incubación se realizó a 30°C durante 96h.

En el bioensayo con plantas de *Solanum lycopersicum* se evaluaron parámetros de crecimiento: Biomasa aérea (BioA), Biomasa radicular (BioR) y Área foliar (Af) en plantas de 60 días, cuyas semillas fueron inoculadas con el biofilm y las mismas crecieron en un sustrato preparado a partir de sustrato comercial y compost en proporción 3:1. Este sustrato fue contaminado con 300 ppm Pb(II). Se midió la actividad microbiana del sustrato a través del carbono de respiración (CR). El análisis estadístico se evaluó mediante un ANOVA a una vía y comparación de medias mediante test de Tukey ( $p < 0.05$ ).

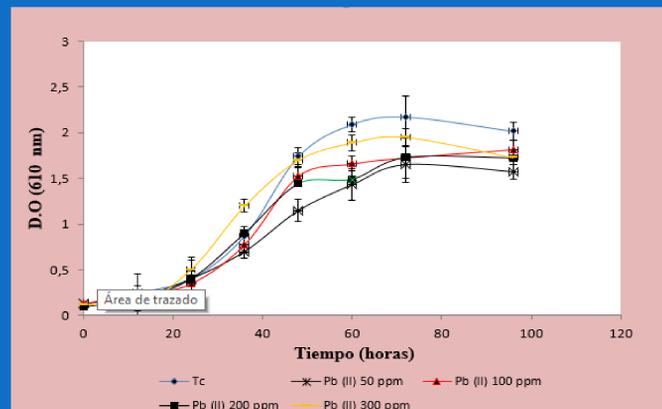
## CONCLUSIONES

-A elevadas concentraciones del metal, la mayor producción de exopolisacáridos (constituyente principal del biofilm) podría ser el mecanismo utilizado por *B. subtilis* para inmovilizar los iones metálicos y evitar su efecto tóxico.

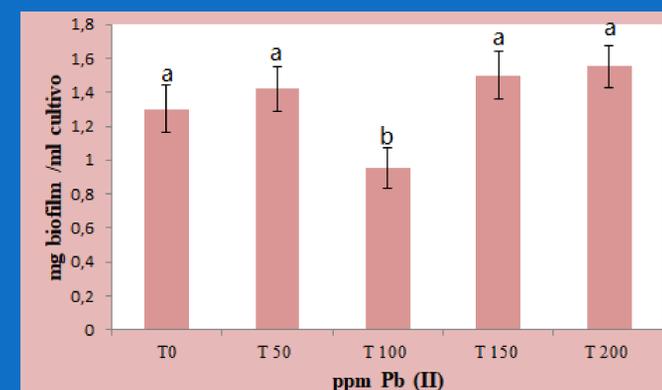
-*B. subtilis* mostró actividad promotora del crecimiento sobre las raíces de *S. lycopersicum* resultando beneficiosa su aplicación en suelos contaminados con Pb.

## RESULTADOS

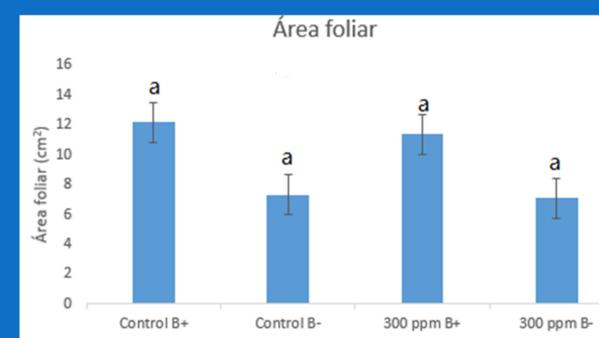
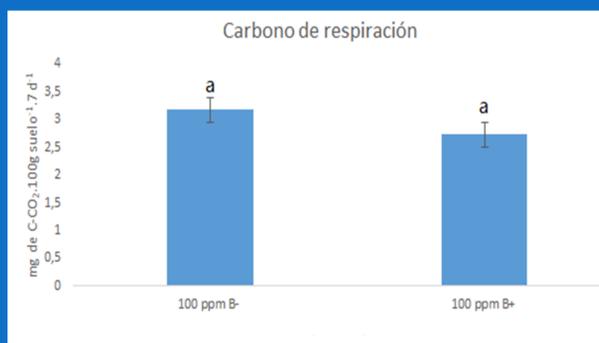
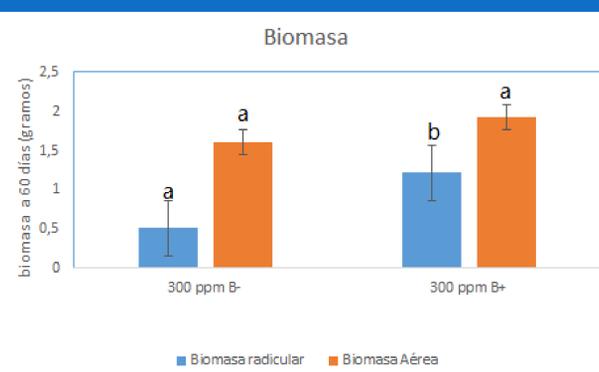
**Crecimiento de *Bacillus subtilis* y desarrollo de biofilm:** La bacteria fue capaz de crecer en todas las concentraciones de Pb ensayadas. Las curvas de crecimiento fueron similares a la curva control cuando las dosis del metal fueron bajas, mientras que a 200 y 300 ppm Pb(II) disminuyeron un 23% y 24% resp. La síntesis de biofilm aumentó a dosis elevadas del metal y a 300ppm Pb(II) fue 27% mayor que el control.



Curvas de crecimiento de *B. subtilis* (media  $\pm$  desvío estándar). La cepa se cultivó en agitación a 150 rpm. Cada punto representa el valor medio de tres ensayos diferentes.



Desarrollo de biofilm de *B. subtilis* en condiciones estáticas a diferentes concentraciones de Pb y tratamiento sin metal (T0). Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).



Parámetros de biomasa aérea y radicular, Carbono de respiración y Área foliar. Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

## Bioensayo en plantas de *Solanum Lycopersicum*:

La bacteria fue capaz de crecer en todas las concentraciones de Pb ensayadas. Las curvas de crecimiento fueron similares a la curva control cuando las dosis del metal fueron bajas, mientras que a 200 y 300 ppm Pb(II) disminuyeron un 23% y 24% resp. La síntesis de biofilm aumentó a dosis elevadas del metal y a 300ppm Pb(II) fue 27% mayor que el control.



Crecimiento de biomasa radicular en plantas de tomate a 60 días de la siembra en sustrato contaminado con 300 ppm de Pb(II). Semillas inoculadas con biofilm (Pb B+) y semillas sin inocular (Pb B-).