

Prospección de bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas a partir de *Mucuna* sp. en cultivo de palma de aceite

Manuel Ospino*, Luis Teherán, Indira Cantillo, Nólver Arias

Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma. Igteheran@cenipalma.org, pasabiosuelozor@cenipalma.org, narias@cenipalma.org, *autor para correspondencia: mospino@cenipalma.org

Introducción

En el contexto de la agricultura sostenible, las leguminosas de cobertura, como *Mucuna* sp., desempeñan un papel clave en la mejora de la salud del suelo y la productividad de los cultivos. Estas plantas no solo protegen el suelo contra la erosión y suprimen el crecimiento de malezas, sino que, gracias a su asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas (BFNS), como *Bradyrhizobium* sp., convierten el nitrógeno atmosférico en formas asimilables, enriqueciendo el suelo con este nutriente esencial. Sin embargo, la eficacia de esta simbiosis depende directamente de la selección de cepas bacterianas eficientes, lo que resalta la importancia de la prospección microbiológica. Este proceso permite identificar y aislar cepas nativas con mayor capacidad de colonización radicular, tolerancia a condiciones edafoclimáticas locales y competitividad frente a microorganismos autóctonos. La inoculación de *Mucuna* sp. con estas cepas seleccionadas potencia su capacidad de fijación biológica de nitrógeno, maximizando su aporte al suelo y reduciendo la dependencia de fertilizantes sintéticos, con beneficios tanto económicos como ambientales. En el cultivo de palma de aceite, la integración de *Mucuna* sp. inoculada con BFNS nativas prospectadas ofrece ventajas integrales, ya que incrementa la fertilidad del suelo mediante la liberación gradual de nitrógeno y materia orgánica, favoreciendo así el estado nutricional de las palmas.

Metodología

- Selección del sitio de muestreo:** se seleccionaron lotes de palma de aceite con *Mucuna* sp. establecida como cobertura vegetal.
- Búsqueda de nódulos radiculares:** se extrajeron raíces completas y se inspeccionó visualmente la presencia de nódulos, seleccionando aquellos que presentaban viabilidad aparente.
- Transporte de muestras:** las raíces noduladas se conservaron en bolsas tipo Ziploc bajo refrigeración temporal (entre 2 y 8 °C) para evitar la degradación microbiana durante el traslado al laboratorio.
- Aislamiento de cepas:** los nódulos se lavaron con una solución jabonosa y se desinfectaron superficialmente con etanol al 70 % (durante 10 minutos), seguido de hipoclorito de sodio al 5 % (10 minutos), y posteriormente se enjuagaron cinco veces con agua estéril. Luego, los nódulos se trituraron en PBS estéril y se sembraron en medio YEMA con rojo Congo, libre de nitrógeno, para enriquecer bacterias fijadoras. Las placas se incubaron a 30 °C durante 3 a 7 días.
- Caracterización bioquímica y molecular:** se realizaron pruebas bioquímicas como catalasa, oxidasa y metabolismo de compuestos específicos mediante el sistema API NE. La identificación molecular se efectuó mediante secuenciación Sanger, utilizando los iniciadores 337F, 518F, 800R y 1100R dirigidos al gen ribosomal 16S.
- Conservación de cepas:** las cepas se conservaron temporalmente en medio LB con glicerol al 20 % durante el periodo de evaluación.



Figura 1. a) Se observa lote de palma de aceite *E. guineensis* con *Mucuna* sp. establecida, b) búsqueda de nódulos en lote con *Mucuna* sp.

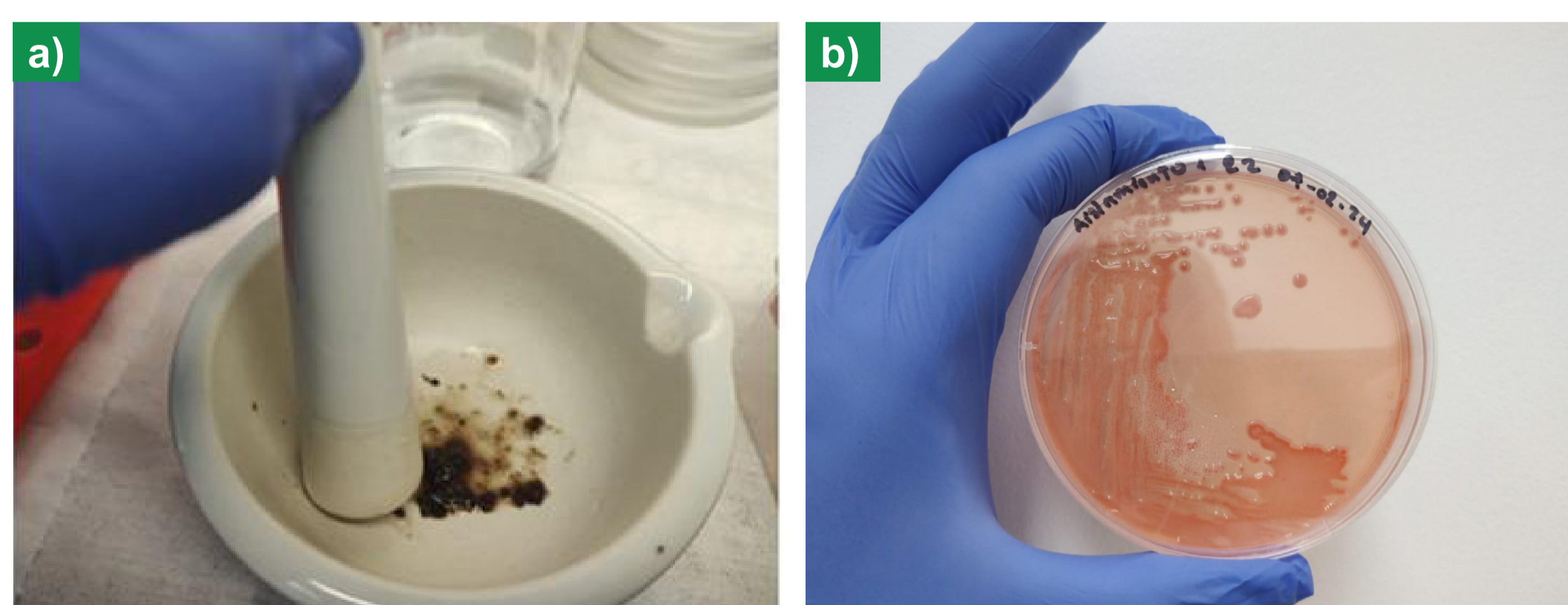


Figura 2. a) Se observa el macerado de nódulos de *Mucuna* sp. para obtención de aislamientos, b) se observa aislamiento inicial obtenido de los nódulos en medio de cultivo YEMA con rojo Congo, para bacterias fijadoras de nitrógeno simbiotas.

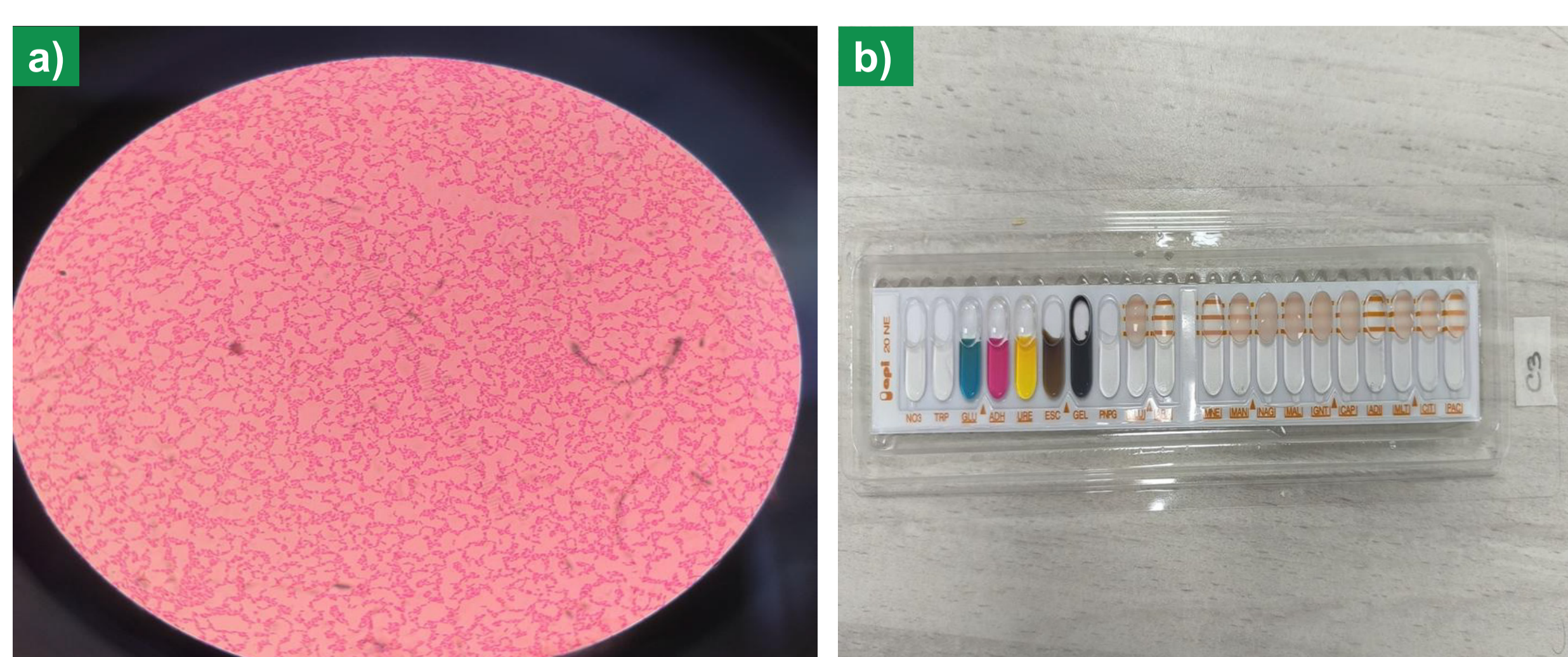


Figura 3. a) Se muestra el proceso de revisión de la tinción de gram y morfología al microscopio de los aislamientos purificados, b) diferentes reacciones metabólicas en el sistema API NE.

Resultados

Se obtuvieron 28 aislamientos bacterianos a partir de nódulos radiculares de *Mucuna* sp., una leguminosa de cobertura ampliamente utilizada en sistemas agrícolas sostenibles por su capacidad para enriquecer suelos mediante la fijación biológica de nitrógeno. La identificación taxonómica respaldada por métodos moleculares (secuenciación del gen 16S rRNA) y complementada con caracterización bioquímica y morfológica (Figura 3) reveló una diversidad microbiana notable en los nódulos. La distribución de los géneros identificados fue la siguiente: 10 aislamientos correspondieron a *Bacillus* sp., 11 a *Burkholderia* sp., 1 a *Micrococcus* sp., 4 a *Lysinibacillus* sp., 1 a *Pantoea* sp. y 1 a *Paenibacillus* sp. (Tabla 1).

Entre los géneros identificados, se destaca *Burkholderia* sp., resultado similar al reportado por Argüello-Navarro & Moreno-Rozo (2014) en su estudio. Estos microorganismos tienen un hábito de vida ligado a las raíces y suelos aledaños, y están relacionados con la fijación biológica de nitrógeno; sin embargo, presentan otros rasgos funcionales adicionales, como solubilización de fosfatos, producción de fitohormonas y sideróforos

Tabla 1. Aislamientos de bacterias obtenidas a partir de nódulos de *Mucuna* sp. en medio de cultivo sin nitrógeno.

Géneros de bacterias identificadas	Total
<i>Bacillus</i> sp.	10
<i>Burkholderia</i> sp.	11
<i>Micrococcus</i> sp.	1
<i>Lysinibacillus</i> sp.	4
<i>Pantoea</i> sp.	1
<i>Paenibacillus</i> sp.	1



Figura 4. Aislamientos puros obtenidos a partir de nódulos de *Mucuna* sp. en medio TSA para su conservación temporal durante su proceso de evaluación.

Conclusiones

Se identificaron géneros bacterianos con alto potencial promotor del crecimiento vegetal, los cuales representan candidatos prometedores para la formulación de biofertilizantes dirigidos a leguminosas de cobertura en sistemas de palmicultura. Estos aislamientos destacan no solo por su capacidad para fijar nitrógeno, sino también por la presencia de trazos metabólicos funcionales complementarios. La predominancia de *Burkholderia* sp. resalta su posible papel clave en la rizósfera, debido a su capacidad multifuncional que incluye la producción de fitohormonas, la solubilización de fosfatos y la síntesis de sideróforos, lo cual mejora significativamente la nutrición vegetal y el desarrollo radicular. Por su parte, *Bacillus* sp. y *Lysinibacillus* sp. aportan ventajas adicionales, como la producción de enzimas hidrolíticas, compuestos antimicrobianos y sideróforos, que pueden favorecer la resiliencia de las plantas frente a condiciones adversas. Aunque menos abundantes, los géneros *Pantoea* sp., *Paenibacillus* sp. y *Micrococcus* sp. podrían desempeñar funciones específicas, como la fijación no simbiótica de nitrógeno y la degradación de materia orgánica, contribuyendo así a la dinámica microbiana del suelo y al reciclaje de nutrientes.

Referencias bibliográficas

- Argüello-Navarro, A. Z., & Moreno-Rozo, L. Y. (2014). Evaluation of potential biofertilizer diazotrophs bacteria isolated from cocoa crop (*Theobroma cacao* L.). *Acta Agronómica*, 63(3), 238–245. <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v63n3/v63n3a06.pdf>
- Dilworth, J. G. H. and M. J. (2016). Working with rhizobia. In Working with rhizobia (Vol. 1). <https://www.aciar.gov.au/publication/books-and-manuals/working-rhizobia>
- Houngnandan, P., Sanginga, N., Woome, P., Vanlauwe, B., & Van Cleemput, O. (2000). Response of *Mucuna pruriens* to symbiotic nitrogen fixation by rhizobia following inoculation in farmers' fields in the derived savanna of Benin. *Biology and Fertility of Soils*, 30(5–6), 558–565. <https://doi.org/10.1007/s003740050036>
- Hernán, Á., Tulia, R. N., Delgado, E., Diego, R., Molina, L., Álvaro, L., Rincón, H., Tulia, N., & Molina López, L. (n.d.). Tecnologías para la agroindustria de la palma de aceite. Guía para facilitadores. Establecimiento del cultivo. www.cenipalma.org
- Khambalkar, P., & Sidar, R. (2015). Isolation and characterization of nitrogen fixing *burkholderia* sp. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 8(3), 681. <https://doi.org/10.5958/2230-732x.2015.00076.5>
- Pérez, G., Gómez, G., Nápoles, M. C., & Morales, B. (2008). Aislamiento y caracterización de cepas de rizobios aisladas de diferentes leguminosas en la región de Cascajal, Villa Clara Isolation and characterization of rhizobia strains isolated from different legumes in the Cascajal region, Villa Clara. *Pastos y Forrajes*, 31(2), 151–159.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo de Fomento Palmero, administrado por Fedepalma, por el financiamiento del presente estudio.

La información contenida en este póster es responsabilidad de los autores

CON EL APOYO DEL FONDO DE FOMENTO PALMERO