

# POTENCIAL EFECTO DE NANOPARTÍCULAS Y BACTERIAS PGPR SOBRE LA GERMINACIÓN Y EL DESARROLLO TEMPRANO DE PLANTAS DE MEDICAGO SATIVA

**Manuel Merinero de los Santos<sup>1,2</sup>, Guillermo Martínez Muñoz<sup>1</sup>, María Pérez-Aranda Redondo<sup>1,2</sup>, Belén Begines Ruiz<sup>1</sup>, María Jesús Martín Valero<sup>3</sup>, Enrique Mateos Naranjo<sup>4</sup>, Ignacio D. Rodríguez Llorente<sup>2</sup>, Eloísa Pajuelo Domínguez<sup>2</sup>, Ana Alcudia Cruz<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Facultad de Farmacia, Química Orgánica y Farmacéutica, Universidad de Sevilla, Sevilla.

<sup>2</sup>Facultad de Farmacia, Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla, Sevilla.

<sup>3</sup>Facultad de Química, Química Analítica, Universidad de Sevilla, Sevilla.

<sup>4</sup>Facultad de Biología, Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Sevilla, Sevilla.

E-mail de correspondencia: [lolo191995@gmail.com](mailto:lolo191995@gmail.com)

## RESUMEN

En la actualidad podemos encontrar un gran número de fertilizantes para mejorar el crecimiento de plantas, pero en su gran mayoría son nocivos para el medio ambiente o es necesario aplicarlos en varias dosis. Se propuso para paliar estos problemas el uso de bacterias con actividad PGPR (plant growth promoting rhizobacteria), combinadas con nanopartículas. Por un lado, las bacterias PGPR tienen capacidad de fijación de nutrientes necesarios fijar nitrógeno o movilizar nutrientes necesarios para la planta y tiene la capacidad de producir hormonas de plantas, que mejorarían el crecimiento de las mismas. Por otro lado, la nanopartícula empleada lleva quelado hierro, que debería poder ceder a la planta. Para comprobar esta hipótesis se empleó la planta *Medicago sativa*, planta que se emplea como forraje para animales de campo.

## INTRODUCCIÓN

La escasez de suelo cultivable es uno de los problemas que acontecen a la sociedad actual, debido principalmente a que este es un recurso no renovable (FAO, 2015). Además de esto, el incremento de la población y la contaminación de los mismos hacen que el suelo se vuelva un recurso aún más preciado y que su cuidado o mejora se convierta en una prioridad. En este estudio se tomó una doble acción para paliar estos problemas: Emplear tres bacterias con capacidades PGPR, aisladas de las marismas del Odiel de las raíces de *Spartina maritima*, para mejorar el crecimiento y biofortificar las plantas cultivadas en el suelo (Paredes-Páliz *et al.*, 2016); En concreto se utilizaron las bacterias *Bacillus aryabhatai* RSO25 y *Pantoea agglomerans* cepas RSO6 y RSO7. Por otro lado, se empleó una nanopartícula polimérica metálica, formada por PVA y Ácido tánico, cargada con hierro (FeNps), para la biofortificación. Todo este estudio fue realizado *in vitro* en placas de Petri cuadradas, con *Medicago sativa* (alfalfa) como nuestro sujeto experimental.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### CMI

Se determinó la CMI de las tres bacterias seleccionadas frente a las nanopartículas metálicas para saber la máxima concentración que aquellas toleraban y poner una cantidad por debajo de ese umbral.

### Síntesis de Nps

A las Nps PVA/Ta descritas por Aguilera *et al.* (2016), en el cual se sintetizaban las nanopartículas mediante la combinación, en agitación fuerte, de PVA y ácido tánico ambos previamente disueltos en agua miliQ, se le adicionó FeCl<sub>3</sub> anhidro sólido, cambiando la mezcla de blanco a azul verdoso oscuro.

### Experimento de *Medicago sativa* en placa

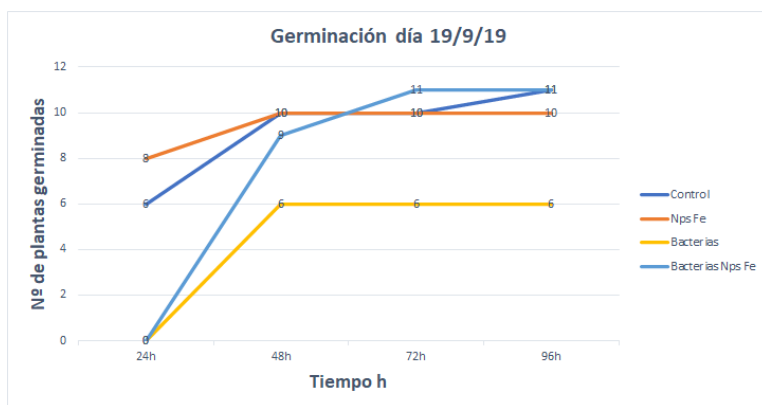
El experimento principal fue realizado en placas de Petri cuadradas, que contenían agar inclinado al 0,3% y 20 semillas de *Medicago sativa* colocadas en la parte superior del agar. Un total de 8 placas, irrigados a pares al comienzo del experimento con:

- Control: Las semillas de *Medicago sativa* solo se regaron con 200 µl de agua destilada estéril.
- FeNps: Las semillas de *Medicago sativa* se regaron con 200 µl de agua destilada estéril con un 1% de una solución de FeNps.
- Bacteria: Las semillas de *Medicago sativa* se regaron con 200 µl de una suspensión en agua destilada estéril, de las bacterias de interés.
- Bacteria Nps Fe: Las semillas de *Medicago sativa* se regaron con 200 µl de una suspensión en agua destilada estéril, de las bacterias de interés, con un 1% de una solución de Nps Fe.

Las plantas se cultivaron durante 3 semanas en una cámara de cultivo de plantas con régimen de luz de 16 h de luz y 8 horas de oscuridad, entre 22°C: 18°C. Al finalizar el experimento se recolectaron las plantas y se determinaron parámetros de crecimiento tanto del tallo como de las raíces.

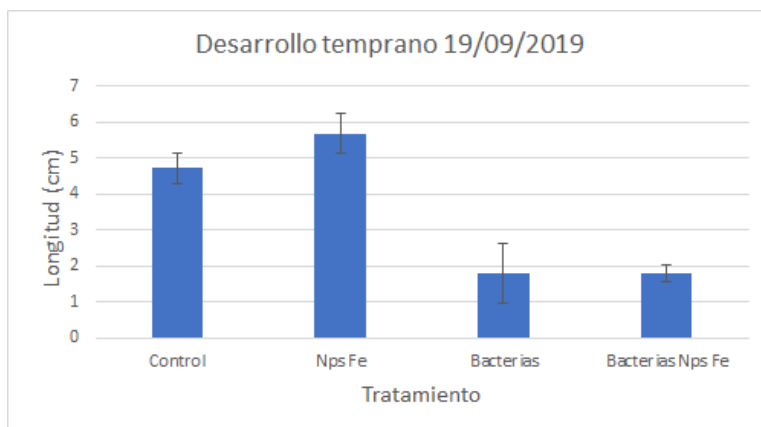
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la CMI mostraron la imposibilidad de utilizar un porcentaje superior o igual al 2%, debido a que en dosis superiores las bacterias se encontrarían muertas, por esta razón se emplearon estas nanopartículas disueltas al 1% en agua destilada estéril en el experimento principal.



**Figura 1.** Germinación de las plantas de *Medicago sativa* con los diferentes tratamientos.

**Fuente:** elaboración propia.



**Gráfico 1.** Tamaño medio de las plántulas de cada tratamiento de *Medicago sativa* el día de la recogida del experimento.

**Fuente:** elaboración propia.

En el experimento *in vitro* los resultados mostraron que todas las placas estaban por debajo del control en cuanto a germinación (Figura 1) y que las placas con bacterias estaban también por debajo en cuanto al tamaño de las plántulas (Gráfico 1).

## CONCLUSIONES

En conclusión, el efecto por parte de los tratamientos en la germinación no es superior al control, por lo tanto, quedara descartado que en experimento futuros a mayor escala se empleen previos a la germinación. Este efecto en el caso de las bacterias se piensa que se debe a que, aunque estas tengan propiedades PGPR, la primera respuesta por parte de la planta frente a las mismas es defenderse (Van Loon, 2007), gastando energía en el proceso. En el caso de la nanopartícula, podría deberse a

que genera un ambiente hostil con una alta concentración de metales alrededor de la semilla. Sin embargo, todo indica que los componentes de la nanopartícula están causando un efecto beneficioso para la planta en cuanto a su crecimiento.

## **AGRADECIMIENTOS**

A las personas que ayudaran a realizar este trabajo repartidas entre los departamentos de Microbiología y Parasitología y Química Orgánica de la Facultad de Farmacia.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**Aguilera, J. R., Venegas, V., Oliva, J. M., Sayagués, M. J., de Miguel, M., Sánchez-Alcázar, J. A., Arévalo-Rodríguez, M., y Zaderenko, A. P.** (2016). Targeted multifunctional tannic acid nanoparticles. *RSC Adv.*, 6, 7279-7287. <https://doi.org/https://doi.org/10.1039/C5RA19405A>

**FAO** (2015). *International year of soil*. <http://www.fao.org/soils-2015/en/>

**Paredes-Páliz, K. I., Caviedes, M. A., Doukkali, B., Mateos-Naranjo, E., Rodríguez-Llorente, I. D., y Pajuelo, E.** (2016). Screening beneficial rhizobacteria from *Spartina maritima* for phytoremediation of metal polluted salt marshes: comparison of gram-positive and gram-negative strains. *Environ Sci Pollut Res Int*, 23(19), 19825-19837. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7184-1>

**Van Loon, L. C.** (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur J Plant Pathol* 119, 243–254. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10658-007-9165-1>