

ESTUDIO SOBRE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE BIOFILMS EN BACTERIAS DEL SUELO: Análisis de Microorganismos de Referencia

A. Supanitsky¹, D. Russo², N. Vozza², A. Zorreguieta²
¹INTI Centro de Celulosa y Papel, ²Fundación Instituto Leloir
 asupanit@inti.gov.ar

1. Objetivo del proyecto

Los biofilms ó biopelículas bacterianas son comunidades de bacterias intercomunicadas, que crecen embebidas en una matriz de exopolisacáridos adheridos a una superficie inerte ó a un tejido vivo. El crecimiento en biofilm está directamente relacionado con las condiciones del ambiente.

El estudio de la adherencia de los microorganismos a las distintas superficies, tanto bióticas como abióticas, es central ya que ésta condiciona la formación de biofilm, con sus consecuencias en el área industrial (contaminación de un sistema por la actividad microbiana del biofilm) y del medio ambiente (biofertilización, biorremediación y tratamiento de efluentes)

Como objetivo general del trabajo buscamos correlacionar la capacidad de formar biofilms en bacterias del suelo, con su aptitud en el medio ambiente.

En el presente trabajo estudiamos como primera aproximación, la capacidad formadora de biofilms de cepas de referencia sobre una superficie abiótica (poliestireno), variando distintas condiciones de cultivo in vitro, para luego abordar el estudio de aislamientos autóctonos de bacterias provenientes de suelos sometidos a distintas prácticas agrícolas de nuestro país.

2. Descripción del proyecto

De especial interés agrícola resulta el estudio de biofilms de rizobios simbioses de plantas leguminosas, por su capacidad fijadora de Nitrógeno atmosférico, así como de otras rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) de los géneros *Pseudomonas* y *Burkholderia*. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1.

Metodología

Se cuantificó la formación de biofilm mediante ensayo en microplacas de poliestireno y tinción con Cristal Violeta. Dicho ensayo se realizó variando distintas condiciones: medio de cultivo (ricos como LB- TY y diferentes medios mínimos), cultivo estático ó en agitación, densidad de la población inicial, tiempo de incubación. Las bacterias fueron cultivadas a 28° C y 200 rpm, cuando correspondió agitación, partiendo de distintas densidades poblacionales: 0,001, 0,01, 0,1 (DO600nm.). Los tiempos de incubación variaron de acuerdo al tipo de microorganismo (de crecimiento lento ó rápido)

Ver figuras 1 a 3 para el ejemplo de *B.japonicum* USDA 110 en cultivo estático.

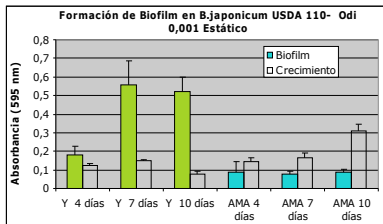


Figura 1: Población inicial 0,001 OD

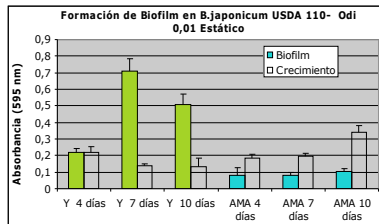


Figura 2: Población inicial 0,01 OD

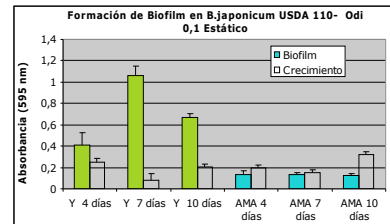


Figura 3: Población inicial 0,1 OD

MICROORGANISMO	MEDIO	VARIABLES DE CULTIVO		ODi (600nm)	TIEMPO	BIOFILM (OD 595nm)
		AGITACIÓN	ESTÁTICO			
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> USDA 138	Y manitol 0,2%	SI	NO	0,001	7 días	0,5
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> USDA 110	Y manitol 0,2%	NO	SI	0,1	7 días	1,1
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> SEMIA5080	Y manitol 0,2%	SI	NO	0,1	6 días	1,5
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> SEMIA5079	Y manitol 0,2%	SI	NO	0,1	7 días	1,8
<i>Mesorhizobium loti</i> Ayac 1BII	AB sacarosa 0,5%	SI	NO	0,1	3 días	0,4
<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF 303099	Y manitol 0,2%	SI	NO	0,001	4 días	0,55
<i>Rhizobium leguminosarum</i> A34	Y manitol 0,2%	SI	NO	0,01	3 días	0,6
<i>Rhizobium leguminosarum</i> 3841	Y sacarosa 0,5%	SI	NO	0,1	4 días	0,4
<i>Sinorhizobium meliloti</i> Rm 1021	TY	SI	NO	0,1	2, 3, y 4 días	2,5
<i>Sinorhizobium meliloti</i> Rm 2011	TY	SI	NO	0,1	2 días	2,4
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P1	M63 glucosa 0,2% CAA 0,5%	SI	NO	0,01	26 hs	8
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P2	M63 glucosa 0,2% CAA 0,5%	NO	SI	0,1	45 hs	0,8
<i>Burkholderia vietnamsensis</i> (BCC) GV	M63 glucosa 0,2% CAA 0,5%	SI	NO	0,001	1 día	0,8
<i>Burkholderia Cepacia</i> Genomovar I	M63 glucosa 0,2% CAA 0,5%	NO	SI	0,1	1 día	0,8

Tabla 1

3. Logros del proyecto

En términos generales, podemos decir que la capacidad formadora de biofilms varía considerablemente con:

- 1-la cepa, especie y género de rizobio ensayado
- 2-las condiciones de cultivo.

La agitación mecánica induciría una mayor capacidad de unión a la superficie (poliestireno), situación bastante generalizada dentro de los organismos estudiados. Se observó además que los medios de cultivo mínimos favorecen la formación de biofilm.

En todos los casos estudiados encontramos alguna condición en

la cual las bacterias formaron biofilm en mayor ó menor medida (biofilm como propiedad universal)

Los resultados obtenidos fueron utilizados en el posterior análisis de aislamientos de bacterias del suelo provenientes de distintos ambientes de nuestro país.

- El presente trabajo se enmarca en un proyecto de tesis doctoral centrado en el estudio de biofilms bacterianos.
- Cabe destacarse la colaboración permanente de los Centros de Agroalimentos y de Biotecnología Industrial, en especial del Laboratorio de Microbiología de alimentos a través de instalaciones, equipamiento y asistencia en general