

# Bacterias acéticas:

## diversidad e interacción con las plantas

Luis E. Fuentes R., Armando Tapia H., Teresita Jiménez S., Miguel Á. Mascarúa E., Yuriria Santoyo P., Luis R. Caso V., Hilario T. Romero H., María del Rayo Cajica E., Diana León B., Mónica Rosales P., Patricia Fügemann M. y María G. Castillo R.

### GENERALIDADES

La actividad de las bacterias acéticas se conoce desde hace siglos por la producción de vinagre, la acetificación de bebidas alcohólicas y el deterioro de frutos. Estos organismos han sido de los primeras bacterias estudiadas que no son de importancia médica y a la fecha se conoce realmente poco de su ecología en el ambiente natural.

Las acetobacterias son un grupo de microorganismos gramnegativos que se desarrollan en distintas plantas.<sup>1</sup> La mayoría de los géneros de esta familia soportan altas concentraciones de sacarosa, así como de sus componentes, glucosa y fructosa. Además, muchas de ellas son capaces de crecer en presencia de ácido acético, produciendo acidificación cuando crecen en presencia de etanol. La relación fisiológica de las acetobacterias también está dada desde el punto de vista filogenético. La comparación de secuencia nucleotídica del gene ribosomal 16S con el de muchas otras bacterias, reúne a las acetobacterias en un grupo bien definido dentro de la subdivisión a de las proteobacterias<sup>2</sup> (figura 1).

Con la aplicación de técnicas moleculares, la familia *Acetobacteraceae* se ha sometido recientemente a revisiones taxonómicas. Actualmente esta familia está conformada por los géneros *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* y *Kozakia* (Tabla I). Muy posiblemente las acetobacterias son de las bacterias más difundidas en ambientes relacionados con plantas, tan sólo del año 2000 a la fecha se han descrito 13 nuevas especies y dos nuevos géneros (Tabla I) procedentes de distintos ambientes.

TABLA 1  
**ESPECIES REPORTADAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA ACETOBACTERACEAE.**

<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> (FBN)
<i>A. aceti</i>	<i>G. johannae</i> * (FBN)
<i>A. pomorum</i>	<i>G. azotocaptans</i> * (FBN)
<i>A. estunensis</i> *	<i>G. sacchari</i>
<i>A. indonesiensis</i> *	<i>G. liquefaciens</i>
<i>A. tropicalis</i> *	<i>G. entani</i>
<i>A. peroxydans</i>	<i>G. europaeus</i>
<i>A. lovaniensis</i> *	<i>G. intermedius</i>
<i>A. orleanensis</i> *	<i>G. hansenii</i>
<i>A. seizygii</i> *	<i>G. xylinus</i>
<i>A. cibinogensis</i> *	<i>G. oboediens</i>
<i>A. orientalis</i> *	
<i>Gluconobacter asaii</i> *	<i>Asaia bogorensis</i> *
<i>G. cerinus</i>	<i>A. siamensis</i> *
<i>G. frateurii</i>	
<i>G. oxydans</i>	<i>Acidomonas methanolica</i>
<i>Kozakia ballensis</i>	

FBN indica las especies fijadoras de N<sub>2</sub>. Con asteriscos se indican las especies descritas del año 2000 a la fecha.

#### FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

Como todo ser vivo, las plantas tienen entre sus componentes a las proteínas y ácidos nucleicos, estos compuestos a su vez contienen nitrógeno en grandes proporciones. Las únicas dos vías por las que los seres vivos pueden sintetizar estas biomoléculas son mediante la utilización de componentes nitrogenados tales como aminoácidos, bases púricas o pirimidicas e inclusive amonio o nitratos, o bien utilizando nitrógeno elemental (N<sub>2</sub>), que es muy abundante en la atmósfera y el agua. Sin embargo, la capacidad de utilización del N<sub>2</sub> (fijación biológica de nitrógeno) es exclusiva de ciertas especies procarion-



tes. Así, la fijación biológica es la principal vía por la que el nitrógeno es transformado en formas utilizables para los organismos que son incapaces de incorporar directamente a este elemento en sus rutas metabólicas. Los microorganismos fijadores se ubican en distintos grupos taxonómicos de los dominios *Eubacteria* y *Archaea*, todos ellos procariontes.

En cuanto a las condiciones ecológicas en las que estos organismos llevan a cabo la fijación de nitrógeno, ciertas especies conocidas como "simbióticas" se caracterizan por fijar nitrógeno sólo cuando se encuentran en asociaciones mutualistas con plantas, posteriormente el nitrógeno fijado es transferido a la planta con la que se asocian. Esta relación es exitosa debido a que la planta proporciona compuestos que son utilizados como fuente de carbono y energía por la bacteria. Como ejemplos de tales asociaciones se encuentran *Rhizobiaceae*-leguminosas, *Bradyrhizobium*-leguminosas y *Frankia*-plantas diversas. Otro tipo de fijadoras lo constituyen las bacterias diazótrofes, las que no requieren de estar asociadas con algún organismo para fijar nitrógeno, por ejemplo especies de arqueobacterias, *Clostridium* spp. y *Paenibacillus* spp. De hecho, algunas de estas bacterias no se asocian a otros organismos, por lo que se conocen como fijadoras de vida libre. Otras diazótrofes se encuentran preferentemente formando asociaciones con plantas, si bien no requieren de la asociación para fijar nitrógeno, por ejemplo las especies del género *Azospirillum* y la acetobacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Con *Azospirillum* se tienen evidencias de que en asociación con plantas esta bacteria fija nitrógeno a una tasa indetectable o nula. Lo que es común para todas las bacterias





© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

diazótrofas es que utilizan el nitrógeno que ellas fijan para sus propias necesidades metabólicas.

La fijación biológica de nitrógeno es un proceso bioquímico con un alto costo energético para la célula que lo lleva a cabo, por lo que sólo se activan los mecanismos que conducen a ello si las bacterias fijadoras cuentan con las condiciones ambientales adecuadas y con un abasto suficiente de energía y, en el caso de los diazótrofos, si además se presentan carencias ambientales de compuestos nitrogenados biodisponibles. Por lo anterior, el control de la actividad fijadora se realiza a través de complejos mecanismos regulatorios, a nivel de la transcripción de los genes, de la traducción de los transcritos y de la modulación transitoria de las enzimas de la fijación.

#### PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL

El desarrollo y crecimiento de las plantas es dictado por una serie de compuestos que se conocen como fitohormonas. La producción de estas moléculas no es exclusiva de las plantas ya que diversas bacterias, especialmente las que se asocian a vegetales, son capaces de sintetizarlas. Algunos

de estos microorganismos producen enfermedades en las plantas y su producción de fitohormonas induce la aparición de algunos de los síntomas de tales enfermedades. Además de las bacterias fitopatógenas, otras bacterias inocuas, entre las que se encuentran algunas fijadoras de nitrógeno, pueden producir fitohormonas. Se tienen evidencias de que la capacidad de inducir el crecimiento de diversas plantas por algunas de estas bacterias está relacionada con la producción y liberación de fitohormonas tales como ácido indolacético, citocininas y giberelinas. Este tipo de asociaciones se ha explotado con fines agronómicos en distintos lugares, observándose que su efectividad es dependiente de los genotipos bacterianos y vegetales utilizados.

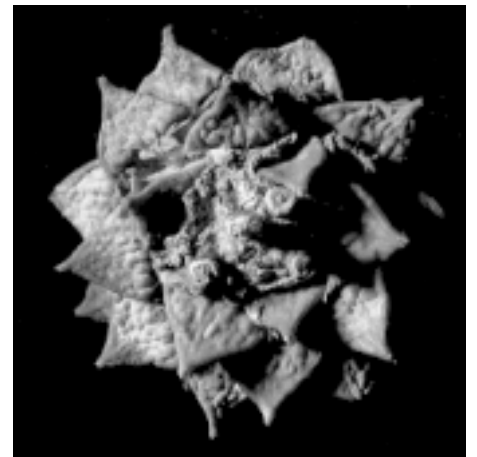
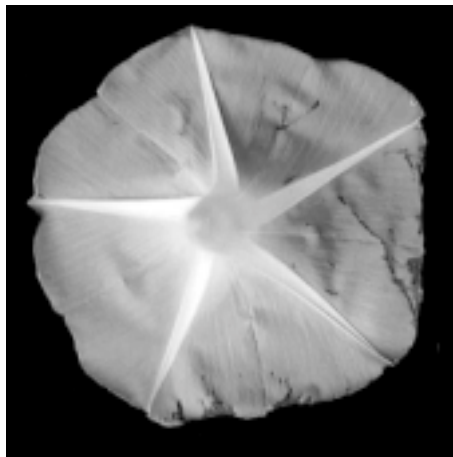
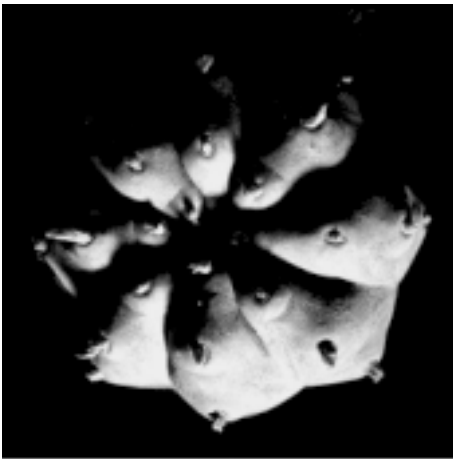
#### ACETOBACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO

Entre las acetobacterias existen especies fijadoras y no fijadoras, pero de todas ellas se tiene muy poco conocimiento de su ecología. Así, no se sabe qué papel desempeñan cuando se

desarrollan en las superficies de las plantas (epífitas) o en su interior (endófitas). De las bacterias que han sido más estudiadas desde este enfoque se tiene a la fijadora *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Un indicio de su probable papel en la naturaleza lo han dado algunos experimentos de inoculación en caña de azúcar. En dichos experimentos se ha observado que las actividades de fijación de nitrógeno y de producción bacteriana de una fitohormona podrían tener un efecto de incremento de biomasa de la planta.<sup>3</sup> En concordancia, se ha demostrado que al menos en ciertos cultivares de caña de azúcar la inoculación de ciertos genotipos de *G. diazotrophicus*, causa el aumento de biomasa de la planta (Tapia Hernández, sin publicar; figura 2). También en experimentos de inoculación de esta bacteria en caña de azúcar se ha observado que una vez en el interior de la planta, la bacteria coloniza conductos del xilema de tallo y hojas y probablemente floema del tallo.<sup>4,5</sup> Aunque no se ha demostrado cómo *G. diazotrophicus* coloniza distintos tejidos de la planta, la colonización de xilema sugiere que el mismo pudiera constituir una vía de movilización de la bacteria. La colonización y el establecimiento de *G. diazotrophicus* en la caña de azúcar son influidos por la concentración de nitrógeno mineral biodisponible tanto en sustrato artificial<sup>9</sup> como en suelo (Cajica Espinosa, sin publicar). La diversidad genética de las cepas de *G. diazotrophicus* asociadas a caña de azúcar es limitada si se compara con la de otros organismos.<sup>6,7,8</sup> Caballero-Mellado y Martínez-Romero (1994) sugieren que esta baja diversidad se relaciona con el hecho de que *G. diazotrophicus* es una bacteria endófitas. Este organismo mantiene una tasa baja de intercambio genético a nivel genómico global, sin embargo aún no se han realizado estudios para conocer cómo se comportan a este respecto regiones limitadas de su genoma.



En la familia de las acetobacterias hasta la fecha actual, sólo se han detectado fijadores de nitrógeno en un género. Estos fijadores son las especies *Gluconacetobacter diazotrophicus* (anteriormente *Acetobacter diazotrophicus*), *G. azotocaptans* y *G. johannae*.<sup>9,10</sup> Estos organismos se encuentran en un grupo que está estrechamente relacionado (figura 1) y que incluye a las especies no fijadoras de nitrógeno *G. liquefaciens* y *G. sacchari*. *G. diazotrophicus* se ha encontrado asociado endófitamente a plantas pertenecientes a distintas familias tales como *Poaceae*, *Rubiaceae*, *Bromeliaceae*<sup>11,12</sup> y aparentemente en *Rosaceae* (León Burgoa, sin publicar) y una especie de la familia *Malpighiaceae* (Santoyo Páez, sin publicar). La distinción de las distintas acetobacterias del grupo cercano a *G. diazotrophicus* de manera clara y rápida se ha hecho posible utilizando técnicas que utilizan las variaciones en secuencia nucleotídica de genes ribosomales.<sup>10,11</sup> Aparentemente, ciertas cepas de *G. diazotrophicus* forman asociaciones específicas con algunas especies vegetales (Fuentes Ramírez y col., sin publicar), aunque otras se encuentran en cualquiera de los hospederos estudiados. Actualmente estamos desarrollando estudios sobre la diversidad de las acetobacterias fijadoras de nitrógeno y su presencia en distintas plantas hospederas y en diversos ambientes. Asimismo, estamos tratando de determinar si en las acetobacterias diazótroficas se han presentado eventos de recombinación en regiones particulares, tales como las que codifican para las enzimas que llevan a cabo la fijación de nitrógeno.





## NOTAS

- <sup>1</sup> Swings, J. The genera *Acetobacter* and *Gluconobacter*, en *The prokaryotes*, A. Ballows, H. Trüper, M. Dworkin, W. Harder y K.-H. eds., Schleifer Springer Verlag, 2da. ed., cap. 3, vol. 3, Berlin, pp. 2268-2286, 1992.
- <sup>2</sup> Sievers, M., Ludwig, W. y Teuber, M. Phylogenetic positioning of *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Rhodopila* and *Acidiphilium* species as a branch of acidophilic bacteria in the  $\alpha$ -subclass of Proteobacteria based on 16S ribosomal DNA sequences, *Syst. Appl. Microbiol.*, vol. 17, pp. 189-196, 1994.
- <sup>3</sup> Sevilla, M., De Oliveira, A., Baldani, I. y Kennedy, C., Contributions of the bacterial endophyte *Acetobacter diazotrophicus* to sugarcane nutrition: a preliminary study, *Symbiosis*, vol. 25, pp. 181-196, 1998.
- <sup>4</sup> Fuentes-Ramírez, L. E., Caballero-Mellado, J., Sepúlveda, J., y Martínez-Romero, E. Colonization of sugarcane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N-fertilization, *FEMS Microbiol. Ecol.*, vol. 29, pp. 117-127, 1999.
- <sup>5</sup> James, E. K., Reis, V. M., Olivares, F. L., Baldani, J. I. y Döbereiner, J., Infection of the sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*, *J. Exp. Bot.*, vol. 45, pp. 757-766, 1994.
- <sup>6</sup> Caballero-Mellado, J. y Martínez-Romero, E., Limited genetic diversity in the endophytic sugarcane bacterium *Acetobacter diazotrophicus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 60, pp. 1532-1537, 1994.
- <sup>7</sup> Caballero-Mellado, J., Fuentes-Ramírez, L. E., Reis, V. M. y Martínez-Romero, E., Genetic structure of *Acetobacter diazotrophicus* populations and identification of a new genetically distant group, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 61, pp. 3008-3013, 1995.
- <sup>8</sup> Martínez-Romero, E. y Caballero-Mellado, J., *Rhizobium* phylogenies and bacterial genetic diversity, *Crit. Rev. Plant Science*, vol. 15, pp. 113-140, 1996.
- <sup>9</sup> Cavalcante, V. A. y Döbereiner, J. A., new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane, *Plant Soil*, vol. 108, pp. 23-31, 1988.
- <sup>10</sup> Fuentes-Ramírez, L. E., Bustillos-Cristales, R., Tapia-Hernández, A., Jiménez-Salgado, T., Wang, E. -T., Martínez-Romero, E. y Caballero-Mellado, J., Novel nitrogen-fixing acetic bacteria, *Gluconacetobacter johanna* sp. nov., and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 51, pp. 1305-1314, 2001.
- <sup>11</sup> Jiménez-Salgado, T., Fuentes-Ramírez, L. E., Tapia-Hernández, A., Mascariá-Esparza M. A., Martínez-Romero, E. y Caballero-Mellado, J., *Coffea arabica* L., new host plant for *Acetobacter diazotrophicus* and isolation of other nitrogen fixing acetobacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 63, pp. 3676-3683, 1997.
- <sup>12</sup> Tapia-Hernández, A., Jiménez-Salgado, T., Bustillos-Cristales, R., Caballero-Mellado, J. y Fuentes-Ramírez, L. E., Natural endophytic occurrence of *Acetobacter diazotrophicus* in pineapple plants, *Microb. Ecol.*, vol. 39, pp. 49-55, 2000.

Los autores pertenecen al Laboratorio de Microbiología de Suelos, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, ICUAP. Iefuente@siu.buap.mx

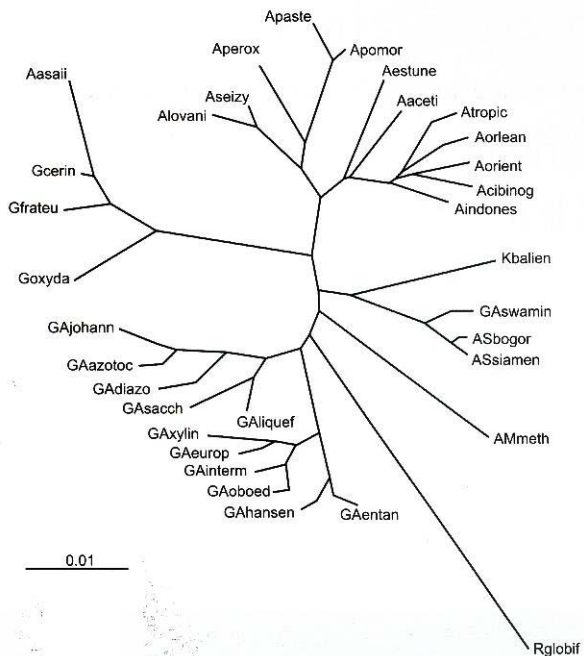


Figura 1. Relaciones filogenéticas de las especies de la familia Acetobacteraceae, con base en el gene ribosomal 16S. El grupo *Acetobacter* incluye *A. pasteurianus* Apaste; *A. aceti*, Aceti; *A. pomorum*, Apomor; *A. estunensis*, Aestune; *A. indonesiensis*, Aindones; *A. tropicalis*, Atropic; *A. peroxydans*, Aperos; *A. lovaniensis*, Aloban; *A. orleanensis*, Aorlean; *A. seizygii*, Aseizy; *A. cibinogensis*, Acibinog; y *A. orientalis*, Aorient. El grupo *Asaia* incluye *A. bogorensis*, ASbogor, *A. siamensis*, ASSiamen; "*Gluconacetobacter swaminathaniana*", GASwamin; y *Kozakia baliensis*, Kbalien. El grupo *Gluconacetobacter* incluye *G. sacchari*, GASacch; *G. johanna*, GAjohann; *G. azotocaptans*, GAazotoc; *G. entani*, GAentan; *G. europaeus*, GAEurop; *G. intermedius*, GAinterm; *G. hansenii*, GAhansen; *G. xylinus*, GAXylin; *G. liquefaciens*, GAliquef; *G. diazotrophicus*, GAdiazo; y *G. oboediens*, GAoboed. El grupo *Gluconobacter* incluye *G. asaii*, Gasaii; *G. cerinus*, Gcerin; *G. frateurii*, Gfrateu; y *G. oxydans*, Goxyda. La especie "*Gluconacetobacter swaminathaniana*" aún no se ha descrito y sólo se ha liberado su secuencia de 16S.

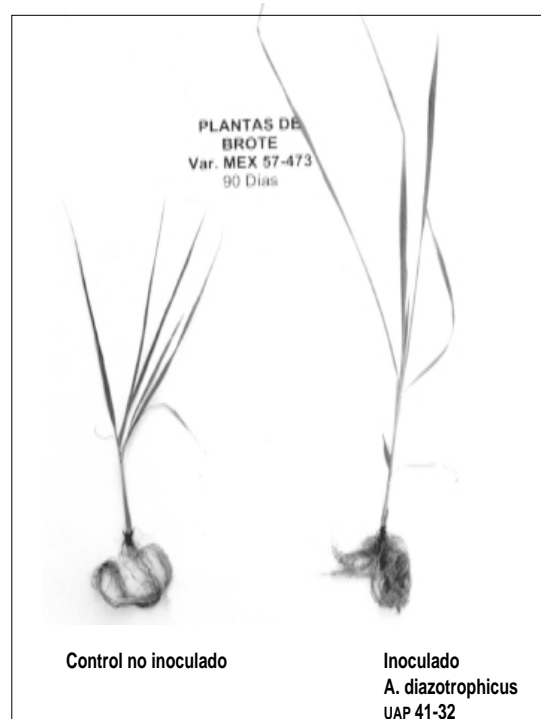


Figura 2. Efecto de la inoculación de *G. diazotrophicus*.

