

Bacterias productoras de hidrolasas aisladas de suelos de cultivos de arroz: Caracterización fenotípica y molecular

Hydrolase-producing bacteria isolated from rice crop soils: Phenotypic and molecular characterization

Manuel Vilchez-Chávez; Juan C. Flores-Santos; Susana Calderón-Toledo; Julio Palma-Villanueva; Amparo Iris Zavaleta

Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Jr. Puno 1002, Lima, Perú.

* Autor corresponsal: susana.calderon2@unmsm.edu.pe (S. Calderón-Toledo).

ORCID de los autores:

M. Vilchez-Chávez: <http://orcid.org/0009-0001-2779-634X>

J. C. Flores-Santos: <http://orcid.org/0000-0001-5632-7203>

S. Calderón-Toledo: <http://orcid.org/0000-0001-7401-3291>

J. Palma-Villanueva: <http://orcid.org/0009-0001-1684-2558>

A. I. Zavaleta: <http://orcid.org/0000-0003-3844-7185>

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue aislar y caracterizar bacterias provenientes de suelos de cultivos de arroz para determinar su potencial biotecnológico prospectivo. Para ello, se recolectaron suelos de cultivos de arrozales del distrito de Rioja, Región de San Martín, aislaron siete bacterias morfológicamente diferentes y determinaron sus características fisiológicas, sensibilidad antimicrobiana y capacidad de degradar diferentes sustratos. Las bacterias crecieron óptimamente entre 20 y 37 °C, a pH entre 5,0 y 10,0. Respecto a los perfiles de sensibilidad antimicrobiana; una, tres, una, una y una cepa presentaron resistencia a 11, 12, 8, 7 y 4 antimicrobianos, respectivamente. La identificación molecular se realizó mediante la amplificación y secuenciación de los genes ribosómicos 16S, obteniendo similitud con los géneros *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Comamonas* y *Aeromonas*. Las bacterias, según su actividad hidrolítica, formaron cinco grupos: tres degradaron gelatina, leche descremada, caseína, aceite de oliva, almidón, celulosa, pectina, y tributirina; una, aceite de oliva y tributirina; otra, gelatina, leche descremada, aceite de oliva y tributirina; una, gelatina, aceite de oliva, almidón, tributirina; y una, gelatina, leche descremada, caseína, aceite de oliva y tributirina. Las bacterias aisladas presentan gran potencial como inoculantes para el enriquecimiento y la biorremediación de suelos agrícolas.

Palabras clave: cultivos de arroz; suelos agrícolas; hidrolasas; caracterización bioquímica; identificación molecular.

ABSTRACT

The aim of this research was to isolate and characterize bacteria from rice crop soils to determine their prospective biotechnological potential. Therefore, seven morphologically different bacteria were isolated and their physiological characteristics, antimicrobial sensitivity and ability to degrade different substrates were determined. The bacteria grew optimally between 20 and 37 °C, at pH between 5.0 and 10.0. Regarding antimicrobial sensitivity profiles; one, three, one, one, one and one strain showed resistance to 11, 12, 8, 7 and 4 antimicrobials, respectively. Molecular identification was performed by amplification and sequencing of the 16S ribosomal genes, obtaining similarity with the genera *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Comamonas* and *Aeromonas*. The bacteria, according to their hydrolytic activity, formed five groups: three degraded gelatin, skim milk, casein, olive oil, starch, cellulose, pectin, and tributyrin; one, olive oil and tributyrin; one, gelatin, skim milk, olive oil and tributyrin; one, gelatin, olive oil, starch, tributyrin; and one, gelatin, skim milk, casein, olive oil and tributyrin. The isolated bacteria show great potential as inoculants for the enrichment and bioremediation of agricultural soils.

Keywords: rice crops; agricultural soils; hydrolases; biochemical characterization; molecular identification.

Recibido: 18-12-2023.

Aceptado: 15-04-2024.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha estimado que la generación de residuos sólidos a nivel mundial asciende a más de 30 millones de toneladas diarias y en Perú supera las 14 mil, de las cuales cerca del 50% se eliminan en botaderos, ríos, playas, entre otros, agravando los problemas ambientales (MINAM, 2021).

Del total de residuos sólidos generados en Perú, el 50% son de tipo orgánico con gran potencial de reúso pues su bajo costo como materia prima es una opción estratégica para incorporarlo nuevamente en los procesos productivos (García-Bucio et al., 2014; MINAM & MEF, 2021). Sin embargo, las características recalcitrantes de algunos de estos residuos, requiere tratamientos previos, encareciendo los costos y limitando su aprovechamiento como materia prima (Kurniawan et al., 2006). En este contexto, se precisa la búsqueda de nuevas tecnologías que solucionen eficazmente esta problemática, donde la producción de enzimas hidrolíticas es una alternativa factible y económica para su tratamiento (Parmar et al., 2001).

Tal motivo ha conllevado a la selección de microorganismos con capacidad de hidrolizar sustratos agrestes, de los cuales se ha identificado cepas de *Pseudomonas*, *Proteus*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Bacillus* y *Staphylococcus* productoras de diversas enzimas como proteasas, lipasas,

amilasas, entre otras, que facilitan altos contenidos de nitrógeno y carbono para inducir la proliferación de comunidades microbianas (Butt et al., 2021; Ganbat et al., 2022; Koul et al., 2021; Mushtaq et al., 2022).

Por consiguiente, la gran diversidad de suelos de cultivo en Perú representa una oportunidad para el aislamiento de diversos microorganismos productores de hidrolasas. En el Perú y el mundo, uno de los cultivos de mayor importancia económica por su producción y consumo, es el arroz. Así, a nivel mundial el 2020, la superficie cultivada de este cereal fue de 164,2 millones de ha y en Perú de 417 mil ha, siendo el departamento de San Martín el productor de arroz más importante (MINAGRI, 2021).

Los terrenos de cultivo son sometidos a plaguicidas químicos para mejorar su rendimiento, lo cual conlleva a la adaptación de los microorganismos a la producción de diversas hidrolasas como parte de su mecanismo evolutivo. En este contexto, los estudios relacionados con la microbiota de estos suelos de cultivo son escasos, es por ello que se seleccionaron los suelos de cultivo de arroz del distrito de Rioja – Región de San Martín con el objetivo de aislar y caracterizar bacterias productoras de hidrolasas para su uso prospectivo en el control de suelos.

METODOLOGÍA

Aislamiento de las bacterias. Se recolectaron muestras de suelos de cultivo arroz, en el distrito de Rioja, provincia de Rioja, departamento de San Martín en Perú durante la temporada de postcosecha (enero 2019), en frascos estériles, los cuales fueron transportados a 4 °C en una caja térmica al Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Después, las muestras fueron pre enriquecidas en caldo tripticasa de soya (TSB) Oxoid ThermoFisher - Scientific a 30 °C por 48 h. Seguidamente, se sembraron por extensión en agar tripticasa de soya (TSA) Oxoid ThermoFisher - Scientific e incubaron a 37 °C por 24 h. Todas las colonias con características diferentes de morfología, tamaño, consistencia y coloración fueron seleccionadas.

Caracterización fisiológica. El crecimiento celular se evaluó en medio TSB a distintas concentraciones de NaCl Sigma-Aldrich (0,5; 5,0; 10,0; 15,0 y 20,0%), pH (4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10) y temperatura (4, 20, 37 y 45 °C) durante 24 h. Los aislados se incubaron a 37 °C para las pruebas de salinidad y pH (Canales et al., 2014).

Pruebas bioquímicas y metabolismo de azúcares. La producción de catalasa se determinó con la adición de peróxido de hidrógeno 3% v/v. Las pruebas de motilidad, indol, H₂S, metabolismo de citrato y azúcares (arabinosa, manosa, galactosa, celobiosa, maltosa, sorbitol, fructuosa, manitol,

glucosa, xilosa, sacarosa y glicerol, Sigma-Aldrich) con o sin producción de gas se realizaron en medios sólidos y líquidos (Canales et al., 2014).

Sensibilidad antimicrobiana. La prueba de difusión en disco descrita por Bauer et al. (1966) fue utilizada con algunas modificaciones. Se aplicaron antibióticos en base a sus diferentes mecanismos de acción y especificidad. Así, se prepararon suspensiones bacterianas a 0,5 en la escala de McFarland, que fueron inoculadas en agar Mueller Hinton Sigma-Aldrich. Se utilizaron: clindamicina 2 µg, vancomicina 30 µg, cefoxitina 30 µg, eritromicina 15 µg, tobramicina 10 µg, cloranfenicol 30 µg, gentamicina 10 µg, novobiocina 5 µg, penicilina G 10U, estreptomycin 10 µg, kanamicina 10 µg y ampicilina 10 µg. Luego, se incubaron a 37 °C por 24 h y midieron los halos de inhibición. Los resultados fueron reportados como sensible (S) o resistente (R) (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018).

Actividad hidrolítica. Se determinó sobre medios sólidos enriquecidos con diferentes sustratos, que fueron inoculados por punción e incubados a 37 °C por 48 h para la actividad proteolítica y 72 h para la pectinolítica, celulolítica, amilolítica y lipolítica. La actividad proteolítica fue evaluada sobre agar gelatina, caseína y leche descremada Sigma-Aldrich 1%. La hidrólisis en medio gelatina se reveló con ácido tricloroacético 10%, la formación de halos traslúcidos indicó positividad. Para la hidrólisis de

ácidos grasos de cadena corta, almidón, pectina, celulosa y ADN se usó tributirina 1%, almidón 2%, pectina de manzana 0,5%, carboximetilcelulosa (CMC) 0,3% y medio ADN Sigma-Aldrich, respectivamente. Los halos de hidrólisis se determinaron con la adición de lugol, rojo de Congo 0,1%, bromuro de hexadeciltrimetilamonio 2% y HCl 1 M para los medios suplementados con almidón, carboximetilcelulosa, pectina y ADN (Canales et al., 2014).

Para la hidrólisis de ácidos grasos de cadena larga se utilizó aceite de oliva 2,5% (marca Filippo Berio, extra virgen y de 0,5% acidez) y 0,1 mg/l rodamina B. La fluorescencia se observó por luz UV a 302 nm (Becerra & Horna, 2016).

Identificación molecular y análisis filogenético.

La extracción de ADN se realizó siguiendo la

metodología descrita por Calderón-Toledo et al. (2021).

La integridad del ADN fue determinada mediante electroforesis en gel de agarosa 1%. La amplificación y la secuenciación de los genes ribosómicos 16S se realizó mediante el uso de cebadores específicos 16SF y 16SR en un termociclador SimpliAmp- ThermoFisher Scientific (Canales et al., 2014).

Los nucleotidogramas fueron alineados por Bioedit 7.0.5.3 y Cap3, y las secuencias nucleotídicas fueron identificadas usando el algoritmo BLAST. Se realizó el análisis filogenético mediante el alineamiento múltiple de los genes ribosómicos 16S, luego de cual se utilizó el algoritmo de Neighbor-joining a fin de graficar un árbol filogenético utilizando el programa Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento y caracterización fisiológica

En Perú, la Región de San Martín tiene más de 100 000 ha con cultivos de arroz, ubicadas en la selva alta a 820 m de elevación (MINAGRI, 2017). La sostenibilidad de estos ecosistemas se basa en la gran diversidad microbiana que promueve la composición orgánica de los suelos, conductividad eléctrica, pH, parámetros ligados a la respiración, mineralización de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes en los suelos (Sritongon et al., 2022). Así, en esta investigación se aislaron siete bacterias morfológicamente diferentes (Tabla 1).

Las bacterias aisladas fueron caracterizadas como mesófilas debido a su crecimiento óptimo entre 20 y 37 °C. A estas temperaturas, el crecimiento del consorcio microbiano presenta ventajas para su actividad conjunta. En este aspecto, en San Martín predomina un clima cálido y húmedo entre 19 y 31 °C, donde los suelos bajo 15 cm de profundidad están entre 27 y 31 °C, debido a la capacidad de absorber la radiación solar, propiedades térmicas del suelo, porosidad, contenido de agua y nivel de actividad microbiana, lo cual conlleva una mayor temperatura comparada con la del suelo superficial (Puertas, 2009; Moraga, 2021). Así, las cepas MA3, MA9 y MA12 crecieron hasta 45 °C.

Todas las cepas mostraron crecimiento en el rango de pH entre 5,0 y 10,0, cercano al exigido para el cultivo de arroz (pH 5,5 a 7,3). Además, el pH del suelo se modifica por las inundaciones, en consecuencia, se promueve la adaptabilidad bacteriana (Sanjinez, 2019). De esta forma, la acidificación de los suelos conlleva al incremento de Actinobacterias, Firmicutes y Saccharibacteria, que tienen mayor abundancia a pH entre 4,0 y 5,0 (32,94%) comparado a los de pH 6,0 y 7,0 (27,82%), lo cual explicaría los mecanismos de adaptabilidad a suelos acidificados (Wang et al., 2022). Por ejemplo, las cepas MA2, MA3, MA9 y MA12 crecieron a pH 4,0.

En cuanto a la halotolerancia, todas las cepas presentaron buen crecimiento a NaCl 0,5% la cual fue determinada mediante espectrofotometría UV-Visible. Sin embargo, las cepas MA3, MA9 y MA12 crecieron hasta 10% NaCl y MA2 hasta 20% (Tabla 1).

En este aspecto, la producción de clorofila, prolina y fenol en *Oryza sativa* sería un mecanismo para mitigar el estrés salino cuando se inoculan bacterias tolerantes a NaCl 12%, lo cual mejoraría la productividad agrícola en suelos salinos (Prittesh et al., 2020).

Caracterización bioquímica y metabolismo de azúcares

Las bacterias aisladas tuvieron actividad catalasa variada, esta contribuye en la conversión de nutrientes debido a su capacidad de óxido-reducción e incrementa la fertilidad del suelo. Por el contrario, todas las bacterias fueron indol y H₂S negativo. Asimismo, las cepas MA3, MA4, MA6, MA9, MA10 y MA12 presentaron motilidad, lo que les permite adaptarse a las condiciones ambientales mediante el movimiento hacia los nutrientes y evitar los tóxicos (Fei et al., 2020). Con referencia al metabolismo de azúcares, las cepas MA1 y MA4 no fermentaron ninguno, mientras que MA6 produjo gas con algunos de éstos (Tabla 1).

Sensibilidad antimicrobiana

En relación con la susceptibilidad antimicrobiana, el uso y la persistencia de pesticidas en los campos de cultivo puede contribuir al incremento de resistencia antimicrobiana, esto se evidenció en cepas de *Azotobacter* con resistencia múltiple (Shahid & Khan, 2022).

La presencia de antimicrobianos en suelos altera la actividad enzimática y el metabolismo de fuentes de carbono, lo cual tiene impacto en la diversidad microbiana (Cycoñ et al., 2019). Así, las cepas MA3, MA9 y MA12 evidenciaron sensibilidad a todos los antimicrobianos, por lo cual se identificaron cinco perfiles (Tabla 2). Todas las cepas tienen sensibilidad a cefoxitina, eritromicina y cloranfenicol, esto indicaría que las bacterias ambientales no poseen los mecanismos de resistencia que si presentan las cepas clínicas. Entre los géneros que degradan ciprofloxacino, cloranfenicol y norfloxacino, se describen a *Acinetobacter*, *Klebsiella* y *Bacillus* (Cycoñ et al., 2019).

Tabla 1
Características fenotípicas de bacterias aisladas de suelos de cultivo de arroz del distrito de Rioja

Características	Aislados bacterianos							
	MA1	MA2	MA3	MA4	MA6	MA9	MA12	
Morfología celular	Bacilo	Coco	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	
Tinción Gram	-	+	+	-	-	+	+	
Forma de colonia	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	
Aspecto de la colonia	Mediana de bordes regulares	Pequeña de bordes regulares	Mediana, seca de bordes regulares	Mediana de bordes regulares	Mediana, mucosa de bordes regulares	Grande de bordes irregulares	Mediana, traslúcida mucosa de bordes regulares	
Catalasa	+/-	+	+	+/-	+	+	+	
Citrato	-	+	+	+	-	-	+	
Motilidad	-	-	+	+	+	+	+	
Temperatura (°C)	20 - 37	20 - 37	20 - 45	20 - 37	20 - 37	20 - 45	20 - 45	
pH	5-10	4-10	4-10	5-10	5-10	4-10	4-10	
NaCl (% p/v)	0,5 - 5	0,5 - 20	0,5 - 10	0,5	0,5	0,5 - 10	0,5 - 10	
Fermentación de azúcares	Arabinosa	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG	F/NG	F/NG	NF/NG
	Manosa	NF/NG	NF/NG	F/NG	NF/NG	F/G	F/NG	F/NG
	Galactosa	NF/NG	F/NG	NF/NG	NF/NG	F/NG	NF/NG	NF/NG
	Celobiosa	NF/NG	NF/NG	F/NG	NF/NG	NF/NG	F/NG	F/NG
	Maltosa	NF/NG	F/NG	NF/NG	NF/NG	F/G	F/NG	F/NG
	Sorbitol	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG
	Fructuosa	NF/NG	F/NG	F/NG	NF/NG	F/G	F/NG	F/NG
	Manitol	NF/NG	NF/NG	F/NG	NF/NG	F/G	NF/NG	F/NG
	Glucosa	NF/NG	F/NG	F/NG	NF/NG	F/G	F/NG	F/NG
	Xilosa	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG	NF/NG
Sacarosa	NF/NG	F/NG	F/NG	NF/NG	F/G	F/NG	F/NG	
Glicerol	NF/NG	NF/NG	F/NG	NF/NG	F/NG	F/NG	F/NG	

+, positivo; +/-, intermedio; (-), negativo; NF, negativo para la fermentación del azúcar; NG, negativo para la producción de gas; F, positivo para la fermentación del azúcar; G, positivo para la producción de gas.

Tabla 2
Perfiles de sensibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas de suelos de cultivo de arroz del distrito de Rioja

Cepa	AMP	FOX	DA	C	E	S	CN	K	NV	P	TOB	VA
MA1	S	S	-	S	S	S	S	S	-	-	S	-
MA2	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
MA3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MA4	R	S	-	S	S	R	R	S	-	-	R	-
MA6	R	S	-	S	S	S	S	S	-	-	S	-
MA9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MA12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S, sensible; R, resistente; -, no aplica; AMP, ampicilina; FOX, cefoxitina; DA, clindamicina; C, cloranfenicol; E, eritromicina; S, estreptomina; CN, gentamicina; K, kanamicina; NV, novobiocina; P, penicilina; TOB, tobramicina; VA, vancomicina.

Actividad hidrolítica

Las cepas MA3, MA9 y MA12 hidrolizaron las macromoléculas evaluadas (Tabla 3). A la vez, todas las bacterias degradan tributirina y aceite de oliva, lo cual demuestra la adaptabilidad metabólica de estas bacterias a medios con presencia de ácidos grasos. En este contexto, se han descrito bacterias Gram positivas que hidrolizan tributirina a partir de arrozales de la India y en suelo del páramo colombiano (Palacios et al., 2017; Mithilesh et al., 2017). La cepa MA2 presentó un mayor grado de hidrólisis de los ácidos grasos de cadena corta. Por otro lado, el 85,7% de los aislados presentaron hidrólisis de un sustrato proteico. La actividad proteolítica se ha descrito en aislados de rizósferas de cultivo de arroz en Cuba, donde su inoculación en estas plantas se correlacionó con el incremento de la longitud de la raíz (Hernández-Forte et al., 2022). De igual forma, la presencia de

paja de arroz en los suelos de cultivo incrementaría la actividad celulosa, ya que estos serían degradados a celulosa y hemicelulosa, para luego transformarse en carbohidratos, almidones y polisacáridos, y finalmente en monosacáridos (Tang et al., 2022). En el presente estudio el 42,8% de las cepas tuvieron actividad celulolítica, mientras que Balasjin et al. (2022) describen que el 84% de bacterias de las subespecies japónica e indica poseen esta actividad. La actividad pectinolítica y celolítica se ha asociado a la tolerancia hasta NaCl 8% en cultivos de arroz de Corea del Sur, comparado a las cepas MA3, MA9 y MA12, que mostraron tolerancia hasta 10% (Walitang et al., 2017). La presencia de varias enzimas hidrolíticas como amilasas, lipasas y gelatinasas ha sido descrita por Roy et al. (2020) en arrozales de Purba Bardhaman (India), lo que coincide con los aislados del presente estudio.

Tabla 3
Grado de hidrólisis de macromoléculas de bacterias aisladas de suelos de cultivo de arroz del distrito de Rioja

Cepa	Gelatina	Leche descremada	Caseína	Aceite de oliva	Tributirina	Celulosa	Almidón	Pectina
MA1	0,00	0,00	0,00	1,75±0,06	3,00±0,00	0,00	0,00	0,00
MA2	2,25±0,35	1,50±0,00	0,00	1,12±0,15	10,75±0,35	0,00	0,00	0,00
MA3	1,40±0,13	1,36±0,03	1,61±0,04	1,25±0,11	14,20±0,40	4,33±0,04	1,11±0,00	1,21±0,04
MA4	1,36±0,04	0,00	0,00	1,88±0,02	1,20±0,02	0,00	4,00±0,00	0,00
MA6	3,64±0,65	3,00±0,26	3,36±0,31	2,15±0,01	1,87±0,17	0,00	0,00	0,00
MA9	2,92±0,12	1,50±0,00	2,45±0,19	1,32±0,03	1,43±0,29	1,67±0,03	1,50±0,00	1,81±0,03
MA12	3,25±0,12	3,10±0,77	3,22±0,35	1,19±0,04	1,39±0,03	5,50±0,00	1,33±0,04	2,40±0,00

Grado de hidrólisis: Proporción entre el tamaño del halo generado (mm) y el tamaño de la colonia (mm).

Identificación molecular

Los resultados evidenciaron que las cepas bacterianas se encuentran distribuidas en los géneros: *Acinetobacter* (MA1), *Bacillus* (MA3, MA9 y MA12), *Staphylococcus* (MA2), *Comamonas* (MA4) y *Aeromonas* (MA6). Se evidenció la cercanía evolutiva entre las cepas MA9 y MA12 y el distanciamiento con la cepa MA3 (Figura 1). Así mismo, las cepas MA1 y MA2 también evidenciaron cercanía evolutiva. Se ha descrito la abundancia del género *Bacillus* en la rizósfera, ya que aislados de suelos de cultivo de arroz de este género participan como promotores del crecimiento vegetal al contribuir a la fertilidad del suelo debido a su actividad hidrolítica (Rekha et al., 2018; Roy et al., 2020). Especies del género *Staphylococcus* halotolerantes evidenciaron solubilizar fosfatos, estimular el crecimiento celular y reducir el daño oxidativo celular antes el estrés salino en *Zea mays* L. (Shahid et al., 2019). Además, *Staphylococcus* epidermidis AT2, aislada de suelos en Malasia, hidrolizó ácidos grasos de cadena larga (C18:1), acorde a la cepa MA2 (Kamarudin et al., 2014). *Aeromonas* es capaz de degradar el fosfato inorgánico, reducir nitratos a nitritos, y producir lipasas y proteasas (Aarab et al., 2017; Gonçalves et al., 2019). En este caso, MA6 metabolizó algunos azúcares con o sin producción de gas. Por otro lado, *Acinetobacter* spp. tienen como hábitats suelos de cultivo, lodos, aguas residuales, entre otros, debido a sus mecanismos de adaptación a diferentes nichos ecológicos. Especies de *Acinetobacter* son incapaces de asimilar azúcares, citrato e hidrolizar gelatina, acorde al aislado MA1 (Carr et al., 2003). *Comamonas jiangduensis*, aislada de suelos agrícolas en Jiangdu (China), fue capaz de asimilar glucosa, manosa, manitol, arabinosa y maltosa, y producir esterases, similar a MA4, con diferencia en

la producción de lipasas y gelatinasas (Sun et al., 2013).

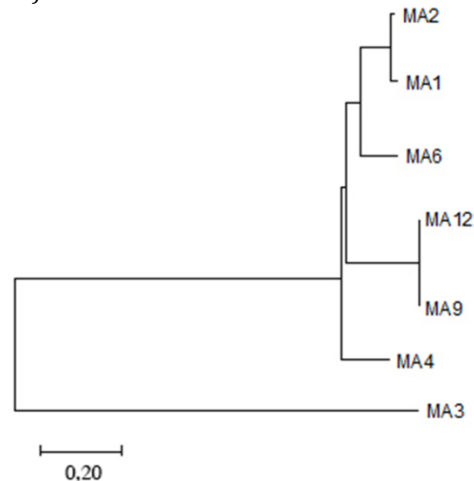


Figura 1. Árbol filogenético de bacterias aisladas de suelos de cultivos de arroz del distrito de Rioja.

El aislamiento y caracterización de nuevas cepas bacterianas es muy importante debido que cada bacteria presenta diversas características fisiológicas y metabólicas, y para su mejor aprovechamiento se requiere seguir investigando en la identificación de las especies mediante pruebas confirmatorias como perfil lipídico de membrana, cálculo del porcentaje de G+C e hibridación de ADN-ADN, así como uso de otros cronómetros moleculares. Asimismo, es necesario determinar la capacidad promotora del crecimiento vegetal de estas cepas con el propósito de utilizarlas como bio-estimulantes de los cultivos de arroz. De igual modo, se debería evaluar la utilización de pesticidas como fuente de carbono para una posterior aplicación en la biorremediación de suelos.

CONCLUSIONES

De suelos de cultivo de arroz del distrito de Rioja - Región de San Martín se aislaron bacterias con crecimiento en un amplio rango de salinidad y pH, variada capacidad metabólica de azúcares, y perfiles diferentes de sensibilidad.

Además, todas las bacterias presentaron capacidad hidrolítica de ácidos grasos, algunas mostraron actividad proteolítica, celulolítica, pectinolítica y amilolítica; asimismo se agrupan en los géneros *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Comamonas* y

Staphylococcus. La capacidad metabólica adaptativa de las bacterias permitirá utilizar los pesticidas de los suelos del cultivo de arroz como fuente de carbono, lo cual sería de gran utilidad para la agricultura, el medio ambiente y la salud pública.

En otros estudios se podría evaluar la capacidad promotora del crecimiento vegetal de las cepas bacterianas, para su uso como bioestimulantes de diversos cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada parcialmente por el contrato N° 169-2017 FONDECYT-CONCYTEC, Perú.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarab, S., Ollero, F. J., Megias, M., Laglaoui, A., Bakkali, M., & Arakrak, A. (2017). Simultaneous p-solubilizing and biocontrol activity of rhizobacteria isolated from rice rhizosphere soil. En: Kumar V., Kumar M., Sharma S. & Prasad R. (Eds) Probiotics in Agroecosystem, 207-215. Springer. Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4059-7_11
- Balasjin, N. M., Maki, J. S., Schlappi, M. R., & Marshall, C. W. (2022). Plant growth-promoting activity of bacteria isolated from Asian rice

- (*Oryza sativa* L.) depends on rice genotype. *Microbiol Spectr.*, 10(4), e0278721. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02787-21>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *The American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496. <https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4.ts.493>
- Becerra Gutiérrez, L. K., & Horna Acevedo, M. V. (2016). Aislamiento de microorganismos productores de biosurfactantes y lipasas a partir de efluentes residuales de camales y suelos contaminados

- con hidrocarburos. *Scientia Agropecuaria*, 7(1), 23–31. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.01.03>.
- Butt, M.Q., Zeeshan, N., Ashraf, N.M., Akhtar, M. A., Ashraf, H., Afroz, A., Shaheen, A., & Naz, S. (2021). Environmental impact and diversity of protease-producing bacteria in areas of leather tannery effluents of Sialkot, Pakistan. *Environ Sci Pollut Res*, 28, 54842–54851. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14477-2>.
- Calderón-Toledo, S., Horue, M., Alvarez, V. A., Castro, G. R., & Zavaleta, A. I. (2021). Isolation and partial characterization of *Komagataeibacter* sp. SU12 and optimization of bacterial cellulose production using *Mangifera indica* extracts. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 97(6), 1482–1493. doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.6839>
- Canales, P. E., Chávez-Hidalgo, E. L., & Zavaleta, A. I. (2014). Caracterización de bacterias halófilas productoras de amilasas aisladas de las Salinas de San Blas en Junín. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(2), 150–157. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.43763>
- Carr, E. L., Kämpfer, P., Patel, B. K. C., Gürtler, V., & Seviour, R. J. (2003). Seven novel species of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(4), 953–963. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02486-0>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cycoń, M., Mroził, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2019). Antibiotics in the soil environment—degradation and their impact on microbial activity and diversity. *Frontiers in Microbiology*, 10, 338. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00338>
- Fei, Y., Huang, S., Zhang, H., Tong, Y., Wen, D., Xia, X., Wang, H., Luo, Y., & Barceló, D. (2020). Response of soil enzyme activities and bacterial communities to the accumulation of microplastics in an acid cropped soil. *Science of the Total Environment*, 707, 135634. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135634>.
- Ganbat, S., Ganbat, D., Jeong, G., Shin, K.-S., Lee, Y.-J., Park, M.-H., Koh, J., & Lee, S.-J. (2022). A Study on the Diversity and Enzyme Productivity of Mesophilic and Thermophilic Bacteria from the Arable Soil Fertilized with Modified Peat Moss. *Food Engineering Progress*, 26, 84–90. <https://doi.org/10.13050/foodengprog.2022.26.2.84>.
- García-Bucio, P., Sotelo-Navarro, P., Poggi-Varaldo, H., Cañizares-Villanueva, R. O., & Escamilla-Alvarado, C. (2014). Indicadores de la bioeconomía circular para el aprovechamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 38, 78–92. <https://doi.org/10.20937/rica.54350>.
- Gonçalves Pessoa, R. B., de Oliveira, W. F., Marques, D. S. C., Dos Santos Correia, M. T., & de Carvalho, E. V. M. M., Coelho, L. C. B. B. (2019). The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial Pathogenesis*, 130, 81–94. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036>.
- Hernández Forte, I., Pérez-Pérez, R., Taulé-Gregorio, C. B., Fabiano-González, E., Battistoni-Urrutia, F., & Nápoles-García, M. G. (2022). New bacteria genera associated to rice (*Oryza sativa* L.) in Cuba promote the crop growth. *Agronomía Mesoamericana*, 33(2), 47223. <https://doi.org/10.15517/am.v33i2.47223>.
- Kamarudin, N. H. A., Rahman, R. N. Z. R. A., Ali, M. S. M., Leow, T. C., Basri, M., & Salleh, A. B. (2014). A new cold-adapted, organic solvent stable lipase from mesophilic *Staphylococcus epidermidis* AT2. *Protein J*, 33, 296–307. <https://doi.org/10.1007/s10930-014-9560-3>.
- Koul, D., Chander, D., Manhas, R. S., & Chaubey, A. (2021). Isolation and Characterization of Serratiopeptidase Producing Bacteria from Mulberry Phyllosphere. *Curr Microbiol*, 78, 351–357. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02280-0>.
- Kurmiawan, T. A., Lo, W. H., & Chan, G. Y. (2006). Physico-chemical treatments for removal of recalcitrant contaminants from landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, 129(1–3), 80–100. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.08.010>.
- Ministerio de Agricultura, & Riego-MINAGRI. (2017). *Informe del arroz*. Lima, Perú: Dirección de estudios económicos e información agraria.
- Ministerio de Agricultura, & Riego-MINAGRI. (2021). *Observatorio de las Siembras y Perspectivas de la Producción de Arroz*. Boletín Cuatrimestral N° 1.3. Campaña agrícola 2020-2021. Lima, Perú: Dirección General de Políticas Agrarias.
- Ministerio del Ambiente-MINAM. (2021). *Diagnóstico de la situación de las brechas de infraestructura o de acceso a bienes/servicios*. Lima, Perú: Sector Ambiente.
- Ministerio del Ambiente-MINAM, & Ministerio de Economía y Finanzas-MEF. (2021). *Guía para el cumplimiento de la Meta 3: Implementación de un sistema integrado de manejo de residuos sólidos municipales*. Programa de Incentivos a la Mejora de la Gestión Municipal del año 2022. Lima, Perú: Dirección General de Gestión de Residuos Sólidos - Ministerio del Ambiente.
- Mithilesh, K., Anshu, D., Mradul, T., & Venkatesh, K. (2017). Screening of soil samples for isolation of lipase producing organisms. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(6), 1730–1733. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2017.00305.5>.
- Moraga Méndez, D. (2021). Estimación de la temperatura del suelo mediante técnicas de aprendizaje profundo. Tesis para la obtención del grado de Magister en Recursos Naturales. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- Mushtaq, H., Ganai, S. A., Jehangir, A., Ganai, B. A., & Dar, R. (2023). Molecular and functional characterization of protease from psychrotrophic *Bacillus* sp. HM49 in North-western Himalaya. *PLoS ONE*, 18(3), e0283677. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283677>
- Palacios, P. A., Borda-Molina, D., Salvador, J., & Baena, S. (2017). Isolation of lipolytic bacteria from Colombian Andean soils: A target for bioprospecting. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(6), 1250–1256. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.6.1250-1256>.
- Parmar, N., Singh, A., & Ward, O. P. (2001). Enzyme treatment to reduce solids and improve settling of sewage sludge. *Journal of Industrial Microbiol Biotechnol*, 26(6), 383–386. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000150>.
- Prittesh, P., Avnika, P., Kinjal, P., Naik, H., Sakhivel, K., & Amaresan, N. (2020). Amelioration effect of salt-tolerant plant growth-promoting bacteria on growth and physiological properties of rice (*Oryza sativa*) under salt-stressed conditions. *Archives of Microbiology*, 202(9), 2419–2428. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01962-4>.
- Puertas Ramos, F. V. (2009). Índices de calidad del suelo y parámetros de crecimiento de cultivos de cobertura en una plantación de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis para la obtención del grado de Doctoris Philosophiae en Agricultura Sustentable. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Rekha, K., Baskar, B., Srinath, S., & Usha, B. (2018). Plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* RR4 isolated from rice rhizosphere induces malic acid biosynthesis in rice roots. *Canadian Journal of Microbiology*, 64(1), 20–27. <https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0409>.
- Roy, P., Chatterjee, S., Saha, N. C., & Gantait, V. V. (2020). Characterization of a starch hydrolysing *Bacillus flexus* U8 isolated from rhizospheric soil of the paddy plants. *Proc Natl Acad Sci*, 90, 1075–1081. <https://doi.org/10.1007/s40011-020-01176-0>.
- Sanjinez Salazar, F. (2019). Sustentabilidad del agroecosistema del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en Tumbes, Perú. Tesis para la obtención del grado de Doctoris Philosophiae en Agricultura Sustentable. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Shahid, M., Ahmed, T., Noman, M., Tariq Javed, M., Tahir, M., & Masood Shah, S. (2019). Non-pathogenic *Staphylococcus* strains augmented the maize growth through oxidative stress management and nutrient supply under induced salt stress. *Annals of Microbiology*, 69, 727–739. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01464-9>.
- Shahid, M., & Khan, M. S. (2022). Tolerance of pesticides and antibiotics among beneficial soil microbes recovered from contaminated rhizosphere of edible crops. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100091. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100091>.
- Sritongon, N., Sarin, P., Theerakulpisut, P., & Riddech, N. (2022). The effect of salinity on soil chemical characteristics, enzyme activity and bacterial community composition in rice rhizospheres in Northeastern Thailand. *Scientific Reports*, 12, 20360. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24902-2>.
- Sun, L.-N., Zhang, J., Chen, Q., He, J., Li, Q.-F., & Li, S.-P. (2013). *Comamonas jiangduensis* sp. nov., a biosurfactant producing bacterium isolated from agricultural soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 2168–2173. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.045716-0>.
- Tang, Z., Zhang, L., He, N., Liu, Z., Ma, Z., Fu, L., Wang, H., Wang, C., Sui, G., & Zheng, W. (2022). Influence of planting methods and organic amendments on rice yield and bacterial communities in the rhizosphere soil. *Frontiers in Microbiology*, 13, 918986. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.918986>.
- Walitang, D.I., Kim K., Madhaiyan, M., Kim, Y.K., Kang, Y., & Sa, T. (2017). Characterizing endophytic competence and plant growth promotion of bacterial endophytes inhabiting the seed endosphere of rice. *BMC Microbiol*, 17, 209. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1117-0>.
- Wang, C., Liu, Z., Huang, Y., Zhang, Y., Wang, X., & Hu, Z. (2019). Cadmium-resistant rhizobacterium *Bacillus cereus* M4 promotes the growth and reduces cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 72, 103265. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103265>.