

## ***Pantoea agglomerans* productora de biosurfactante aislada de rizosfera de pastos Tanzania y Llanero\***

### ***Pantoea agglomerans* isolated from producer surfactant pasture rhizosphere Tanzania and Llanero**

José Daniel Chávez González<sup>1</sup>, Miguel Ángel Rodríguez Barrera<sup>1</sup>, Yanet Romero Ramírez<sup>1</sup>, Alejandro Ayala Sánchez<sup>2</sup>, Jesús Carlos Ruvalcaba Ledezma<sup>3</sup> y Jeiry Toribio-Jiménez<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Posgrado en Biociencias. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas-Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, Guerrero, México. Av. Lázaro Cárdenas s/n, Cd. Universitaria, Chilpancingo, Guerrero, 39000, México. Tel: 52 747 4719310. Ext. 4526. (danichavez1991@gmail.com; rmiguel@gmail.com; yanetromero7@gmail.com; jtoribio@uagro.mx). <sup>2</sup>Campo Experimental Zacatepec-INIFAP. Carretera Zacatepec a Galeana, km 0.5. C. P. 62780. Zacatepec, Morelos, México. (ayalasa@hotmail.com). <sup>3</sup>Instituto de Ciencias de la Salud (UAEH) Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, México. Ex-Hacienda la Concepción S/N, carretera a Actopan Pachuca de Soto Hidalgo, México. Tel: 5548817657. dcspjcarlos@gmail.com. <sup>§</sup>Autor de correspondencia: jeiryjimenez2014@gmail.com.

## **Resumen**

*Pantoea agglomerans* es una bacteria benéfica en diversas plantas ya que promueve el crecimiento vegetal, aunado a esto solo algunas cepas pueden producir biosurfactantes, estos biosurfactantes son capaces de causar hemólisis en agar sangre, formar espuma, dispersar el aceite, disminuir la tensión superficial por el colapso de la gota, emulsificar compuestos hidrófobos entre otros, estas características los hacen interesantes dado que tienen diversas aplicaciones biotecnológicas, en las que destacan, la recuperación de crudo, en el área médica, en la industria de los alimentos y en agropecuarias, en esta última pueden ser usados para el control de hongos fitopatógenos, los biosurfactantes tienen diversas ventajas, son compatibles con el ambiente, toleran altas concentraciones de NaCl, pH, temperatura y son biodegradables, son producidos por hongos, levaduras y bacterias, es por ello que se aislaron e identificaron bacterias capaces de producir biosurfactantes en la rizosfera de los pastos Tanzania (*Panicum maximum*) y Llanero (*Andropogon gaynus Kunth*) en el rancho Tecomate en el estado de Guerrero, de las muestras se obtuvo una carga bacteriana en rizosfera y raíz en *P. maximum* de  $1 \times 10^3$  a  $10 \times 10^4$  y en *A.*

## **Abstract**

*Pantoea agglomerans* is a beneficial bacteria in various plants as it promotes plant growth, coupled with this only some strains can produce biosurfactants, these biosurfactants are capable of causing hemolysis on blood agar, foaming, dispersing the oil, reduce surface tension by the collapse of gout, emulsify hydrophobic compounds among others, these features make them interesting because they have various biotechnological applications, most notably, oil recovery, in the medical area, in the food industry and agriculture, in this last may be used for controlling phytopathogenic fungi, biosurfactants have different advantages, are compatible with the environment, tolerate high concentrations of NaCl, pH, temperature and are biodegradable, are produced by fungi, yeasts and bacteria, is why it is isolated and identified bacteria capable of producing biosurfactants in the rhizosphere of Tanzania (*Panicum maximum*) and Llanero (*Andropogon gaynus Kunth*) pastures in the Tecomate ranch in the state of Guerrero, samples a bacterial load in rhizosphere and root *P. maximum* was obtained of  $1 \times 10^3$  a  $10 \times 10^4$  and *A. gaynus Kunth*  $5 \times 10^3$  to  $21 \times 10^4$  UFC/g respectively, only 28 of these strains were able to produce hemolysis, foam

\* Recibido: marzo de 2016  
Aceptado: junio de 2016

*gaynus Kunth* de  $5 \times 10^3$  a  $21 \times 10^4$  UFC/g respectivamente, de estas solo 28 cepas fueron capaces de producir hemólisis, espuma en PPGAS y colapso de la gota, además de presentar capacidad de emulsificar diésel, gasolina, aceite vegetal y petróleo, solo cinco de las cepas de *P. maximun* y ocho de *A. gaynus Kunth* se identificaron a nivel microbiológico reportando la presencia por vez primera de *Pantoea aglomerans* en asociación a la rizosfera y en raíz de los pastos, estos datos sirven de base para generar estudios sobre su ecología y aplicación biológica para incrementar la producción económica de pastos en el estado de Guerrero.

**Palabras clave:** *Pantoea aglomerans*, biosurfactantes, pastos.

## Introducción

*Pantoea aglomerans* es una bacteria en forma de bacilo Gramnegativa, es considerada ubicua de plantas y se ha aislado en diversos ambientes (suelo, agua, insectos, animales y muestras clínicas), algunos aislamientos han demostrado la capacidad de control biológico de hongos y bacterias causantes de enfermedades en plantas (Theo H.M. Smits *et al.*, 2010), se han reportado en rizosfera de *Hordeum vulgare*, *Triticum* sp. y *Gloxinia alba*, son capaces de fijar nitrógeno (Jimenez *et al.*, 2007), degradar hidrocarburos y solo algunas cepas son capaces de producir biosurfactante (BS) (Vasileva-Tonkova y Gesheva, 2006; Gopalakrishnan *et al.*, 2006). Los BS son moléculas activas de superficies producidas por bacterias, hongos, levaduras, actinomicetos y otros. Todos los BS son anfífilicos, es decir, están compuestos de dos partes una polar (hidrofílica) y otra no polar (hidrofóbica), el grupo hidrofílico consiste de mono-, oligo- o polisacáridos, péptidos o proteínas, y la porción hidrofóbica usualmente contiene ácidos grasos saturados, insaturados, hidroxilados o alcoholes grasos (Pacwa-Plociniczak *et al.*, 2011).

La estructura química de los BS les confiere afinidad por las interfaces en las que destacan la: disminución de la tensión superficial del agua de 72 mN/m a cerca de 27 mN/m, reducir la tensión interfacial y aumentar la solubilidad de algunos compuestos (Raiger Iustman *et al.*, 2009). Estos biosurfactantes poseen amplias ventajas en comparación con los surfactantes químicos, como: alta biodegradabilidad, baja toxicidad, y biocompatibilidad, pueden sintetizarse a partir de fuentes de carbono relativamente baratas o a partir de residuos industriales (Raiger Iustman *et al.*, 2009).

collapse PPGAS drop and also present ability to emulsify diesel, gasoline, oil and vegetable oil, only five strains of *P. maximun* and eight of *A. gaynus Kunth* microbiological level were identified reporting the presence of first *Pantoea aglomerans* in association with the rhizosphere and root of pastures, these data serve as a basis to generate studies on its ecology and biological application to increase economic production of pastures in the state of Guerrero.

**Keywords:** *Pantoea aglomerans*, biosurfactants, pastures.

## Introduction

*Pantoea aglomerans* is a bacterium in the form of gram-negative bacillus, is considered ubiquitous plant and has been isolated in different environments (soil, water, insects, animals and clinical samples), some isolates have demonstrated the ability of biological control of fungi and bacteria causing of plant diseases (Theo H.M. Smits *et al.*, 2010), have been reported in rhizosphere of *Hordeum vulgare*, *Triticum* sp. and *Gloxinia alba*, are able to fix nitrogen (Jimenez *et al.*, 2007), degrade hydrocarbons and only some strains are capable of producing biosurfactant (BS) (Vasileva-Tonkova y Gesheva, 2006; Gopalakrishnan *et al.*, 2006). The BS surface active molecules are produced by bacteria, fungi, yeast, actinomycetes and others. All BS are amphiphilic, that is, are composed of two polar parts (hydrophilic) and a nonpolar (hydrophobic), the hydrophilic group consisting of mono-, oligo- or polysaccharides, peptides or proteins, and the hydrophobic portion usually contains saturated fatty acids, unsaturated or hydroxylated fatty alcohols (Pacwa-Plociniczak *et al.*, 2011).

The chemical structure of the BS confers affinity for interfaces which are the: lowering the surface tension of water from 72 mN/m to about 27 mN/m, reduce interfacial tension and increase the solubility of some compounds (Raiger Iustman *et al.*, 2009). These biosurfactants have large advantages over chemical surfactants, such as high biodegradability, low toxicity, and biocompatibility, they can be synthesized from relatively inexpensive carbon sources or from industrial waste (Raiger Iustman *et al.*, 2009). There are reports of bacteria capable of producing them, which include the genera *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Serratia* sp., *Enterobacter* sp., *Pantoea* sp., among others (Makkar, 2011). The microbial BS have wide applications

Existen reportes de bacterias capaces de producirlos, en los que destacan los géneros de *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pantoea sp.*, entre otros (Makkar, 2011). Los BS microbianos tienen amplias aplicaciones en la recuperación de petróleo, en la industria farmacéutica, de alimentos y cosméticos, así también tienen usos potenciales en el sector agrícola y pecuario (Pérez-Vargas *et al.*, 2010; Jiménez *et al.*, 2010).

En la agricultura está documentada su aplicación para el control biológico por su actividad antimicrobiana y antifúngica y la recuperación de suelos contaminados con plaguicidas o fertilizantes químicos (Sachdev y Cameotra, 2013). En México en la región tropical 35% del territorio nacional se explota para la producción ganadera, esto con la finalidad de cubrir la demanda de alimentos (carne, leche, queso entre otros) por los pobladores, esto ha conllevado a los agricultores a explotar diferentes cultivos de forrajes para obtener alimentos de calidad y cantidad y poder cubrir también las necesidades del ganado, aun así con los esfuerzos puestos en este sector, se suman otras necesidades como son la disminución del contenido de proteínas y la falta de forraje por la estacionalidad de las lluvias que ha disminuido su producción (Enriquez *et al.*, 1999).

De las 34 000 especies de plantas en México la mayoría de ellas son usadas para alimentar el ganado, en el estado de Guerrero se cultiva la especie *Panicum máximum* o pasto "Tanzania" esta es resistente al pastoreo, crece bien en suelos secos que no sean demasiado pobres en nutrientes de cualquier textura incluso en suelos arenosos (Rodillo-Juárez *et al.*, 2009; Cerdas y Vallejos, 2011). Asimismo, la especie *Andropogon gaynus Kunth* o pasto "Llanero"; es de crecimiento prostrado e invasor que le permite hacer buena cobertura del suelo adaptándose fácilmente a suelos arcillosos y arenosos (Pérez, 2008). Se han documentado pocos estudios sobre la interacción de bacterias entre ellas destacan las ácido lácticas (Pasebani *et al.* 2010), no se encontraron estudios sobre las especies productoras de biosurfactantes en rizosfera y raíz de los pastos Tanzania y Llanero, así como también sobre su papel biológico y aplicación biotecnológica en las actividades pecuarias.

El rancho el Tecomate en Tierra Colorada, Guerrero, se dedican al ganado para la obtención de carne y están interesados en incrementar la producción de pastos para cubrir las necesidades del ganado, sus dos tipos de pastos para alimentar al ganado son el Tanzania y Llanero, en base a lo anterior el objetivo centrar fue; cuantificar las unidades

in oil recovery in the pharmaceutical, food and cosmetics, and also have potential uses in the agricultural and livestock sector (Perez-Vargas *et al.*, 2010; Jimenez *et al.*, 2010).

In the agriculture is documented in its application for biological control for their antimicrobial and antifungal activity and recovery of soil contaminated by pesticides or chemical fertilizers (Sachdev and Cameotra, 2013). In Mexico in the tropical region 35% of the national territory is exploited for livestock production, this in order to meet the demand for food (meat, milk, cheese and others) by the settlers, this has led farmers to exploit different forage crops for food quality and quantity, and may also meet the needs of livestock, still-post efforts in this area, other needs such as decreased protein content are added together and the lack of fodder for the seasonality of rainfall has decreased its production (Enriquez *et al.*, 1999).

Of the 34 000 species of plants in Mexico most of them are used to feed livestock in the state of Guerrero the species *Panicum maximum* or grass "Tanzania" this is resistant to grazing is grown, it grows well in dry soils than too poor in nutrients of any texture even in sandy soils (Roll-Juarez *et al.*, 2009;. Sows and Vallejos, 2011). Furthermore, the species grass *Andropogon gaynus Kunth* or "Llanero"; is prostrate and invasive growth that allows you to make good ground cover easily adapted to clay and sandy soils (Pérez, 2008). Have been documented few studies on the interaction of bacteria among them are lactic acid (Pasebani *et al.*, 2010), no studies on producing species biosurfactants in rhizosphere and root of Tanzania and Llanero grasses were found as well as on their biological role and biotechnology application in livestock activities.

The ranch the Tecomate in Tierra Colorada, Guerrero, dedicated to cattle to obtain meat and are interested in increasing pasture production to meet the needs of cattle, two types of grasses to feed livestock are Tanzania and Llanero, based on the above the aim was to focus; quantify the colony forming units per gram (UFC/g) of rhizosphere or root associated with Tanzania and Llanero pastures, evaluate their ability to produce biosurfactants and identify microbiological level bacteria for the purpose of applying these in a future pasture production to strengthen Livestock in the state of Guerrero.

El Rancho the "Tecomate" in Tierra Colorada, Guerrero, is located at the geographic coordinates 17° 08' 50.53 north latitude and 99° 37' 36.9 west longitude, with an elevation

Formadoras de Colonias por gramo (UFC/g) de rizosfera o de raíz asociadas a los pastos Tanzania y Llanero, evaluar su capacidad de producir biosurfactantes e identificar a nivel microbiológico las bacterias con la finalidad de aplicación de estas en un futuro en la producción de pastos para fortalecer la Ganadería en el estado de Guerrero.

El Rancho el "Tecomate" en Tierra Colorada, Guerrero, se ubica en las coordenadas geográficas 17° 08' 50.53 de latitud norte y 99° 37' 36.9 de longitud oeste, con una elevación de 241 msnm, con suelos regosoles, textura arena limoso, clima Aw1 (cálido subhúmedo), y con precipitación pluvial de 1300 mm anuales. En ese sitio se recolectaron 15 muestras de rizosfera y raíz al azar de cada especie de pasto (Tanzania y Llanero), estas fueron depositadas en bolsas de polietileno y transportadas al laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la UAGro. Las raíces se separaron del suelo, y se removió el exceso primero con agua corriente y se depositaron en NaOCl al 2% durante 15 min, finalmente se enjuagaron en agua destilada estéril. Posteriormente se pesó 1 g de raíz y se maceró en 5 mL de solución salina isotónica estéril y se incubó a 30 °C con agitación durante 12 h en caldo Luria Bertani (LB; triptona 10g, extracto de levadura 5g, NaCl 10g a pH 7.0).

Al mismo tiempo se pesó 1g de rizosfera y se realizaron diluciones seriadas de las muestras del macerado de la raíz y de la rizosfera en un rango de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , se tomó 100 µl de cada dilución y fueron dispersadas por duplicado en placas de Agar LB, estas se incubaron a 30 °C por 48 h. La carga microbiana fue reportada como UFC/g de raíz o rizosfera. Las bacterias aisladas con el mismo morfotipo se sembraron en Agar sangre para observar su capacidad hemolítica a las 24h, aquellas que presentaron una β-hemolisis se consideraron como posibles productoras de BS (Rakeshkumar *et al.*, 2012). Las bacterias hemolíticas fueron se cultivaron en 50 mL de caldo PPGAS (PPGAS; NH<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub> 1.07g, KCl 1.5g, Tris-HCl 18.91g, MgSO<sub>4</sub> 0.19g, glucosa 5%, y peptona 1% a pH 7.2), a 30 °C por 72 h en agitación constante, para promover la producción de BS (Wild *et al.*, 1997).

La capacidad de producir BS se confirmó mediante la formación y estabilidad de la espuma, el Índice de Emulsificación usando diésel, petróleo, gasolina y aceite vegetal a las 24 h (IE<sub>24</sub>) (Cooper, D. G. and Goldenberg, B. G. 1987) y por último el tamaño del halo en la dispersión del aceite (Figura 1), en todos los análisis se incluyó como control positivo a *P. aeruginosa* PAO1. Las bacterias que

of 241 meters, with regosols soil, sandy texture silty, Aw1 climate (warm humid), and rainfall of 1300 mm annually. On that site 15 samples of rhizosphere and root were collected at random from each grass species (Tanzania and Llanero), these were deposited in polythene bags and transported to the laboratory of molecular microbiology and environmental biotechnology of the academic unit of chemical and biological sciences the UAGro. The roots were separated from the soil, and excess first with running water was removed and placed in 2% NaOCl for 15 min, finally rinsed in sterile distilled water. Subsequently 1 g of root weighed and macerated in 5 mL of sterile isotonic saline and incubated at 30 C with stirring for 12 h in Luria Bertani (LB; tryptone 10g, yeast extract 5g, NaCl 10g to pH 7.0 ).

At the same time weighed 1 g of rhizosphere and dilutions were performed serial samples macerated root and rhizosphere in the range  $10^{-1}$  TO  $10^{-4}$ , 100 µl of each dilution was taken and were dispersed in duplicate in agar LB plates, these were incubated at 30 °C for 48 h. The microbial load was reported as UFC/g of root or rhizosphere. Bacteria isolated with the same morpho type replated blood agar to observe their hemolytic capacity at 24 h, those who had a β-hemolysis were considered as potential producers of BS (Rakeshkumar *et al.*, 2012). Hemolytic bacteria were cultured in 50 mL of broth PPGAS (PPGAS; NH<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub> 1.07 g, KCl 1.5 g, Tris-HCl 18.91g, MgSO<sub>4</sub> 0.19g, 5% glucose, 1% peptone pH 7.2), 30 °C for 72 h under constant stirring, to promote the production of BS (Wild *et al.*, 1997).

The ability to produce BS was confirmed by the formation and stability of the foam, the index emulsification using diesel oil, gasoline and vegetable oil at 24 h (IE<sub>24</sub>) (Cooper and Goldenberg, 1987) and finally the size halo dispersion in oil (Figure 1), in all analyzes was included as a positive control to *P. aeruginosa* PAO1. The bacteria were able to produce biosurfactants were identified to genus and species using gram stain, catalase production, oxidase, with conventional biochemical for metabolic evaluation.

Of isolated samples, a bacterial load root was obtained and rhizosphere in Tanzania pasture  $1 \times 10^3$  a  $10 \times 10^4$  and Llanero of  $5 \times 10^3$  a  $21 \times 10^4$  UFC/g respectively, which agrees on the average Pasebani *et al.* (2010), which reported  $8.3 \times 10^3$  UFC/g soil of lactic acid bacteria grass Tanzania in Malaysia., Also shows that the number of UFC/g is equal in the two grass species this may be due to the same type of soil and climatic conditions.

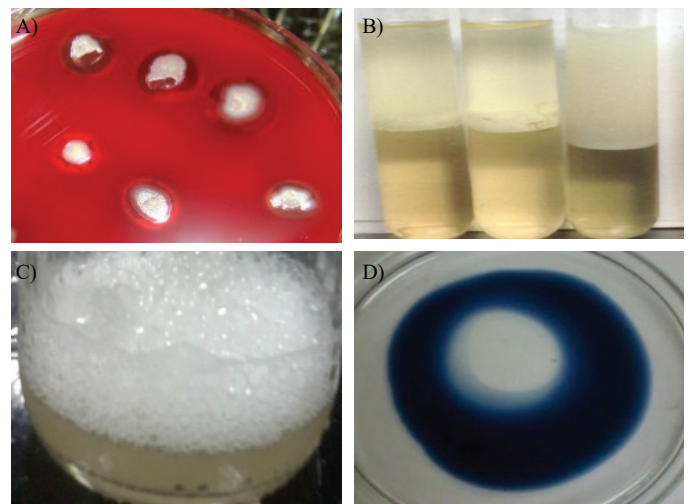
fueron capaces de producir biosurfactantes se identificaron a nivel de género y especie usando la tinción de Gram, la producción de catalasa, oxidasa, con bioquímicas convencionales para su evaluación metabólica.

De las muestras aisladas, se obtuvo una carga bacteriana en raíz y rizosfera en el pasto Tanzania de  $1 \times 10^3$  a  $10 \times 10^4$  y en Llanero de  $5 \times 10^3$  a  $21 \times 10^4$  UFC/g respectivamente, lo que concuerda en promedio con Pasebani *et al.* (2010), que reportan  $8.3 \times 10^3$  UFC/g en suelo de bacterias ácido lácticas de pasto Tanzania en Malaysia., además se observa que la cantidad de UFC/g es igual en las dos especies de pastos esto puede deberse al mismo tipo de suelo y a las condiciones climatológicas del lugar.

En cuanto a la producción de BS solo 28 (13 Tanzania y 15 Llanero) cepas bacterianas fueron capaces de producir hemólisis en agar sangre, de éstas todas hicieron espuma en caldo PPGAS y dispersaron el aceite lo que demuestra la capacidad de producción de BS (Figura 1), solo 13 cepas fueron capaces de emulsificar a las 24 h compuestos hidrófobos. Todas las cepas aisladas de la rizosfera de pastos Tanzania fueron capaces de emulsificar gasolina, aceite vegetal y petróleo a diferencia de las aisladas en pastos Llanero, esto es uno de los primeros reportes de bacterias aisladas de pastos con habilidad de emulsificar compuestos hidrófobos y que se pueden emplear para procesos de biorremediación (Cuadro 1). Los datos obtenidos en este trabajo concuerdan con Vasileva-Tonkova y Victoria Gesheva (2006) donde describen una cepa de *Pantoea* sp., A-13 aislada de suelos de las islas, Dewart, Antartida, Gopalakrishnan *et al.* (2006), reportan dos cepas de *Pantoea* sp., 1 y 2 productoras de BS aisladas de la costa de la India capaces de emulsificar compuestos hidrófobos.

Toribio- Jiménez *et al.* (2014), reportan una cepa de *Pantoea vagans* productora de BS resistente a metales pesados aislada de los jales El Fraile en México, todas estas cepas se han propuestos como alternativas para acelerar procesos de biorremediación, pero no se han evaluado su capacidad de promoción de crecimiento vegetal. Reportamos trece cepas de *P. agglomerans* con 99% de identidad, como ya se dijo las especies de *Pantoea* sp., se han reportado como endófitos de diversos cultivos, en los que destaca *Pantoea ananatis* aislada de hojas y semillas de *Panicum virgatum* conocido como pasto "Varilla" en Canadá por Gagne-Bourgue *et al.* (2013), confirmando así la transmisión vertical a la siguiente generación de hospederos, lo anterior concuerda con nuestros hallazgos dado que solo se identificó una especie como mejor productora de BS en la rizosfera de los pastos Tanzania y en Llanero.

As for the production of BS only 28 (13 Tanzania and 15 Llanero) bacterial strains were able to produce hemolysis on blood agar, these all foamed broth PPGAS and dispersed oil which demonstrates the capacity of BS (Figure 1), only 13 strains were able to emulsify hydrophobic compounds to 24h. All strains isolated from the rhizosphere of grasses Tanzania were able to emulsify gasoline, vegetable oil and oil unlike isolated in Llanero pasture, this is one of the first reports of bacteria isolated from grasses with ability to emulsify hydrophobic compounds and that they can be used for bioremediation processes (Table 1). The data obtained in this study are consistent with Vasileva-Tonkova and Victoria Gesheva (2006) which describe a strain of *Pantoea* sp., A-13 isolated from soil of the islands, Dewart, Antarctica, Gopalakrishnan *et al.* (2006) report two strains of *Pantoea* sp., 1 and 2 producers of BS isolated from the coast of India able to emulsify hydrophobic compounds.



**Figura 1. Pruebas para la detección de biosurfactantes. A) hemólisis en agar sangre; B) índice de emulsificación; C) producción de espuma en caldo PPGAS; y D) dispersión de aceite.**

**Figure 1. Tests for the detection of biosurfactants. A) hemolysis on blood agar; B) emulsification index; C) foaming PPGAS broth; and D) oil dispersion.**

Toribio-Jimenez *et al.* (2014) report a strain of *Pantoea vagans* producing BS resistant isolated heavy metals from the tailings El Fraile in Mexico, all these strains have been proposed as alternatives to accelerate bioremediation processes, but have not evaluated their ability to promote plant growth. We report thirteen strains of *P. agglomerans* with 99% identity, such as species *Pantoea* sp already said., They have been reported as endophytes of various crops, which stands *Pantoea ananatis* isolated from leaves and seeds of *Panicum virgatum* known as grass "rod" in

**Cuadro 1. Índice de emulsificación a las 24 h (IE<sub>24</sub>) de las cepas aisladas de la rizosfera de los pastos Tanzania y Llanero del Rancho el Tecamate.**

**Table 1. Index emulsification at 24 h (IE<sub>24</sub>) strains isolated from the rhizosphere of Tanzania and Llanero pastures of Rancho el Tecamate.**

Pasto	Cepa	IE <sub>24</sub>			
		Diésel	Gasolina	Aceite vegetal	Petróleo
Control	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	48	74	54.5	72.7
Tanzania	M1C6	0	54.5	38.4	0
	M3C1	18.5	35.7	3.7	5.35
	M4C1	18.5	7.27	18.5	5.5
	M4C4	20	0	2	0
	M5C3	4	0	20	55
	M6C1	18	8.8	21	56
	M7C1	18	2	2	38
	M7C3	0	2	20	0
Llanero	M8C1	19	2	20	0
	M8C3	6	6	4	6
	M11C1	6	4	8	2
	M15C2	0	2	4	4
	M15C3	4	8	8	2

En cuanto al IE<sub>24</sub> todas las cepas fueron capaces de emulsificar prioritariamente el aceite vegetal, diésel, gasolina y petróleo respectivamente, destacando entre ellas las cepas M1C6 y la M3C1 aislada de los pastos Tanzania, estos datos son concordantes con los descritos en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de superficies hospitalarias (Toribio-Jiménez *et al.*, 2015). Jacobucci *et al.* (2009) describen una cepa de *P. agglomerans* aislada de suelos contaminado con aceite capaz de crecer y producir BS empleando keroseno como única fuente de carbono, lo que la proponen como candidata para biorremediar sitios contaminados con hidrocarburos, es posible que las cepas aisladas en este estudio sean capaces de crecer en hidrocarburos como única fuente de carbono también por su habilidad mostrada en la emulsificación. Se ha descrito que el BS producido por *Pantoea* sp., es de tipo glicolípido (Dewart *et al.*, 2006; Gomes de Almeida *et al.*, 2015), por lo que presumiblemente el BS producido por las cepas nativa sean del tipo glicolípido. Aunado a la producción de BS por cepas de *Pantoea* sp., es importante destacar el ahondar en su estudio como potencial en la promoción de crecimiento vegetal ya que muchas son capaces de solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno y producir fitohormonas con la finalidad de favorecer la producción y control biológico de forrajes para la industria pecuaria en México.

Canada by Gagne-Bourgue *et al.* (2013), confirming the vertical transmission to the next generation of hosts, the above is consistent with our findings because only one species as best producer of BS in the rhizosphere of grasses Tanzania and Llanero identified.

As for the IE<sub>24</sub> all strains were able to primarily emulsify vegetable oil, diesel, gasoline and oil respectively, highlighting including M1C6 strains and M3C1 isolated from Tanzania pastures, these data are consistent with those described in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital surfaces (Toribio-Jimenez *et al.*, 2015). Jacobucci *et al.* (2009) describe a strain of *P. agglomerans* isolated from soil contaminated with oil able to grow and produce BS using kerosene as sole carbon source, what bioremediate proposed as candidate for hydrocarbon contaminated sites, it is possible that the strains isolated in this study are able to grow in hydrocarbons as sole carbon source for their ability also shown in emulsification. It described that the BS produced by *Pantoea* sp., Is of glycolipid type (Dewart *et al.*, 2006, Gomes de Almeida *et al.*, 2015), so presumably the BS produced by native strains are the glycolipids type. In addition to the production of BS by strains of *Pantoea* sp., It is important to delve into his study as potential in promoting plant growth as many

## Conclusión

Se reporta por primera vez trece cepas *Pantoea agglomerans* capaz de producir biosurfactante asociada a la rizosfera de los pastos Tanzania y Llanero en el rancho "Tecomate" dedicado principalmente a los sistemas de producción de animales en pastoreo en el estado de Guerrero, entre las cepas se destacan a la M1C6 y la M3C1, estos datos reflejan el pobre estudio que hay de la búsqueda de bacterias productoras de BS en pastos, y sobre la ecología microbiana de la rizosfera en los pastos, por lo que es importante aislar e identificar en las bacterias el biosurfactante y su papel biológico sobre la producción de pastos o forrajes como una alternativa en el sector pecuario en el estado de Guerrero.

## Literatura citada

- Cerdas, R. y Vallejos, E. 2011. Disponibilidad de biomasa del pasto Guinea (*Megathyrsus maximus*) Tanzania con varias fuentes y dosis de nitrógeno en Guanacaste, Costa Rica. *Inter Sedes*. 12(23):32-44.
- Cooper, D. G. and Goldenberg, B. G. 1987. Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 53(2):224-229.
- Cruz, A. T.; Cazacu, A. C. y Allen, C. H. 2007. *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen causing human disease. *J. Clin. Microbiol.* 45(6):1989-1992.
- De Almeida, F. C. G.; Silva, T. A. D. L.; Garrard, I.; Asfora, L.; Sarubbo, G. M. D. C. T. and Tambourgi, E. B. 2015. Optimization and evaluation of biosurfactant produced by *Pantoea* sp. using pineapple peel residue, vegetable fat and corn steep liquor. *J. Chem. Chem. Eng.* 9(2015):269-279.
- Enríquez, Q. F.; Melendez, N. F. y Bolaños-Aguilar, E. D. 1999. Tecnología para la producción y manejo de forrajes tropicales en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Veracruz. Libro técnico Núm. 7. Veracruz, México. 262 pp.
- Gagne-Bourgue, F.; Aliferis, K. A.; Seguin, P.; Rani, M.; Samson, R. y Jabaji, S. 2013. Isolation and characterization of indigenous endophytic bacteria associated with leaves of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) cultivars. *J. Appl. Microbiol.* 114(3):836-853.
- Gopalakrishnan, M.; Kumar, A. S.; Mody, K. and Jha, B. 2006. Biosurfactant production by marine bacteria. *Nat. Acad. Sci. Lett.* 29:95-101.
- Jacobucci, D. F. C.; Oriani, M. R. D. G. and Durrant, L. R. 2009. Reducing COD Level on oil effluent by utilizing biosurfactant producing bacteria. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52(4):1037-1042.
- Jiménez, O.; Contreras, N. y Rodríguez, C. 2007. Identificación y caracterización de *Pantoea agglomerans* aislada en plantas de gloxinia (*Gloxinia alba*). *Bioagro.* 19(1):53-57.

are capable of solubilizing phosphates, fix nitrogen and produce plant hormones in order to encourage production and biological control of fodder for the livestock industry in Mexico.

## Conclusion

It reported first thirteen strains *Pantoea agglomerans* capable of producing biosurfactant associated with the rhizosphere of Tanzania and Llanero pastures in the "Tecomate" ranch dedicated primarily to production systems grazing animals in the state of Guerrero, between strains highlighted the M1C6 and M3C1, these data reflect poor study about finding producing bacteria BS in pasture, and on the microbial ecology of the rhizosphere on pasture, so it is important to isolate and identify bacteria the biosurfactant and its biological role on pasture or forage production as an alternative in the livestock sector in the state of Guerrero.

*End of the English version*



- Jimenez-Islas, D.; Medina-Moreno, S. A. y Gracida-Rodriguez, J. N. 2010. Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos: una revisión. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 26(1):65-84.
- Juárez, R. A. S.; Cerrillo, S. M. A.; Gutiérrez, O. E.; Romero, T. E. M.; Colin, N. J. y Bernal, B. H. 2009. Estimación del valor nutricional de pastos tropicales a partir de análisis convencionales y de la producción de gas *in vitro*. *Tec. Pec. Mex.* 47(1):55-67.
- Makkar, R. S.; Cameotra S. S. and Banat, I. M. 2011. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. *AMB Express.* 1(5):1-19.
- Pacwa-Plociniczak, M.; Plaza, G. A.; Piotrowska-Seget, Z. and Cameotra, S. S. 2011. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *Int. J. Mol. Sci.* 12(1):633-654.
- Pasebani, M.; Yaakub, H.; Sijam, K. and Alimon, A. R. 2010. Isolation and identification of epiphytic lactic acid bacteria from Guinea grass (*Panicum maximum*). *Am. J. Animal Vet. Sci.* 5(2):146-150.
- Pérez-Vargas, J.; Anaya-Reza, O.; Chang-Solis, C. K.; Membrillo-Venegas, I. L. and Calva-Calva, G. 2010. Producción de biosurfactantes por bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno crecidas en hidrocarburos. *Revista CENIC-ciencias químicas.* 41:1-9.
- Raiger-Iustman, J. L. y López, N. I. 2009. Los biosurfactantes y la industria petrolera. *Química viva.* 8(3):146-16.

- Rakesh Kumar, M.; Jain, K. M.; Avinash, M. and Bhavanath, J. 2012. Isolation and structural characterization of biosurfactant produced by an alkaliphilic bacterium *Cronobacter sakazakii* isolated from oil contaminated wastewater. *Carbohydrate Polymers*. 87(3):2320-2326.
- Sachdev, D. P. and Cameotra, S. S. 2013. Biosurfactants in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97(3):1005-1016.
- Son, H. J.; Park, G. T.; Cha, M. S. and Heo, M. S. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresour. Technol.* 97(2):204-210.
- Toribio-Jiménez, J.; Rodríguez-Barrera, M. A.; Valdez-Lucena, M.; Barrera-Flores, A.; Segura, D.; Wilson-Corral, V.; Flores-Alfaro, E. and Romero, Y. 2014. Production of biosurfactants by bacteria isolated from a mine tailing zone in Southern Mexico and their resistance to heavy metals. *J. Bacteriol. Res.* 6(4):23-31.
- Toribio-Jiménez, J.; Aguirre-Noyola, J. L.; Ramírez-Romero, Y.; Rodríguez-Barrera, M. A.; Román-Román, A.; Garza-Ramos, U.; Ruvalcaba-Ledezma, J. C.; Ayala-Sánchez, A. and Velázquez-Aradillas, J. C. 2015. *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to antibiotics and heavy metals, producing biosurfactant, pyocyanin and biofilm from surfaces hospital environment. *Bothalia Journal*. 45(4):36-45.
- Vasileva-Tonkova, E. and Gesheva, V. 2007. Biosurfactant production by antarctic facultative anaerobe *Pantoea* sp., during growth on hydrocarbons. *Curr. Microbiol.* 54(2):136-41.
- Wild, M.; Caro, A. D.; Hernández, A. L.; Miller, R. M. and Soberón-Chávez, G. 1997. Selection and partial characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* mono-rhamnolipid deficient mutant. *FEMS microbiology letters*. 153(2):279-285.