

Caracterización de bacterias endófitas y rizosféricas aisladas del sorgo con potencialidades en la estimulación del crecimiento vegetal

Characterization of rhizosphere and endophytic bacteria isolated from sorghum with a potential in plant growth promotion

Bladimir A. Díaz-Martín^{1*}, René Cupull-Santana², Yelenys Alvarado-Capó³, Roldan Torres-Gutierrez¹, Ana María Suárez-Hernández¹, Pilar Hernández- Pedroso⁴.

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara (54830), Villa Clara, Cuba.

2. Centro de Investigaciones Agropecuarias. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Cuba.

3. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Cuba.

4. U.P Estab. Prov. Suelos y Fertilizantes. MINAGRI. Villa Clara. Cuba.

E-mail: bladimir@uclv.edu.cu

RESUMEN. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar bacterias aisladas del interior de las raíces y rizosfera del sorgo a los 7, 30 y 60 días de ciclo del cultivo. Las cepas con potencialidades en la promoción del crecimiento vegetal se aislaron mayormente en los primeros días del ciclo del cultivo y presentaron una morfología variada siendo la mayoría Gram negativas. Todas las bacterias fueron capaces de producir ácido-3-indolacético (AIA) y el cincuenta por ciento de ellas solubilizó fosfatos.

Palabras clave: AIA, rizosfera, solubilización de fosfatos, *Sorghum bicolor*.

ABSTRACT. This study aimed to characterize bacteria isolated from the interior roots and rhizosphere of sorghum, at 7, 30 and 60 days of the crop cycle. The strains with potential in promoting plant growth were isolated mostly in the early days of the crop cycle and had a varied morphology, the largest part of them being Gram negative. All bacteria were able of producing indole-3-acetic acid (IAA) and fifty percent of them solubilized phosphates.

Key words: IAA, phosphate solubilization, rhizosphere, *Sorghum bicolor*.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal pueden estar presentes en la rizosfera e incluso en el interior de los tejidos de las plantas. Ellas realizan su acción a través de diferentes mecanismos o modos de acción los cuales en su conjunto pueden ejercer una estimulación del crecimiento vegetal (Verma *et al.*, 2010). Estas bacterias constituyen la base para la elaboración de productos biofertilizantes (Vessey, 2003) que resultan inocuos para el hombre y el medioambiente además de permitir la sustitución parcial o total de la fertilización química y una mayor resistencia de las plantas a las condiciones de estrés impuestas por el cambio climático que tiene lugar en los momentos actuales. Por ello el objetivo de la presente investigación fue la obtención y caracterización de aislados

bacterianos provenientes del cultivo del sorgo para su futura utilización como productos biofertilizantes en condiciones de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los aislados se obtuvieron a partir de la variedad de sorgo UDG-110 sembrada en suelo Pardo mullido medianamente lavado ubicado en la Estación Experimental Agrícola “Álvaro Barba Machado” perteneciente al Centro de Investigaciones agropecuarias de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas y de un suelo Ferralítico rojo típico ubicado en la zona de Toranzo, Remedios. Se tomaron muestras de suelo rizosférico y raíz a los 7, 30 y 60 días de ciclo del cultivo con el objetivo

de obtener la mayor diversidad microbiana posible teniendo en cuenta los propios cambios fisiológicos que se producen en la planta y en la secreción de sustancias a través de la raíz. Se realizaron diluciones seriadas a partir de suelo rizosférico y del interior de la raíz las que fueron depositadas en medio NFb y Agar nutriente. En el caso de la raíz se realizó la desinfección superficial de la misma con alcohol al 75% durante 1min y posteriormente fueron sumergidas en bicloruro de mercurio (HgCl₂) durante 2 min. Luego de la desinfección de las raíces se procedió al lavado intenso de las mismas (hasta 10 veces) con agua destilada estéril y se realizó la maceración las mismas para su posterior siembra en placas. Las placas fueron incubadas a 30°C. Los aislados

obtenidos se caracterizaron morfológicamente. Se determinó, a las 48 horas de crecido el cultivo en caldo nutriente, la producción de ácido-3-indolacético por el método de Salkowski (Glickmann y Dessaux, 1995). La solubilización de fosfatos se determinó utilizándose el medio pikoskaya y se midió en cm el halo alrededor de la colonia con una regla milimetrada, conjuntamente se determinó la modificación del pH en el medio NBRIP (Nautiyal, 1999). A los datos obtenidos provenientes de las evaluaciones se les comprobó su normalidad y homogeneidad de varianzas y se les aplicó ANOVA de clasificación simple a través de la prueba de Tukey HSD. El paquete estadístico aplicado fue Statgraphics Centurión XV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislados bacterianos con características más prominentes en la estimulación del crecimiento vegetal comprobados en condiciones semicontroladas (resultados no mostrados) en su mayoría fueron obtenidos en los primeros días de ciclo del cultivo, o sea, a los 7 y 30 días (tabla 1), lo cual presupone una pronta colonización y establecimiento de las bacterias en nichos asociados con la raíz y rizosfera lo que les permite a partir de aquí ejercer efectos sobre el

crecimiento vegetal de la planta a través de diferentes modos o mecanismos de acción. La caracterización morfológica de los aislados bacterianos muestra un crecimiento que va desde ligero o moderado hasta abundante en medio agar nutriente. El color de las colonias fue variable mostrando en su mayoría viscosidad, bordes regulares y elevadas sobre el medio. La morfología predominante fue bacilo corto con respuesta negativa al Gram. (tabla 2)

Tabla 1. Procedencia de los aislados

Cepa No. (código)	Suelo	Días del ciclo	Procedencia	Medio de cultivo
4 (PNF-57)	Pardo	7	Rizosfera	NFb
5 (FE-53)	Ferralítico	7	Endófito raíz	Agar nutriente
6 (FE-55)	Ferralítico	7	Endófito raíz	Agar nutriente
8 (PRz-119)	Pardo	30	Rizosfera	Agar nutriente
14 (FRz-130)	Ferralítico	30	Rizosfera	Agar nutriente
15 (FE-64)	Ferralítico	30	Endófito raíz	Agar nutriente
19 (PRz-144)	Pardo	60	Rizosfera	Agar nutriente
22 (FNF-54)	Ferralítico	30	Rizosfera	NFb
24 (FRz-106)	Ferralítico	7	Rizosfera	Agar nutriente
27 (FRz-127)	Ferralítico	30	Rizosfera	Agar nutriente

Todas las cepas bacterianas fueron capaces de producir ácido-3-indolacético destacándose la cepa 4 de manera muy significativa. El 50 por ciento de las cepas bacterianas solubilizaron fosfato en medio pikoskaya, además todas redujeron el pH del medio NBRIP a partir del inicial 7, destacándose la cepa 22 con un pH de 3.9. Al observar estos resultados se puede inferir que no solamente se produce la solubilización de

fosfatos a través de la producción de ácidos orgánicos sino también a través de la posible acción de la enzima fosfatasa (tabla 3 y fig. 1). Estos modos o mecanismos de acción son de gran importancia en la promoción del crecimiento vegetal del sorgo (Idris *et al*, 2009), (Suzuki *et al.*, 2004) y presupone la posible utilización de estas bacterias en productos biofertilizantes en condiciones de campo.

Tabla 2. Caracterización morfológica de los aislados en medio agar nutritivo

Cepa No. (código)	Crecimiento	Color	Viscosidad	Bordes	Elevación	Morfología	Gram
4 (PNF-57)	+++	2*	++	++	++	CB	-
5 (FE-53)	++	2***	-	++	+	BL	-
6 (FE-55)	+	3*	+++	+	++	BL	-
8 (PRz-119)	+	3*	+	+	++	BL	+
14 (FRz-130)	+++	3*	+	++	+	BC	+
15 (FE-64)	++	3**	+++	+	++	BC	-
19 (PRz-144)	++	3**	+++	+	+	BC	-
22 (FNF-54)	+	3*	+++	+	++	BC	-
24 (FRz-106)	+	2***	+++	++	++	BC	-
27 (FRz-127)	++	3*	+++	+	++	BC	-

Leyenda

Crecimiento: (+) ligero (++) moderado (+++) abundante; Color: (1) Transparente (2) Translucido (3) Opaco (2*) rosado translucido (2***) blanco translucido (3*) blanco opaco (3**) amarillo opaco; Viscosidad: (-) ninguna (+) ligero (++) moderado (+++) abundante; Bordes: (+) regular (++) irregular; Elevación: (+) plano (++) elevado; Gram: (+) positivo (-) negativo; Morfología: (BL) bacilo largo (BC) bacilo corto (CB) cocobacilo

Tabla 3. Producción de ácido-3-indolacético y pH en medio NBRIP de los aislados

Cepa No. (código)	AIA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) (48 horas)	pH en medio NBRIP (72 horas)
4 (PNF-57)	145.56 a	5.7 d
5 (FE-53)	10.17 d	5.0 c
6 (FE-55)	31.18 b	5.0 c
8 (PRz-119)	4.44 de	5.8 d
14 (FRz-130)	2.63 de	5.6 d
15 (FE-64)	8.63 de	6.5 e
19 (PRz-144)	0.70 e	5.8 d
22 (FNF-54)	3.92 de	3.9 a
24 (FRz-106)	9.33 de	4.4 b
27 (FRz-127)	22.48 c	5.2 c
EE	1.72	0.08

Letras desiguales en una misma columna difieren para $p < 0.05$ por Tukey HSD

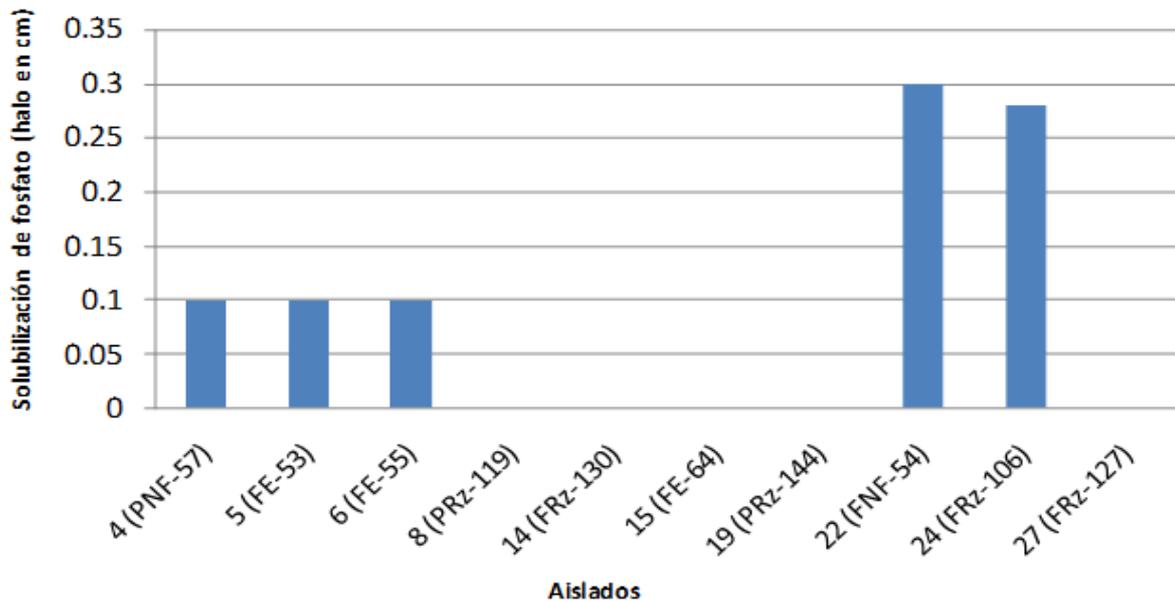


Figura 1. solubilización de fosfato en medio pikoskaya (halo en cm)

CONCLUSIONES

1. Las bacterias con potencialidades en la promoción del crecimiento vegetal se aislaron en los primeros días del ciclo del cultivo.
2. Las cepas obtenidas presentaron una morfología variada, la mayoría fueron Gram negativos.
3. Todas las bacterias fueron capaces de producir ácido-3-indolacético y el 50 % de ellas solubilizó fosfatos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Glickmann, E. y Dessaux, Y. A critical examination of the specificity of the Salkowsky reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl. Environm Microbiol* 61: 793-796, 1995.
2. Idris, A., Labuschagne, N., Korsten, L. Efficacy of rhizobacteria for growth promotion in sorghum under greenhouse conditions and selected modes of action studies. *Journal of Agricultural Science*, 147: 17–30, 2009.
3. Nautiyal, CS. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters* 170: 265-270,1999.
4. Pikovskaya, R.I. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 17: 362-370, 1948.
5. Suzuki, S., He, Y. And Oyaizy, H. Indole-3-acetic acid production in *Pseudomonas fluorescens* HP72 and its association with suppression of creeping bentgrass brown patch. *Current Microbiology* 47: 138–143, 2004.
6. Verma, J. P., J. Yadav, K. N. Tiwari, Lavakush y V. Singh. Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on crop production. *Int. J. Agric. Res.* 5(11): 954-983, 2010.
7. Vessey, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571–586, 2003.

Recibido: 24/06/2012

Aceptado: 11/09/2012