

Potencialidades de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, aisladas de *Portulaca oleracea* L. en suelos con salinidad

Potentialities of plant growth promoting bacteria, isolated from *Portulaca oleracea* L. in soils with salinity

Marbil Corrales-Lozada <https://orcid.org/0000-0003-0261-8624>, Victoria Lumbres <https://orcid.org/0000-0002-5489-5482>, Sebastian Iglesias-Osores <https://orcid.org/0000-0002-4984-4656> y Carmen Carreño-Farfán <https://orcid.org/0000-0003-0238-2666>

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Calle Juan XXIII, Lambayeque, Perú. Correo electrónico: sebasiglo@gmail.com

Resumen

Objetivo: Determinar el potencial de bacterias rizosféricas y endófitas de *Portulaca oleracea* L. como promotoras del crecimiento en suelos con salinidad.

Materiales y Métodos: Se colectaron 54 plantas de verdolaga, del distrito de Reque y Humedales de Eten, en la región Lambayeque, Perú. A partir de ellas se realizaron aislamientos de bacterias rizosféricas y endófitas fijadoras de nitrógeno. Se identificaron fenotípicamente, se cuantificó el amonio, fósforo soluble e indoles producidos y se estudió la tolerancia a 10 % NaCl.

Resultados: Se aislaron e identificaron las bacterias rizosféricas *Azospirillum* (23,1 %), *Azotobacter* (18,2 %), *Herbaspirillum* (15,85 %), *Beijerinckia* (12,2 %), *Burkholderia* (9,1 %), *Derxia* (6,01 %) y *Gluconacetobacter* (4,2 %) y las endófitas *Azospirillum* (43,3 %), *Herbaspirillum* (16,8 %), *Burkholderia* (14,4 %) y *Gluconacetobacter* (12,0 %).

Conclusiones: Las bacterias rizosféricas y endófitas de *P. oleracea* tienen como características que son fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfato, productoras de indoles y tolerantes a 10 % de NaCl.

Palabras clave: PGPR, bacterias rizosféricas, promotoras del crecimiento en plantas

Abstract

Objective: To determine the potential of rhizospheric and endophytic bacteria of *Portulaca oleracea* L. as growth promoters in soils with salinity.

Materials and Methods: Fifty four purslane plants were collected, from the Reque y Humedales de Eten district, in the Lambayeque region, Peru. From them isolations were made of rhizospheric and endophytic nitrogen-fixing bacteria. They were phenotypically identified, the ammonium, soluble phosphorus and indoles produced were quantified and the tolerance to 10 % NaCl was studied.

Results: The rhizospheric bacteria *Azospirillum* (23,1 %), *Azotobacter* (18,2 %), *Herbaspirillum* (15,85 %), *Beijerinckia* (12,2 %), *Burkholderia* (9,1 %), *Derxia* (6,01 %) and *Gluconacetobacter* (4,2 %) and the endophytic bacteria *Azospirillum* (43,3 %), *Herbaspirillum* (16,8 %), *Burkholderia* (14,4 %) and *Gluconacetobacter* (12,0 %) were isolated and identified.

Conclusions: The rhizospheric and endophytic bacteria of *P. oleracea* have as characteristics that they are nitrogen fixers, phosphate solubilizers, indole producers and tolerant to 10 % NaCl.

Keywords: PGPR, rhizospheric bacteria, plant growth promoters

Introducción

La salinización de los suelos es uno de los problemas más graves a los que se enfrenta la agricultura en el mundo (Zhang *et al.*, 2019). Los suelos afectados se caracterizan por la acumulación de cantidades excesivas de sales solubles, sodio intercambiable o ambos, y como consecuencia, se pierde la fertilidad y la biodiversidad y se genera la desertificación (Saier, 2010). En este contexto, el abandono de los suelos y el deterioro de la estructura y estabilidad

de las comunidades agrícolas genera la migración de los trabajadores rurales (Wicke *et al.*, 2011).

En la rizósfera de las plantas en general, incluso en las que son tolerantes a la salinidad, se encuentran rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas (PGPR, del inglés: *plant growth promotion rhizobacteria*). Estas bacterias sintetizan reguladores de crecimiento, solubilizadores de fosfatos y fijadores de nitrógeno atmosférico, estimulan el sistema de absorción de iones, además de disminuir

Recibido: 21 de septiembre de 2019

Aceptado: 07 de mayo de 2020

Como citar este artículo: Corrales-Lozada, Marbil; Lumbres, Victoria; Iglesias-Osores, S. & Carreño-Farfán, Carmen. Potencialidades de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, aisladas de *Portulaca oleracea* L. en suelos con salinidad. *Pastos y Forrajes*. 43:93-101, 2020.

Este es un artículo de acceso abierto distribuido en Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>. El uso, distribución o reproducción está permitido citando la fuente original y autores.

el ataque de fitopatógenos mediante la competencia, el parasitismo, la lisis enzimática y la antibiosis e inducción de resistencia (Nadeem *et al.*, 2014). Las PGPR constituyen una alternativa para disminuir el uso de los fertilizantes químicos. La eficiencia de recuperación (porcentaje del nutriente aplicado en el fertilizante absorbido por la planta) es diferente y resulta, como promedio, 50, 30 y 60 % para el N, P y K aplicado, respectivamente (Navarro-García y Navarro-García, 2014).

La especie *Portulaca oleracea* L. prolifera en suelos con salinidad, debido a sus mecanismos propios, como la tolerancia al ion sodio y el ajuste osmótico, aunque también en este comportamiento desempeñan una función muy importante los microorganismos asociados a la rizósfera, que se adaptan a las condiciones adversas del entorno y, como consecuencia, maximizan sus capacidades como PGPR (Paul y Nair, 2008). Entre estos microorganismos, las bacterias rizosféricas, después de su inoculación en los cultivos, pueden tener un efecto benéfico en ellos y hacer exitoso su establecimiento.

La región Lambayeque-Perú tiene problemas de baja producción y de salinidad, derivados de la degradación de los suelos. Sin embargo, en la actualidad, las bacterias rizosféricas y endófitas de *P. oleracea* no se han aislado para su caracterización, y uso posterior como biofertilizantes en cultivos sembrados en suelos con salinidad elevada. A partir de estas consideraciones, el objetivo de este trabajo fue determinar el potencial de bacterias rizosféricas y endófitas de *P. oleracea* como promotoras del crecimiento vegetal en suelos con salinidad.

Materiales y Métodos

Material vegetal. Se colectaron las plantas de *P. oleracea* (verdolaga), del distrito de Reque y Humedales de Eten en la región Lambayeque, Perú, durante febrero-abril de 2016. A partir de ellas, se realizaron aislamientos de bacterias rizosféricas y endófitas fijadoras de nitrógeno.

Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias. Se seleccionaron suelos que presentan problemas de salinidad, reconocidos por su dureza y costras blancas en su superficie. Se colectaron 54 muestras de raíces de verdolaga con suelo adherido. Las plantas se extrajeron con una pala y se seleccionaron, aproximadamente, 50 g de raíces y suelo adherido. Se depositaron en bolsas de polietileno y se transportaron en una caja térmica (10 ± 1 °C) hacia el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Perú.

Simultáneamente al muestreo, para el aislamiento de bacterias, se colectó una muestra compuesta de 1 kg de suelo radicular para su análisis fisicoquímico (tabla 1). El suelo es fuertemente alcalino, con textura arenosa, niveles bajos de materia orgánica y nitrógeno, así como nivel medio de fósforo disponible y potasio.

Las bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno, aerobias y microaerófilas, se aislaron de las

Tabla 1. Análisis fisicoquímico de muestra compuesta de suelo radicular de *P. oleracea*.

Indicador	Valor
pH	9,3
CE, dS m ⁻¹	29,5
MO, %	0,3
N, %	0,1
P, ppm	14,6
K, ppm	287,0

raíces con suelo rizosférico, las que previamente se deshidrataron bajo sombra durante 72 h. Las raíces se fragmentaron (5 cm) y se tomaron aleatoriamente 10 g de raíces con suelo adherido. Posteriormente, se depositaron en frascos con 90 mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,7 % m/v). Después de agitar el contenido manualmente, durante 10 minutos, se tomaron alícuotas. Con el propósito de aislar bacterias aerobias, se inocularon las alícuotas mediante la técnica de aislamiento por agotamiento por estría sobre la superficie de medios de cultivo sólidos, sin nitrógeno. La técnica de puntura se utilizó en medios de cultivo semisólidos, sin nitrógeno, (una gota por tubo) para el aislamiento de las bacterias microaerófilas.

Las bacterias aerobias se aislaron en los medios de cultivo sólidos LG (*Azotobacter*), LGD (*Derxia*) y BEIJ (*Beijerinckia* spp), según lo indicado por Frontera (1983). Después de la incubación a 30 ± 2 °C durante dos días, con los morfotipos de las bacterias representativas, se obtuvieron suspensiones en solución salina esterilizada y se subcultivaron para su purificación en sus respectivos medios de cultivo sólidos.

Para bacterias microaerófilas, los medios de cultivo semisólidos fueron NFb y LGI (*Azospirillum* spp), JNFb (*Herbaspirillum* spp), LGI-P (*Gluconacetobacter* spp) y JMV (*Burkholderia* spp), de acuerdo con Silva-Froufe *et al.* (2009). Después de la incubación

a 30 ± 2 °C durante siete días, se seleccionaron los medios en los que se observó una película blanquecina bajo la superficie y el viraje del indicador. En similares medios de cultivo, por dos veces consecutivas, se realizaron subcultivos.

Para el aislamiento de bacterias microaerófilas con la película bacteriana, se obtuvo una suspensión en solución salina estéril y se inoculó en los medios sólidos respectivos. Luego, se incubaron a 30 ± 2 °C durante 48 h. Los diversos morfotipos de las bacterias aisladas se cultivaron nuevamente en el medio semisólido (tercer subcultivo), y después en el medio sólido correspondiente. Con las colonias de las bacterias aerobias y microaerófilas se realizaron tinciones de Gram y se cultivaron en agar nutritivo y medios sólidos y semisólidos, sin nitrógeno. Se constituyeron así los cultivos puros de bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno, que se guardaron en refrigeración (8 °C).

Las bacterias endófitas, fijadoras de nitrógeno microaerófilas, se aislaron de las raíces desinfectadas superficialmente. Las raíces se lavaron con agua potable para retirar el suelo adherido y se cortaron en fragmentos de 5 cm. Se pesaron 5 g y se depositaron en frascos con tapa, de 500 mL de capacidad, previamente esterilizados, con el propósito de lavarlas después con 50 mL de agua destilada más detergente neutro 0,005 % m/v durante un minuto. Posteriormente, se enjuagaron por cuatro veces consecutivas con agua destilada estéril, a razón de un minuto por enjuague. Después, se agitaron por 15 minutos en solución tampón de fosfato de potasio (0,05 mol L⁻¹, pH 7,0). Se sometieron a inmersión en alcohol (70 % v/v) por un minuto, y se agitaron durante cinco minutos en solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 %, a la que se le agregó unas gotas de Tween 80. El tejido se llevó a frascos previamente esterilizados para su inmersión por un minuto en alcohol al 70 %, seguida de agitación en solución tampón durante 15 min. Finalmente, se lavaron por cuatro veces con agua destilada esterilizada.

El tejido vegetal desinfectado se depositó en papel secante para eliminar el exceso de humedad, y luego se llevó a bolsas de polietileno de 16 x 15 cm, donde se trituró resuspendido en 0,5 mL⁻¹ de solución salina estéril (NaCl 0,87 % p/v). Con una jeringa se extrajo 1 mL del macerado, y se inoculó inmediatamente una gota por doble puntura en los medios de cultivo semisólidos sin nitrógeno: NFb, LGI, JNFb, LGI-P y JMV (Garrido-Rubiano, 2007). Después de la inoculación, se procedió de manera similar a

lo antes descrito en bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno microaerófilas.

La identificación del género de las bacterias rizosféricas y endófitas fijadoras de nitrógeno se realizó en función de las características morfológicas y fisiológicas, según la bacteriología sistemática (Argüello-Navarro *et al.*, 2016). Con todas las bacterias se realizaron pruebas de catalasa, oxidasa y motilidad. Para bacterias aerobias del género *Azotobacter*, se realizaron las pruebas de reducción de nitratos y acidificación de glucosa, sacarosa, maltosa y fructuosa. Para los géneros *Derrxia* y *Beijerinckia*, las pruebas fueron producción de indol, utilización del citrato como fuente de carbono, crecimiento en 1 % de peptona y acidificación de glucosa, sacarosa y manitol.

La cuantificación del amonio producto de la fijación de nitrógeno *in vitro* se realizó con el método colorimétrico de Berthelot, la del fósforo producto de la solubilización de fosfato *in vitro* mediante el método colorimétrico de molibdato, y la cuantificación de indoles producidos *in vitro* según la reacción colorimétrica de Salkowski (Lara-Mantilla *et al.*, 2007). Las bacterias rizosféricas y endófitas se cultivaron en caldo nutritivo con 5 % NaCl (m/v) a 30 °C, durante 24 h. El crecimiento bacteriano se manifestó por turbidez o película superficial, y se procedió inmediatamente al cultivo en caldo nutritivo con 10 % de NaCl (m/v). Se consideraron las bacterias tolerantes por el crecimiento que se observó. Este criterio, unido a los mayores valores en la concentración de amonio, fósforo soluble e indoles, se consideró para la selección de las bacterias rizosféricas (ocho aerobias, ocho microaerófilas y ocho endófitas).

Análisis estadístico. Se aplicó la estadística descriptiva y se utilizó el programa estadístico SPSS®, versión 15.0 y Minitab® 15.

Resultados

Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias. En los tres medios de cultivo sólidos sin nitrógeno (LG, LGD y BEIJ) se aislaron bacterias fijadoras de nitrógeno aerobias, cuya presencia se evidenció por las colonias desarrolladas y el viraje del indicador al amarillo (tabla 2). La frecuencia de muestras de raíces, que se calculó del total de los aislamientos con suelo rizosférico y bacterias fijadoras de nitrógeno aerobias, fue de 62,9, 33,3 y 14,8 % en LG, BEIJ y GD, respectivamente. A su vez, en el aislamiento se obtuvieron 73 cultivos puros de bacterias fijadoras de nitrógeno aerobias,

Tabla 2. Características diferenciales de bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno aerobias.

Características	<i>Azotobacter</i>	<i>Derxia</i>	<i>Beijerinckia</i>
Células	Bacilos rectos	Bacilos pequeños	Bacilos pequeños
Tinción de Gram	-	-	-
Motilidad	+	+	+
Catalasa	+	+	+
Oxidasa	+	+	+
Producción de indol		+	-
Utilización de citrato		+	+/-
Crecimiento en 1% de peptona		+	-
Acidificación de:			
- Glucosa	+	+	+
- Sacarosa	+	+	+
- Fructosa	+		
- Maltosa	+		
- Manitol		+	+
Reducción de nitratos	+		

cuya procedencia correspondió a 47,9, 32,8 y 19,17 % en LG, BEIJ y GD, respectivamente.

En cinco medios de cultivo semisólidos sin nitrógeno, se aislaron bacterias rizosféricas y endófitas fijadoras de nitrógeno microaerófilas, cuya presencia se evidenció por una película blanquecina formada bajo la superficie del medio de cultivo y por el viraje del indicador (tabla 3). La frecuencia de muestras de raíces con suelo rizosférico, que se calculó del total de los aislamientos de bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno microaerófilas, después de tres subcultivos, fue de 48,1; 38,8; 29,6; 27,7 y 6,6 % en JNFb; LGI; Nfb; JMV y LGI-P, respectivamente. Se obtuvieron 91 cultivos puros de bacterias fijadoras de nitrógeno, cuya procedencia correspondió a 29,6, 24,1; 18,6; 17,5 y 9,8 % en JNFb; LGI; Nfb; JMV y LGI-P, respectivamente (figura 1).

La frecuencia de muestras de raíces, calculada del total de los aislamientos con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno después de tres subcultivos, fue 44,1; 29,6; 25,9; 20,4 y 20,3 %, en JNFb, LGI, Nfb, JMV y LGI-P, respectivamente. En el aislamiento se obtuvieron 83 cultivos puros de bacterias fijadoras de nitrógeno (figura 2).

En las bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno se identificaron *Azospirillum* (23,1 %), *Azotobacter* (18,2 %), *Herbaspirillum* (15,8 %), *Beijerinckia* (12,1 %), *Burkholderia* (9,1 %), *Derxia* (6,09 %) y *Gluconacetobacter* (4,2 %). En las endófitas fijadoras de nitrógeno se encontraron *Azospirillum*

(43,3 %), *Herbaspirillum* (16,8 %), *Burkholderia* (14,4 %), y *Gluconacetobacter* (12,04 %). Todo esto del total de las cepas aisladas (figura 3).

En cuanto a los aislamientos de bacterias rizosféricas, entre las del medio LG se identificó *Azotobacter* (85,7 %); entre las BEIJ, *Beijerinckia* (83,3 %); y entre las del LGD, *Derxia* (71,4 %). Entre las bacterias aisladas en Nfb y LGI, se reconoció *Azospirillum* (100 %), y entre las que se aislaron en JNFb se halló *Herbaspirillum* (96,2 %). Con respecto a las del medio JMV, se identificó *Burkholderia* (88,2 %); mientras que entre las del LGI-P se encontró *Gluconacetobacter* (77,7 %).

De las endófitas aisladas en los medios Nfb y LGI se identificó *Azospirillum* (90 %), y entre las del medio JNFb se halló *Herbaspirillum* (82,6 %). De las correspondientes al JMV, se identificó *Burkholderia* (85,7 %) y de las aisladas en LGIP, *Gluconacetobacter* (83,3 %).

El 88,9 % de los cultivos de bacterias rizosféricas fijaron nitrógeno *in vitro*. Fueron aerobias 36,5 % de las bacterias, y 52,4 % microaerófilas. En los cultivos de bacterias aisladas, 86,7 % de las bacterias fueron endófitas.

En la tabla 4 se muestran las concentraciones máximas de amonio por cada género: 64 ppm (*Azospirillum* sp. Nfb19R); 27,2 ppm (*Azotobacter* sp. LG11A); 25,6 ppm (*Burkholderia* sp. JMV22bR); 20,8 ppm (*Herbaspirillum* sp. JNFb20R); 16 ppm (*Beijerinckia* sp. 9AR) y 8 ppm (*Derxia* sp. LGD5B y *Gluconacetobacter* sp. LGI-P45). Para

Tabla 3. Características diferenciales de las bacterias fijadoras de nitrógeno microaerófilas.

Características	<i>Azospirillum</i> spp.	<i>Herbaspirillum</i> spp.	<i>Gluconacetobacter</i> spp.	<i>Burkholderia</i> spp.
Células	Pleomórficas	Bacilos curvos	Bacilos pequeños	Bacilos rectos
Tinción de Gram	-	-	-	-
Motilidad	+	+	+	+
Catalasa	+	+/-	+	+
Oxidasa	+	+	+	+
Hidrólisis de la urea	+	+/-	+	
Hidrólisis de gelatina	-/+		+	+
Reducción de nitratos	+		+	
Hidrólisis de almidón			+	
Descarboxilación de lisina		+		+
Crecimiento en caldo NFb				
Fuente de C (fijación de N):				
Ácido málico	+	+	+	+
Glucosa	-/+	+	+	+
Manitol	-/+	+	+	+
Sacarosa	-/+	+	+	+
Gránulos de PHA	+		+	
Resistencia a la Polimixina B(300J)				+

* (+) positivo; (-) negativo.

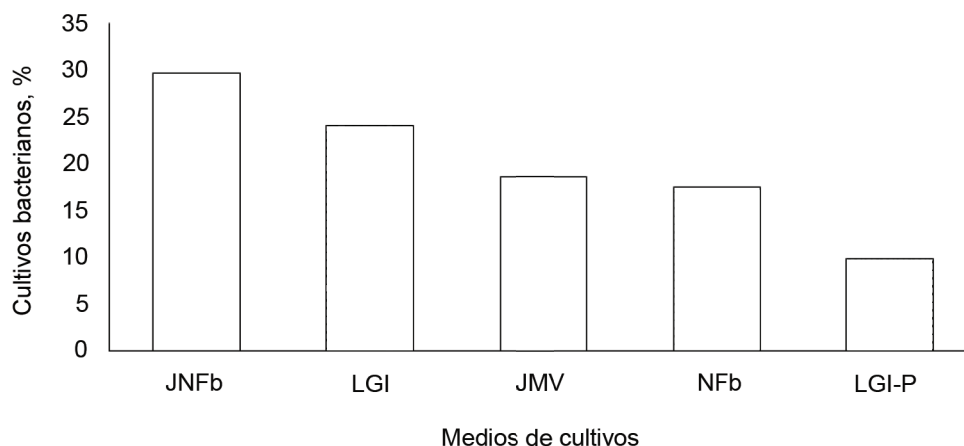


Figura 1. Porcentaje de bacterias rizosféricas fijadoras de nitrógeno microaerófilas, aisladas en cinco medios semisólidos.

las bacterias endófitas, las concentraciones máximas fueron 23,2 ppm (*Burkholderia* sp. JMV1E); 21,6 ppm (*Azospirillum* sp. LGI34AE); 13,6 ppm (*Herbaspirillum* sp. JNFb15E) y 8 ppm (*Gluconacetobacter* sp. LGI-P2BE).

El 96 % de cultivos de bacterias rizosféricas solubilizó fosfato *in vitro*. De las bacterias aisladas, el 54 % correspondió a aerobias, y 42 % a microaerófilas; mientras que, en los cultivos de bacterias aisladas, 95 % de las bacterias fueron endófitas (tabla 4).

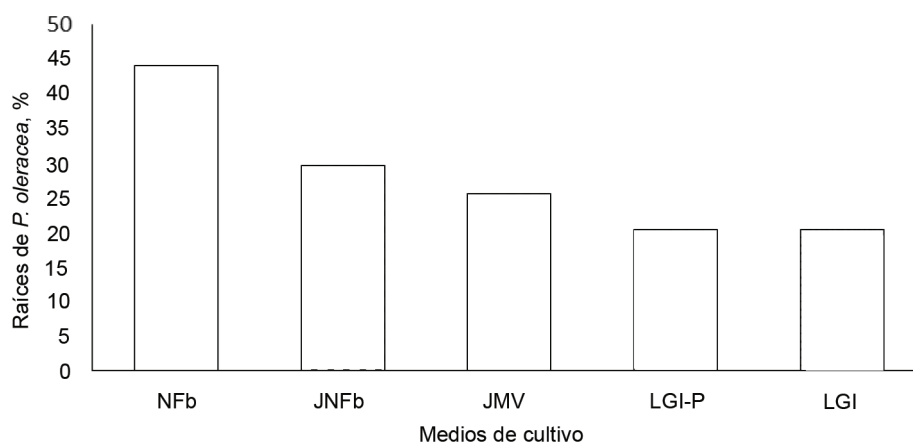


Figura 2. Frecuencia de raíces de *P. oleracea* con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno, aisladas en cinco medios semisólidos después de tres subcultivos.

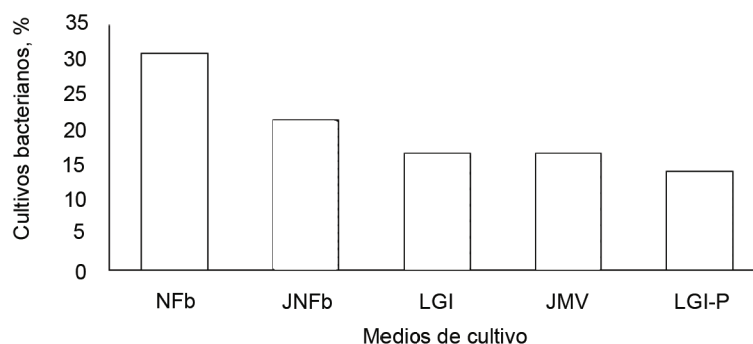


Figura 3. Porcentaje de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno, aisladas en cinco medios semisólidos.

Las concentraciones máximas de fósforo soluble fueron: 64,9 ppm (*Burkholderia* sp. JMV53bR); 51,4 ppm (*Gluconacetobacter* sp. LGI-P33R); 19,2 ppm (*Herbaspirillum* sp. JNFb49R); 16,9 ppm (*Azospirillum* sp. LGI38R); 49,2 ppm (*Derxia* sp. LGD5C); 14,4 ppm (*Azotobacter* sp. LG11B) y 14,3 ppm (*Beijerinckia* sp. 4R). Con las bacterias endófitas, las concentraciones máximas correspondieron a los siguientes valores: 16,02 ppm (*Azospirillum* sp. LGI54E); 11,89 ppm (*Gluconacetobacter* sp. LGI-P12E); 11,86 ppm (*Burkholderia* sp. JMV19E) y 11,39 ppm (*Herbaspirillum* sp. JNFb15E).

El 99,3 % (162) de los cultivos de bacterias rizosféricas (43,0 y 56,3 %, aerobias y microaerófilas, respectivamente) y 100 % (80) de las bacterias endófitas produjeron indoles *in vitro* (tabla 4). Las concentraciones máximas de indoles fueron: 142,2 ppm (*Azospirillum* sp. LGI18R); 92,2 ppm (*Herbaspirillum* sp.

JNFb13R); 80,8 ppm (*Burkholderia* sp. JMV53bR); 64,9 ppm (*Gluconacetobacter* sp. LGI-P45R); 56,7 ppm (*Azotobacter* sp. LG27); 51,4 ppm (*Beijerinckia* sp. 1R) y 49,2 ppm (*Derxia* sp. LGD5C). Con las bacterias endófitas, las concentraciones máximas correspondieron a los valores siguientes: 85,3 ppm (*Herbaspirillum* sp. JNFb15E); 64,9 ppm (*Gluconacetobacter* sp. LGI-P45E); 60 ppm (*Azospirillum* sp. Nfb33E) y 49,6 ppm (*Burkholderia* sp. JMV21E).

El 73,3 % de los cultivos de bacterias rizosféricas toleró 5 % de cloruro de sodio. Fueron aerobias y microaerófilas el 26,8 y 46,9 %, respectivamente.

En los cultivos de bacterias aisladas, 78,5 % de las bacterias fueron endófitas.

Por otra parte, el 30,4 % de los cultivos de bacterias rizosféricas toleró 10 % de cloruro de sodio. De ellas, 12,19 % fueron aerobias y 18,29 % microaerófilas.

Tabla 4. Características de bacterias rizosféricas y endófitas, aisladas de *P. oleracea*.

Bacterias código	Amonio, ppm	Fósforo, ppm	Índoles, ppm	Tolerancia NaCl 10%
<i>Azotobacter</i> sp. LG11ARA	27,2	4,4	19,1	+
<i>Azotobacter</i> sp. LG11BRA	7,2	14,7	19,6	+
<i>Azotobacter</i> sp. LG33RA	8,8	11,2	30,0	+
<i>Azotobacter</i> sp. LG25RA	8,0	8,6	34,7	+
<i>Azotobacter</i> sp. LG27RA	8,0	8,6	56,7	+
<i>Beijerinckia</i> sp. 53AA	1,6	15,3	95,6	+
<i>Derxia</i> sp. LGD5CRA	2,4	6,7	49,2	+
<i>Derxia</i> sp. LGD7RA	4,0	10,9	19,1	+
<i>Azospirillum</i> sp. NFb42RM	14,4	13,9	23,7	+
<i>Azospirillum</i> sp. NFb447RM	8,8	12,8	51,4	+
<i>Azospirillum</i> sp. LGI49RM	10,4	9,3	3,6	+
<i>Azospirillum</i> sp. LGI12RM	9,6	7,4	84,3	+
<i>Burkholderia</i> sp. JMV47RM	12,0	6,7	27,7	+
<i>Gluconacetobacter</i> sp. LGI-P40RM	1,6	8,8	73,3	+
<i>Herbaspirillum</i> sp. JNFb22RM	10,4	9,6	18,5	+
<i>Herbaspirillum</i> sp. JNFb20RM	20,8	6,4	67,1	+
<i>Azospirillum</i> sp. NFb46E	3,2	11,4	54,2	+
<i>Azospirillum</i> sp. NFb50E	13,6	4,7	85,3	+
<i>Azospirillum</i> sp. LGI34AE	21,6	6,9	46,5	+
<i>Azospirillum</i> sp. LGI38E	4,8	8,4	30,9	+
<i>Burkholderia</i> sp. JMV1E	23,2	11,5	20,0	+
<i>Burkholderia</i> sp. JMV44E	3,2	13,2	36,2	+
<i>Gluconacetobacter</i> sp. LGI-P20E	3,2	11,1	26,2	+
<i>Herbaspirillum</i> sp. JNFb15E	13,2	4,7	85,3	+

RA= Rizosféricas aerobias, RM= Rizosféricas microaerófilas, E= Endófitas

Las bacterias que toleraron 10 % de cloruro de sodio, y alcanzaron los mayores valores en la concentración de amonio, fósforo soluble e índoles, se estudiaron para determinar su efecto en el desarrollo vegetativo del tomate. Para ello, se consideraron 16 cultivos de bacterias rizosféricas (ocho de aerobias y ocho de microaerófilas), y ocho de endófitas.

Los géneros del resto de las bacterias se identificaron con la utilización de glucosa, manitol y sacarosa, como fuentes de carbono para la fijación de nitrógeno. Se recurrió, además, al crecimiento en caldo NFb, para *Herbaspirillum*; a la hidrólisis de urea, gelatina y reducción de nitratos para *Gluconacetobacter*; y a la hidrólisis de la gelatina, descarboxilación de lisina y resistencia a 300 UI de Polimixina B, en el caso de *Burkholderia*.

En 85,7 % (30) de las bacterias rizosféricas aisladas en el medio LG, se identificó el género *Azotobacter*. En 83,3% (20) de las que se aislaron en BEIJ, se reconoció el género *Beijerinckia*, y en 71,4 % (10) de

las aisladas en el medio LGD, el *Derxia*. En 100 % (38) de las bacterias que se aislaron en NFb y LGI se identificó el *Azospirillum*; en 6,2 % (26) de las aisladas en JNFb, se pudo ver el *Herbaspirillum*. De las que estuvieron en el medio JMV, en 88,2 % (15) se registró el *Burkholderia*, y 77,7 % (7) de las que se encontraban aisladas en LGI-P, se identificó como del género *Gluconacetobacter*.

En 90 % (36) de las bacterias endófitas, aisladas en los medios NFb y LGI, se reconoció el género *Azospirillum*; en 82,6 % (14) de las que se hallaron en el medio JNFb se reconoció el *Herbaspirillum*. En tanto, en 85,7 % (12) de las bacterias que estuvieron en el medio JMV, se identificó el *Burkholderia*; y en 83,3 % (10) de las aisladas en LGIP, se registró el género *Gluconacetobacter*.

Discusión

Debido a la aplicación constante de productos químicos en los campos de cultivo, el costo de producción de las cosechas, la calidad ambiental del suelo

y el agua se han afectado (Solomon *et al.*, 2000). Las bacterias rizosféricas, que habitan el suelo de la superficie de las raíces, establecen una relación con las plantas, aunque no de manera obligatoria. Se consideran endófitas porque viven en los tejidos (Aguado-Santacruz, 2012) durante una etapa (facultativas) o durante todo su ciclo de vida (obligadas), por lo que se aislaron de las raíces previamente desinfectadas.

Las rizobacterias son capaces de estimular el crecimiento de las plantas mediante variados mecanismos, que incluyen la mejora de la nutrición, la producción y la regulación de las fitohormonas, así como la supresión de los organismos que causan enfermedades (Martínez-Viveros *et al.*, 2010).

En las bacterias endófitas, se identificaron los géneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia* y *Gluconacetobacter*, referidos previamente en *Zea mays* L.. Se han aislado bacterias endófitas de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, que incluyen desde especies arbóreas leñosas (Brooks *et al.*, 1994) hasta plantas herbáceas, como la remolacha azucarera (Jacobs *et al.*, 1985) y *Z. mays* (Gutiérrez-Zamora y Martínez-Romero, 2001).

En las rizosféricas, se reconocieron *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* y *Derrxia* spp. Estos géneros bacterianos han sido informados antes en la rizósfera de diversos cultivos agrícolas: *Gluconacetobacter* en *Z. mays* (Mehnaz *et al.*, 2006), *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia* y *Burkholderia* en *Oryza sativa* L. (Ahmadi-Rad *et al.*, 2016), *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia* y *Derrxia* en *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K.Simon & Jacobs, *Dichanthium aristatum* (Poir.) C.E. Hubb y *Brachiaria* sp. (Garrido-Rubiano, 2007; Garrido *et al.*, 2010).

Los PGPR a menudo tienen más de un mecanismo para mejorar el crecimiento de las plantas. La evidencia experimental sugiere que su estimulación es el resultado neto de múltiples procesos que se activan simultáneamente (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Las bacterias aisladas en este estudio fijaron nitrógeno, solubilizaron fosfato y sintetizaron indoles. Estos microorganismos solubilizadores muestran efectos en el crecimiento vegetal, entre los que se incluyen la producción de ácido indol acético, giberélico, citoquininas y etileno; así como en la fijación de nitrógeno, características necesarias para que un microorganismo se considere promotor del crecimiento (Banerjee *et al.*, 2010;

Souza *et al.*, 2015). Asimismo, se plantea que estos microorganismos incrementan la altura, la biomasa radicular y el aérea de las plantas, lo que sucede a la liberación de productos químicos que favorecen el crecimiento (González y Fuentes, 2017). En experimentos de inoculación también mostraron aumento significativo en el peso seco del brote en condiciones controladas, un incremento en la capacidad de solubilización de P y una mejora en la eficiencia de asimilación del N (Montañez *et al.*, 2012).

Conclusiones

Las bacterias rizosféricas y endófitas de *P. oleacea* se caracterizan por ser fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfato, productoras de indoles y tolerantes a 10 % de NaCl.

Contribución de los autores

- Marbil Corrales-Lozada. Participó en la génesis de la idea, el diseño de proyecto, la recolección, la interpretación de datos y el análisis de resultados, así como en la preparación del manuscrito.
- Victoria Lumbres. Participó en la génesis de la idea, el diseño de proyecto, la recolección, la interpretación de datos y el análisis de resultados, así como en la preparación del manuscrito.
- Sebastian Iglesias-Osores. Participó en la génesis de la idea, el diseño de proyecto, la recolección, la interpretación de datos y el análisis de resultados, así como en la preparación del manuscrito.
- Carmen Carreño-Farfán. Participó en la génesis de la idea, el diseño de proyecto, la recolección, la interpretación de datos y el análisis de resultados, así como en la preparación del manuscrito.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos.

Referencias bibliográficas

- Aguado-Santacruz, G. A. *Uso de microorganismos como biofertilizantes. Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura*. Celaya, Guanajuato, México. México: INIFAP, SAGARPA, 2012.
- Ahmadi-Rad, S.; Gholamhoseini, M.; Ghalavand, A.; Asgharzadeh, A. & Dolatabadian, A. Foliar application of nitrogen fixing bacteria increases growth and yield of canola grown under different nitrogen regimes. *Rhizosphere*. 2:34-37, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.08.006>.
- Argüello-Navarro, Adriana Z.; Madiedo-Soler, N. & Moreno-Rozo, Laura Y. Cuantificación de bacterias diazótrofes aisladas de suelos cacaoteros

- (*Theobroma cacao* L.), por la técnica de Número Más Probable (NMP). *Rev. Colomb. Biotecnol.* 18 (2):40-47, 2016. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.47678>.
- Banerjee, S.; Palit, R.; Sengupta, C. & Standing, D. Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. *AJCS.* 4 (6):378-383, 2010.
- Brooks, D. S.; Gonzalez, C. F.; Appel, D. N. & Filer, T. H. Evaluation of endophytic bacteria as potential biological control agents for oak wilt. *Biol. Control.* 4 (4):373-381, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1006/bcon.1994.1047>.
- Frontera, G. M. Un medio de cultivo exento de nitrógeno combinado para el desarrollo de diferentes especies bacterianas fijadoras de N₂. *Rev. Fac. Agron., Universidad de Buenos Aires.* 4 (1):15-18, 1983.
- Garrido, M. F.; Cárdenas, D. M.; Bonilla-Buitrago, R. R. & Baldani, V. L. Efecto de los factores edafoclimáticos y la especie de pasto en la diversidad de bacterias diazotróficas. *Pastos y Forrajes.* 33 (4):403-412. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000400006, 2010.
- Garrido-Rubiano, María F. *Aislamiento e identificación de bacterias diazotróficas rizosféricas y endófitas asociadas a suelos y pastos de valle y sabana del Cesar en dos épocas climáticas*. Tesis de maestría en Biología Aplicada. Bogotá: Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada, 2007.
- González, H. & Fuentes, Natalia. Mecanismo de acción de cinco microorganismos promotores de crecimiento vegetal. *Rev. Cienc. Agr.* 34 (1):17-31, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22267/rcia.173401.60>.
- Gutiérrez-Zamora, M. L. & Martínez-Romero, E. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). *J. Biotechnol.* 91 (2-3):117-126, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00332-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00332-7).
- Jacobs, M. J.; Bugbee, W. M. & Gabrielson, D. A. Enumeration, location, and characterization of endophytic bacteria within sugar beet roots. *Can. J. Bot.* 63 (7):1262-1265, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1139/b85-174>.
- Lara-Mantilla, Cecilia; Villalba-Anaya, Mara & Oviedo-Zumaqué, L. E. Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 9 (2):6-14. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/711>, 2007.
- Martínez-Viveros, O.; Jorquera, M. A.; Crowley, D. E.; Gajardo, G. & Mora, M. L. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by Rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 10 (3):293-319, 2010. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100006>.
- Mehnaz, S.; Weselowski, B. & Lazarovits, G. Isolation and identification of *Gluconacetobacter azotocaptans* from corn rhizosphere. *Syst. Appl. Microbiol.* 29 (6):496-501, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.12.001>.
- Montañez, Adriana; Rodríguez-Blanco, Andrea; Barlocco, Claudia; Beracochea, M. & Sicardi, Margarita. Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects *in vitro*. *Appl. Soil Ecol.* 58:21-28, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.009>.
- Nadeem, S. M.; Ahmad, M.; Zahir, Z. A.; Javaid, A. & Ashraf, M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol. Adv.* 32 (2):429-448, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.005>.
- Navarro-García, G. & Navarro-García, S. *Fertilizantes: química y acción*. España: Mundi-Prensa, 2014.
- Paul, D. & Nair, S. Stress adaptations in a plant growth promoting *Rhizobacterium* (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *J. Basic Microb.* 48 (5):378-384, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/jobm.200700365>.
- Saier, M. H. Desertification and migration. *Water Air Soil Poll.* 205 (suppl. 1):31-32, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9429-6>.
- Silva-Froufe, Lúcia G. da; Boddey, R. M. & Reis, Verónica M. Quantification of natural populations of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum* spp. in sugar cane (*Saccharum* spp.) using different polyclonal antibodies. *Braz. J. Microbiology.* 40 (4):866-878, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-838220090004000018>.
- Solomon, K.; Giesy, J. & Jones, P. Probabilistic risk assessment of agrochemicals in the environment. *Crop Prot.* 19 (8-10):649-655, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00086-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00086-7).
- Wicke, B.; Smeets, E.; Dornburg, Veronika; Vashev, B.; Gaiser, T.; Turkenburg, W. *et al.* The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected soils. *Energ. Environ. Sci.* 4 (8):2669-2681, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1039/c1ee01029h>.
- Zhang, K.; Shi, Y.; Cui, X.; Yue, P.; Li, K.; Liu, X. *et al.* Salinity Is a key determinant for soil microbial communities in a desert ecosystem. *mSystems.* 4 (1):e00225-00218, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/mSystems.00225-18>.