

## Selección de Microorganismos Promotores de Crecimiento Vegetal (Ácido Indol Acético) a partir de Muestras de Suelo Rizosférico, como Primera Etapa en el Desarrollo de un Biofertilizante

*Selection of Plant Growth Promoters Microorganisms (Indole Acetic Acid) Isolated from Soil Samples as a First Step in Development a Biofertilizer*

CASTELLANOS, Diana. castellanosdiana@hotmail.com; CUBILLOS, Ricardo. Pontificia Universidad Javeriana, jaime.cubillos@javeriana.edu.co; ARGÜELLO, Heliodoro. Universidad Nacional de Colombia, harguelloa@unal.edu.co

### Resumen

El aislamiento de microorganismos con potencial para ser promotores de crecimiento vegetal, en la última década, se ha convertido en una estrategia importante para el desarrollo de bioinsumos de uso agrícola, que contribuyen con la disminución del impacto ambiental, mejoramiento de la calidad nutricional de los productos y enriquecimiento del suelo con las diferentes interacciones entre microorganismos benéficos, la rizosfera y la planta. En este estudio se evaluaron 34 cepas de bacterias no filamentosas y 6 de actinomicetos, a partir de muestras de suelo rizosférico de diferentes plantas, con el fin de evaluar su capacidad productora *in-vitro* de AIA (Ácido Indol Acético) y así establecer un cepario de posibles Microorganismos Promotores de Crecimiento Vegetal. Se realizaron fermentaciones discontinuas en frascos de penicilina de 8 mL con medio BT durante 12 días. La determinación de AIA producido en cada cultivo se obtuvo por medio del Test de Salkowsky, estableciendo las concentraciones en  $\mu\text{g}$  AIA/mL. Las cepas seleccionadas fueron aquellas que presentaron una concentración de AIA mayor a  $5\mu\text{g/mL}$ , la cepa B1Pto4 presentó una producción de  $47\mu\text{g/mL}$ , siendo la concentración de AIA más alta encontrada. Además la producción general de AIA en la mayoría de los microorganismos evaluados, se presentó entre los días 2 y 4 días.

**Palabras claves:** Promotores de crecimiento vegetal, biofertilizante, Salkowsky.

### Abstract

*The isolation of microorganisms with potential as plant growth promoters, in the last decade has become an important strategy in the development of biological products used in agriculture, which contribute to the decrease of the environmental impact, improvement of the nutritional quality of products and the soil enrichment with different benefit microbial interactions, the rizosphere and the plant. In this study 34 strains of non filamentous bacteria and 6 strains of actinomycete were evaluated from rizospheric soil of different plant crops in order to assess their production capability *in-vitro* of IAA (Indole Acetic Acid) and establish a group of possible plant growth promoters microorganisms. Discontinuous fermentations were carried out in 8mL volume penicillin flasks with BT medium culture during 12 days. The IAA production of each culture was determined by the Salkowsky test established in concentrations of  $\mu\text{g/mL}$ . The selected strains were those that show an IAA concentration higher than  $5\mu\text{g/mL}$ . The B1pto4 strain showed IAA production of  $47\mu\text{g/mL}$ , being the highest found in this study. The overall production of IAA in the majority of the cultures was presented between the 2 and 4 days.*

**Keywords:** Plant growth promotion, biofertilizer, Salkowsky.

### Introducción

Los microorganismos que actúan como fertilizantes, son aquellos capaces de establecerse en el suelo, específicamente en la rizosfera y aportar nutrientes esenciales como el fósforo y nitrógeno, transformando las formas no asimilables en asimilables para las plantas. Los promotores de

## Resumos do VI CBA e II CLAA

crecimiento vegetal rizosféricos (PGPRs), además de tener las cualidades anteriormente descritas, también secretan sustancias al medio como metabolitos secundarios, estos son llamados fitohormonas, las cuales estimulan el desarrollo vegetal. Los géneros más representativos y estudiados son *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., y actinomicetos como *Streptomyces* sp. La raíz de las plantas, es uno de los órganos más sensibles a las fluctuaciones de AIA, en presencia de crecientes cantidades de AIA exógeno, se observa un alargamiento de la raíz primaria y aumento de la producción de raíces adventicias, así como en las plántulas jóvenes ayuda a adherirse al suelo rápidamente (PATTEN Y GLICK,2002).

Teniendo en cuenta lo anterior, el uso de inoculantes biológicos junto con un manejo adecuado del suelo, permite mejorar el crecimiento vegetal, estimulando la fertilidad del suelo, ayudando a preservar el medio ambiente. De esta manera, se propone evaluar la producción de ácido indol acético de diferentes cultivos microbianos, empleando una técnica colorimétrica (Test de Salkowsky), para seleccionar microorganismos posibles promotores de crecimiento vegetal y así establecer una alternativa para el desarrollo un polinoculo (biofertilizante), que tenga la capacidad de promover el crecimiento vegetal y pueda ser utilizado en el campo agrícola, manejando bajos costos, disminuyendo el impacto ambiental y mejorando la producción agro-industrial.

### Metodología

**Curva patrón de AIA:** Se tomaron diferentes concentraciones de AIA (Sigma) y se realizaron concentraciones de 0, 2, 4, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 µg/mL, siguiendo la metodología propuesta por CELIS Y GALLARDO (2008).

**Fermentación discontinua:** Después de verificar la pureza de cada una de las cepas evaluadas, en frascos de 8mL de volumen total, se colocó 5,40mL del medio BT líquido con 20 g/mL de triptona y se inocularon 60 µL de cada microorganismo, con una concentración de  $3 \times 10^8$  microorganismos/mL según el tubo 1 del nefelómetro de Mc Farland para bacterias no filamentosas y para actinomicetos por medio del conteo de células en cámara de Neubauer. Se utilizaron 4 frascos por cada microorganismo, de acuerdo con los tiempos de muestreo, con el fin de disminuir el riesgo de contaminación en cada período de toma de muestra. Las bacterias se incubaron durante 6 días a 28°C y 200 rpm, tomando muestra a los días 0, 2, 4 y 6. Los actinomicetos durante 12 días con muestreos el día 0, 4, 8 y 12. Posteriormente, se centrifugó cada muestra, se tomó el extracto crudo o sobrenadante y se congeló a -20°C en tubos Eppendorf por triplicado (GALLARDO y CELIS, 2008).

**Determinación de AIA:** Una vez finalizada la curva, las muestras se descongelaron y se determinó la producción de ácido indol acético con el reactivo de Salkowsky preparado con ácido perclórico al 5.8M y cloruro férrico al 10nM, según la metodología propuesta por Gallardo y Celis (2008). Las concentraciones de AIA se obtuvieron con base al patrón de concentraciones de AIA anteriormente descrito.

### Resultados y Discusión

De las 40 cepas bacterianas y evaluadas, tan solo 29 presentaron producción de AIA siendo 0,3 µg/mL la concentración mínima encontrada y 47,8 µg/mL la máxima (Tabla 1). Durante los días 2 y 4 se observó que la producción de AIA aumento significativamente para 12 cepas de bacterias no filamentosas, mientras que para las otras 29 restantes la producción fue nula o mínima. De estas 40 cepas, 6 cepas eran actinomicetos, los cuales presentaron concentraciones de AIA no mayores a 5µg/mL

## Resumos do VI CBA e II CLAA

TABLA 1. Producción de AIA en  $\mu\text{g/mL}$  por 34 cepas bacterianas durante el tiempo de fermentación. En el círculo se indica el valor mayor de AIA producido.

Cepa	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6
S01	1,45	1,67	1,65	1,83
*S02	1,55	6,75	6,93	5,70
S03	1,57	4,71	4,35	3,04
S04	1,41	2,40	2,05	2,31
S05	1,43	2,31	2,46	1,99
S06	1,51	4,41	4,43	3,46
S07	1,77	2,52	2,07	2,09
*S08	1,45	3,62	5,28	2,33
*S09	1,53	7,58	6,77	4,73
*S010	1,51	5,96	5,38	5,90
B6	1,43	2,64	3,67	3,20
B53	1,79	2,15	2,92	1,39
B29	1,73	2,44	1,63	1,45
B18	1,69	1,89	1,89	1,65
B14	1,61	2,44	2,70	2,23
*B12	1,47	6,31	7,88	7,07
B57	1,79	3,16	2,62	2,92
B19	1,59	2,38	2,21	2,15
B15	1,73	2,35	2,15	2,07
B40	1,45	1,69	2,09	1,51
B2 Mplan2	1,73	1,41	1,45	2,56
B3 Mplan2	1,79	1,71	1,51	2,46
B1 Pto4	1,81	47,76	39,83	44,83
B2 Pto3	1,93	1,67	1,65	2,15
B2 Pto 4	1,95	66,95	26,00	2,52
1.8	1,77	1,63	1,61	2,29
1.7	1,57	1,43	1,47	1,71
15	2,01	4,98	1,73	2,25
2,1,1	1,81	7,90	4,51	4,35
1,2	1,65	2,74	2,70	2,52
316 L	1,85	1,39	1,51	1,79
A6	1,73	9,43	5,70	6,81
155/4	1,55	8,32	3,97	5,40
2,3	1,61	7,11	4,45	3,16

Las cepas que presentaron mayor producción de AIA en el ensayo fueron S02, S08, S09, S010, B12 y COL N9 151 (Tabla 1). La cepa B1 Pto 4 presentó el pico máximo de producción de AIA al día 2 y 4 respectivamente (Figura 1) y el actinomiceto COL N9 151 al día octavo de crecimiento (Figura 2). En general, los actinomicetos evaluados presentaron producción de AIA en los días 4 y 8, debido a que su crecimiento es lento. A partir del día 4 de fermentación, la concentración de AIA comienza a descender, lo cual podría estar relacionado con el consumo del AIA producido en la fase estacionaria, como una fuente de energía cuando son escasos los otros nutrientes del medio (ZAHIR et al, 2004). Algunas cepas presentaron una concentración máxima, hasta el día 6 indicando que los microorganismos no aumentan su producción de AIA durante su desarrollo en el medio.

## Resumos do VI CBA e II CLAA

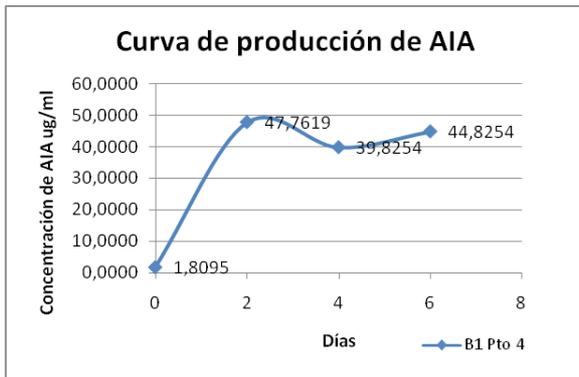


FIGURA 1. Produção de AIA de la cepa B1 Pto 4 durante 6 días de fermentación

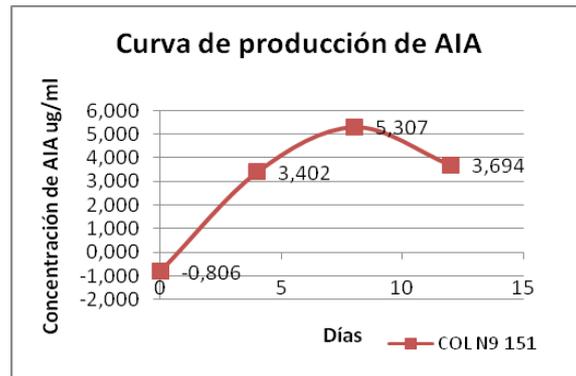


FIGURA 2. Produção de AIA de la cepa de actinomicetos COL N9 151 durante 6 días de fermentación .

### Conclusiones

De las 40 cepas evaluadas, 11 cepas se seleccionaron como posibles promotores de crecimiento vegetal, para posteriores ensayos debido a su capacidad de producir AIA. El medio BT con triptona, logró inducir la producción de AIA en las cepas. Se observó que las bacterias no filamentosas producen mayor cantidad de AIA, comparado con los actinomicetos. El estudio de estos microorganismos es útil para posteriores ensayos y para establecer un cepario con microorganismos promisorios, aislados de suelos rizosféricos, con el fin de generar alternativas viables en la producción de biofertilizantes útiles en la actividad agrícola y explorar la biodiversidad microbiana en Colombia.

### Referencias

GALLARDO, I; CELIS, D. *Estandarización de métodos de detección de promotores de crecimiento vegetal (ácido indol acético y giberelinas) en cultivos microbianos*. 2008. 140 f. (Tesis de pregrado) - Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. 2008.

PATTEN, C. GLICK, B. Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Applied and environmental microbiology*, Whashington, v. 68, n. 8, p. 3795 – 3801, 2002.

ZAHIR, Z.; ARSHAD, M.; FRANKENBERGER, W. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, San Diego, v. 81, p. 97-168, 2004.