



Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal andinas sobre el crecimiento de plántulas de lechuga bajo condiciones industriales

Alexandra Stoll

Centro de Estudios de Zonas Áridas Ceaza

Víctor Olalde

Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN | CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS

Jaime Bravo

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE PÉNJAMO

correo-e: jaime.patricio@uppenjamo.edu.mx

Resumen

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) pueden utilizarse para fortalecer el crecimiento sustentable de las plantas. En el presente trabajo se seleccionaron 200 aislados obtenidos de pastos andinos de las zonas áridas de la cordillera de los Andes y de agroecosistemas del norte de Chile. Los aislados mostraron gran capacidad de solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno, producir fitohormonas y sideróforos. Además, potenciaron significativamente el desarrollo de plántulas de lechuga variedad *desert storm* (escarola), respecto a su altura (45%), peso fresco (30%), longitud radicular (35%) y contenido de clorofila (lecturas de un 50% más de OD) a menores dosis de fertilización (33%). Los resultados obtenidos sugieren que las BPCV identificadas pueden emplearse para la producción de plántulas de lechuga, bajo condiciones de invernadero, con fertirriego automatizado.

Palabras clave: biofertilizantes, solubilizadora de fosfato, fijadores de nitrógeno.

Introducción

Las bacterias benéficas que promueven el crecimiento de las plantas (BPCV) ejercen su efecto mediante mecanismos directos e indirectos (Figueiredo *et al.*, 2010). Un mecanismo indirecto involucra biodisponer nutrimentos básicos que la planta necesita para fortalecer su crecimiento y desarrollo.

En ese contexto, BPCV capaces de producir ácidos orgánicos funcionales para disponer el fosfato retenido en suelos calcáreos o alcalinos y aquellas BPCV fijadoras de nitrógeno (BNF), constituyen una opción eco-amigable para el diseño de insumos agrícolas multifuncionales.

De igual modo, se seleccionó y caracterizó un grupo de bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF), provenientes de la rizósfera de la planta nativa *Jarava frigida*, que forma parte de los pajonales altoandinos más desérticos de sudamérica y algunos fijadores de nitrógeno provenientes de terrenos agrícolas localizados en la zona de Pan de azúcar, IV Región de Coquimbo, Chile.

Finalmente, se evaluó la funcionalidad de inóculos BPCV simples y mixtos sobre cultivos de hortalizas bajo condiciones de producción industrial automatizada. Esta es la primera vez que se demuestra el efecto positivo que las bacterias nativas andinas ejercen en cultivos de interés agronómico.

Metodología

Aislamiento de BSF, BNF y evaluación de características bioquímicas básicas

15 gr de la rizósfera proveniente de *Jarava frigida* fueron utilizados para realizar siembras seriadas en medios PVK (Pikovskaya, 1948). Bacterias prometedoras con capacidad solubilizante (BSF) *in vitro* fueron seleccionadas de acuerdo con la fórmula semicuantitativa: $E = \frac{\text{diámetro de halo}}{\text{diámetro de colonia}} \times 100$ (Nguyen *et al.*, 1992).

Todos los aislados con razones mayores a 220 fueron seleccionados.

Bacterias fijadoras de nitrógeno fueron seleccionadas en medios NFB. Parámetros bioquímicos para determinar la producción de IAA, ACC deaminasa, fosfatasas alcalinas y ácidas y la producción de sideróforos se realizaron según protocolos previos y la estandarización por nuestro grupo.

Evaluación bajo condiciones industriales

Semillas de lechuga variedad *desert storm* (escarola) fueron previamente germinadas conforme a las condiciones del productor. Las plántulas fueron inoculadas a nivel raíz con los aislados BN0024, BNF039 y una combinación de BN0035+BNF039 crecidas a 10^5 /UFC.

Se evaluó el crecimiento bajo las condiciones productivas, aplicando tres niveles de fertirriego automatizado al 0%, 33% y 100% de dos a tres veces por día. Los parámetros examinados fueron: peso fresco, longitud radicular, altura y contenido de clorofila para un total de 500 plántulas por cada tratamiento.

Análisis estadísticos

Los datos experimentales fueron analizados con la prueba Turkey, ANOVA ($P < 0.05$) y paquetes estadísticos para software gráficos, XLSTAT y Sigma Plot.

Resultados y discusión

Se obtuvo un total de 200 aislados provenientes de pastos andinos y agroecosistemas del extremo norte de Chile. Análisis bioquímicos sugieren que los aislados BN0024, BN0035 y BNF039 fueron identificadas como dos cepas altamente solubilizadoras de fosfatos y un fijador de nitrógeno, respectivamente. Los tres aislados mostraron ser gram positivos, no expusieron actividad de ACC deaminasa y sólo el aislado BNF039 manifestó actividad de fosfatasa

alcalina y ácida, así como una fuerte actividad de sideróforos.

Es conocido que los fosfatos de calcio, incluyendo rocas minerales de fosfato (fluorapatita, francolita), son insolubles y no soportan las tasas necesarias para sostener los niveles agronómicos exigidos en los cultivos (Goldstein, 2000).

A nivel rizosférico y en suelos calcáreos, algunos BSF son capaces de generar ácidos carboxílicos que son liberados al medio ambiente e inducen una acidificación zonal del suelo (5). Como consecuencia, se capturan a alta afinidad las moléculas de calcio, liberando al fósforo retenido y haciéndolo más bio-disponible para las plantas (Fankem *et al.*, 2006). Ello proyecta a este tipo de microorganismos como una opción viable para potenciar la producción de los cultivos.

Asimismo, en ese estudio los tres aislados evaluados evidenciaron una producción de IAA de 20.4, 27.1 y 21.9 mg/L, respectivamente (cuadro 4). Es ampliamente conocido que IAA puede inducir crecimiento y desarrollo de los pelos radiculares y raíces secundarias, fortaleciendo la toma de nutrientes y la productividad vegetal.

En *Azospirillum*, el paso limitante en la producción de IAA dependiente de triptófano es catalizado por el gen *ipdC*, que codifica a una IPA descarboxilasa (Lambrecht *et al.*, 2000), ello indica la presencia de ese gen en nuestros aislados (dato no mostrado).

Los resultados indican que las plántulas de lechuga variedad *desert storm* inoculadas con los tres tratamientos, y crecidos bajo condiciones industriales, son potenciados significativamente en el peso fresco y longitud radicular respecto de su control (figura 4); esto sugiere un mejor establecimiento en campo.

Cuadro 4
Caracterización bioquímica básica
de los aislados bajo estudio

ID aislado	Reacción Gram		IAA mg/L	Fosfatasa		Sideróforos	Fijación de N	Fosfato solubilizado
	+	-		Alcalina	Ácida			
BN0024	+	-	20,4	-	-	-	+	++
BN0035	+	-	27,1	-	-	-	+	++
BNF039	+	-	21,9	+	+	++	++	+

Dicha estimulación permite aminorar las dosis de fertilización hasta en un 33% al comparar con plantas no inoculadas y fertilizadas al mismo nivel. El tratamiento B3 fue el más eficiente en plantas no fertilizadas y fertilizadas al 33%, respectivamente, lo cual señala un efecto sinérgico entre ambos aislados.

Este hecho es consistente con resultados publicados que demuestran que las BPCV son más efectivas cuando se agregan en combinación con fertilizantes, lo que potencia la floración, el peso de semillas, la elongación de tallos, el peso fresco del fruto o el tamaño de las hojas (Kumar *et al.*, 2009); y con el efecto positivo que algunos microorganismos ejercen sobre el maíz, al disminuir las concentraciones de fertilizantes inorgánicos fosfatados y nitrogenados a dosis de 50 y 100 kg por hectárea, respectivamente (Sarajuoghi *et al.*, 2012).

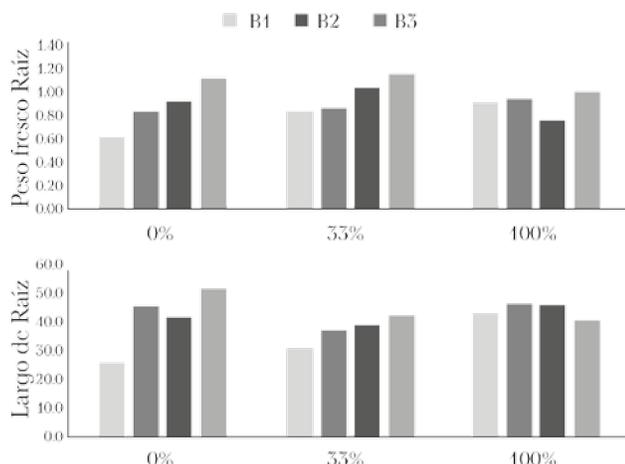


Figura 1. Evaluación de los aislados sobre el peso fresco (gr) y longitud radicular (cm). Las barras ■ y ■ representan el control sin inocular, tratamiento B1 y tratamiento B3, respectivamente. La barra ■ representa el tratamiento B2. los porcentajes 0%, 33% y 100% presentan los niveles de fertilización. Los cálculos se realizaron a los 20 días de crecimiento.

Los resultados mostrados están en sintonía con la estimulación que las bacterias del género *Azospirillum* (bajo condiciones de invernadero) ejercen sobre plantas de lechuga, al potenciar su biomasa, número de hojas, tamaño y peso seco (Chamangasht *et al.*, 2012) y la estimulación existente sobre plantas de tomate donde se ven favorecidas las métricas del crecimiento radicular, ancho de tallo y longitud del internodo (Ibiente *et al.*, 2012).

Se ha probado también que en hortalizas las BPGV del tipo *Bacillus* potencian no sólo el crecimiento de las plantas si no también la calidad del fruto (Mena-Violante y Olalde-Portugal, 2007). Además, se evaluó la altura y el contenido de clorofila en plantas inoculadas y no inoculadas con los tres tratamientos y se demostró que existe un efecto potenciador significativo (figura 2).

Los tratamientos B1, B2 y B3 resultaron ser eficientes para potenciar la altura de la plántula bajo condiciones de fertilización al 0% y 33%. A la vez fortalecen el contenido de la clorofila a dosis del 0%, 33% y 100% de fertilización respecto de su control, lo que sugiere una estimulación fisiológica en las plantas inoculadas.

Conclusiones

Las BPCV aisladas desde pastos nativos andinos y desde agroecosistemas del extremo norte de Chile revelaron ser eficientes en promover el crecimiento y desarrollo de las plántulas de lechuga bajo condiciones de producción automatizada. Los tratamientos permitieron generar plántulas más rápido a menores dosis de fertilización (33%) durante el periodo de permanencia en el almácigo.

Tal hecho sugiere que las BPCV pueden ser adaptadas a instalaciones automatizadas y ser utilizadas para potenciar el crecimiento de los cultivos bajo escenarios climáticos exigentes. Futuros análisis bioquímicos y moleculares son necesarios para comprender el lenguaje integral existente entre las plantas y los BPCV, a fin de mejorar la actividad de los mismos y optimizar el crecimiento de las plantas bajo escenarios climáticos de aridez.

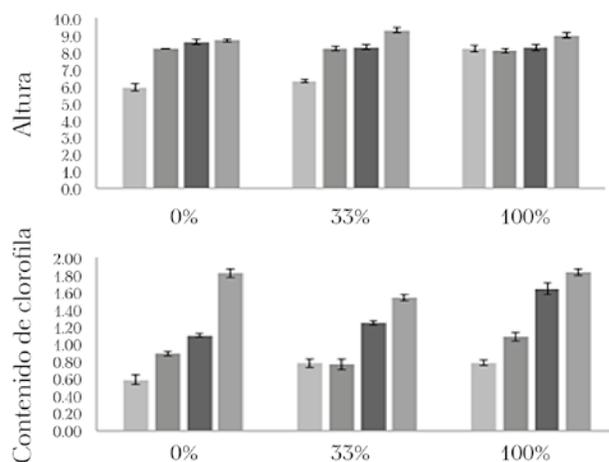


Figura 2. Efecto de los BPCV sobre la altura (cm) y el contenido de clorofila (OD) de plantas de lechuga a los 20 días de crecimiento.

Agradecimientos

Al Fondo de Innovación para la Competitividad Proyecto BIP-30127532, del Gobierno de Chile. A Stefani Maldonado y a Andrés Rodríguez por la asistencia técnica en la caracterización de los aislados y el seguimiento industrial.

Referencias

- Chamangasht, S., Ardakani, M.R., Khavazi, K., Abbaszadeh, B., Mafakheri, S. (2012). Improving Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Growth and Yield by the Application of Biofertilizers. *Annals of Biological Research*, 3(4):4876-79.
- Fankem, H., Nwaga, D., Deubel, A., Dieng, L., Merbach, W., Etoa, F.X. (2006). Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guineensis*) rhizosphere in Cameroon. *African Journal of Biotechnology*, 5(24):2450-60.
- Figueiredo, M.V.B., Seldin, L., do de Araujo, F.F., Mariano, R.L.R. (2010). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. doi: 10.1007/978-3-642-13612.2.2.
- Goldstein, A.H. (2000). Bioprocessing of rock phosphate ore: essential technical considerations for the development of a successful commercial technology. In Proceedings of the *4th International Fertilizer Association Technical Conference*. IFA, Paris.
- Ibiene, A.A., Agogbua, J.U., Okonko, I.O., Nwachi, G.N. (2012). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biofertilizer: Effect on growth of *Lycopersicon esculentum*. *Journal of American Science*, 8(2):318-24.
- Kumar, K.V., Srivastava, S., Singh, N., Behl, H.M. (2009). Role of metal resistant plant growth promoting bacteria in ameliorating fly ash to the growth of Brassica juncea. *Journal of Hazardous Materials*, 170(4):54-7.
- Lambrecht, M., Okon, Y., Vande Broek, A., Vanderleyden, J. (2000). Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. *Trends in Microbiology*, 8: 298-300.
- Mena-Violante, H.G., Olalde-Portugal, V. (2007) Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB. *Scientia Horticulturae*, 113:103-06.
- Nguyen, C., Yan, W., Le Tacon, F., Lapayrie, F. (1992). Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccariabicolor* (Maire) P.D. Orton. *Plant and Soil*, 143:193-99.
- Pikovskaya, R.I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, 17:362-70.
- Sarajuoghi, M., Reza, M.A., Nurmohammadi, Kashani, A., Rejali, F., Mafakheri, S. (2012). Response of Yield and Yield Components of Maize (*Zea mays* L.) to Different Biofertilizers and Chemical Fertilizers. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(3):315-20.