

# EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE MANÍ EN ENSAYOS EN MICROCOSMO

Anzuay, M. S.; Angelini, J.G.; Ludueña, L., Fabra, A.; Taurian, T.  
Universidad Nacional de Río Cuarto, Fac. Cs. Exactas, Fco-Qcas y Naturales.  
manzuay@exa.unrc.edu.ar

## Introducción

El fósforo (P), después del nitrógeno, es el segundo macronutriente requerido para el crecimiento de las plantas y, si bien la concentración de este nutriente en el suelo es alta, un bajo porcentaje se encuentra disponible para las plantas. En los suelos maniseros de Córdoba se han informado bajos niveles de este elemento en su forma asimilable para las plantas. La baja disponibilidad de este nutriente es atribuida a que, el P soluble reacciona con iones de calcio, hierro o aluminio lo que provoca su precipitación o fijación. A ello se suma que más del 75% de los fertilizantes fosforados aplicados son rápidamente inmovilizados.

Un gran número de especies bacterianas del suelo es capaz de ejercer un efecto beneficioso para las plantas y algunas están involucradas en procesos que afectan la transformación del fósforo del suelo. Las bacterias que poseen la capacidad de solubilizar el P insoluble presente en el suelo y de esta forma dejarlo disponible para las plantas, se denominan solubilizadoras de fosfato. Considerando la importancia de estas bacterias en la disponibilidad de P en el suelo, y que los fertilizantes fosforados son rápidamente inmovilizados sumado a su costo elevado y al perjuicio de su empleo en el hábitat, es que se propuso el siguiente objetivo: analizar el efecto de la inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de fosfato sobre el crecimiento en plantas de maní en ensayos en microcosmo.

## Materiales y métodos

Semillas de *Arachis hypogaea* L. (Runner cultivar Tegua) limpias, sanas y de tamaño uniforme, fueron desinfectadas, germinadas y transferidas a macetas de 30 cm de diámetro y 35 cm de alto que contenían como soporte suelo no estéril con bajo contenido de fósforo asimilable. Cuando las plántulas de maní tenían aproximadamente 7 días, fueron inoculadas de manera individual con 8 bacterias solubilizadoras de fosfato aisladas de plantas de maní: *Serratia* sp. J260, *Pantoea* sp. J49, *Acinetobacter* sp. L176, *Enterobacter* sp. J33, *Enterococcus* sp. L185, *Enterococcus* sp. L191, *Bacillus* sp. J9 y *Bacillus* sp. L55. Previo al agregado del inoculante bacteriano, el suelo fue suplementado con fosfato tricálcico ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) al 0,2%. La suspensión bacteriana se preparó a partir de una colonia aislada transferida a medio de cultivo TY, la que fue incubada a 28°C en agitación. Se tomaron 4 ml de cultivos crecidos hasta fase estacionaria ( $10^9$  UFC/ml) y se los depositó en la corona de la raíz de la plántula para evitar dispersión del inoculante. Como controles se emplearon plantas sin inocular, plantas sin inocular y fertilizadas con fósforo soluble ( $\text{PO}_4\text{KH}_2$  20 mM) y plantas inoculadas con la cepa *Pseudomonas fluorescens* utilizada en la producción de inoculantes comerciales. Las mismas fueron mantenidas en cámara de cultivo con un ciclo de luz día/noche de 16/8 horas y regadas regularmente con agua y medio Hoagland sin fósforo. Las plantas fueron cosechadas a los 120 días post-inoculación y se determinaron los siguientes parámetros de crecimiento vegetal: longitud aérea y radical, peso aéreo y radical, relación peso seco aéreo/radical, número de cajas, peso seco y número de nódulos, contenido de P de la parte aérea y contenido de P y pH del soporte. Por otro lado, y a los fines de determinar la persistencia de las bacterias inoculadas, se tomaron muestras del soporte (suelo rizosférico) al momento de la cosecha y se determinó el número de células viables mediante recuento en placa. Para confirmar que las colonias analizadas en el recuento correspondían a la cepa inoculada, se realizaron análisis de perfiles genéticos mediante la técnica de rep-PCR empleando los cebadores ERIC y BOX.

## Resultados y discusión

A partir de este ensayo fue posible observar que la inoculación con los 8 aislamientos seleccionados produjo incremento en al menos el 50% de los parámetros de crecimiento vegetal analizados respecto al control sin inocular y sin fertilizar (Tabla 1). La inoculación con 5 de ellos (*Serratia* sp. J260, *Pantoea* sp. J49, *Enterobacter* sp. J33, *Bacillus* sp. J9 y *Bacillus* sp. L55) produjo incrementos superiores a los obtenidos en plantas fertilizadas con P. Por otro lado, en las plantas inoculadas con la cepa comercial *Ps. fluorescens* no se observó efecto benéfico en los parámetros de crecimiento vegetal evaluados. Para poder correlacionar la capacidad solubilizadora de P de las bacterias con el efecto benéfico observado en el crecimiento de las plantas de maní se determinó el contenido de P en los tejidos vegetales aéreos (tallos y hojas) y en el soporte. Cuando se analizó el contenido de P de los órganos aéreos fue posible observar un incremento significativo en tallo de las plantas inoculadas con los aislamientos *Serratia* sp. J260 y *Enterococcus* sp. L191 respecto al control fertilizado con P (Tabla 2). Por otro lado, el contenido de P en el soporte al finalizar el ensayo fue mayor al inicial en todos los tratamientos observándose un incremento significativamente mayor, respecto al de plantas control sin inocular y sin fertilizar, en aquellas macetas tratadas con el aislamiento *Bacillus* sp. L55 y en las plantas control fertilizadas con P. El análisis de persistencia de las bacterias indicó que las mismas sobrevivieron hasta el final

del ensayo mostrando valores de  $10^4$  y  $10^6$  UFC/g suelo (Tabla 2). A partir de estos resultados fue posible establecer una correlación entre la capacidad solubilizadora de fosfato y la promoción del crecimiento en plantas de maní en aquellos tratamientos en los que se observó un aumento significativo del contenido de P en planta o en el soporte. Por otro lado, en los demás tratamientos, la promoción podría atribuirse a otros mecanismos promotores del crecimiento vegetal, como por ejemplo producción de fitohormonas, actividad ACC deaminasa, etc.

**Tabla 1.** Longitud aérea y radical, peso de tallos, hojas, aéreo total y raíz, relación peso seco aéreo/peso seco radical (PA/PR), número de cajas y número y peso seco de nódulos de plantas de maní inoculadas con los aislamientos solubilizadores de fosfato y la cepa *Pseudomonas fluorescens* a los 120 días postinoculación.

Tratamiento	Longitud aérea (cm)	Longitud radical (cm)	Tallo	Peso seco (g/planta)			PA/PR <sup>b</sup>	Número de cajas	Nódulos	
				Hojas	Aéreo total (tallo + hojas)	Raíz			número	peso seco (mg)
<i>Serratia</i> sp. J260	40.4±1.4*	19.2±1.2*	1,31±0,15 <sup>ab</sup>	1.94±0.33*	1.47±0.16*	3.38±0.51*	0.51±0.05 <sup>ab</sup>	1.5±0.3	10.5±0.5*	70.0±6.0*
<i>Pantoea</i> sp. J49	46.8±1.8*	23.4±1.8 <sup>ab</sup>	0,66±0,07	1.64±0.10*	0.88±0.05	2.44±0.14*	0.42±0.02 <sup>ab</sup>	2.6±0.4	5.2±1.0*	33.0±7.0
<i>Enterobacter</i> sp. J33	36.6±1.6	17.6±1.4*	0,56±0,10	1.65±0.06*	1.36±0.19*	3.06±0.25*	0.41±0.05 <sup>ab</sup>	2.0±0.6	7.2±0.2*	47.0±7.0*
<i>Acinetobacter</i> sp. L176	41.2±0.4*	17.6±0.6*	0,82±0,06	1.69±0.16*	1.42±0.27*	2.66±0.46*	0.25±0.02	1.7±0.33	10.7±1.7*	68.0±17.0*
<i>Bacillus</i> sp. J9	54.6±4.0 <sup>ab</sup>	17.5±0.9*	1,22±0,11 <sup>ab</sup>	2.24±0.32 <sup>ab</sup>	1.92±0.21 <sup>ab</sup>	4.66±0.63 <sup>ab</sup>	0.23±0.03	4.0±0.6	1.5±0.3	7.0±3.0
<i>Bacillus</i> sp. L55	41.1±1.7*	13.7±1.0	0,68±0,13	1.97±0.38*	1.48±0.24*	3.84±0.58*	0.43±0.07 <sup>ab</sup>	1.2±0.2	1.7±0.2	9.0±4.0
<i>Enterococcus</i> sp. L185	48.8±4.4*	16.6±0.8	0,62±0,04	1.88±0.13*	1.56±0.10*	3.42±0.15*	0.23±0.01	4.5±0.6*	2.0±0.3	14.0±3.0
<i>Enterococcus</i> sp. L191	37.0±2.3*	16.2±0.8	0,64±0,05	1.34±0.26	1.55±0.36*	3.34±0.45*	0.21±0.03	3.0±0.3	5.2±0.7*	30.0±6.0
<i>Ps. fluorescens</i>	29.6±2.8	16.2±1.5	0,55±0,06	0.99±0.17	1.03±0.08	2.06±0.23	0.23±0.02	2.0±0.6	4.0±0.6	23.0±5.0
C-	25.2±1.8	10.7±1.4	0,43±0,05	0.68±0.08	0.47±0.10	1.11±0.12	0.14±0.01	2.2±0.6	1.7±0.2	9.0±2.0
C+	37.7±2.6*	15.3±1.0	0,71±0,08	1.15±0.13	1.33±0.09*	2.46±0.17*	0.22±0.03	2.8±0.6	6.7±0.9*	50.0±12.0*

Los datos representan la media ± E.S. de 2 determinaciones n=5-7; C+: Plantas fertilizadas con fósforo ( $PO_4KH_2$  20 mM) y sin inocular; C-: Plantas sin fertilizar y sin inocular; \*: diferencia significativa respecto al C-, <sup>a</sup>: diferencia significativa respecto al C+, <sup>b</sup>: relación peso seco aéreo/radical

**Tabla 2.** Contenido de P de los órganos aéreos de plantas de maní inoculadas con los aislamientos solubilizadores de fosfato, contenido de P y pH del soporte y persistencia de las bacterias solubilizadoras de fosfato en el soporte al finalizar el ensayo en microcosmo.

Tratamientos	P tallo (mg/g planta)	P hojas (mg/g planta)	P aéreo total (mg/g planta)	P soporte (µg/g suelo)	pH soporte	UFC/g suelo <sup>a</sup> ( $10^4$ )
<i>Serratia</i> sp. J260	2.13±0.13 <sup>a</sup>	2.25±0.07	5.06±0.75	21.35±1.9	7.21±0.14	210
<i>Pantoea</i> sp. J49	1.76±0.13	1.94±0.11	3.70±0.027	10.68±1.31	7.21±0.04	60
<i>Enterobacter</i> sp. J33	1.36±0.10	1.98±0.07	3.08±0.33	10.23±0.78	7.23±0.03	12
<i>Acinetobacter</i> sp. L176	1.96±0.29	2.97±0.03	4.94±0.27	14.6±1.04	7.23±0.08	3
<i>Bacillus</i> sp. J9	0.73±0.08	1.20±0.02	1.95±0.09	15.08±2.18	6.98±0.08	430
<i>Bacillus</i> sp. L55	0.76±0.02	1.63±0.08	2.14±0.24	25.12±1.46*	7.00±0.12	220
<i>Enterococcus</i> sp. L185	1.89±0.002	2.62±0.30	4.50±0.30	14.51±0.68	6.93±0.07	30
<i>Enterococcus</i> sp. L191	2.09±0.09 <sup>a</sup>	2.66±0.14	4.76±0.14	9.28±0.28	7.17±0.16	700
C-	1.13±0.17	2.45±0.21	3.61±0.37	15.15±1.75	7.17±0.03	130
C+	0.92±0.16	1.77±0.49	2.68±0.74	25.35±1.8*	7.13±0.03	7

Los datos representan la media ± E.S. de 2 determinaciones n=3-5; C+: Plantas fertilizadas con fósforo ( $PO_4KH_2$  20 mM) y sin inocular; C-: Plantas sin fertilizar y sin inocular; \*: diferencia significativa respecto al C-, <sup>a</sup>: diferencia significativa respecto al C+; <sup>a</sup>: UFC de bacterias solubilizadoras de fosfato crecidas en medio NBRI-PBP por gramo de suelo rizosférico del soporte. Inóculo:  $10^9$  UFC/ml; bacterias presentes en el soporte luego de la inoculación:  $10^7$  UFC/g suelo rizosférico del soporte

Los microorganismos con actividad solubilizadora de P contribuyen considerablemente a incrementar la disponibilidad de este nutriente en el suelo, permitiendo que el mismo se incorpore a los tejidos vegetales y/o incremente el crecimiento de las plantas. El uso de estas bacterias como potenciales P-biofertilizantes resulta interesante para incrementar los niveles de P asimilable por las plantas en el suelo.

Financiado por Fundación Maní Argentino, CONICET, ANPCyT y SCyT-UNRC.