



INTERACCIÓN DE LA BACTERIA *Gluconacetobacter diazotrophicus* Y HORTALIZAS DE RAÍZ

Interaction of the bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* and root vegetables

Yoania Ríos Rocafull¹✉, Bernardo Dibut Álvarez¹, Marcia Rojas Badía²,
Marisel Ortega García¹, Noel Arozarena Daza¹ y Janet Rodríguez Sánchez¹

ABSTRACT. *Gluconacetobacter diazotrophicus* is endophyte bacterium that have among its metabolic characteristics, direct and indirect mechanism for plant growth promotion. There are positive results by its application in graminious and tropical tubers. Nevertheless, in vegetable researches of this plant-microorganism interaction are few. The present work had the aim to evaluate the effect of the application over growth of carrot (*Daucus carota* L.) and beet (*Beta vulgaris* L.), of four *G. diazotrophicus* strains isolated of Cuban agriculture ecosystem. It was showed that microorganism habitat have not direct relation with vegetable species that could be beneficiated with the interaction, due to that the best result was obtained with the strain isolated of mango. This strain was selected as promissory as active principle of bioproduct with positive effect over both vegetables. Besides, this strain has more plant growth promoting effect than patron strain of the bacterium specie (PAL5), indicating the importance of indigenous microorganisms. Results suggest that *G. diazotrophicus* could be used in plan growth promotion of root vegetables like carrot and beet and it also shows the complexity of plant-microorganism interaction.

RESUMEN. *Gluconacetobacter diazotrophicus* es una bacteria endófitas que presenta dentro de sus características metabólicas, mecanismos directos e indirectos de estimulación del crecimiento vegetal. Se han obtenido resultados positivos por su aplicación, fundamentalmente, en gramíneas y viandas tropicales. Sin embargo, en hortalizas, las investigaciones de esta interacción planta-microorganismo son escasas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de cuatro cepas de *G. diazotrophicus* aisladas de ecosistemas agrícolas cubanos, sobre el crecimiento de zanahoria (*Daucus carota* L.) y remolacha (*Beta vulgaris* L.). Se demostró que la procedencia del microorganismo no tiene una relación directa con la especie vegetal que puede beneficiar con su interacción, ya que los mejores resultados se obtuvieron con una cepa proveniente de los frutos del mango. Esta cepa se seleccionó como promisorias para constituir el principio activo de un producto con efecto positivo sobre ambas hortalizas. Además, presentó un efecto estimulador del crecimiento mayor que el patrón de la especie bacteriana (PAL5), lo que indica la importancia del empleo de microorganismos autóctonos. Los resultados sugieren que *G. diazotrophicus* puede ser utilizada en la estimulación del crecimiento de hortalizas de raíz como zanahoria y remolacha y evidencian cuan compleja es la interacción planta-microorganismo.

Key words: biofertilizer, growth, stimulation, nitrogen fixation, microorganism

Palabras clave: biofertilizantes, crecimiento, estimulación, fijación de nitrógeno, microorganismo

INTRODUCCIÓN

Gluconacetobacter diazotrophicus es un microorganismo endófito que se ha aplicado con éxito sobre diferentes cultivos como la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) (1), sorgo (*Sorgum bicolor* L. Moench.) (2), malanga (*Xanthosoma* spp.), boniato

(*Ipomoea batata* L.) y yuca (*Manihot esculenta* Crantz.) (3). La estimulación de indicadores de crecimiento y el rendimiento de las especies vegetales, condujo a la realización de otras investigaciones, a partir de las que se han obtenido distintas formulaciones donde la bacteria constituye el principio activo (4, 5).

El efecto estimulador del crecimiento de *G. diazotrophicus* se asocia con diferentes características del microorganismo, donde se destaca su potencial para la fijación biológica de nitrógeno (1) y su capacidad de producir distintas fitohormonas,

¹ Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT. Cuba.

² Universidad de La Habana. Cuba.

✉ dpagrobiotec@inifat.co.cu

fundamentalmente ácido indol acético (6). La solubilización de nutrientes minerales como fósforo, zinc, hierro y manganeso también podría contribuir a la estimulación del crecimiento vegetal por parte de la bacteria (1), al igual que su efecto antagonista, el que ha sido demostrado frente a diferentes organismos fitopatógenos (7).

Sin embargo, los estudios realizados con *G. diazotrophicus* demuestran que no todas las cepas presentan las mismas características bajo condiciones *in vitro* (5). Igualmente sucede en su interacción con la planta, por lo que el efecto que se logra con su aplicación también es variable (2). Las investigaciones con el microorganismo asociado a especies hortícolas son escasas. Con el fin de seleccionar una cepa promisorio de esta especie bacteria para la estimulación del crecimiento de hortalizas de raíz, se realizó este trabajo, que tuvo como objetivo determinar el efecto de la aplicación de cuatro cepas del microorganismo aisladas de agroecosistemas cubanos, sobre el crecimiento de zanahoria y remolacha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas bacterianas: se utilizaron cuatro cepas de *Gluconacetobacter diazotrophicus* aisladas de agroecosistemas cubanos, conservadas en la Colección de Bacterias Beneficiosas del INIFAT; además, se incluyó el microorganismo patrón de esta especie bacteriana, denominado PAL5 (ATCC 49037). El cultivo de procedencia de cada una de las cepas empleadas se muestra en la Tabla I.

Tabla I. Cepas de *Gluconacetobacter diazotrophicus* utilizadas en la investigación

Código del microorganismo	Cultivo de procedencia
INIFAT Gd-19	Guayaba (<i>Psidium guajaba</i> L.)
INIFAT Gd-26	Remolacha (<i>Beta vulgaris</i> L.)
INIFAT Gd-42	Mango (<i>Mangifera indica</i> L.)
INIFAT Gd-46	Yuca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz.)
PAL 5	Caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L.)

Material vegetal: se emplearon semillas de remolacha, cultivar Detroit Roja y de zanahoria, cultivar New Kuroda, que presentaban un 90 y 100 % de germinación, respectivamente. Este porcentaje se determinó en placas Petri de 90 mm con papel de filtro, a partir de la emergencia de la radícula entre siete y 10 días, con el empleo de tres placas por cada especie vegetal y 25 semillas por placa.

Tabla II. Características del suelo utilizado durante el estudio

pH	Materia orgánica (%)	Fósforo asimilable (p.p.m)	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺ (c mol kg suelo ⁻¹)	Na ⁺	K ⁺
7,3	2,58	209	19,1	4,2	0,11	0,38

Aplicación de las cepas de *G. diazotrophicus* sobre zanahoria y remolacha: el experimento se realizó en condiciones semicontroladas, en macetas de dos kilogramos de capacidad con suelo Ferralítico Rojo Lixiviado Compactado, Gléyico y Nodular Ferruginoso (8). Las características del suelo se muestran en la Tabla II.

Una suspensión celular en agua destilada estéril de cada una de las cepas de *G. diazotrophicus*, se inoculó por aspersión al suelo, a razón de 10 mL por maceta, posterior a la germinación de las semillas, entendiéndose esta como la emergencia de la planta por encima de la superficie del suelo.

Evaluaciones realizadas: a los 60 días para la remolacha y 70 días para la zanahoria, se evaluaron los indicadores de crecimiento; altura de la planta (cm); largo (cm) y diámetro (cm) de la raíz; número de hojas, el peso fresco de las hojas (g) y el peso fresco de las raíces (g).

El experimento se ejecutó por duplicado, con 30 plantas por tratamiento (cepa), incluyendo una variante sin inoculación bacteriana (Testigo). Se utilizó un Diseño Completamente Aleatorizado. El procesamiento estadístico de los datos se realizó con el programa STATGRAPHICS *Plus* versión 5.0 (9), con el que se comprobó la normalidad y la homogeneidad de varianzas, según las pruebas de Kolmogorov-Smirnov, Cochran C, Hartley y Bartlett. Cuando existieron diferencias significativas entre los tratamientos, las medias se compararon, según la prueba de Duncan al 5 % de significación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La bacteria endófito *Gluconacetobacter diazotrophicus* presenta diferentes mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal, teniendo en cuenta que fija nitrógeno, solubiliza nutrientes y tiene efecto antagonista frente a organismos fitopatógenos (1). Sin embargo, no todas las cepas descritas para esta especie presentan las mismas características (5), ni producen igual efecto al ser aplicadas sobre los cultivos (2).

Para el caso de la interacción de la bacteria con hortalizas, los estudios son escasos. Por tales razones, y con el objetivo a largo plazo de seleccionar materiales biológicos promisorios para la estimulación del crecimiento de zanahoria y remolacha, se condujo esta investigación donde se determinó el efecto de la aplicación de cuatro cepas del microorganismo aisladas de agroecosistemas cubanos y el patrón internacional de esta especie bacteriana, sobre el crecimiento de ambas hortalizas.

La Figura 1 muestra los resultados de la evaluación de los indicadores asociados a la parte aérea de los cultivos en estudio.

Nótese que la respuesta depende no solo del microorganismo, sino también de la especie del vegetal presente en la interacción. Así, la acción de la bacteria sobre la altura de la planta es superior para el caso de la remolacha, donde cuatro de las cinco cepas evaluadas permiten alcanzar valores de este indicador mayores que los obtenidos en el tratamiento testigo, carente de aplicación bacteriana. Sin embargo, para el número de hojas y su peso fresco, sobresale el cultivo de la zanahoria. El mayor efecto de *G. diazotrophicus* se presentó en el peso fresco de las hojas, indicador estimulado por casi todos los microorganismos en estudio.

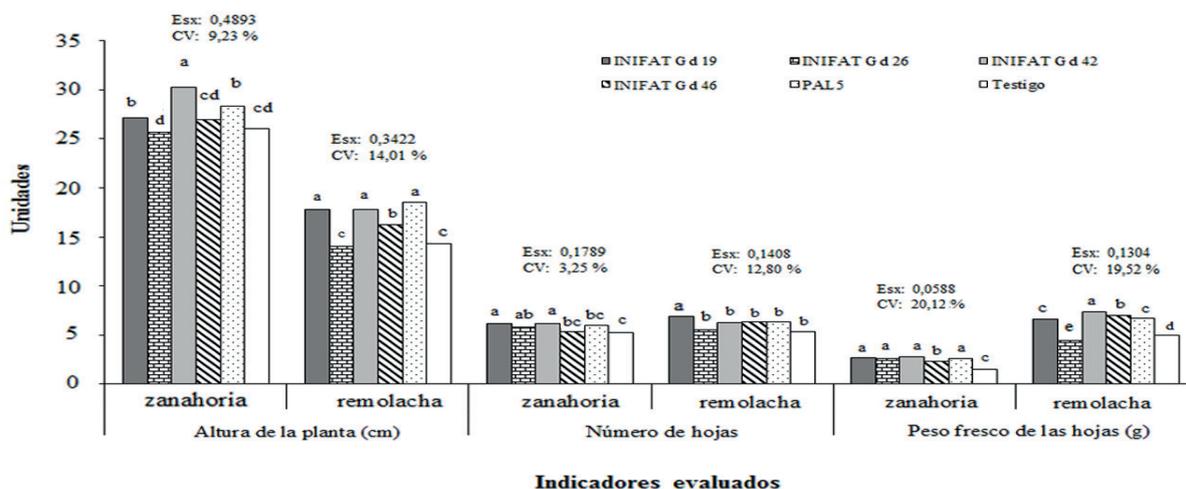
Se destacaron por su efecto sobre la parte aérea de la planta, la cepa INIFAT Gd 19, quien incrementó los tres indicadores evaluados para ambas especies hortícolas y la cepa INIFAT Gd 42, que tuvo una acción positiva sobre todos los indicadores, para el caso de la zanahoria y sobre dos de ellos para la remolacha. Los microorganismos provocaron una respuesta mayor que la de la cepa patrón de la especie bacteriana (PAL 5), lo que demuestra que las cepas autóctonas pueden permitir la obtención de mejores resultados. Este constituye un aspecto comentado por varios autores, los que incluyen de forma permanente, dentro de la etapa experimental de trabajo, el aislamiento de microorganismos y su selección en interacción con el cultivo a beneficiar (10).

Las ventajas de la utilización de las cepas provenientes de especies vegetales sembradas bajo las condiciones de Cuba, resultó aún más evidente para el caso de los indicadores asociados a las raíces de ambos cultivos, según los resultados que se muestran en la Figura 2.

La mayor parte de los microorganismos inoculados estimulan el diámetro de la raíz de la remolacha. Sin embargo, se destaca la inhibición provocada en algunos de los indicadores por las cepas INIFAT Gd 19, INIFAT Gd 26 y el patrón PAL5. En la literatura se describe que muchas bacterias muestran *in vitro* mecanismos para estimular el crecimiento de las plantas, aunque su aplicación no siempre produce el efecto esperado (10).

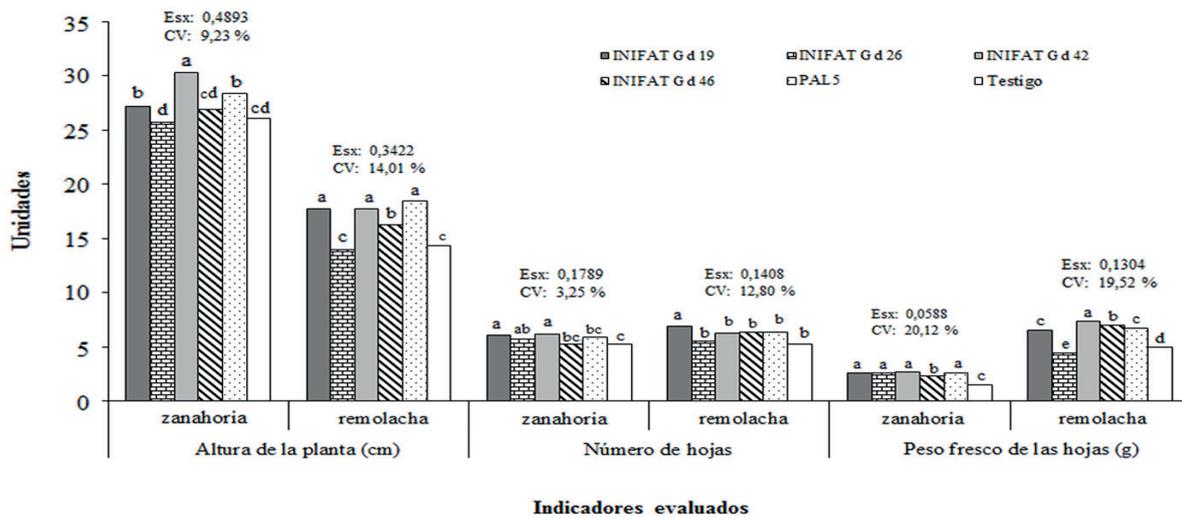
En la estimulación del crecimiento por parte de los microorganismos se encuentran implicados diferentes factores. El incremento de la disponibilidad de nutrientes para la planta y el balance hormonal neto producido por la interacción entre las fitohormonas liberadas por el microorganismo y las presentes en el vegetal, son algunos de los aspectos más relevantes (10). Dentro de las fitohormonas producidas por las bacterias promotoras del crecimiento se destaca el ácido indol acético (11), con diferencias entre las cepas más y menos eficientes en estas y otras características (12, 13). Ello podría explicar la estimulación del desarrollo radical que muestra la cepa INIFAT Gd 42 y la inhibición de los indicadores anteriormente comentada, pues se conoce que la especie bacteriana utilizada en el estudio libera auxinas como el ácido indol acético (6) y giberelinas (11).

La aplicación de cepas de *G. diazotrophicus* produce diferencias en el peso seco, contenido de nitrógeno foliar, contenido de azúcares y de clorofila para el caso del sorgo (2), indicadores que sería interesante determinar para las hortalizas en estudio, teniendo en cuenta los pocos estudios realizados con la bacteria en asociación con este tipo de cultivos y su influencia en el grado de estimulación del crecimiento vegetal.



Los resultados se corresponden con la media de 60 plantas para cada tratamiento. Medias distintas difieren significativamente, según Prueba de Duncan al 5 % de significación

Figura 1. Efecto de la aplicación de cepas de *G. diazotrophicus* sobre la parte aérea de los cultivos de zanahoria (*Daucus carota* L.) y remolacha (*Beta vulgaris* L.)



Los resultados se corresponden con la media de 60 plantas para cada tratamiento. Medias con letras distintas difieren estadísticamente para un 5 % de significación, según prueba de Rangos Múltiples de Duncan. n=30

Figura 2. Efecto de la aplicación de cepas de *G. diazotrophicus* sobre las raíces de remolacha (*Beta vulgaris* L.) ante la inoculación de de distintas cepas de *G. diazotrophicus*

Durante esta investigación se destacó la cepa INIFAT Gd 42, no solo por su efecto sobre la raíz de zanahoria y remolacha, sino también por la estimulación de indicadores asociados a la parte aérea de las plantas. Este microorganismo fue aislado de frutos de mango, por lo que el resultado sugiere que no existe una relación directa entre el cultivo de procedencia de la cepa de *G. diazotrophicus* y la especie vegetal que puede beneficiarse con su aplicación, aspecto demostrado con anterioridad para gramíneas y viandas tropicales (2, 3).

El resultado muestra la complejidad de la interacción planta-microorganismo, proceso que depende no solo de las características de la bacteria, sino del éxito que tenga en el proceso de colonización (14), de su capacidad de liberación de exopolisacáridos (15) y de formar biopelículas (16), entre otros factores. También interviene la planta, con una regulación estricta del microorganismo con que interactúa.

A partir de la investigación se seleccionó a la cepa INIFAT Gd 42 como promisorio para futuros estudios, donde se valore su efecto sobre ambos cultivos en sistemas que permitan el máximo desarrollo de sus raíces, órgano de consumo en este caso, teniendo en cuenta, además, los resultados relevantes obtenidos para el resto de las evaluaciones realizadas.

CONCLUSIONES

- La bacteria endófito *Gluconacetobacter diazotrophicus* puede establecer una interacción positiva con hortalizas de raíz como zanahoria y remolacha, dependiendo su efecto estimulador del crecimiento de la cepa aplicada y de la especie vegetal.

- La cepa INIFAT Gd 42, aislada de los frutos del mango, es un microorganismo promisorio para estimular el crecimiento de zanahoria y remolacha.

AGRADECIMIENTOS

Al M.Cs. Mario Casas, del Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), por proporcionar la cepa patrón de *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

BIBLIOGRAFÍA

- Prabudoss, V. "A real multi beneficial endophytic diazotroph *Gluconacetobacter diazotrophicus* for sugarcane". *International Journal of Current Research*, vol. 8, no. 6, 2011, pp. 103-106, ISSN 0975-833X.
- Kumarasamy, V. y Santhaguru, K. "Growth performance of *Sorghum bicolor* (L.) Moench in response to inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus*". *Genetic and Plant Physiology*, vol. 1, no. 3-4, 2011, pp. 130-138, ISSN 1314-6394, 1314-5770.
- Dibut, B.; Martínez, V. R.; Ortega, M.; Ríos, Y.; Planas, L.; Rodríguez, J. y Tejeda, G. "Situación actual y perspectiva de las relaciones endófitas planta-bacteria. Estudio de caso *Gluconacetobacter diazotrophicus*-cultivos de importancia económica". *Cultivos Tropicales*, vol. 30, no. 4, diciembre de 2009, pp. 16-23, ISSN 0258-5936.
- Nita, P.; Pallavi, G.; Shubhangi, S.; Hemlata, S.; Neha, P. y Balasaheb, K. "Liquid formulations of *Acetobacter diazotrophicus* L1 and *Herbaspirillum seropedicae* J24 and their field trials on wheat". *International Journal of Environmental Sciences*, vol. 3, no. 3, 2012, pp. 1116-1129, ISSN 0976-4402.

5. Badawi, M. H.; El-Henawy, H. M. y Abd-Algaffar, N. Y. "Biomangement of *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* causing root and damping-off diseases in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) via innovative rhizobacterial formulations". *Journal of Applied Sciences Research*, vol. 9, no. 1, 2013, pp. 321-329, ISSN 1819-544X.
6. Patil, N. B.; Gajbhiye, M.; Ahiwale, S. S.; Gunjal, A. B. y Kapadnis, B. P. "Optimization of Indole 3acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from Sugarcane". *International Journal of Environmental Sciences*, vol. 2, no. 1, 2011, pp. 295-302, ISSN 0976-4402.
7. Logeshwarn, P.; Thangaraju, M. y Rajasundari, K. "Antagonistic potential of *Gluconacetobacter diazotrophicus* against *Fusarium oxysporum* in sweet potato (*Ipomea batatas*)". *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, vol. 44, no. 3, 1 de febrero de 2011, pp. 216-223, ISSN 0323-5408, DOI 10.1080/03235400902952707.
8. Dibut, B.; Martínez, R.; Ríos, Y.; Plana, L.; Rodríguez, J.; Ortega, M. y Tejada, G. "Estudio de la asociación *Gluconacetobacter diazotrophicus*-viandas tropicales establecidas sobre suelo Ferralítico Rojo. II. Determinación del método de inoculación más eficiente para la incorporación de *G. diazotrophicus* en los cultivos de boniato, yuca y malanga". *Cultivos Tropicales*, vol. 31, no. 3, septiembre de 2010, pp. 20-26, ISSN 0258-5936.
9. Statistical Graphics Crop. *STATGRAPHICS® Plus* [en línea]. (ser. Profesional), versión 5.1, [Windows], 2000, Disponible en: <<http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>>.
10. Martínez, R. y Dibut, B. *Biofertilizantes Bacterianos*. 1.^a ed., edit. Científico-Técnica, La Habana, Cuba, 2012, 279 p., ISBN 978-959-05-0659-8.
11. Camelo, M.; Vera, S. P. y Bonilla, R. "Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal". *Revista CORPOICA Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, vol. 12, no. 2, 2011, pp. 159-166, ISSN 0122-8706.
12. Ribeiro, C. M. y Cardoso, E. J. B. N. "Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*)". *Microbiological Research*, vol. 167, no. 2, 20 de enero de 2012, pp. 69-78, ISSN 0944-5013, DOI 10.1016/j.micres.2011.03.003.
13. Pérez, C. A. F.; Tuberquia, S. A. y Amell, J. D. "Actividad *in vitro* de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos". *Agronomía Mesoamericana*, vol. 25, no. 2, 2014, pp. 213-223, ISSN 1021-7444, 2215-3608.
14. Jha, P. N.; Gupta, G.; Jha, P. y Mehrotra, R. "Association of rhizospheric/endophytic bacteria with plants: a potential gateway to sustainable agriculture". *Greener Journal of Agricultural Sciences*, vol. 3, no. 2, 2013, pp. 73-84, ISSN 2276-7770.
15. Meneses, C. H. S. G.; Rouws, L. F. M.; Simões-Araújo, J. L.; Vidal, M. S. y Baldani, J. I. "Exopolysaccharide Production Is Required for Biofilm Formation and Plant Colonization by the Nitrogen-Fixing Endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus*". *Molecular Plant-Microbe Interactions*, vol. 24, no. 12, 2 de agosto de 2011, pp. 1448-1458, ISSN 0894-0282, DOI 10.1094/MPMI-05-11-0127.
16. Ramírez, M. A.; Fernández, D. I. J.; Nuñez, R. K. J.; Xiquí, V. M. L. y Baca, B. E. "Redes de señalización en la producción de biopelículas en bacterias: *quorum sensing*, di-GMPc y óxido nítrico". *Revista Argentina de Microbiología*, vol. 46, no. 3, julio de 2014, pp. 242-255, ISSN 0325-7541, DOI 10.1016/S0325-7541(14)70079-3.

Recibido: 15 de mayo de 2015

Aceptado: 18 de enero de 2016

NÚMERO ESPECIAL

*Este número de la revista está dedicado
al X Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg2015)*

Nota:

Durante el proceso de edición no se pudo acceder al trabajo de retoque y mejoramiento de imágenes, por lo que estas han sido insertadas con la misma calidad con la que enviaron sus autores.

La Editorial

TUTORIAL

NÚMERO ESPECIAL

*Este número de la revista está dedicado
al X Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg2015)*

El Centro de Bioplantitas es una institución de investigaciones científicas, adscrita a la Universidad de Ciego de Ávila “Máximo Gómez Báez” del Ministerio de Educación Superior de Cuba. El mismo surge en 1987 como un laboratorio de investigaciones y micropropagación de plantas frutales. Desde 1992, tiene como misión desarrollar, aplicar y ofrecer tecnologías, productos, asistencia técnica y servicios académicos de excelencia en el marco de la Biotecnología Vegetal.

El grupo de investigadores, técnicos de laboratorio y otro personal auxiliar altamente calificados, han sido galardonados con premios relevantes de la Academia de las Ciencias de Cuba y con reconocimientos por la labor que realizan en la transferencia de resultados científicos y tecnológicos, la producción de vitroplantitas para el comercio internacional, y la educación postgraduada. Para el trabajo científico cuenta con seis laboratorios: Cultivo de Células y Tejidos Vegetales, Agrobiología, Interacción Planta-Patógeno, Ingeniería Metabólica, Mejoramiento Genético de Plantas y Computación Aplicada. Todos con las mejores facilidades y un equipamiento de alta calidad para asegurar resultados relevantes.

El Centro de Bioplantitas desde 1997 y, como bienal, desarrolla su Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg), el cual constituye un marco excepcional para el intercambio de conocimientos y experiencias entre científicos, docentes y productores. En este se debaten en forma de Conferencia Magistrales, Talleres y Mesas Redondas durante sesiones de trabajo, los resultados más relevantes y los problemas más acuciantes que enfrenta la biotecnología vegetal cubana y mundial.

Por todo lo anterior, el Comité Organizador de BioVeg2015 en su décima edición se complace en presentarles una muestra representativa de 19 trabajos científicos completos recibidos y siente profunda satisfacción en invitarlos para el próximo BioVeg2017 que se desarrollará en la fecha 22-26 del mes de mayo.

Nota:

Durante el proceso de edición no se pudo acceder al trabajo de retoque y mejoramiento de imágenes, por lo que estas han sido insertadas con la misma calidad con la que enviaron sus autores.

La Editorial