



## Promoción del crecimiento en plantas de acelga, zanahoria y rábano por *Pseudoxanthomonas indica* nombrada H32

### Growth promotion in chard, carrot and radish plants by *Pseudoxanthomonas indica* named H32

<sup>ID</sup>Idania Wong Padilla\*, <sup>ID</sup>Yanara de la Caridad Victoria Portel, <sup>ID</sup>Laritz Caridad Dominguez Rabilero, <sup>ID</sup>Danalay Somonte Sánchez, <sup>ID</sup>Ileana Sánchez Ortiz, <sup>ID</sup>Irene Alvarez Lugo, <sup>ID</sup>Aylin Nordelo Valdivia, <sup>ID</sup>Dulemy Carrazana Granado, <sup>ID</sup>Raul González Ríos

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB de Camagüey), Circunvalación Norte y Avenida Finlay, Camagüey, Cuba. CP 70100

**RESUMEN :** Uno de los principales problemas en la agricultura actual es la reducción de los fertilizantes químicos mediante su reemplazo por los biofertilizantes compuestos por microorganismos benéficos para el suelo y las plantas. Por tanto, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de la *Pseudoxanthomonas indica* nombrada H32, aislada previamente de la rizosfera de plantas sanas de tomate, en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos de acelga, zanahoria y rábano. Para ello se determinó su capacidad de producir ácido indolacético (AIA). Además, su propiedad de solubilizar fosfato insoluble en medio Pikovskaya-agar. Las semillas se inocularon mediante su remojo en una suspensión de células de H32 con  $10^5$  UFC/mL en solución de carboximetil celulosa al 0,1 %, por 3 h. Se realizó un procedimiento similar usando solo solución de carboximetil celulosa para las semillas no inoculadas. Todas las semillas se sembraron en parcelas de 1 x 10 m. Se inoculó H32 alrededor de la raíz de las plántulas de semillas inoculadas, siete días después de germinadas. Los resultados mostraron que las plantas de semillas inoculadas tuvieron mayor masa húmeda, mayor altura y raíces con mayor longitud y masa que las plantas de semillas no inoculadas ( $P < 0,01$ ). La inoculación de semillas y suelo con H32, incrementó el rendimiento en 19 % para el rábano, en 88,70 % y 68,5 % para la acelga y zanahoria respectivamente. Estos resultados evidencian que *Pseudoxanthomonas indica* H32 tiene potencial para su uso como promotor de crecimiento en los cultivos estudiados.

**Palabras clave:** Acido indolacético, germinación, bacterias del suelo, fosfatos, biofertilizantes.

**ABSTRACT:** One of the main problems in current agriculture is the reduction of chemical fertilizers by replacing them with biofertilizers composed of beneficial microorganisms for soils and plants. Therefore, the present work aims to evaluate the effect of *Pseudoxanthomonas indica* named H32, previously isolated from healthy tomato plants rhizosphere, on the growth, development and yield of chard, carrot and radish crops. To this end, its ability to produce indoleacetic acid (IAA) was determined. In addition, its property to solubilizing insoluble phosphate in Pikovskaya-agar medium. The seeds were inoculated by soaking in a H32 cells suspension with  $10^5$  UFC/mL in 0.1 % carboxymethyl cellulose solution, for 3 h. A similar procedure using only carboxymethyl cellulose solution was done for non-inoculated seeds. All Seeds were then sown in 1 x 10 m plots. H32 was inoculated around the root of the seedlings of inoculated seeds, seven days after germination. The results showed that plants from inoculated seeds had greater humid weight, greater height, and roots with greater length and weight than plants from non-inoculated seeds ( $P < 0.01$ ). The inoculation of the seeds and soil with H32 increased the yield by 19 % for radish, 88.7 % and 68.5 % for chard and carrot, respectively. These results show that *Pseudoxanthomonas indica* H32 has potential for use as a growth promoter in the crops studied.

**Key words:** Indoleacetic acid, germination, soil bacteria, phosphates, biofertilizers.

\*Autor para correspondencia: [idania.wong@cigb.edu.cu](mailto:idania.wong@cigb.edu.cu)

Recibido: 02/08/2022

Aceptado: 05/11/2022

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

**Contribución de los autores:** **Conceptualización** - Idania Wong Padilla, Ileana Sánchez Ortiz. **Investigación** - Idania Wong Padilla, Yanara de la Caridad Victoria Portel, Laritz Caridad Domínguez Rabilero, Ileana Sánchez Ortiz, Irene Alvarez Lugo, Danalay Somonte Sánchez, Dulemy Carrazana Granado y Raúl González Ríos. **Metodología** - Idania Wong Padilla, Yanara de la Caridad Victoria Portel e Ileana Sánchez Ortiz. **Supervisión** - Ileana Sánchez Ortiz, Aylin Nordelo Valdivia. **Escritura del borrador inicial** - Idania Wong Padilla, Yanara de la Caridad Victoria Portel. **Escritura y Edición final** - Idania Wong Padilla. **Curación de datos** - Idania Wong Padilla.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



## INTRODUCCIÓN

Uno de los desafíos de la agricultura moderna es aumentar el rendimiento de los cultivos para alimentar a la creciente población mundial con el menor impacto sobre el medio ambiente. Para mejorar la producción de cultivos sin fertilizantes químicos que dañan la salud y provocan pérdidas de fertilidad del suelo, la investigación se ha centrado en el desarrollo de nuevas tecnologías de bioproductos basados en rizobacterias como promotoras del crecimiento en plantas (RPCP). Se han realizado diferentes estudios con el fin de describir el efecto estimulante de RPCP en diferentes cultivos agrícolas. Los resultados incluyen un aumento en los porcentajes de germinación, el tamaño de la raíz o el tallo, los rendimientos, el número de hojas, el masa del área foliar, la materia seca y la resistencia a las sequías y otros factores estresantes. Esto se ha publicado en libros relacionados con el tema y en varios artículos de revistas, demostrando el interés actual por microorganismos de estas características (1, 2). Las RPCP pueden actuar por mecanismos directos que incluyen la solubilización de fosfatos, fijación de nitrógeno y producción de fitohormonas reguladoras del crecimiento (3, 4). Entre estas, son las auxinas las mayores responsables del crecimiento vegetal. Las auxinas en general y específicamente el ácido indolacético (AIA) también están implicadas en la regulación de la dormancia y la germinación de las semillas. La síntesis de AIA bacteriano generalmente es dependiente del aminoácido triptófano. Recientemente, (5) informaron el uso de la cepa *Pseudomonas* spp. VSMKU 4050 en plántulas de tomate. Esta incrementó significativamente su crecimiento en comparación con otros tratamientos. Se estima que cada plántula de rábano exuda al suelo entre 290-390 ng de triptófano por día. La inoculación de plantas de rábano con rizobacterias *Pseudomonas* spp. incrementó 1,4 veces la biomasa de la raíz. Los beneficios del efecto de la inoculación bacteriana en plantas de rábano pueden explicarse por el hecho de que las rizobacterias introducidas producen la hormona estimulante del crecimiento de la planta, el AIA a partir del triptófano contenido en el exudado de la planta y que se ha identificado como el precursor principal de la ruta de biosíntesis de compuestos indólicos en bacterias (6). Además, las RPCP con la característica de solubilizar fosfatos también están siendo estudiadas por su potencial para ser formuladas y aplicadas a los cultivos como biofertilizantes. Esta característica constituye un proceso sumamente importante para las tierras de cultivo, ya que estos suelos han acumulado grandes cantidades de fósforo no soluble a través de los años, debido a la aplicación masiva de fertilizantes químicos y que solo es posible recuperar mediante la acción de microorganismos solubilizadores. Actualmente, se sabe que la mayoría de las RPCP actúan sobre las plantas a través de más de un mecanismo de acción (7). Recientemente (8) muestra que la cepa aislada *Pseudoxanthomonas indica* RSA-23 tiene potencial para actuar contra microorganismos patógenos.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de algunas características de la bacteria H32, como la producción de AIA y su propiedad para solubilizar fosfato, sobre el crecimiento y desarrollo de cultivos económicamente importantes, como el rábano (*Raphanus sativus*), la acelga (*Beta vulgaris*) y zanahoria (*Daucus carota*).

## MATERIALES Y METODOS

### Bacteria

La bacteria H32 se aisló de la rizosfera de plantas de tomate sanas, como describe (9). Su caracterización mediante la secuenciación de un fragmento del gen que codifica para el rRNA 16S, mostró que pertenece a la especie *Pseudoxanthomonas indica*. Los resultados de sus pruebas bioquímicas corresponden a las principales características descritas para esta especie bacteriana.

### Determinación del ácido indolacético (AIA) producido por H32

*Pseudoxanthomonas indica* H32 fue cultivada en medio de cultivo caldo Luria Bertani (LB); 10,0 g L<sup>-1</sup> de cloruro de sodio; 5,0 g L<sup>-1</sup> de extracto de levadura y 5,0 g L<sup>-1</sup> de Triptona, en base a una colonia cultivada previamente en el mismo medio con agar; 15,0 g L<sup>-1</sup> (LBA), y pH = 7,2. El cultivo (0,1 mL) se transfirió a dos erlenmeyers de 250 mL, que contenían 50 mL de caldo LB con y sin triptófano (100 mg L<sup>-1</sup>). Ambos se incubaron a 37 °C y 200 rpm en Shaker Incubator (New Brunswick G 25). Para la cinética de producción de AIA, el experimento se realizó por triplicado y se utilizó el método colorimétrico, con el reactivo de Salkowski (2 % v/v 0,5 M FeCl<sub>3</sub> en solución de HClO<sub>4</sub> al 35 %). (10). El método se aplicó a muestras de sobrenadante. Se preparó un patrón AIA (SIGMA) a concentraciones (entre 0 y 50 mg L<sup>-1</sup>) para lograr la curva patrón y se hizo reaccionar en una proporción de 2 mL del reactivo de Salkowski con 1 mL del patrón. Se incubó en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se midió la absorbancia en espectrofotómetro (Biochrom Libra S80) a 530 nm. Para la separación de las células, se centrifugaron muestras de cultivo de 3 mL y se filtraron con membrana (0,2 µm). Posteriormente, se utilizó un mL para la reacción con el reactivo de Salkowski. Como control se utilizó el medio de cultivo sin H32. La concentración de AIA se expresó en µg mL<sup>-1</sup>.

### Solubilización de fosfato *in vitro*

La característica de solubilización del fosfato insoluble de la bacteria H32 se determinó en medio de cultivo Pikovskaya-agar (11). Después de la esterilización, el medio se añadió a placas Petri, formando una capa delgada. Para sembrar las bacterias se inocularon 0,01 mL de una suspensión celular (10<sup>5</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) de *Pseudoxanthomonas indica* H32 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (control positivo). Como control negativo se utilizó (0,1 mL) de caldo de cultivo LB. Las

placas se incubaron a 28 °C por siete días en incubadora (RETOMED IF 3B). Posteriormente, se midió el diámetro (mm) del halo translúcido alrededor de la colonia, el cual indica solubilización de fosfato. Además, el índice de solubilización (IS) se calculó con la fórmula:  $IS = \text{diámetro de la colonia} + \text{halo de solubilización} / \text{diámetro de la colonia}$  (12).

### Ensayo de germinación *in vitro*

Este ensayo se realizó con semillas de rábano (*Raphanus sativus*) variedad Early Scarlet globe, zanahoria (*Daucus carota*) variedad New Kuroda, y acelgas (*Beta vulgaris*) variedad PK-7. Cada tipo de semillas se dividió en dos grupos (inoculadas con H32 y el grupo de no-inoculadas). Se desinfectaron en una solución de etanol al 70% durante 5 min; luego se lavaron tres veces con agua destilada estéril, se desinfectaron por 10 min con solución de hipoclorito de sodio al 1% y se escurrieron y enjuagaron abundantemente con agua estéril. Para la inoculación de las semillas, se sumergieron en una suspensión celular ( $10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>), en solución estéril de carboximetilcelulosa al 0,1%, preparada a partir de un cultivo de H32 en caldo LB, durante 48 h. Las semillas del grupo no inoculado se empaparon únicamente en una solución estéril de carboximetilcelulosa al 0,1%. Todas las semillas se hincharon durante 3 h, luego se distribuyeron en tres grupos de 30 semillas por placa de Petri (14 mm de diámetro) y se colocaron sobre papel de filtro estéril previamente humedecido con agua destilada estéril. Las placas se colocaron en incubadora (RETOMED IF 3B) a la temperatura óptima para cada tipo de semilla. Las semillas se observaron diariamente, y se registró el número de semillas germinadas por día, considerándose como criterio de germinación cuando la semilla tuvo expuesta una radícula mayor o igual a 2mm. Finalizada la germinación, se determinó el porcentaje de germinación (G%) y la germinación media diaria (GMD) en cada placa, de acuerdo a (13).  $G\% = (Gf / N) \times 100$ , Gf: total de semillas germinadas al final del ensayo; N: total de semillas,  $GMD = G\% / Tf$ , Tf: días hasta el final de la germinación.

### Evaluación de la promoción del crecimiento de las plantas en ensayo de invernadero

Las pruebas se hicieron dentro de un invernadero que mide 14 m de ancho por 24 m de largo, con parcelas de 10 x 1 m y fertilizadas con 15% de humus de lombriz. Semillas de rábano, acelga y zanahoria fueron utilizadas y divididas en dos grupos. Se desinfectaron, e hincharon como se describe en el ensayo anterior de germinación *in vitro*; luego se colocaron en placas Petri estériles, dentro de una cabina de flujo laminar (FASTER Bio48) para su secado durante toda la noche, antes de sembrarlas. Cada cultivo se sembró en dos bloques (100 semillas/bloque); uno de semillas inoculadas con H32 y otro de no inoculadas. Todas las semillas fueron sembradas a 2 cm de profundidad. Las de rábano y acelga a la distancia de 20 cm, y las de zanahoria a 12 cm. Se aplicó un sistema de

riego por goteo a la frecuencia adecuada según la humedad del suelo.

### Inoculación del suelo con *Pseudoxanthomonas indica* H32

La inoculación de H32 en el suelo se realizó siete días después de la germinación de las plántulas, y solamente donde las semillas inoculadas con H32 fueron sembradas. Un cultivo fresco de H32 fue diluido hasta  $10^6$  CFU mL<sup>-1</sup> en agua suave, en cada planta se inocularon 100 mL sobre el área de la raíz.

### Detección de *P. indica* H32 en el suelo

Semanalmente se tomaron por duplicado muestras de suelo que contienen 10 g de la rizosfera de las plantas en las parcelas inoculadas con H32 y fueron mezcladas en un matraz con 90 mL de agua peptona estéril con 0,1% tween 80 (SSPT). Los matraces se agitaron 20 min en un agitador orbital (WIGGENS WS-100D) a 150 rpm y temperatura del laboratorio. Después de 5 min de reposo, se tomó 1 mL de la fase líquida para realizar diluciones seriadas de 1:10 en SSPT estéril hasta diluciones de  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ . A continuación, se sembraron 0,1 mL en medio selectivo agar-MacConkey con 50 mg L<sup>-1</sup> de Kanamicina. Después de 48 h de incubación a 37 °C, se realizó el conteo de colonias características de H32 (colonias rojas, brillantes, redondas, con bordes definidos y un halo rosado alrededor) usando el Stereoscopic Microscope (Motic, RS). La concentración de H32 fue expresada en CFU g<sup>-1</sup>.

### Parámetros evaluados en el ensayo de invernadero

Las plantas de rábano y acelga se cosecharon cinco semanas después de la siembra y se evaluaron los siguientes parámetros a una muestra de 40 plantas por tratamiento; Masa húmeda (g), masa (g) y diámetro del bulbo (cm), en las plantas de rábano. Además de la altura (cm), masa húmeda (g), número de hojas, largo y ancho de las hojas (cm) en las plantas de acelga. Las plantas de zanahoria se cosecharon 90 días después de la siembra. A una muestra de 20 plantas por parcela se le evaluó la masa húmeda (g), masa de las raíces (g), longitud de la raíz principal (cm) y masa de hojas y tallo (g). El pesaje se realizó en una balanza electrónica (Sartorius), el diámetro de los bulbos se midió con pie de rey (Mitutoyo) y las otras mediciones con cinta métrica graduada (Facom). Además, se determinó el rendimiento (R) de las parcelas y se expresó en kilogramos.  $R\text{ (kg)} = P \times G / 1000$ ; P, masa húmeda medio de las plantas (g) y G, porcentaje de plantas germinadas en la parcela.

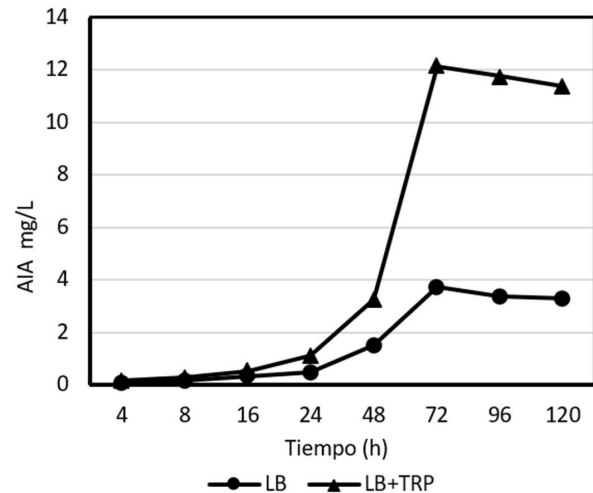
### Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico comparativo mediante la prueba t de student del software STATGRAPHICS Centurión XVI para determinar los parámetros con diferencias estadísticamente significativas respecto al control.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La selección de microorganismos con efecto específico sobre determinadas especies de plantas de interés económico ha devenido en la creación de bioproductos denominados biofertilizantes (14, 15), convirtiéndose en una necesidad, la búsqueda de cepas candidatas promisorias para la producción industrial de estos bioproductos. En ese sentido aislamos bacterias benéficas a partir de la rizosfera de especies agrícolas de platas y determinamos sus mecanismos de estimulación en la germinación y el crecimiento. Uno de estos mecanismos está involucrado en la producción de fitohormonas, como el mecanismo de promoción del crecimiento directo más importante, a través del cual una bacteria puede influir en la fisiología de las plantas (16). Esto es debido a que en concentraciones extremadamente pequeñas ellas son capaces de influir en los procesos bioquímicos, fisiológicos y morfológicos de las plantas (17). *Pseudoxanthomona indica* H32 utilizada en este estudio para el tratamiento de las semillas y el suelo, pudiera contribuir a estos propósitos. Como se ha descrito, el AIA es la fitohormona mejor estudiada de las producidas por rizobacterias. Esta auxina regula importantes procesos en las plantas como: la división, elongación y diferenciación celular, la dominancia apical, el incremento de los pelos radicales, las respuestas trópicas, el florecimiento y la senescencia (4, 18). Cuando cultivamos a *P. indica* H32 en medio LB líquido, determinamos la presencia de compuestos indólicos en el medio a niveles de 3,73 mg L<sup>-1</sup> en la fase estacionaria del cultivo, solamente a partir del aminoácido triptófano presente en el medio LB, y cuando suplementamos este medio con triptófano la concentración de AIA producido ascendió hasta valores de 12 mg L<sup>-1</sup>. Se observó que la producción de AIA por *P. indica* H32 no estuvo asociada al crecimiento, pues éste se produce en bajas cantidades durante todas las etapas del cultivo, pero se obtuvieron las mayores concentraciones en la fase estacionaria a los seis días del cultivo. Esto se debe a que los factores que modifican la síntesis de AIA son diversos, incluyendo la acidificación del medio, el estrés osmótico y la limitación en la fuente de carbono (19), características relacionadas con el estado fisiológico de la bacteria que arriba a la fase estacionaria del cultivo, Figura 1.

*Pseudoxanthomonas indica* H32 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC se sembraron en medio de cultivo Pikovskaya-agar. Y después de 72 horas, se observó un área traslúcida alrededor de las colonias, hecho que indicó cualitativamente la solubilización de fosfato. *P. indica* H32 tuvo un valor medio del índice de solubilización (IS) de 2,71, similar al valor de IS=2,63 de *P. aeruginosa* ATCC 27853, de acuerdo a la prueba t-Student, (P > 0,05). En general, la *P. indica* H32 estimula el crecimiento de las plantas a partir de sus potencialidades para producir AIA. Además, por su propiedad de solubilizar fosfatos y como consecuencia facilitar a la planta la extracción de los nutrientes del suelo de una forma más eficiente (20, 21). Esto coincide con el señalado efecto dual que presentan



**Figura 1.** Valores medios de producción de AIA por *P. indica* durante su cultivo a 37 °C y 200 rpm en medio líquido LB con y sin triptófano, (n = 3)

algunos biofertilizantes, mediado por la solubilización del fósforo inorgánico, la mineralización del fósforo orgánico y el efecto positivo en la estimulación del desarrollo del sistema radical de la planta o en la formación de micorrizas (2). Por otra parte, la concentración de *P. indica* H32 inoculada (10<sup>5</sup> CFU mL<sup>-1</sup>) (22), estimuló la germinación de los cultivos estudiados. Los valores más altos se observaron en las semillas inoculadas. Estos resultados infieren que H32 pudiera también sintetizar giberelinas activas, fitohormonas que estimulan la actividad de  $\alpha$ -amilasas y otras enzimas específicas de la germinación como proteasas y nucleasas involucradas en la hidrólisis y asimilación del almidón acumulado en las semillas, Tabla 1.

**Tabla 1.** Efecto de *P. indica* H32 sobre la germinación media diaria (GMD) *in vitro*

Semillas	GMD (% G día <sup>-1</sup> ), N = 90		Prueba -t Valores de P y $\alpha$
	no-inoculadas	H32- inoculadas	
rábano	15,84 $\pm$ 0,835 (a)	24,59 $\pm$ 0,415 (b)	P = 0,0111662 $\alpha$ = 5 %
zanahoria	8,223 $\pm$ 0,223 (a)	9,63 $\pm$ 0,2136 (b)	P = 0,0104048 $\alpha$ = 5 %
acelga	11,39 $\pm$ 0,14 (a)	12,36 $\pm$ 0,14 (b)	P = 0,00804829 $\alpha$ = 1 %

Valores medios  $\pm$  error standard. Comparación con el grupo de semillas no-inoculadas mediante la prueba t- Student.

Letras desiguales indican diferencias significativas

En el ensayo de invernadero se observó un mayor número de plántulas emergidas en las parcelas donde se sembraron las semillas inoculadas con H32. Las tablas siguientes resumen los resultados de todos los parámetros evaluados y su análisis estadístico. La inoculación de semillas de rábano con la cepa H32 produjo plantas con mayor masa húmeda y bulbos de mayor desarrollo. Un resultado similar se obtuvo en la parcela de zanahoria



inoculada con H32, donde las raíces principales tuvieron una masa significativamente mayor en comparación con los controles. En la parcela de semillas de acelgas inoculadas con H32, al calcular la masa húmeda de las plantas, la altura, el número de hojas y el ancho y largo de las hojas, se observó que también los valores medios de todos estos parámetros eran significativamente superiores a los valores medios alcanzados en las plantas no inoculadas. Los rendimientos de todas las parcelas inoculadas con H32 mostraron un incremento respecto a las no inoculadas, especialmente las parcelas de acelga y zanahoria, que aumentaron a valores superiores al 50%, [Tablas 2 y 3](#).

La aplicación de H32 en las parcelas, demostró su influencia en la formación y desarrollo de las raíces y en el crecimiento de las plantas. Además, H32 permaneció en el suelo a valores de concentración de  $3 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup>, aún cinco semanas después de su aplicación. Este hecho puede atribuirse a la capacidad del H32 para colonizar la raíz, producir la auxina AIA y provocar la solubilización de fosfato, coincidiendo con lo informado previamente por [\(23\)](#) y [\(24\)](#), quienes argumentan que la inoculación del suelo con rizobacterias benéficas que tienen esa característica, mejora el desarrollo del sistema radicular y la asimilación de nutrientes, como Ca, K, Fe, Cu, Mn y Zn, por parte de la planta.

**Tabla 2.** Valores medios y error standard del porciento de germinación y parámetros evaluados en las plantas de rábano, acelga y zanahoria cultivadas en invernadero

Parámetros	No-inoculadas	H32-inoculadas	Incremento (%)	Prueba -t Valores de P, α
<b>Plantas de rábano</b>				
Germinación (%) (N=100)	90,3 ± 1,4224 (a)	98,1 ± 0,4932 (b)	8,64	P= 0,00660239 α = 1 %
Masa húmeda (g)	166,68 ± 4,907 (a)	181,72 ± 5,526 (b)	9,03	P= 0,045164 α = 5 %
Masa del bulbo (g)	101,77 ± 3,593 (a)	120,18 ± 4,097 (b)	18,09	P= 0,0011404 α = 1 %
Diámetro del bulbo (cm)	5,133 ± 0,096 (a)	5,629 ± 0,098 (b)	9,7	P= 0,000536 α = 0,1 %
<b>Plantas de acelga</b>				
Germinación (%) (N=100)	75,0 ± 6,3430 (a)	90 ± 3,5008 (b)	20,01	P= 0,0451243 α = 5 %
Masa húmeda (g)	238,44±24,5851 (a)	374,95 ± 22,001 (b)	57,25	P= 0,0001873 α = 0,01 %
Altura (cm)	31,02 ± 0,789 (a)	36,31 ± 0,873 (b)	18,28	P= 0,0000636 α = 0,01 %
Número de hojas	16,6 ± 0,426 (a)	20,85 ± 0,612 (b)	25,60	P= 0,00000147 α = 0,01 %
Largo de la hoja (cm)	18,84 ± 0,655 (a)	23,129 ± 0,351 (b)	22,77	P= 0,00000400 α = 0,01 %
Ancho de la hoja (cm)	14,57 ± 0,519 (a)	19,05 ± 0,586 (b)	30,75	P= 0,00000137 α = 0,01 %
<b>Plantas de zanahoria</b>				
Germinación (%) (N=100)	81,23 ± 1,2333 (a)	87,32 ± 1,3955 (b)	7,5	P= 0,030791 α = 5,0 %
Masa húmeda (g)	87,34 ± 5,885 (a)	137,01 ± 6,837 (b)	56,86	P= 0,00000271 α = 0,01 %
Masa de las raíces (g)	46,0 ± 4,121 (a)	70,11 ± 4,630 (b)	52,41	P= 0,0003911 α = 0,1 %
Largo de raíz principal (cm)	10,17 ± 0,322 (a)	12,15 ± 0,332 (b)	19,42	P= 0,0001249 α = 0,1 %
Masa de hojas y tallo (g)	41,34 ± 2,926 (a)	66,90 ± 4,455 (b)	61,83	P= 0,0000250 α = 0,01 %

N=40, plantas de rábano y acelga. N=20, para plantas de zanahoria. Incremento de los parámetros en las plantas inoculadas con *P. indica* H32, con relación a las plantas no inoculadas. Letras desiguales indican diferencias significativas entre las medias

**Tabla 3.** Rendimiento en parcelas de plantas inoculadas y no-inoculadas con *P. indica* H32. Incremento del rendimiento en las parcelas inoculadas en comparación con el de las no-inoculadas

Cultivos	Rendimiento (kg) (no-inoculada)	Rendimiento (kg) (inoculada)	Incremento (%)
Rábano	15,0	17,8	19,0
Acelga	17,883	33,745	88,70
Zanahoria	7,07	11,92	68,5

## CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación con la *Pseudoxanthomona indica* H32 contribuyen al conocimiento de nuevos microorganismos autóctonos con potencial en la promoción del crecimiento en plantas. Gracias a sus características, ésta puede ser utilizada en la formulación de productos biofertilizantes con el objetivo de mejorar la calidad y el rendimiento de los cultivos, sustituyendo o minimizando la utilización de productos químicos acorde con las necesidades de los agricultores. De forma general, su uso traería como beneficio mejoras en la economía, contribuyendo a elevar la productividad de los cultivos y conservando el medio ambiente.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Departamento de Ingeniería del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Además, a la dirección de los Institutos de Sanidad Vegetal y Suelos, de Camagüey, por todo el apoyo brindado durante el desarrollo de la investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Kumar A, Singh S, Gaurav AK, Srivastava S, Verma JP. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2020 [cited 2024 Feb 6];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.01216>
2. Lebrazi S, Niehaus K, Bednarz H, Fadil M, Chraïbi M, Fikri-Benbrahim K. Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization by rhizobacterial strains isolated from *Acacia cyanophylla* root nodules and their effects on its plant growth. *Journal, Genetic Engineering & Biotechnology* [Internet]. 2020;18(1): 71. doi:10.1186/s43141-020-00090-2
3. Etesami H, Maheshwari DK. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [Internet]. 2018;156:225-46. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.03.013
4. Singh I. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions: a review. *European Journal of Biological Research* [Internet]. 2018;8:191-213. doi:10.5281/zenodo.1455995
5. Kalimuthu R, Suresh P, Varatharaju G, Balasubramanian N, Rajasekaran KM, Shanmugaiah V. Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid (IAA) Producing Tomato Rhizobacterium *Pseudomonas* sp VSMKU4050 and its Potential for Plant Growth Promotion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* [Internet]. 2019 [cited 2024 Feb 6];8(06):443-55. doi:10.20546/ijcmas.2019.806.050
6. Myo EM, Ge B, Ma J, Cui H, Liu B, Shi L, et al. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth. *BMC Microbiology* [Internet]. 2019 [cited 2024 Feb 6];19(1):155. doi:10.1186/s12866-019-1528-1
7. Yulianti E, Rakhmawati A. Screening and characterization of phosphate solubilizing bacteria from isolate of thermophilic bacteria. *AIP Conference Proceedings*. 2017 [cited 2024 Feb 6];1868:090015. doi:10.1063/1.4995207
8. Nayaka S, Chakraborty B, Swamy PS, Bhat MP, Airodagi D, Basavarajappa DS, et al. Isolation, characterization, and functional groups analysis of *Pseudoxanthomonas indica* RSA-23 from rhizosphere soil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* [Internet]. 2019 [cited 2024 Feb 6];9,(11):101-6. doi:10.7324/JAPS.2019.91113
9. Montealegre JR, Reyes R, Pérez LM, Herrera R, Silva P, Besoain XA. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Electronic Journal of Biotechnology* [Internet]. 2003 [cited 2024 Feb 6];6(2):0-0. doi:10.2225/vol6-issue2-fulltext-8
10. RAHMAN A, SITEPU IR, TANG S-Y, HASHIDOKO Y. Salkowski's Reagent Test as a Primary Screening Index for Functionalities of Rhizobacteria Isolated from Wild Dipterocarp Saplings Growing Naturally on Medium-Strongly Acidic Tropical Peat Soil. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* [Internet]. 2010 [cited 2024 Feb 6];74(11):2202-8. doi:10.1271/bbb.100360
11. Pikovskaya R, Pikovskaya RI. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. 1948 [cited 2024 Feb 6];17:362-70. Available from: <https://www.scinapse.io/papers/2955901796>
12. Acosta-Suárez M, Cruz-Martín M, Alvarado-Capó Y, Barbón R, Pichardo T, Rodríguez E, et al. Solubilización de fosfatos in vitro por cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* y promoción del crecimiento de plantas de café. *Biología Vegetal* [Internet]. 2019 [cited 2024 Feb 6];19(1):65-72. Available from: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/602>
13. Nasri N, Saïdi I, Kaddour R, Lachaâl M. Effect of Salinity on Germination, Seedling Growth and Acid Phosphatase Activity in Lettuce. *American Journal of Plant Sciences* [Internet]. 2015 [cited 2024 Feb 6];06(01):57. doi:10.4236/ajps.2015.61007
14. Akinrinlola RJ, Yuen GY, Drijber RA, Adesemoye AO. Evaluation of *Bacillus* Strains for Plant Growth Promotion and Predictability of Efficacy by In Vitro Physiological Traits. *International Journal of Microbiology* [Internet]. 2018 [cited 2024 Feb 6];2018:e5686874. doi:10.1155/2018/5686874
15. Tsegaye\* Z, Gizaw B, Tefera G, Feleke A, Chaniyalew S, Alemu T, et al. Isolation and biochemical characterization of Plant Growth Promoting (PGP) bacteria colonizing the rhizosphere of Tef crop during the seedling stage. *Journal of Plant Science and Phytopathology* [Internet]. 2019 [cited 2024 Feb 6];3(1):013-27. doi:10.29328/journal.jpap.1001027
16. Benaïssa A, Djebbar R, Abderrahmani A. Diversity of plant growth promoting Rhizobacteria of *Rhus tripartita* in arid soil of Algeria (Ahaggar) and their physiological properties under abiotic stresses. *Advances in Horticultural Science* [Internet]. 2018 [cited 2024 Feb 6];32(4):525-34. doi:10.13128/ahs-22424

17. Duca DR, Glick BR. Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* [Internet]. 2020;104(20):8607-19. doi:10.1007/s00253-020-10869-5
18. Tian H, Lv B, Ding T, Bai M, Ding Z. Auxin-BR Interaction Regulates Plant Growth and Development. *Frontiers in Plant Science* [Internet]. 2018 [cited 2024 Feb 6];8. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2017.02256>
19. Wagi S, Ahmed A. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *PeerJ* [Internet]. 2019 [cited 2024 Feb 6];7:e7258. doi:10.7717/peerj.7258
20. Alori ET, Glick BR, Babalola OO. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2017 [cited 2024 Feb 6];8. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.00971>
21. Olanrewaju OS, Glick BR, Babalola OO. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* [Internet]. 2017 [cited 2024 Feb 6];33(11):197. doi:10.1007/s11274-017-2364-9
22. Mangmang J, Deaker R, Rogers G. Early seedling growth response of lettuce, tomato and cucumber to *Azospirillum brasilense* inoculated by soaking and drenching. *Horticultural Science* [Internet]. 2015;42(1):37-46. doi:10.17221/159/2014-HORTSCI
23. Moreno Reséndez A, Carda Mendoza V, Reyes Carrillo JL, Vásquez Arroyo J, Cano Ríos P. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología* [Internet]. 2018 [cited 2024 Feb 6];20(1):68-83. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6532360>
24. Vocciante M, Grifoni M, Fusini D, Franchi E, Petruzzelli G. The Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Mitigating Plant's Environmental Stresses. *Appl. Sci* [Internet]. 2022 [cited 2024 Feb 6];12(3):1231. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3417/12/3/1231>