

AISLAMIENTO DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NATIVAS DE LA CIÉNAGA DE MALLORQUÍN EN EL DEPARTAMENTO DEL ATLÁNTICO-COLOMBIA

Laura M Gómez Osorio *

RESUMEN

Las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) en el ecosistema de manglar de la ciénaga de Mallorquín desarrollan importantes interacciones con las plantas, entre las que se encuentran las bacterias solubilizadoras de fosfato que desempeñan un importante papel en el suministro de fósforo soluble. Se realizó un aislamiento primario de bacterias solubilizadoras de fosfato a partir de muestras de suelo rizosférico y de lodos. Dichas muestras fueron recolectadas en cinco puntos equidistantes de la ciénaga de Mallorquín en el departamento del Atlántico, Colombia, con el fin de aportar elementos y datos de la presencia de microorganismos con potencial biofertilizante que puedan emplearse para mejorar el crecimiento y desarrollo de los cultivos a futuras investigaciones derivadas del tema en la ciénaga. Teniendo en cuenta que por las condiciones económicas, geográficas y sociales del territorio en el cual se encuentra inmerso el manglar ha sido imposible una caracterización profunda de su biodiversidad. Conociendo necesidad del uso de fertilizantes por el sector agrícola, y de los impactos positivos que tienen estas bacterias sobre las plantas y el ambiente, su recuperación en la ciénaga da vía a la idea de utilizar las bacterias aisladas en el laboratorio para promover el crecimiento de cultivos de interés agroindustrial y de disminuir el uso de sustancias químicas con impactos poco deseables.

Palabras claves: PGPR, Fosfato, Manglar, Fertilizantes.

*Laura Margarita Gómez Osorio, estudiante microbiología X semestre Universidad Libre Seccional Barranquilla.
Correo de contacto: lamagoos@hotmail.com

ABSTRACT

Plant Growth Promoting Bacteria (PGPR) in mangrove ecosystem of Mallorquin marsh develop important interactions with plants, among they are phosphate solubilizing bacteria that play an important role in the supply of soluble phosphorus. A primary isolation of phosphate solubilizing bacteria was performed from samples of rhizospheric soil and sludge. These samples were collected at five equidistant points from the Mallorquín marsh in the State of Atlántico, Colombia. This, in order to provide elements and data on the presence of microorganisms with biofertilizer potential that could be used to enhance the growth and development of the crops future research on the subject in the swamp. Taking into account that, due to the economic, geographic and social conditions of the territory in which the mangrove is immersed, a deep characterization of its biodiversity has been impossible. Knowing the need for fertilizer use by the agricultural sector, and the positive impacts these bacteria have on plants and the environment, their recovery in the swamp gives way to the idea of using isolated bacteria in the laboratory to promote growth of crops of agroindustrial interest and to reduce the use of chemical substances with undesirable impacts.

Key words: PGPR, Phosphate, Mangrove, Fertilizer.

INTRODUCCIÓN

La ciénaga de Mallorquín es un espejo de agua, ubicado en el extremo norte del distrito de Barranquilla en el departamento del Atlántico, Colombia, conocido por ser un sistema de lagunas costeras con un manglar de amplia biodiversidad. Los manglares son ecosistemas de pantanos, de suelo plano y fangoso, que pueden estar inundados constantemente o sólo en mareas altas y con aguas relativamente tranquilas¹.

A través del tiempo, las condiciones económicas y sociales del territorio en el cual se encuentra inmerso el manglar han impedido una caracterización profunda de su biodiversidad; sin embargo, diversos grupos académicos han realizado esfuerzos

puntuales para determinar ciertas características microbiológicas como lo menciona Cantillo y colaboradores² en su estudio donde logró aislar cinco cepas de hongos solubilizadores de fosfatos en grumos de suelo rizosférico.

Los microorganismos solubilizadores de fosfatos se caracterizan por la capacidad de solubilizar compuestos fosfatados inorgánicos del medio a través de procesos bioquímicos como la acción de ácidos orgánicos producto del metabolismo de los microorganismos, la quelación de elementos que impiden la solubilización de los fosfatos presentes en el suelo y la asimilación directa de fosfatos insolubles por microorganismos que lo acumulan para posteriormente liberarlo. El resultado de estos procesos permite, al igual que los fertilizantes industriales, que las plantas utilicen los fosfatos del suelo³. Esta característica en particular, es un factor benéfico que promueve el crecimiento vegetal como resultado de la interacción planta-bacteria⁴.

En este sentido, en la microbiota del suelo conviven distintos microorganismos de diferentes géneros bacterianos en constante interacción con las raíces de las plantas. Dicha interacción puede ser benéfica, perjudicial o neutral desde el punto de vista del desarrollo y crecimiento vegetal. Aquellas bacterias capaces de impactar positivamente el crecimiento de cualquier especie vegetal, son conocidas como Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR)⁵.

Teniendo en cuenta el frecuente uso de químicos para promover el crecimiento vegetal en la agroindustria⁶, el aislamiento de estas bacterias podría abrir la posibilidad a una alternativa biológicamente más estable, ambientalmente más sostenible y económicamente más rentable para maximizar los rendimientos de cosecha y mejorar la calidad edafológica. De esta manera, se determinó la presencia de bacterias solubilizadoras de fosfatos y promotoras del crecimiento vegetal a través de aislamientos primarios de muestras de lodos y suelos rizosféricos tomados en la ciénaga en el segundo semestre del 2015. Lo anterior, con el fin de aportar elementos y datos de la presencia de microorganismos con

potencial biofertilizante que puedan emplearse para mejorar el crecimiento y desarrollo de los cultivos a futuras investigaciones derivadas del tema en la ciénaga.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se configuró como una investigación de tipo exploratorio y experimental de carácter vertical realizado a partir de un muestreo aleatorio simple de lodo y suelo rizósferico tomado en cinco puntos equidistantes de dos zonas diferentes de la ciénaga en una misma fecha. La línea de investigación es bioprospección de interés agroindustrial ya que los microorganismos que se aislaron funcionan como biofertilizantes⁷.

Considerando que no se deben tomar muestras de suelo a la orilla de los caminos, alambrados, bebederos, dormideros, montes, surcos muertos, antiguas construcciones y sectores de carga de fertilizantes o agroquímicos por representar fuentes de interferencia⁸; Las muestras, en el caso del lodo, se extrajeron a 5 metros de la orilla sur de la ciénaga y las de suelo rizosférico, en las raíces de los manglares al este de la ciénaga.

Las muestras se tomaron con una pala de muestreo en bolsas plásticas de dos (2) kilogramos, a la misma profundidad a la que se encontraban las raíces de las plantas del mangle. Finalmente se etiquetaron y transportaron bajo condiciones de refrigeración al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Libre Seccional Barranquilla.

A partir de la muestra de lodo y suelo rizósferico se hicieron diluciones seriadas hasta llegar a 10^{-6} , luego se sembraron 0,1mL de cada dilución por duplicado en placas con medio de cultivo Fundara Rao y Sinha (SRS)⁹. Ver *Tabla 1*. Este medio contiene fosfatos precipitados que, al ser solubilizado por el metabolismo de las bacterias, deja un halo claro alrededor de la colonia¹⁰ y azul de bromotimol como

indicador de pH que en presencia de un medio ácido vira a color amarillo y en básico vira de color azul¹¹.

Tabla 1. Composición medio de cultivo SRS

Composición medio de cultivo SRS	
REACTIVO	CANTIDAD (g/L)
KH ₂ PO ₄	0.2
K ₂ HPO ₄	0.8
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2
CaSO ₄	0.1
MoO ₃	0.001
Sacarosa	5.0
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.04
Agar	15
Agua destilada	1000 ml
Azul de Bromotimol	0.5
pH 7.6	

Una vez hecha la siembra, se incubaron las placas durante 120 horas a una temperatura de 35 ± 2 C°. Se contaron, en todas las cajas, las colonias que tenían las características necesarias para ser reconocidas como solubilizadoras de fosfatos, es decir, con una clara acidificación del medio que indicaba la presencia de metabolitos bacterianos y la expresión de un halo transparente alrededor de la colonia que mostraba la solubilización del fosfato de calcio. Finalmente se calculó la concentración de microorganismos por gramo de suelo y se determinó la homogeneidad en el suelo de ciénaga.

Para completar el experimento, se realizaron controles que permitieron comparar las características propias del medio frente al crecimiento de un microorganismo solubilizador de fosfatos conocido, y la inocuidad del medio para el objetivo del estudio. El control positivo se realizó con un inoculo de *Brukholderia cepacea*, cuyo crecimiento se evidenció en colonias redondas sobre medio de color amarillo

gracias al viraje expresado por el indicador de pH, y adicionalmente la presencia de un halo de color claro que denotaba la solubilización de fosfatos característico de este microorganismo. Igualmente se dejó un control de medio sin inocular expuesto a las mismas condiciones de los cultivos, para confirmar que el medio no estuviese contaminado con algún microorganismo interferente.

RESULTADOS

Muestras de lodo

Al comparar las características morfológicas de las colonias del control positivo con las obtenidas de los lodos de la ciénaga, se evidenció la presencia de bacterias solubilizadoras de fosfato en el 100% de las cajas sembradas con la primera dilución (10^{-1}) lo que indica que la ciénaga efectivamente cuenta con la presencia de dichas bacterias en sus lodos. Al calcular la carga se encontró que existen alrededor de 3,2 a $4,3 * 10^3$ UFC/g de lodo. Para las diluciones restantes el crecimiento fue disminuyendo conforme se esperaba, donde en la sexta dilución (10^{-6}) no se evidencio crecimiento.

Muestras de suelo rizosférico

En las muestras de suelo rizosférico al igual que en la muestra de lodo se evidencio presencia de bacterias solubilizadoras de fosfato en el 100% de las cajas sembradas con la primera dilución (10^{-1}) lo que indica que la ciénaga de Mallorquín efectivamente cuenta con la presencia de dichas bacterias en el suelo rizosférico. Al calcular la carga se encontró que existen alrededor de 3,2 a $4,2 * 10^3$ UFC/g de suelo. Para las diluciones restantes el crecimiento fue disminuyendo conforme se esperaba, donde en la sexta dilución (10^{-6}) tampoco se evidencio crecimiento.

Finalmente, los controles positivos expresaron todas las características esperadas en el medio. En el control de medio no se evidencio crecimiento alguno a pesar de estar expuesto a las mismas condiciones que el resto de los cultivos, lo cual permite

entender que ni el medio ni el ambiente aportaron microrganismos interferentes al ensayo.

DISCUSIÓN

Holguín *et al.* en 2003¹² en su artículo titulado Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizósfera explica que las bacterias solubilizadoras de fosfato son importantes en el ecosistema de manglar porque sostienen interacciones sinergéticas e interdependencias entre las plantas y bacterias que colonizan los mangles y solubilizan fosfatos promoviendo el sostenimiento del ecosistema manglar.

También, se evidenció que la hipótesis de Holguín puede ser cierta porque la ciénaga de Mallorquín posee un ecosistema manglar en donde se recuperaron bacterias solubilizadoras de fosfato pertenecientes al grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, las cuales indiscutiblemente, se encontraban en interacción constante con la microbiota del manglar.

Por otro lado, Melgarejo¹³ y colaboradores en el capítulo 5 “*Microbiología del manglar*” del libro “*Los manglares de la península de la Baja California*” exponen varios casos en los cuales las bacterias solubilizadoras de fosfato prueban tener la capacidad de promover el crecimiento vegetal y apoyan la teoría de que la existencia de este grupo de bacterias es de vital importancia para el funcionamiento del ecosistema mangle. Teniendo en cuenta las conclusiones de Holguín, Melgarejo y colaboradores y el hecho de que se lograron aislar las bacterias en el laboratorio, se da vía a la idea de utilizar las bacterias aisladas en el laboratorio para promover el crecimiento de cultivos de interés agroindustrial y de disminuir el uso de agroquímicos.

CONCLUSIONES

El 100% de las muestras evaluadas evidenciaron presencia de bacterias solubilizadoras de fosfatos, lo cual indica que, tomando en cuenta la distribución y distancia de los sitios en los que se tomaron las muestras, hay presencia de bacterias solubilizadoras de fosfatos a lo largo de toda la ciénaga. Además, en los

recuentos obtenidos se observa una carga muy similar entre el suelo rizosferico y los lodos, por lo cual se espera que a lo largo de la ciénaga la concentración de bacterias solubilizadoras de fosfatos sea relativamente homogénea.

Teniendo en cuenta que, las bacterias solubilizadoras de fosfatos son consideradas parte de las PGPR por facilitar a las plantas la captura del fosforo, la necesidad del uso de fertilizantes en el sector agrícola, los impactos positivos que tienen estas bacterias sobre las plantas y el ambiente y la concentración de dichos microorganismos en la ciénaga, es posible decir que es viable su aislamiento desde estos suelos para crear y estudiar inoculantes que contribuyan a promover el crecimiento de cultivos de interés agroindustrial y a disminuir el uso de sustancias químicas con impactos poco deseables.

REFERENCIAS

1. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (MAVDT), Establecimiento Público Ambiental de Cartagena (EPA). Caracterización de los manglares localizados en los caños y lagunas interiores del perímetro urbano de la ciudad de Cartagena de indias. 2006.
2. Cantillo Romero B y Noriega Coronell L. Aislamiento e identificación de hongos solubilizadores de fosfato inorgánico asociados a la rizósfera de *Rhizophora* mangle en la ciénaga de Mallorquín. Universidad Libre Seccional Barranquilla. 2010.
3. Restrepo G, Moreno S, Fe-Pérez Y, Díaz-de la Osa A, et al. Bacterias soubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2015,46(1)
4. Bobadilla Henao C, Rincón Vanegas S. Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza. Pontificia Universidad Javeriana, facultad de ciencias, carrera de Microbiología industrial. Bogotá D.C, 2008.

5. Schoebitz Iván. Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal de la rizósfera de *Lolium perenne* de suelo volcánico (modelo género *Azospirillum* spp.) *Science and Plant Nutrition* 2006, 9, 45-49.
6. Ministerio de Salud. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, La problemática de los agroquímicos y sus envases, su incidencia en la salud de los trabajadores, la población expuesta por el ambiente. - 1a ed. - Buenos Aires Argentina 2007.
7. Cuervo Lozada J, Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Pontificia universidad javeriana facultad de ciencias básicas, 2010.
8. Sosa Domingo, Técnicas de toma y remisión de muestras de suelos. INTA Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria, 2012.
9. Sundara, R. & Sinha, M., Organism's phosphate solubilizers in soil. 1963.
10. Bonilla Gómez M. Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque alto andino en la cordillera oriental de Colombia. Bogota- Colombia 2005. pag:93.
11. Gómez Sosa G, Indicadores de pH. Química analítica. , 2010.
12. Holguín G; Bashan Yoav, Puente E, Carrillo Á, Bethlenfalvay G, Rojas A, Vázquez, Patricia; Toledo, Gerardo, et al. Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizósfera. (Plant Growth promotion by rhizosphere bacteria) Agricultura Técnica en México Vol. 29 Núm., 2003.
13. Mergarejo Luz M, Holguín G, Vázquez P, Sánchez J, López de los Santos Y, Flores-Mireles Ana L, Vanegas J, et al. M. Los manglares de la península de baja California: Microbiología del manglar. México Publicación de divulgación del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, 2011. P. 130-146