

INTRODUCCIÓN

El fósforo (P) es un elemento esencial para las plantas, que si bien puede encontrarse en altas concentraciones en los suelos fertilizados, este puede no estar disponible.

En el suelo la actividad biológica solubiliza el P en base principalmente a dos mecanismos; la excreción de ácidos orgánicos por parte de las raíces de las plantas y la actividad de los microorganismos del suelo.

Existen varios géneros bacterianos que solubilizan P, que suelen encontrarse en alto número en el rizoplasma, lo que es consistente con la alta demanda de P en este sitio. Si bien la mayoría de estos organismos solubilizan el P por excreción de ácidos orgánicos al medio, no se ha encontrado correlación entre la producción de ácido (pH del medio) y la solubilización de PO₄.

Las bacterias promotoras del crecimiento (PGPR), suelen actuar a través de más de un mecanismo, por ej. la producción de ácido Indolacético (AIA) y de sideróforos. Mientras que el AIA podría estar involucrado en la inhibición de la germinación de esporas y crecimiento de los hongos patógenos, los sideróforos pueden promover indirectamente el crecimiento de la planta secuestrando el Fe de la rizósfera y limitando el crecimiento de los patógenos.

En nuestro laboratorio comenzamos estudios tendientes a comprender las bases de la solubilización de P, con el fin de desarrollar fertilizantes biológicos.

En este trabajo se estudió el comportamiento de bacterias promotoras del crecimiento, que producen ácidos orgánicos. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar la capacidad de los organismos solubilizadores de P para producir AIA y sideróforos y controlar el crecimiento de los hongos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Determinación de AIA: Los aislamientos bacterianos se cultivaron en medio Tris-YMRT, enriquecido con 0.3 mM de triptofano (Minamisawa, 1991). El AIA se determinó tal cual lo descrito por Ferreira and Hungria (2002).

Producción de sideróforos: se determinó en medio conteniendo Cromo Azurol Agar (CAS) (Alexander and Zuberer, 1991). Luego de incubar los cultivos a 26°C por 2 días se determinó la producción de sideróforos por la presencia de un halo naranja rodeando a la colonia.

Actividad antifúngica: Se efectuaron dos experimentos de antagonismo *in vitro* entre las cepas descritas en la tabla con *Fusarium graminearum* y *F. solani*. El primero consistió en un screening de la actividad antifúngica, con este fin se sembraron estrías bacterianas en los cuadrantes de placas de petri previamente inoculadas, en la zona central, con los hongos patógenos. La actividad antifúngica y su relación con la producción de sideróforos se evaluó de acuerdo a lo propuesto por Filippi (1984), con algunas modificaciones. Luego en base a la siembra de bacterias en dos estrías en cruz, el medio de cultivo (Agar CAS) se dividió en cuadrantes. En el centro de los cuales se colocó un disco de 5 mm de diámetro de un cultivo de *F. graminearum* o *F. solani*. Las cajas se incubaron a 26°C y posteriormente, se midió el diámetro mayor de las colonias de *F. graminearum* y *F. solani* a los 2 y 7 días de incubación. Cada tratamiento se realizó por triplicado. El tratamiento control consistió en la siembra de discos con *F. graminearum* y *F. solani* sin bacterias en cruz.

Producción de AIA

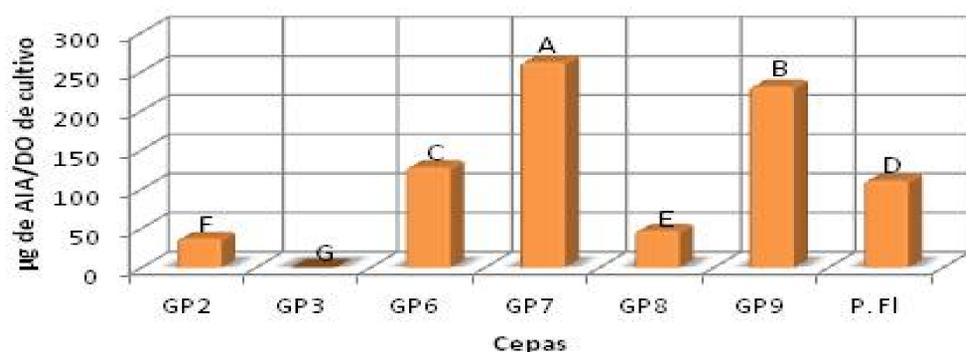


Figura 1: Evaluación cuantitativa de la producción bacteriana de AIA.

| Cepas | Clasificación |
|-------|---------------------------------|
| GP 2 | <i>Pseudomonas cichori</i> |
| GP 3 | <i>Pseudomonas corrugata</i> |
| GP 6 | <i>Enterobacter sakazakii</i> |
| GP 7 | <i>Enterobacter agglomerans</i> |
| GP 8 | <i>Enterobacter sakazakii</i> |
| GP 9 | <i>Kluyvera cryocrescens</i> |
| P. FI | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |



Figura 2: Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica en Agar nutritivo y producción de sideróforos en Agar CAS.



Figura 3: Evaluación cuantitativa de la actividad antifúngica en Agar CAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

E. agglomerans (GP7) y *K. cryocrescens* (GP9) produjeron la mayor cantidad de AIA y de sideróforos en este caso junto con *P. fluorescens* (P. FI) (Fig. 1 y 2). En contraposición, *E. sakazakii* (GP 6 y 8) no produjo sideróforos en presencia del hongo en medio CAS y las cepas de *P. cichori* (GP2) y *P. corrugata* (GP3) produjeron bajos niveles.

Las cepas P. FI, GP2 y GP9 inhibieron el crecimiento de *F. graminearum* a las 48 h de incubación. Sin embargo, *F. solani* fue inhibido por todas las cepas, salvo GP3, lo que se debió a que esta cepa no crece apreciablemente en el medio CAS. Cuando la determinación se realizó a los 7 días de incubación se comprobó que todas las cepas excepto GP3, GP6 y GP7 inhibieron a *F. graminearum* (Fig. 3). *F. solani* mostró un comportamiento distinto y su crecimiento solo fue inhibido por las cepas GP9 y GP2. El análisis de las determinaciones realizados en distintos intervalos de tiempo muestra que, aparentemente algunos aislamientos bacterianos pierden la capacidad de inhibir el crecimiento fúngico cuando el tiempo de exposición del hongo a la bacteria aumenta.

CONCLUSIÓN

P. fluorescens (P. FI), *K. cryocrescens* (GP9) y *P. cichori* (GP2) inhiben el desarrollo de *F. graminearum* y *F. solani*, lo que es una función del tiempo de interacción de los organismos.

Si bien la producción de AIA y sideróforos esta relacionada con la capacidad antifúngica de las bacteria, otros metabolitos contribuyen a la actividad inhibitoria.

Los aislamientos bacterianos solubilizan P inorgánico, producen AIA y sideróforos, características que sugieren un buen potencial como promotores del crecimiento vegetal para la producción de biofertilizantes.

Pseudomonas fluorescens (P. FI), *K. cryocrescens* (GP9) y *P. cichori* (GP2) mostraron tener la mayor actividad antifúngica.