

CAPÍTULO 11

**CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS
NATIVAS CON POTENCIAL
BIOFERTILIZANTE AISLADAS DE SUELOS
DEL DEPARTAMENTO DE SUCRE**

Liseth Paola Pérez Flórez
Luis Eliecer Oviedo Zumaque

28 Bióloga. Maestría en Biotecnología.

29 Licenciado en biología y química, Ingeniero Agrónomo. Especialidad en Suelos y Aguas.

Introducción

La utilización de fertilizantes químicos ha sido el recurso más empleado para aumentar la producción de los cultivos. En Colombia el incremento en el uso de fertilizantes durante las últimas décadas ha dado origen a procesos de transformación en el ambiente, produciendo alteraciones físico-químicas y biológicas, lo cual ha influido en la desestabilización ecológica del suelo afectando negativamente su fertilidad (Morales, 2007). La producción de fertilizantes, conlleva a la emisión de gases efecto invernadero y los fertilizantes nitrogenados, una vez aplicados sobre los cultivos son una de las mayores fuentes de emisión de dichos gases (Rufina, 2012). Además, la roca fosfórica, materia prima de los fertilizantes fosforados tiene grandes cantidades de cadmio, este se acumula en el suelo con posterior paso a las plantas y a los animales presentando efectos tóxicos (Bonomelli et al., 2002). A esto se le suma, que estos fertilizantes son usados de forma ineficiente por las plantas (50% -60%), y el no recuperado por el cultivo termina en el medio ambiente, en su mayoría en las aguas superficiales o subterráneas ocasionando pérdida de la flora y fauna de estos ecosistemas debido a procesos de eutrofización (Lara y Oviedo, 2008) y pueden posteriormente generar lluvia acida (Armenta et al., 2010).

Desde el punto de vista económico, la fertilización química demanda altos costos ya que estos productos son elaborados con algunos insumos importados o provenientes de yacimientos mineros no renovables, adicionalmente después de su producción se adicionan los costos de transporte y mano de obra para su aplicación (Morales, 2007).

No es oculto que las exigencias del mercado global están aumentando de manera desmedida los niveles de productividad. La FAO (2011), proyecta para el 2018 la utilización de alrededor de 200 millones de toneladas de fertilizantes químicos (N, P y K₂O), destacándose Latinoamérica con un aumento del 3,3 % anual lo que genera preocupación y enciende las

alarmas por los daños adicionales que se pueden causar al medio ambiente y en especial a los suelos que son de uso para los cultivos. Según la IFA (2011), en 2010 Colombia importó 80.000 toneladas de estos productos de países como Rusia, Ucrania y algunos de Latinoamérica como Venezuela y Trinidad y Tobago. Y también se ha evidenciado que aproximadamente el 80 % de los productores agrícolas hacen aplicaciones de fertilizantes nitrogenados, de los cuales el más empleado es la urea.

El departamento de Sucre es un eslabón importante donde la agricultura y la ganadería extensiva tienen gran acogida y en el que también se ha dado un uso indiscriminado de agroquímicos en la ejecución de dichas actividades (Gobernación de Sucre, 2016). Tiene una extensión de 87.855 ha destinada a la producción agrícola (DANE- ENA 2013) y se destacan los cultivos de yuca, arroz seco mecanizado, arroz mecano manual, maíz tradicional, maíz tecnificado, sorgo, tabaco negro, algodón, ajonjolí y ñame (BANCO DE LA REPÚBLICA, 2016).

Según el IDEAM (2015) Sucre está dentro de los departamentos con magnitud de erosión del 75,1 % respecto a su área, es decir mayor magnitud de degradación por erosión. Las actividades y factores socioeconómicos, que mayor presión ejercen sobre los suelos y ocasionan degradación por erosión, se localizan entre otros, en los territorios agropecuarios (agrícolas 92,9%, agropecuario 88,2%, ganaderos 77,3%). El uso excesivo de riego y fertilizantes en los suelos destinados para cultivos producen salinización, acidificación y contaminación dando origen a una degradación química del suelo.

Por todo lo dicho, los retos más importantes en la actualidad tienen que ver con el desarrollo de prácticas agrícolas basadas en tecnologías limpias y una herramienta factible para ello es el desarrollo de planes de fertilización microbiana de modo que se minimicen los impactos negativos producidos.

El suelo es un ecosistema de enorme riqueza microbiana, los estudios sobre estos son numerosos y han permitido determinar que el empleo de microorganismos fijadores asimbióticos de nitrógeno y secretores de sustancias promotoras de crecimiento vegetal demuestran un aumento significativo en los rendimientos de cultivos y disminución de la contaminación ambiental. Dentro de los géneros más importantes en estos procesos están *Azospirillum* spp, *Rhizobium* spp, *Bacillus* spp,

Azotobacterspp. (Lara y Oviedo, 2008) Pseudomonas sp, Enterobacterspy Klebsiellasp (Martínez, 1999).

La utilización de microorganismos benéficos en la agricultura ha aumentado considerablemente en los últimos años, estableciéndose como una estrategia que responde al fortalecimiento de sistemas de producción sostenible, basado en la obtención de alimentos sin, o casi nula aplicación de fertilizantes químicos y pesticidas, sin influir en la contaminación ambiental ni en la salud humana (Alarcón y Ferrera, 2000). Morales (2007) afirma que estos biofertilizantes tienen un costo para el productor equivalente al 10% del costo total de la fertilización química. Por otro lado, mientras que en el uso del fertilizante químico se aplican cientos de kilogramos por hectárea, con el uso de biofertilizantes éste se reduce a una aplicación de 1,5kg por hectárea. De acuerdo con lo planteado, el desafío actual sugiere el abandono de prácticas tradicionales poco racionales y contaminantes para reemplazarlas por otras quegaranticen la intensificación sostenible de la producción agrícola respondiendo así a la demanda cada vez mayor de alimentos para toda la población mundial y a la conservación de recursos naturales fundamentales como agua y aire.

Para el departamento de Sucre han sido pocos los estudios que se han llevado a cabo sobre dicho tema por lo que se debe dar continuidad en la búsqueda, identificación y caracterización de cepas nativas (microorganismos adaptados a las condiciones ambientales de la región) con potencial de biofertilización. Los resultados aquí hallados permitirán ofrecer nuevas alternativas tecnológicas, innovadoras y sustentables a los agricultores locales.

Es por esto, que en la presente investigación se caracterizaron bacterias nativas con potencial biofertilizante aisladas de suelos del departamento de Sucre. Para ellos se evaluaron diferentes parámetros físico-químicos, que permitieron inferir sobre su potencial para ser utilizado como alternativa frente a los fertilizantes químicos en diferentes cultivos de la región.

Metodología

Para el aislamiento de bacterias nativas con potencial biofertilizantes se tomaron muestras de suelos de cultivos agrícolas (yuca y frijol) en el Indicar donde se realizó el experimento (localidad exacta).

El presente estudio se realizó en fincas ganaderas del municipio de San Juan de Betulia, en el departamento de Sucre, a una distancia de 21 km de la ciudad de Sincelejo, departamento de Sucre. Piso térmico cálido, presenta dos estaciones climáticas bien marcadas, la estación de lluvia y la estación de sequía de forma (unimodal o bimodal), con una temperatura media de 30°C y una humedad relativa de 80%. San Juan de Betulia se caracteriza por tener extensas sabanas aptas para la ganadería y la agricultura. Se encuentra distribuido en toda la extensión del territorio desde el norte hasta el sur y de este a oeste. Posee lomas conformadas por arcillas carbonatadas, arcillolitas y areniscas con textura arcillosa moderadamente bien drenados y moderadamente profundos y con alta fertilidad.

La Figura 4 representa la zona donde fue realizado el muestreo de suelo correspondiente al municipio de San Juan de Betulia en el Departamento de Sucre.



Figura 4. Vista satelital del municipio San Juan de Betulia, departamento de Sucre. Tomado de (Google Map, 2017).

Aislamiento de bacterias

Las muestras de suelo fueron colectadas de las áreas destinadas para el cultivo de yuca y frijol en el municipio de San Juan de Betulia del departamento de Sucre. En zig-zag abarcando una extensión de 3 Ha. Se tomó las muestras a 15 cm de la superficie de la rizósfera, retirando la capa superficial (hojarasca y materia orgánica semidescompuesta), Se homogenizaron las muestras en cada lote de terreno y se realizó un cuarteo para obtener 1000 g de suelo representativo de cada uno (Lara y Oviedo, 2008). Las muestras fueron llevadas al laboratorio de biotecnología de la Universidad de Córdoba.

Aislamiento primario de los microorganismos

Se realizaron diluciones seriadas de 1:10, de la 10^{-1} hasta 10^{-7} , las dos últimas fueron sembradas en caja de Petri con medios apropiados e incubadas a una temperatura de 28 °C durante 2 días; después de este tiempo se revisaron las cajas de Petri y se observaron las colonias típicas. Se emplearon el medio de cultivo Burk's para aislar y multiplicar microorganismos fijadores de nitrógeno y productores de ácido indol acético (AIA) (Buchanan y Gibbons, 1994; Park et al, 2005; Tejera y Lluch, 2005; Lara et al, 2007). Por su parte se utilizó el medio NBRIP (Kumar y Narula; 1999), para aislar y multiplicar microorganismos solubilizadores de fosfato. Se hicieron ensayos por triplicado.

Aislamiento secundario

A partir de los microorganismos obtenidos en el aislamiento primario se realizaron repiques de las colonias en medios de cultivos selectivos. Medio de cultivo Burk's para aislar y multiplicar microorganismos fijadores de nitrógeno y productores de ácido indol acético (AIA) (Buchanan y Gibbons, 1994; Park et al, 2005; Tejera y Lluch, 2005; Lara et al, 2007) y el medio NBRIP (Kumar y Narula; 1999) para microorganismos solubilizadores de fosfato. Se llevaron a incubación y se hicieron observaciones de las colonias típicas nuevamente con el fin de tener cultivos axénicos (Lara & Oviedo, 2008). Se hizo revisión del crecimiento de las colonias en cajas de Petri para las observaciones de características macroscópicas y se aplicó el método de Tinción de Gram para observar características microscópicas. Se hicieron ensayos por triplicado.

Cuantificación de la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos y producción de auxina

Prueba de solubilización de fosfato tricálcico

Para la determinación de fosfato se empleó el método vanadomolibdofosfórico (Sancho et al., 2004). Las bacterias aisladas fueron reactivadas en cajas de Petri con medio de cultivo NBRIP sólido para luego ser inoculadas en 10 ml de medio de cultivo NBRIP líquido previamente estéril y se incubaron por 48 horas en agitación constante de 150 rpm a una temperatura aproximada de 29 °C. Luego por el método de diluciones seriadas se verificó concentraciones de 10⁸ UFC. Las muestras se centrifugaron y se tomaron 7 ml del sobrenadante, se le agregaron 2 ml de reactivo Vanadatomolibdato y se aforaron hasta 10 ml con agua destilada. Se dejaron en reposo por 10 minutos y posteriormente se procedió a leer la absorbancia a 440 nm., en el espectrofotómetro Perkin- Elmer Lambda 11 UV-Vis. La intensidad de color amarillo en la prueba es proporcional a la concentración de fosfato. Para esta prueba los blancos fueron medios de cultivo NBRIP líquido estéril y sin microorganismos. La lectura de las absorbancias obtenidas de los medios inoculados se corrigió teniendo en cuenta los blancos.

Para realizar la curva patrón y determinar su ecuación se prepararon soluciones patrones de 40, 80, 120, 160, 200 y 240 ppm a partir de una solución estándar de 319,5 ppm de Fosfato ácido de Potasio (KH₂PO₄) con un volumen total de 25 ml y se procedió a aplicar el mismo tratamiento que a las cepas bacterianas. Una vez obtenidos los datos de absorbancias estas fueron reemplazadas en la ecuación de la curva patrón calculando así las concentraciones de fosfatos. Todo el proceso se hizo por triplicado.

Determinación de la actividad fijadora de nitrógeno

Para evaluar la capacidad fijadora de nitrógeno de las poblaciones aisladas, se utilizó el método de valoración del ión amonio empleando la técnica calorimétrica de Berthelot (fenol-hipoclorito) (Lara y Villalba, 2007).

El procedimiento consistió en inocular los aislados, en un medio de suelo al 10%, y luego incubarlos a una temperatura de 28-29 °C durante un tiempo de 48 horas con agitación constante a 150 rpm. Por el método de

diluciones seriadas se verificó concentraciones de 10^{-8} UFC. Pasado este tiempo, se añadió 25 ml de cloruro de potasio (KCl) 2M, manteniéndose el proceso de agitación por una hora más; seguidamente se dejó en reposo hasta que todo el suelo se depositó en el fondo; se tomaron 10 ml del sobrenadante, se centrifugaron a 2000 rpm durante 20 minutos, se le adicionaron 0,4 ml de solución alcohólica de fenol al 10%, 0,4 ml de nitroprusiato de sodio al 0,5% y 1 ml de solución oxidante, la cual se preparó mezclando 20 g citrato de sodio, 1 g de hidróxido de sodio y 1 ml de hipoclorito de sodio 1,5 N en 100 ml de H₂O.

La mezcla se mantuvo en reposo durante 1 hora y posteriormente se midió la absorbancia a 632,9 nm en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 11 UV-Vis. Como blancos de suelo se utilizaron muestras de tierras esterilizadas (sin microorganismos) a las cuales se les determinó la concentración del ión amonio por el método descrito anteriormente. Para esta prueba el color azul indicaba la concentración de nitrógeno fijada. La evaluación de las muestras se realizó por triplicado.

Las concentraciones de amonio obtenidas del sistema (suelo inoculado) fueron corregidas teniendo en cuenta los blancos de suelo. La curva patrón se trazó a partir de una solución estándar de 80 ppm de NH₄Cl, y el rango de trabajo fue de 0,8-5,6 ppm (mg/l). Los valores de absorbancia fueron reemplazados en la ecuación de la curva patrón obteniendo así los valores reales de concentraciones fijadas de nitrógeno.

Cuantificación de la producción de ácido indol acético (AIA)

Para la evaluación química de AIA se utilizó medio de cultivo Burk's líquido libre de nitrógeno y con glucosa como su fuente de carbono, sales minerales y agua destilada (Park et al, 2005). El pH fue ajustado a 6,8 y posteriormente se esterilizó a 121°C durante 15 minutos.

Para la determinación de la producción de AIA se empleó el reactivo de Salkowski (FeCl₃ · 6H₂O 0.01 M y H₂SO₄ 7.1 M) método colorimétrico preparado a partir de cloruro férrico. Se inoculó cada colonia de microorganismos en medio Burk's líquido suplementado con triptófano al 1% (composición por litro glucosa 5 g, Na₂HPO₄ 1 g, NH₄NO₃ 0.4 g, NaCl 0.2, MgSO₄ · 7H₂O 0.4 g, triptófano 1 g) en recipiente esterilizados previamente. Se llevó a agitación constante a 150 rpm a una temperatura

de 29°C por 48 horas (Lara et al, 2007). Se verificaron concentraciones de 10⁸ UFC por el método de diluciones seriadas. Pasado este tiempo se centrifugó a 4000 rpm por 15 min. Se tomó 4 ml del sobrenadante, se pasó a un tubo de ensayo y se agregó 2 ml del reactivo de Salkowsky. Posteriormente se incubó en oscuridad a temperatura ambiente de 25°C por 30 min., la lectura se realizó por espectrofotometría a una absorbancia de 530 nm. La intensidad de color rosado es proporcional a la producción de AIA. La preparación de las soluciones patrones fueron a 3.2, 6.4, 9.6, 12.2, 16.24, 30.4 y 45 ppm a partir de una solución estándar de 160 ppm. Estas soluciones se realizaron por triplicado. Las lecturas de las absorbancias fueron corregidas con el blanco (medio Burk's líquido suplementado con triptófano al 1% sin microorganismos) y luego reemplazadas en la ecuación de la curva patrón obteniendo así los valores de producción de ácido indol acético (AIA). Ensayos por triplicados.

Resultados y discusión

Aislamiento de bacterias nativas con potencial biofertilizante aisladas de suelos agrícolas

Aislamiento

Utilizando el medio selectivo Burk's fueron obtenidos 38 aislados para microorganismos fijadores de nitrógeno y productores de ácido indol acético (AIA) (Buchanan, 1994; Park et al, 2005; Tejera, 2005 & Lara et al, 2007), de los cuales 24 pertenecieron a suelos donde estaba establecido el cultivo de yuca y 14 al de frijol. A partir del medio NBRIP para microorganismos solubilizadores de fosfatos (Kumar&Narula; 1999) fueron 24 los aislados, con 12 cepas para cada respectivo cultivo.

Por su parte, Lara et al (2011) en un estudio realizado en zona rural del municipio de Montería, Córdoba, obtuvieron un total de 61 bacterias aisladas con el fin de determinar su capacidad de solubilización de fosfatos. También en una investigación en municipio de Mérida, Yucatán fueron 83 los microorganismos bacterianos aislados, de la cuales 22 fueron obtenidos de las plantas de chile habanero, 31 de maíz y 30 de calabaza (Noh, et al, 2014). En otro estudio realizado en el Fundo San Martín de Porres en Tacna – Perú se aislaron y caracterizaron 104 cepas de bacterias diazotróficas nativas de la rizósfera del olivo (Clavijo et al, 2012).

Un gran número de las bacterias aisladas en el presente estudio fueron Gram negativas (66,6 %), el resto fueron Gram positivas (33,3%). A nivel microscópico se encontraron formas que variaron entre ovaladas, cilíndricas o de bastones; rectos o curvos (bacilos).

Estos resultados se pueden comparar con datos similares reportados por Lara et al (2011) donde, según la coloración Gram, se evidenció que la mayor parte de las bacterias aisladas fueron Gram negativos (93%). Además de encontrar bacilos Gram positivos (5%) y cocos Gram positivos (2%).

Por otro lado, las bacterias se multiplicaron rápidamente y con incubaciones de 24 horas se hicieron visibles como colonias en los medios de cultivo sólidos. Las características de las colonias de las diferentes cepas bacterianas variaron, unas más pequeñas y otras bastante grandes. Se observaron formas circulares e irregulares, con superficies planas o convexas y en relación a la pigmentación que adquieren hubo cepas grises, amarillas, azules y otras algo transparentes.

Cuantificación de la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos y producción de auxina.

Prueba de medición de solubilización de fosfato tricálcico.

De la curva de calibración se obtuvo la ecuación $y = 0,0062x - 0,0015$ con un R^2 igual a 0,9945, la cual permitió describir el comportamiento de las absorbancias de fosfatos a diferentes concentraciones y longitud de onda máxima. A partir de la ecuación se calcularon las concentraciones de fosfatos producidos por los microorganismos en estudio.

Los 24 microorganismos aislados en medio NBRIP fueron evaluados químicamente en su actividad solubilizadora de fosfatos. 11 bacterias fueron solubilizadoras de fosfato con un máximo de 236,290 ppm y un mínimo de 42,741 ppm. El resto estuvieron por debajo del valor o no lograron solubilizar fosfatos. Del cultivo de yuca 8 de 12 arrojaron concentraciones y 2 no lo hicieron (Tabla 1), mientras que del cultivo de frijol solo 3 de los 12 aislados mostraron concentraciones dentro de la curva (Tabla 2).

Caracterización de bacterias nativas con potencial biofertilizante aisladas de suelos del departamento de Sucre

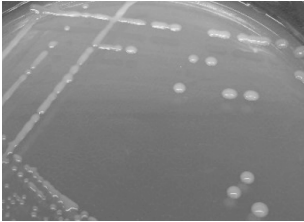
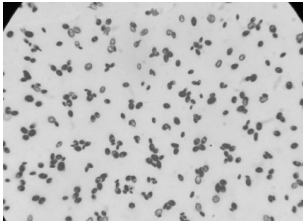
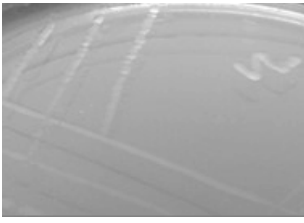
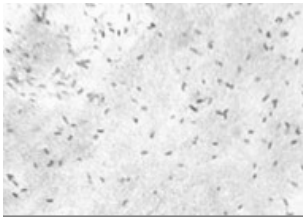
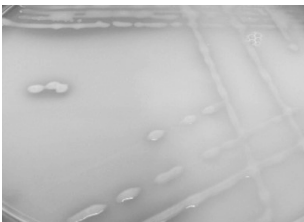
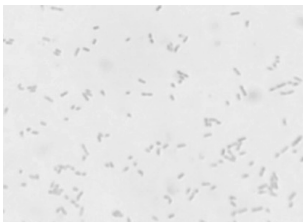
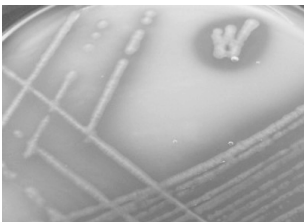
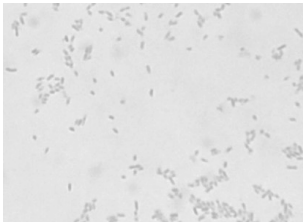
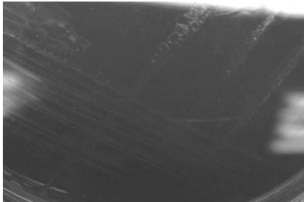
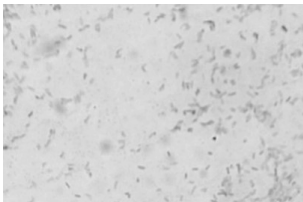
		BY6B	
		Gram	Características fenotípicas
		Negativo	Colonias en forma de gotas, color beige, semitranslúcidas y mucilaginosas
		BF3C	
		Gram	Características fenotípicas
		Negativo	Colonias en forma de gotas, color beige, semitranslúcidas y mucilaginosas
		NY1D	
		Gram	Características fenotípicas
		Negativo	Colonias convexas, de color amarillo suave, opacas y mucilaginosas.
		NY1B	
		Gram	Características fenotípicas
		Negativo	Colonias de color blanco, circulares, opacas y mucilaginosas
		BY4D	
		Gram	Características fenotípicas
		Negativo	Colonias pequeñas, planas, blanco y translúcidas.

Figura 5. Descripción macroscópica y microscópicas de las bacterianas nativas aisladas y que presentaron un mayor potencial biofertilizante (BY6B, BF3C, NY1D, NY1B, BY4D).

Tabla 1. Concentración de fosfatos de aislados de la rizósfera de yuca (Manihot esculenta).

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (ppm)
NY1B	236,290
NY1D1	212,096
NY1F	123,387
NY5B	113,709
NY1D2	73,387
NY1E	45,967
NY2B	45,967
NY1C	42,741

Fuente: cálculos del estudio

Tabla 2. Concentración de fosfatos de aislados de la rizósfera de frijol (Phaseolus vulgaris).

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (ppm)
NF1D1	144,355
NF2F	121,774
NF2A2	110,484

Fuente: cálculos del estudio

La cepa bacteriana NY1B se identificó como la más eficiencia en solubilización de fosfatos. Dicho aislado correspondió a bacilos Gram negativos, y a nivel macroscópico por colonias circulares de color crema para el primero con bordes elevados, lisos y brillantes. Por otro lado el aislado NY1D1 fue la cepa con la segunda mayor concentración de fosfatos (212,096 ppm).

Estudios anteriores han demostrado la capacidad de algunas bacterias para solubilizar fosfatos y de formas variables. Lara et al (2013), reportó la especie *Enterobacter cloacae* en suelos del departamento de Sucre como solubilizadores de fosfatos (596 ppm), con un valor superior al encontrado en la presente investigación para la cepa NY1B (236,290 ppm) para el mismo departamento. Lara et al, (2011) también ubican al género *Enterobacter* como microorganismos solubilizadores de fosfatos.

Collavino et al. (2010) aislaron cepas bacterianas solubilizantes de las raíces y rizósfera de yerba mate, y fueron asignados a los géneros *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*. También, otros estudios pusieron en evidencia la capacidad solubilizadora de fosfatos de *Enterobacter*, además de otros géneros como *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Arthrobacter*, *Rhodobacter*, *Pantoea* y *Klebsiella*, entre las bacterias (Patiño y Sanclemente, 2014). Por su parte Yi et al. (2008) demostraron que la producción de exopolisacáridos confiere mayor capacidad de solubilización fosfatos insolubles al género *Enterobacter* sp.

Fernández et al (2008) caracterizaron una cepa de *P. dispersa* demostrando que la misma actuaba como bioestimuladora del crecimiento vegetal (PGPR) comprobándose su capacidad como solubilizadora de fosfatos en medios axénicos. También Berrío et al. (2012) reafirmó que *P. dispersa* es fosfato solubilizadora a bajas temperaturas.

El proceso de solubilización de fosfatos es de gran importancia para las plantas. Tanto así que Lara et al (2011) mencionan que las bacterias que solubilizan fosfato representan el 10% de la población microbiana del suelo.

Medición del ion amonio en la determinación de la capacidad fijadora de nitrógeno.

La técnica calorimétrica de Berthelot (fenol-hipoclorito) permitió evaluar la capacidad fijadora de nitrógeno de las cepas bacterianas en estudio. Esta técnica consiste en la reacción del amonio con el fenol e hipoclorito en medio alcalino produciendo azul de indofenol determinado colorimétricamente (Lara y Villalba, 2007) (Figura 6).

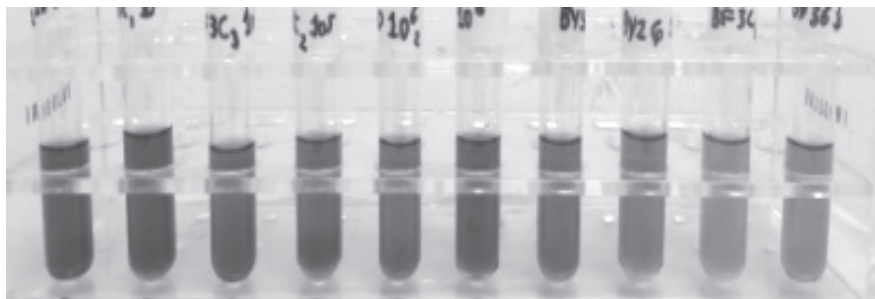


Figura 6. Prueba fisicoquímica para determinar la concentración de amonio producido por aislados bacterianos.

Para determinación de las concentraciones de nitrógeno en las cepas bacterianas se usó la ecuación de la curva de calibrado: $Y = 0,220X + 0,008$ $R^2 = 0,998$

Para la prueba de nitrógeno se evaluaron químicamente 38 muestras aisladas en medio Burk's. Sólo 16 mostraron ser fijadoras de nitrógeno, 10 correspondientes a rizósfera de yuca (*Manihot esculenta*) y 6 a la rizósfera de frijol (*Phaseolus vulgaris*). La mayor concentración fijada fue de 4,716 ppm para la cepa BY4D y la menor fue de 0,807 ppm para BY5A (tabla 3). El resto de las cepas evaluadas mostraron valores por debajo de la curva de calibrado o no fijaron nitrógeno.

Tabla 3. Concentración de amonio producido por aislados de la rizósfera de yuca (*Manihot esculenta*).

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (ppm)
BY4D	4,716
BY3B	4,577
BY3G	2,289
BY2G	2,164
BY4B	1,018
BY1D	0,895
BY4E	0,868
BY3D	0,843

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (ppm)
BY2D	0,830
BY3B	0,814

Fuente: cálculos del estudio

Tabla 4. Concentración de amonio producido por los aislados de la rizósfera de frijol (*Phaseolus vulgaris*).

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (ppm)
BF3C	1,655
BF2E	1,170
BF1B	1,148
BF3D	1,089
BF2B	0,889
BF3A	0,870

Fuente: cálculos del estudio

La cepa BY4D con 4,716 ppm mostró los mejores valores para concentraciones de amonios, son bacterias Gram negativas con colonias de forma lisa, redondas, con bordes irregulares y color beige.

El género *Pseudomonas* se encuentra reportado como fijador de nitrógeno atmosférico. Orozco y Martínez (2009) aislaron a partir de la rizósfera de *P. patulabacterias* fijadoras de nitrógeno y las pruebas bioquímicas sugirieron que el 29 % de las mismas pertenecían al género *Pseudomonas* sp. Santillana (2006) por su parte, evaluó tres tipos de cepas de *Pseudomonas* sp como inoculantes en diferentes cultivos bajo condiciones de invernadero, entre ellos la papa y el tomate. En Cuba también se han realizado un grupo de ensayos para el uso de biofertilizantes a base de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB) con resultados importantes en especies del género *Pseudomonas* (Torriente, 2010).

Otros estudios involucran las *Pseudomonas* como productoras de AIA (Noh et al, 2014) y otros dentro de un gran número de bacterias que

destacan por su potencial como biofertilizantes (Díaz et al., 2001; Zago et al., 2000). Por su parte Fathalla et al. (2005) describen ocho cepas del género *Pseudomonas* como productoras de AIA; *Pseudomonas entomophila*, *P. mosselii*, *P. parafulva*, *P. corrugado*, *P. anguilliseptica*, *P. putida*, *P. argentinensis*, y *Pentomophilacon* valores oscilados entre oscilaron entre 7,84 y 19,59 ppm.

Por otro lado, se han encontrado otros microorganismos con capacidad de fijar nitrógeno. Lara y Oviedo (2008) reportan el género *Azotobacterspp* y *Azospirillumsp* en los municipios de Montería, Cereté, Ciénaga de Oro, San Carlos y San Pelayo (departamento de Córdoba) como microorganismos fijadores de nitrógeno con concentraciones para *Azotobacterspp* de hasta 3,734 ppm (San Carlos) y 3,207 ppm para *Azospirillumsp* (San Carlos), mientras que especies del género *Pseudomonas* estuvieron por debajo del rango o no produjeron. Se resalta entonces que la *Pseudomonas argentinensis* aislada en el presente estudio si presentó capacidad de fijación de nitrógeno, incluso con una concentración más alta que las reportadas para otros microorganismos.

Los resultados en esta investigación demuestran que existen microorganismos con capacidad de convertir el nitrógeno atmosférico en amonio. Esto se evidencia en que dentro del experimento las cepas bacterianas no disponían de fuentes de nitrógeno diferente al que se encontraba en el aire del recipiente que los contenía debido a que el medio de cultivo estaba libre de este elemento. Los microorganismos que fijan nitrógeno contienen nitrogenasa, encargada de romper el triple enlace del nitrógeno molecular y que permite la formación amoniaco liberando hidrógeno.

Evaluación de la producción de auxina: Ácido Indol Acético (AIA)

Se empleó el método colorimétrico utilizando el reactivo Salkowski para determinar químicamente las concentraciones de auxina (AIA) (Mayer, 1958). Este método es de gran sensibilidad y muy específico en el análisis de la producción de AIA por los microorganismos a evaluar (Glickmann y Deessaux, 1995) y se basa en que el reactivo de Salkowski oxida el AIA lo que genera una coloración rosa en las muestras en estudio que depende de la concentración presente.

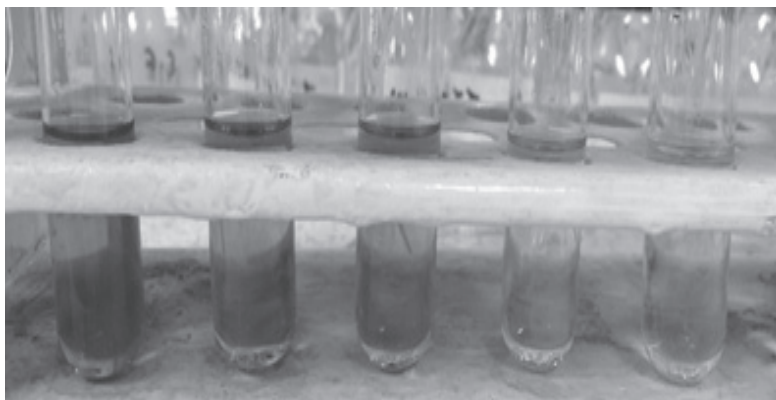


Figura 7. prueba fisicoquímica para determinar la producción de AIA de las diferentes cepas bacterianas aisladas.

Algunos estudios demuestran que el Ácido Indol Acético es sintetizado a partir del Triptófano a través de una conversión oxidativa realizada por microorganismos (Muller y Weiler, 2000). Para esta investigación se adiciono L-triptófano al medio de cultivo Burk's con el fin de inducir la producción de dicha auxina.

Las concentraciones de AIA de las cepas bacterianas se determinaron a partir de la ecuación de la curva de calibrado que se muestra a continuación: $Y=0,0285X+0,0133$, $R^2 = 0,9999$. Donde Y es la absorvancia leída en el espectofotómetro y X la concentración en ppm.

Los 38 microorganismos aislados en medio Burk's fueron evaluados químicamente en su actividad como productores de AIA. 12 bacterias fueron productoras de auxina (AIA) con un máximo de 44,323ppm y un mínimo de 3,225 ppm. El resto de las muestras estuvo por debajo de estos valores o por debajo de la curva. Del cultivo de yuca (*Manihot esculenta*) 7 arrojaron concentraciones (Tabla 5), mientras que del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) solo 5 de los 12 aislados mostraron concentraciones dentro de la curva (Tabla 6).

Tabla 5. Concentración de Ácido Indol Acético producidos por aislados de la rizósfera de yuca (*Manihot esculenta*).

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (ppm)
BY6B	44,323
BY4B	32,621
BY6A	11,533
BY2B	4,814
BY3D	4,744
BY2F	4,516
BY2G	4,253

Fuente: cálculos del estudio

Tabla 6. Concentración de Ácido Indol Acético producidos por aislados de la rizósfera de frijol (*Phaseolus vulgaris*).

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (ppm)
BF3C	29,533
BF1C	9,639
BF1B	9,498
BF4A	3,227
BF2D	3,225

Fuente: cálculos del estudio

De acuerdo con los resultados, las bacterias con mayor número de cepas que arrojaron concentraciones de AIA fueron las aisladas de la rizósfera de la yuca (*Manihot esculenta*). La cepa BY6B fue la Cepa más eficiente dentro del grupo que arrojaron resultados positivos en la prueba. Son bacilos Gram negativos, sus colonias son de color blanco a beige, circulares, concavas, semitraslucidas u opacas y mucilaginosas o mucoides.

Bergottini et al., (2015) hicieron un estudio donde seleccionaron tres aislados por ser los mejores en su actividad de fijación de nitrógeno, producción de AIA y solubilización de fosfatos, como alternativa sostenible para mejorar el rendimiento en cultivos, y reportaron a *Rhizobium pusense* como el mayor productor de AIA.

A pesar de los pocos reportes de la capacidad de *Rhizobium pusense* parasintetizar ácido indol acético existen más para el género *Rhizobium* (Patten & Glick, 1996; Anwar, 2000), además de los otros microorganismos ya ampliamente conocidos como *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Pseudomonas*. Joseph et al. (2007), por su parte establecieron en su estudio que el 85,7% del total de los aislados de *Rhizobium* fueron capaces de producir IAA. Otras especies del género *Rhizobium* sintetizan AIA, *Rhizobium meliloti*, (20 ppm) (Williams y Singer, 1990), *Rhizobium leguminosarum* (2,0 ppm) (Beltra et al., 1980).

Según los resultados *Rhizobium pusense* tuvo la máxima producción obtenida y fue superior a la de otros microorganismos reportados en la literatura como *Azospirillum lipoferum* (16-32 ppm), *Xanthomonas* sp. (20 ppm) *Pseudomonas* spp. (20-65 ppm). De igual forma, estuvo por encima de valores reportados para microorganismos de su mismo género con producciones de AIA de 22 ppm (Anwar, 2000; Rives et al., 2004; Somers et al., 2005; Vandeputte et al., 2005).

Además de ser productor de AIA, *Rhizobium pusense* se ha reportado como eficientes fosfato solubilizadoras con concentraciones de 273,84 ppm y 262,83 ppm (Ali et al., 2015).

Bajas concentraciones de AIA han demostrado que son capaces de estimular el desarrollo vegetal y que altas cantidades pueden llegar a inhibir y reducir el alargamiento del tallo (Ramirez y Pérez, 2006; Hernández, 2002), lo que quiere decir que no siempre que se evalúa la producción de AIA y se arrojan valores altos o bajos, se pueda concluir respecto a su capacidad para estimular el desarrollo de la planta.

Se ha propuesto la **Vía indol-3-piruvato (IPA) como la ruta principal para la biosíntesis de Ácido Indol Acético (AIA) en plantas y ha sido descrita en bacterias del género *Rhizobium***. Tiene tres etapas principales, la primera la conversión de triptófano a ácido indol-3-pirúvico por una aminotransferasa. Una segunda etapa donde el ácido indol-3-pirúvico se descarboxila a ácido indol-3-acetaldehído por la indol-3-piruvato descarboxilasa (IPDC), siendo esta la etapa limitante de la síntesis. Y en la última etapa, el indol-3-acetaldehído es oxidado a AIA por la indol-3-acetaldehído deshidrogenasa (Vega et al., 2016).

Conclusiones

A partir de los medios selectivos fueron obtenidos 62 aislados de los cultivos de yuca y frijol, dentro de los cuales el 66,6 % fueron Gram negativos y 33,3 % Gram positivos. Done la Cepa

Las Cepas BY4D, BY6B y NY1B mostraron tener potencial biofertilizante de acuerdo a las pruebas fisicoquímicas aplicadas pues arrojaron los mejores valores de acuerdo con las pruebas. BY4D fue la Cepa que presentó la más altos valores de concentración del ión amonio (4,716 ppm), BY6B para AIA (44,323 ppm) y para la prueba de solubilización de fosfatos NY1B (236,290 ppm).

Referencias Bibliográficas

- Ali, A., Khalid, R., Ali, S. Akram, Z., Hayat, R. (2015). Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from Chickpea (*Cicer arietinum*). *British Microbiology Research Journal*. 6(1): 32-40.
- Anwar, G. (2000). Production of growth hormones and nitrogenase by diazotrophic bacteria and their effect on plant growth. PhD thesis, Universidad of the Punjab, Lahore. pp. 9-25;32-44.
- Armenta, A., Garcia, C., Camacho, J., Apodaca, M., Gerardo, L., y Nava, E. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai*. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable* 6(1), 51-56.
- Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes (IFA). (2011). *Los fertilizantes y su uso*. París.
- Azcón-Bieto, J., y Talón, M. (2008). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. España: McGraw-Hill/Interamericana de España, S. A. U. 656 p.
- Baca, B.; Soto, L.; Pardo, M. 2000. Fijación biológica del nitrógeno. *Rev. Elementos*, núm. 38.
- BANCO DE LA REPÚBLICA. (2016). "Informe de coyuntura económica regional (ICER)". Departamento de Sucre. [en línea] disponible en <http://www.banrep.gov.co/es/>.

- Bashan, Y. (1998). Significance of timing and level of inoculation with rhizosphere bacteria on wheat plant. *Soil Biology Biochemistry*. Vol. 18. p. 297-301.
- Bashan, Y. & Levanony, H. (1988). Absorption of the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd to soil, sand and peat particles. *J. Gen. Microbiol.* 134: 181- 1820 p.
- Beltra, R., Díaz, F. and Fraile G. (1980). The formation of growth substances by *Rhizobium* species. *Z. Bakteriol. Parasitenkd Infektionskr. Hyg. Abt. 2*, 135, pp. 617-622
- Bergottini, V., Otegui, M., Sosa, D., Zapata, P., Mulot, M., Rebord, M., Zoppi, J., Wiss, F., Benrey, B. and Junier, P. (2015). Bio-inoculation of yerba mate seedlings (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) with native plant growth-promoting rhizobacteria: a sustainable alternative to improve crop yield. *Biol Fertil Soils*. DOI 10.1007/s00374-015-1012-5
- Berrios, G., Cabrera, G., Gidekel, M. y Gutiérrez, A. (2012). Characterization of a novel antarctic plant growth-promoting bacterial strain and its interaction with antarctic hair grass (*Deschampsia antarctica* Desv). *Polar Biol* DOI 10.1007/s00300-012-1264-6.
- Blakeslee, J., Ann Peer, W., & Murphy, A. (2005). MDR/PGP Auxin transport proteins and endocytic cycling. *Plant Cell Monogr* 1(1), 159-176.
- Bonomelli, C., Bonilla, C., Valenzuela, A., & Saavedra, N. (2002). Presencia de cadmio en fertilizantes fosforados de diferente procedencia comercializados en Chile. Segunda temporada. *Simiente. Sociedad Agronómica de Chile* 72(1-2), 9-16.
- Buchanan, R. & Gibbons, N., (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th de Baltimore: Williams and Wilkins Company, 135-136 p.
- Castillo, G., Altuna, B., Michelena, G., Sánchez-Bravo, J., y Acosta, M. (2005). Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. *Anales de Microbiología* (21), 137-142.
- Clavijo, C., Chipana, V; Centeno, J.; Zúñiga, D.; Guillén, C. (2012). Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias diazotróficas de la rizósfera del cultivo de *Olea europea* "olivo" en Tacna Perú.

- Ecología Aplicada, vol. 11, núm. pp. 89-102 Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú
- Collavino, M., Sansberro, P., Mroginski, L., Aguilar, O. (2010) Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. *Biol Fertil Soils* 46:727–738. doi:10.1007/s00374-010-0480
- Corrales, L., Arévalo, Z. y Moreno, V. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nova*, 12(21), 68-79. Retrieved September 13, 2017, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794247020140001000006&lng=en&tlng=es
- Díaz, P., Ferrera, R., Almaraz, J. & Alcántara, G. (2001). Inoculation of Plant Growthpromoting Bacteria in Lettuce. *Terra*. 19: 327-33
- Espín, G. (2002). Biología de *Azotobacter vinelandii*. En *Micorbios en línea*. Recuperado a partir de <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/micorbios/Cap6/>
- FAO e IFA, (2002). Los fertilizantes y su uso: una guía de bolsillo para los oficiales de extensión. 4ta ed. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación (FAO) y Asociación Internacional de la Industria de los fertilizantes (IFA). P. 1-8
- Fathalla, M., Samy, A., Metwaly A., and Elshahat M. (2015). Antifungal Activity and Genetic Diversity of Selected Endophytic Fluorescent Pseudomonads. *Journal of Applied Plant Protection*; Suez Canal University.
- Fernández. A., Villaverde, M., Nicolás, J., García, A. y Malo, J. (2008). *Pantoea dispersa*; Rhizobacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPR). VII Congreso SEAE Bullas (Murcia)
- Gobernación de Sucre (2016). Plan de Desarrollo 2016 – 2019. Sucre progresa en Paz.
- Gómez, J. (2000). *Abonos Orgánicos*. Universidad Nacional de Colombia. Santiago de Cali, Colombia. p.26-32.
- Glickmann, E. y Deessaux, Y. (1995). Acritical examination of the specificity of the Salkosky reagent for indolic compounds produced by

phytopathogenetic bacteria. *Soil Biology and Biochemistry* 45:631-640.

- Hernández, A., (2002). Obtención de un biopreparado a partir de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz (*Zea Mays L.*). Tesis de doctorado. Universidad de La Habana
- IDEAM, U.D.C.A (2015). Síntesis del estudio nacional de la degradación de suelos por erosión en Colombia - 2015. IDEAM - MADS. Bogotá D.C., Colombia., 62 págs. Publicación aprobada por el IDEAM, Diciembre de 2015, Bogotá D.C., Colombia.
- Joseph, B., Ranjan, R. y Lawrence R. (2007). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum L.*). *International Journal of Plant Production* 1(2).
- Khan, M., Zaidi, A. & Wani, p. (2009). Role of Phosphate Solubilizing Microorganisms in Sustainable Agricultura – A Review. In E. Lichtfouse, M. Navarrete, P Debaeke, S. Véronique & C. Alberola (Eds.), *sustainable Agruculture* (pp. 551-570): Springer Netherlands.
- Kumar, V. & Narula, N., (1999). Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum*. *Biol. Fertil. Soil*, 28 (1999), pp. 301-305
- Lara, C., Esquivel, L. y Negrete, J. (2011) Bacterias nativas solubilizadores de fosfatos para incrementar los cultivos en el departamento de Córdoba-Colombia. *Biotechnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*. Vol 9 No. 2 (114-120).
- Lara, C., Oviedo, L., (2008). Bacterias diazótrofes con potencial biofertilizante para una agricultura limpia y productiva. Montería, Córdoba: Editorial Ltda.
- Lara, C., Oviedo, L., y Villalba, M. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba. Colombia. *Revista Colombiana De Biotecnología*. ISSN: 0123-3475. Colombia: Instituto De Biotecnologia Ibum. Vol.9 Nº 2 Fasc. 2. p.6 - 14.
- Lara, C. y Villalba, M. (2007). Evaluación química del potencial nitro fijador de bacterias nativas de los género *Azotobacter spp.* y *Azospirillum spp.* en la región de San Carlos, Córdoba. Trabajo de grado. Departamento de Química. Universidad de Córdoba.

- Lara, C., Sanes, S. y Oviedo, L. (2013). Impacto de bacterias nativas solubilizadoras de fosfato en el crecimiento y desarrollo de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.). *Biotecnología Aplicada*;30:271-275.
- Lara, C., Oviedo, L. & Betancur, C. (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia Tropical*, 29(2), 187-194. Recuperado en 07 de octubre de 2017, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798726920110002000005&lng=es&tlng=es.
- Martínez, M. 1999. Seminario Microbiología de suelos. Memorias, Cooperativa de Profesionales para el Desarrollo de Tecnología Ambiental LTDA. B/manga. Santander, Colombia.
- Mayer, A. (1958). Determination of indole acetic acid by the Salkowsky reaction. *Nature* 162 : 1670-1671.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. (2005). Observatorio Agrocadenas Colombia. Documento de Trabajo No. 68. La cadena de cultivos ecológicos en Colombia. Una mirada global de su estructura y dinámica. p. 1-2
- Morales, M. (2007). Los biofertilizantes. Una alternativa productiva, económica y sustentable. *Estudios agrarios. Revista de la procuraduría agraria* 1(36), 93-
- Müller, A. & Weiler E. (2000). IAA-synthase, an enzyme complex from *Arabidopsis thaliana* catalyzing the formation of indole-3-acetic acid from (S)-tryptophan. *Biology and Chemistry* 381: 679-686.
- Noh, J., Yam, C., Borges, L., Zúñiga, J. y Godoy, G. (2014). Aislados bacterianos con potencial biofertilizante para plántulas de tomate. *Terra Latinoamericana* 32: 273-281.
- Orozco, C. y Martínez, P. (2009). Evaluación de la inoculación con microorganismos fijadores de nitrógeno asimbióticos aislados de la rizósfera de *Pinus patula* en Colombia. *BOSQUE* 30(2): 70-77
- Park, M., Kim, CH., Yang, J., Lee, H., Shin, W., Kim, S. & Sa, T. (2005). isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Resear* 160: 127-133 p
- Park, M., Chungwoo, K. Yanga, J., Hyoungseok, L., Wansik, S., Seunghwan, K. & Tongmin, S. (2005). Isolation and characterization of diazo-

trophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Research* 160 : 127-133.

- Park, J., Hornick, S. y Papendick, R. (2002). Transition from conventional agricultura to natural farming systems: The role of microbial inoculants and biofertilizer [en línea] <<http://www.emtech.org/data/pdf/0103.pdf>>
- Patten, C. & Glick, B. (1996). Bacterial biosynthesis of Indole-3-acetic acid (review). *Canadian Journal of Microbiology* 42: 207-220
- Patiño, C. y Sanclemente, O. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. Vol. 10 No.2. Pereira, I., Ortega, R., Barrientos, L., Moya, M., Reyes, G. & Kramm, V. (2008). Development of a biofertiliser base don filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria for rice crops in Chile. *Journal of Applied Phycology*, 21(1), 135-144. Doi: 10.1007/s108110089342-4.
- Ramírez, R., & Pérez, M. (2006). Evaluación del potencial de los biosólidos procedentes del tratamiento de aguas residuales para uso agrícola y su efecto sobre el cultivo de rábano rojo (*Raphanus sativus* L.). *Revista Facultad Nacional De Agronomía* 59(2), 3543-3556.
- Rives, N., Acebo, Y. y Hernández, A. (2007). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del arroz (*oryza sativa*). *Perspectivas de su uso en cuba. Cultivos Tropicales*. Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193217731004>> ISSN
- Rives, H., Caballero, A., Hernandez, A. y Heydrich, M. (2004). Characterization of rhizobacteria associated ti maize in IAA, siderophores and salicylic acid metabolite production. *Revista colombiana de biotecnología*. Vol. 6, 1, pp. 6-13.
- Rufina, C. (2012). Fertilización orgánica Vs mineral en el rendimiento y contenido de capsaicina en chile manzano (*Capsicum pubescens*) (Tesis para optar al título de maestra en ciencias). Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Texcoco. México. Recuperado a partir de http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/772/Carlos_Marcelo_R_Edafologia_2012.pdf?sequence=1
- Salisbury, F., y Ross, W. (1994). *Fisiología Vegetal*. México: Grupo Editorial Iberoamérica S. A. 451 p.

- Sancho, J., Soriano, M., y Verdú, A. (2004). *Prácticas de Análisis Agrícola*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia. 104 p.
- Santillana, N. (2006). Producción de biofertilizantes utilizando *Pseudomonas* sp. *Ecol Apl.*;5(1-2):87-91.
- Somers, E. Ptacek, D., Gysegom, P., Srinivasan, M, y Vanderleyden, J. (2005). *Azospirillum brasilense* produces the Auxin-like phenylacetic acid by using the key enzyme for indole-3acetic acid biosintesis. *Appl. Envir. Microbiol.* 75: 1803-1810.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology* (Cuarta Edición.). New York: Sinauer. 1160 p.
- Tejera & Lluch, C. (2005). Isolation and Characterization of *Azotobacter* sp. and *Azospirillum* sp. strains from the sugar cane rizhosphere. *Plant and Soil*, 270: 223-232 p.
- Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. *Perspectivas de su uso en cuba. Cultivos Tropicales.*, vol. 31, no. 1, p. 19-26
- Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. *Perspectivas de su uso en cuba. Cultivos Tropicales.*, vol. 31, no. 1, p. 19-26
- Vandeputte, O., Oden, S., Vereecke, D., Goethals, K., El jaziri, M. y Presen, E. (2005). Biosynthesis of Auxin by the Gram-Positive Phytopathogen *Rhodococcus fascians* is Controlled by compounds specific ti infected plant tisus. *Appl. Envir. Microbiol.* 75: 11691177.
- Vega, P., Canchignia, H., González, M. y Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *cultrop [online].*, vol.37, suppl.1 [citado 2017-09-20], pp. 33-39. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025859362016000500005&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1819-4087.
- Yi, Y.; Huang, W. and Ge, Y. (2008). Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. In: *World J. Microbiol. Biotechnol.*, p. 1059- 1065.
- Zago V., De-Polli H. & Rumjanek N. (2000). *Pseudomonas* spp. Fluorescentes – Bacterias promotoras de crecimiento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola.

Caracterización de bacterias nativas con potencial biofertilizante aisladas de suelos del departamento de Sucre

Seropédica: EMBRAPA Agrobiología. 32p. EMBRAPA-CNPAB, Documento N° 127. SIN 0104-6187.