

### Microorganismos promotores del crecimiento vegetal

## Bioensayo en bolsas de crecimiento con maíz y glifosato para evaluar el efecto PGP de tres cepas bacterianas

Malsenido, Luis L.<sup>(1,2)</sup>, Rajal, Verónica B.<sup>(2,3)</sup>, \*Romano-Armada, Neli<sup>(2,3)</sup>

<sup>(1)</sup> Fac. de Ciencias Naturales, UNSa; <sup>(2)</sup> INIQUI, UNSa – CONICET; <sup>(3)</sup> Fac. de Ingeniería, UNSa.

\*E-mail:nromano@unsa.edu.ar

**Introducción:** El cultivo de plantas en bolsas de crecimiento tipo Growth Pouch<sup>®</sup> es una técnica muy usada en ensayos de fisiología vegetal. En asociaciones planta-microorganismo, la observación directa de esta interfase en una situación *in vivo* intacta, permite analizar la interacción con microorganismos con distintas cualidades. Microorganismos usados en biorremediación también pueden presentar propiedades promotoras del crecimiento vegetal (PGP). En estudios anteriores se determinaron las propiedades PGP de tres cepas con capacidad de remover glifosato del medio, aisladas de suelos agrícolas. Estas cepas denominadas G002, G014 y G112 se encuentran estrechamente relacionados con *Arthrobacter globiformis*, *Pseudomonas chlororaphis* y *Enterobacter asburiae*, respectivamente. El aislamiento G002 sintetiza ácido indol-3-acético (AIA), los aislamientos G014 y G112 además fijan nitrógeno atmosférico, solubilizan fosfatos inorgánicos, y producen sideróforos. El objetivo de este estudio fue usar bolsas de crecimiento para evaluar en maíz (*Zea mays*, cultivo de interés comercial regional) el efecto de estas cepas sobre su germinación y crecimiento inicial en presencia y ausencia de glifosato.

**Materiales y métodos:** Las bolsas de crecimiento consistieron en un papel absorbente plegado en la parte superior, contenido en una bolsa plástica transparente (esterilizadas en autoclave 15 min a 121°C). En cada bolsa se colocaron 3 semillas en el pliegue y la solución de riego ascendió por capilaridad. Las cepas G002, G014 y G112 se ensayaron junto a *Pseudomonas putida* KT2440 (PP) y *Escherichia coli* (EC, aislada de una muestra ambiental), usadas como control. Las semillas en las bolsas se bacterizaron agregándoles 200 µL de suspensión bacteriana a cada una. Los tratamientos fueron: suspensión de las cepas G002, G014, G112, PP y EC (cultivo de 24 h incubado a 30 °C en caldo nutritivo) en agua de peptona 0,1% estéril (densidad óptica a 600 nm ajustada a 0,02), agua de peptona 0,1% estéril (CoPe) y agua corriente estéril (CoAg). Los siete tratamientos se realizaron por triplicado bajo dos condiciones respecto a la solución de riego en agua corriente estéril: sin glifosato (SG) y con el herbicida comercial Glifoglex<sup>®</sup> a 4 mM final de glifosato ácido (CG). Las bolsas se incubaron a temperatura ambiente en esterilidad, regándose cada tres días con agua corriente estéril. A las cuatro semanas se analizó la respuesta morfológica de las plantas; se midieron longitud de vástago (cm), longitud (cm) y número de hojas y raíces, peso fresco y biomasa aérea y radicular (g), contenido de agua del vástago y raíces (%) y colonización bacteriana superficial y endofítica (UFC/g<sub>raíz</sub>). Los datos se procesaron mediante análisis de varianza (ANOVA) para detectar diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) con test de Tukey.

**Resultados:** En las plantas con riego sin glifosato (SG), ningún tratamiento influyó significativamente a ninguna variable, respecto al control. En cuanto a las plantas con glifosato en la solución de riego (CG), las únicas variables que mostraron diferencias significativas entre los tratamientos y el CoPe fueron los pesos frescos de raíces y vástago, que disminuyeron en presencia de G014 y G112 respectivamente. La longitud del vástago fue significativamente menor en la condición CG independientemente del tratamiento, y fue la única variable donde se observó este comportamiento en todos los tratamientos. En todas las variables analizadas, excepto en las longitudes del vástago y de las raíces, la cepa G002 presentó respuestas similares en condiciones SG y CG, indicando una influencia positiva ante el efecto adverso del herbicida en la solución de riego. Además, fue la única cepa con la que la longitud de las hojas se mantuvo similar independientemente de la condición de riego ( $9,2 \pm 5,5$  cm en SG y  $6,8 \pm 4,1$  cm en CG), y con valores muy cercanos al CoAg ( $9,2 \pm 5,5$  cm en SG y  $6,9 \pm 3,7$  cm en CG). Respecto a la longitud de las raíces, sólo con la cepa G112 no hubieron diferencias significativas entre condiciones SG ( $8,0 \pm 5,4$  cm) y CG ( $6,2 \pm 4,9$  cm), aunque se observó que tanto su presencia como la de G014 redujo significativamente el número de raíces en las plantas bajo la condición CG. En cuanto a la biomasa generada bajo las distintas condiciones de riego, el tratamiento con la cepa G014 fue el único que no pudo compensar el efecto del glifosato, siendo significativamente menor el peso seco de raíces y vástago (reducción de 18% y 40% respectivamente) con relación a la condición SG. En la condición SG en los cinco tratamientos con microorganismos no se registraron plantas muertas, a diferencia de los controles sin bacterias.

**Conclusiones:** Las bolsas de crecimiento facilitaron el seguimiento y registro de datos. Su potencial en el estudio de microorganismos rizosféricos es destacable. En ausencia de glifosato en la solución de riego, el aislamiento G014 produjo el mejor desempeño en cuanto a las variables morfológicas determinadas en las plantas, aunque sin diferencias estadísticamente significativas con respecto a los demás tratamientos. Sin embargo, en presencia del herbicida, fueron las cepas G002 y G112 las que produjeron esta mejoría. Aunque las tres cepas son capaces de remover el glifosato del medio y poseen propiedades PGP (determinadas *in vitro*), teniendo en cuenta la interacción planta-microorganismo, las cepas G002 y G112 tienen un mayor potencial como biorremediadoras y biofertilizantes.