



# Bacterias endófitas promotoras de crecimiento en *Bothriochloa pertusa* en ecosistemas del San Jorge en Colombia

## Endophytic growth-promoting bacteria in *Bothriochloa pertusa* in San Jorge ecosystems in Colombia

Martha Raquel Caldera Oviedo<sup>1\*</sup> ; Alexander Perez Cordero<sup>1</sup> 

Recibido para publicación: 27 de noviembre de 2023 - Aceptado para publicación: 21 de junio de 2024

### RESUMEN

Se buscó evaluar *in vitro* la actividad promotora de crecimiento vegetal de bacterias endófitas aisladas de diferentes tejidos del pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en fincas ganaderas del San Jorge, departamento de Sucre, Colombia. La metodología consistió en aislar bacterias endófitas y determinar la densidad poblacional en UFC/g de tejido, para luego realizar pruebas cuantitativas y cualitativas de las actividades de fijación biológica del nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos y de producción de Ácido Indol Acético (AIA), para finalmente identificar por secuencias, bacterias con actividad positiva de promoción de crecimiento. Los resultados evidencian la identificación de especies de bacterias endófitas pertenecientes al filo Firmicutes como *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus paramycoides* y *Exiguobacterium acetylicum*, y dentro del filo gammaproteobacteria, se identificó a *Enterobacter cloacae*. Se encontró mayores poblaciones en raíces  $1,8 \times 10^8$  y  $3,5 \times 10^9$  UFC/g de tejido. Según municipio, en San Marcos se encontró mayor densidad poblacional ( $2,2 \times 10^9$ ) respecto a tallo y hoja, siendo menores en San Benito ( $8,93 \times 10^8$  UFC/g de tejido). Del total de 65 bacterias endófitas aisladas, 15 mostraron capacidad reductora de  $N_2$  a amonio; 18 morfotipos mostraron capacidad solubilizadora de fosfatos; 4 de producción de AIA y 15 morfotipos productoras de sideróforo. En conclusión, las bacterias endófitas aisladas *in vitro* mostraron actividad de promoción de crecimiento de fosforo, producción de amonio y AIA y de Sideróforo una proteína implicada en la quelación del elemento hierro y un mecanismo por competencia para el control de fitopatógenos.

**Palabras clave:** Microorganismos; Tejido vegetal; Nutrición (Fuente: CAB).

<sup>1</sup>Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia.

\*Autor para correspondencia: Martha Caldera Oviedo

E-mail: [martharaquel2014@gmail.com](mailto:martharaquel2014@gmail.com)

### ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the *in vitro* plant growth-promoting activity of endophytic bacteria isolated from different tissues of the Colossian grass (*Bothriochloa pertusa*) in cattle farms in San Jorge, department of Sucre, Colombia. The methodology consisted of isolating endophytic bacteria and determining the population density in CFU/g of tissue, followed by quantitative and qualitative tests of biological nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production and Indole Acetic Acid (AIA) production, to finally identify, by sequencing, bacteria with positive growth promotion activity. The results identified endophytic bacteria species belonging to the phylum Firmicutes such as *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus paramycoides* and *Exiguobacterium acetylicum*. Within the gammaproteobacterial phylum, *Enterobacter cloacae* was identified. Higher populations were found in roots tissues  $1.8 \times 10^8$  and  $3.5 \times 10^9$  CFU/g. With respect to municipality, a higher population density was found in San Marcos ( $2.2 \times 10^9$ ) with respect to stem and leaf. San Benito resulted in lower values ( $8.93 \times 10^8$  CFU/g of tissue). Out of 65 endophytic bacteria isolated, 15 showed  $N_2$ -to-ammonium reducing capacity; 18 morphotypes showed phosphate solubilizing capacity; 4 AIA production and 15 siderophore-producing morphotypes. In conclusion, endophytic *in vitro* isolated bacteria showed activity to promote phosphorus growth, ammonium, AIA production, and siderophore, a protein involved in iron chelation and a competitive mechanism for phytopathogen control.

**Key words:** Microorganisms; Plant tissue; Nutrition (Source: CAB).

### Cómo citar

Caldera Oviedo, M. R. y Perez Cordero, A. 2024. Endophytic growth-promoting bacteria in *Bothriochloa pertusa* in San Jorge ecosystems in Colombia. *Sour Topics*, 29(2): 246-260. <https://doi.org/10.21897/t7nwzq83>



Temas Agrarios 2024. Este artículo se distribuye bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>), que permite copiar, redistribuir, remezclar, transformar y crear a partir del material, de forma no comercial, dando crédito y licencia de forma adecuada a los autores de la obra.

Temas Agrarios. Julio-Diciembre 2024; Vol. 29. No. 2 pp. 246-260 | <https://doi.org/10.21897/t7nwzq83>

## INTRODUCCIÓN

La ganadería en Colombia es vital para la economía, generando el 3,6% de la riqueza nacional. Representa el 27% del PIB agropecuario y el 64% del PIB pecuario. Los colombianos destinan el 7,1% de sus ingresos a carne y lácteos bovinos, destacándose sobre otros sectores como la avicultura, el café, las flores, el arroz, la papa y la porcicultura.

En Sucre, la ganadería bovina es el sector más importante para el PIB, representando el 21.1% en 2002. Caracterizado por su bajo nivel tecnológico y productividad, se destaca por su enfoque en doble propósito (carne y leche) que se ajusta a los recursos disponibles en la región Caribe. Los ganaderos tradicionales suelen operar de manera mixta, combinando agricultura con ganadería de forma individual.

Los pastos en la región caribe, incluyendo el pasto colosuana, son importantes para la alimentación del ganado. El pasto colosuana tiene altos niveles de proteína y digestibilidad en hojas inmaduras, mientras que las hojas maduras tienen valores más bajos. Se han reportado niveles de producción de 3,4 t/ha en el valle cálido del Magdalena en Colombia, mostrando variabilidad en rendimientos según las condiciones climáticas. (Chamorro, Carulla y Cuesta, 2005).

El pasto colosoana (*Bothriochloa pertusa*) es la especie forrajera más sembrada en Sucre y el Caribe Colombiano, cubriendo extensas áreas de bosques secos tropicales. Sin embargo, la degradación del suelo por acciones humanas y el uso de tecnologías inadecuadas han limitado la calidad de esta pastura, lo que ha llevado a la necesidad de utilizar fertilizantes químicos para su óptimo desarrollo.

El uso de fertilizantes químicos puede mejorar la productividad y calidad de las pasturas,

pero también puede causar desequilibrios en los microorganismos del suelo. Sin embargo, estudios han demostrado que las bacterias endófitas asociadas a las plantas pueden mitigar los daños causados por los fertilizantes, promoviendo el crecimiento de las plantas, removiendo contaminantes y controlando fitopatógenos.

Según Pérez *et al.* (2012), bacterias endófitas en pasto colosoana en el Caribe Colombiano, como *Aeromonas salmonicida* y *Pasteurella neurotropica*, pueden solubilizar fosfatos y fijar nitrógeno. Este estudio busca evaluar su capacidad promotora de crecimiento vegetal en fincas ganaderas de Sucre, Colombia, para mejorar las condiciones de pasturas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

La subregión San Jorge está localizada en la parte suroccidental del departamento de Sucre y está compuesta por los municipios de San Marcos, San Benito Abad, La Unión y Caimito, los cuales tienen un territorio de 2.934 kilómetros cuadrados (el 28.3% del total departamental). Presenta zonas de bosque húmedo tropical, bosque seco tropical, bosque muy seco tropical y sabanas naturales (Aguilera 2005).

### Muestreo

Se llevó a cabo un muestreo en fincas ganaderas con pastos colosales en los municipios de la subregión de San Jorge, como La Unión, Caimito, San Benito y San Marcos. Se seleccionaron 3 fincas en cada municipio y se recolectaron muestras de plantas completas de pasto colosoana. También se tomaron muestras de suelo en cada finca para evaluar la cantidad de pasto cultivado. Todas las muestras fueron etiquetadas y enviadas a laboratorios para su análisis microbiológico y físico-químico respectivamente.

### **Determinación del fósforo disponible en las muestras de suelo**

La metodología utilizada para la identificación del fósforo disponible se basó en el método Bray II modificado (IGAC, 1979) Utilizando un fotómetro (Spectroquant Pharo 300 M) con una longitud de onda de 660 nm para detectar la formación del heteropoliácido fosfomolibdico de color azul cuya formación de este último compuesto se basó en la reacción en medio ácido entre el anión fosfato disuelto y el molibdato de amonio, en presencia de tartrato de K y Sb, generando el ácido fosfomolibdico el cual es reducido mediante ácido ascórbico generando una coloración azul debido al molibdeno.

### **Aislamiento de bacterias endófitas**

El aislamiento de bacterias endófitas se realizó mediante las siguientes etapas:

### **Desinfección superficial de tejidos**

A cada planta colectada, se le hizo separación de tejidos (raíz, tallo y hoja). Cada tejido por separado fue sometida a proceso de desinfección superficial mediante protocolos descrito por Pérez *et al.* (2010).

### **Determinación de la densidad poblacional**

Después de desinfectar los tejidos, se maceraron en nitrógeno líquido, se agregó agua peptonada y se agitó por 24 horas a 30 °C. Se hicieron diluciones seriadas y se sembraron en agar R2A, incubando a 32 °C por 72 horas para contar las colonias. Se evaluó la eficiencia de las bacterias endófitas en la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de ácido indol acético y sideróforos. Los hallazgos fueron comparados según Oliveira *et al.* (2013) y Pérez, Tuberquia y Amell (2014).

### **Fijación biológica de nitrógeno**

La evaluación cualitativa de fijación de nitrógeno se llevó a cabo mediante la siembra directa de cada morfotipos sobre la

superficie del medio selectivo agar BURK (5 gr  $MgSO_4$ , 20 gr  $KH_2PO_4$ , 5 gr  $K_2HPO_4$ , 3,25 gr  $CaSO_4$ , 1,45 gr  $FeCl_3$ , 0,253 gr  $NaMoO_4$ , 1000 ml de agua destilada esteril) (Beneduzi *et al.*, 2008) c(Park *et al.*, 2005; Tejera, Lluch, Martinez-Toledo, & Gonzalez-Lopez, 2005) carente de fuente de nitrógeno como evaluador de la actividad fijadora de nitrógeno. Los resultados se observaron según el crecimiento de la bacteria en medio carente de nitrógeno (Beneduzi *et al.*, 2008). Una vez seleccionadas las bacterias por su óptimo crecimiento en medio de cultivo, se procedió a evaluar la cantidad de nitrógeno fijado por evaluación indirecta de la cantidad nitrógeno reducido en forma de ion amonio, empleando el método colorimétrico de Berthelot, descritos por Barraza y Pérez.

### **Solubilización de fosfato**

La evaluación cualitativa de fijación de solubilización de fosfatos, se llevó a cabo mediante la siembra directa de cada morfotipos sobre la superficie del medio de cultivo sólido según NBRID (10 gr Glucosa, 5 gr  $Ca_3(PO_4)_2$ , 5 gr  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0,25 gr  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,2 gr KCl,  $(NH_4) SO_4$  en 1000 ml de agua destilada) (Dawwam, Elbeltagy, Emar, Abbas, y Hassan 2013). Este medio de cultivo contiene sales de fosfato de calcio y púrpura de bromocresol como indicador de pH. Aproximadamente a los 6 días de siembra se seleccionaron colonias bacterianas que formaron un halo transparente, índice del proceso de acidificación del medio (viraje de color blanco a amarillo debido al cambio de pH) lo cual indicaba actividad solubilizadora de fosfato. Estos halos fueron medidos con la ayuda de un pie de rey.

### **Producción de ácido indol acético (AIA)**

La evaluación cualitativa de la producción de ácido indol acético (IAA) se realizó de la siguiente manera: La capacidad de producir ácido indol acético de las bacterias endófitas, fue evaluada, utilizando el medio líquido Burk

Corea (0,41 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,52 gr  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,05 gr  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 0,2 gr  $\text{CaCl}_2$ , 0,1  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,01 gr  $\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,0025 gr  $\text{NaMoO}_4$ , en 1000 ml de agua destilada), y suplementado con 0,1 gr triptófano (precursor del ácido indol acético). La Densidad Óptica (D.O) de los cultivos fue medida, los aislados fueron llevados a una misma concentración de  $10^6$  UFC/ tejido, para luego ser sembrados en el medio descrito e incubados a 150 rpm por 72 horas, pasado este tiempo se tomó 1 ml de la suspensión bacteriana y se centrifugó a 12000 rpm por 5 min. Luego se tomó una alícuota del sobrenadante y se le agregó el reactivo de Salkowski (Gordon y Weber, 1951; Dawwam *et al.*, 2013).

### **Producción de sideróforos**

La evaluación cualitativa de la producción de sideróforos se llevó a cabo mediante la siembra directa de cada Morfotipo sobre la superficie del medio cromo azurol-S (CAS) propuesto por Schwyn y Neilands (1987).

### **Identificación molecular de las bacterias endófitas**

La identificación a nivel molecular de las bacterias endófitas que mostraron actividad positiva como promotoras de crecimiento se llevó a cabo mediante las siguientes etapas:

### **Extracción DNA de grupos de bacterias endófitas**

Bacterias seleccionadas e identificadas por características morfológicas y tinción de Gram, activadas en agar LB y incubadas a 28 °C por 24 horas. El ADN genómico fue extraído según protocolo de Oliveira *et al.* (2013).

El DNA precipitado fue lavado, secado y resuspendido en TE. Se realizó una electroforesis en gel de agarosa para verificar su presencia, usando un colorante y una fuente de poder.

Para la cuantificación de DNA extraído se utilizó un espectrofotómetro Nanodrop 2000/2000c.

Se enviaron productos de ADN amplificado a Macrogen Korea para purificación y secuenciación. Se buscaron secuencias homólogas en la base de datos de NCBI, se alinearon con Clustal W y se analizaron con Mega 6.0. (Tamura, Stecher, Peterson, Filipiski, y Kumar, 2013)

### **Análisis estadístico**

Para evaluar la densidad poblacional de bacterias endófitas con relación a los Municipios (La Unión, San Marcos Caimito y San Benito) y a los tejidos tomados de plantas de pasto colosoana, se realizó un Análisis de Varianza Multifactorial de dos vías. La prueba múltiple de rangos para establecer diferencias significativas entre las medias se realizó por medio del método de Bonferroni con un 95% de confianza. Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico STATGRAFIC (Team, 2012).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados físico-químicos de las muestras de suelo indican que en La Unión el pH es de 5.18, en Caimito es de 4.30 y en San Marcos de 5.25, con suelos moderadamente ácidos en las fincas ganaderas. En San Benito Abad, los suelos varían de muy fuertemente ácidos a extremadamente ácidos. Los niveles de fósforo disponible son bajos (9.57ppm a 14.12 ppm) en los cuatro municipios. La capacidad de intercambio es deficiente en La Unión, San Benito Abad y Caimito, pero moderada en San Marcos. Los contenidos de calcio, magnesio y potasio son bajos en La Unión, San Benito Abad y Caimito, y variados en San Marcos. La textura del suelo es franco arenoso en La Unión, San Benito Abad y Caimito, y Franco arenoso en San Marcos.

**Tabla 1.** Caracterización de los parámetros químicos encontrados en las muestras de suelo analizadas de los cuatro municipios evaluados en el departamento de Sucre.

Parámetro fisicoquímicos	La Unión (Agua de Dios)	San Benito Abad (La estación)	Caimito (Alta Gracia)	San Marcos (Sulemáida)	Valores de referencia
pH (Agua 1: 1 P / V)	5,18 moderadamente ácido	4,30 Fuertemente ácido	5,20 moderadamente ácido	5,25 moderadamente ácido	5,80-7,20
Materia orgánico (%)	0,99 F	0,25 F	1,17 D	2,40 C	2,0-4,0
Fósforo (ppm), Bray II	14,12 D	12,75 D	9,11 D	9,57 D	15-30
CIC (meq / 100 gr of soil)	6,00 D	5,00 D	7,00 D	17,50 C	10-20
Calcio (Cmol.kg <sup>-1</sup> soil)	1,60 F	1,20 F	2,00 F	14,40 A	5-7
Magnesio (Cmol.kg <sup>-1</sup> soil)	0,73 F	1,13 F	1,67 F	10,27 E	2-3
Potasio (Cmol.kg <sup>-1</sup> soil)	0,01 F	0,01 F	0,01 F	0,04 F	0,2-0,4
Sodio (Cmol.kg <sup>-1</sup> soil)	0,50 C	0,40 C	0,50 C	1,62 A	<1.0
Aluminio intercambiable (Cmol.kg <sup>-1</sup> suelo)	0,24 D	0,71 B	0,21 D	0,21 D	<0.2
Azufre, ppm	19,58 C	23,93 B	19,38 C	36,08 A	10-20

A: Contenido abundante o de alto valor, pero no excesivo; B: Contenido suficiente o valor adecuado (Bien); C: Contenido moderado o valor medio (regular); D: Contenido deficiente o de bajo valor (pobre); E: Contenido excesivo o valor demasiado alto, puede ser perjudicial; F: Contenido mínimo o valor muy bajo (muy pobre) y MA: Contenido muy alto.

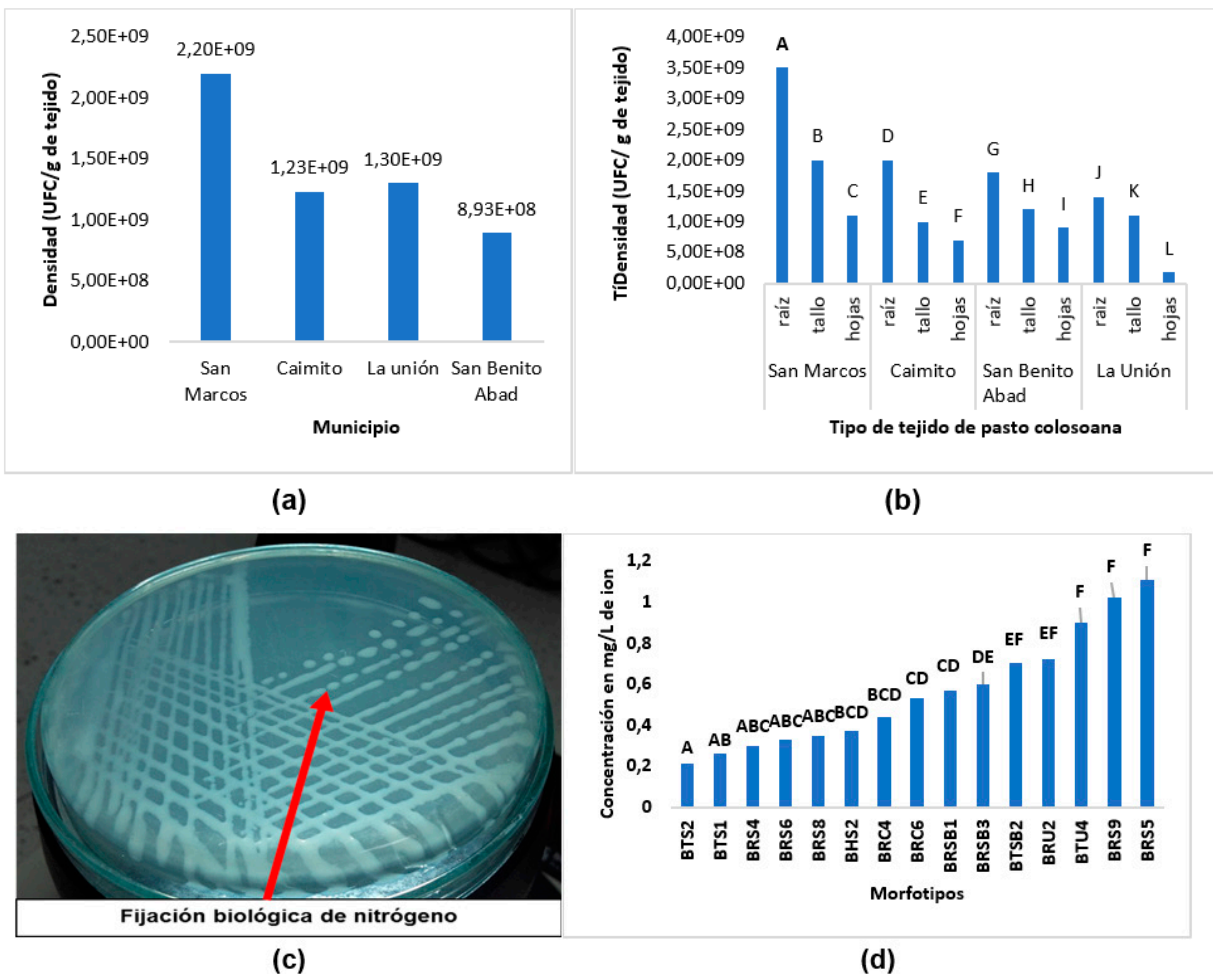
**Tabla 2.** Porcentaje de saturación catiónica encontrados en las muestras de suelo analizadas de los cuatro municipios evaluados en el departamento de Sucre.

Parámetros porcentaje de saturación de cationes	La Unión (Agua de Dios)	San Benito Abad (La estación)	Caimito (Alta Gracia)	San Marcos (Sulemáida)	Valores de referencia
Saturación de magnesio (%)	12,17 C	22,60 B	38,14 A	39,00 A	20-30
Saturación de sodio (%)	8,33 C	8,00 C	7,14 C	6,15 D	<6,0
Saturación de aluminio (%)	4,00 D	14,20 A	4,20 D	0,80 F	<5,0
Relación Calcio / Magnesio	2,19 N	1,06 E	0,75 I	1,40 E	2-4 (Normal)
Conductividad eléctrica (MicroS / cms)	350,00 NS	391,00 NS	280,00 NS	607,00 NS	<2000
Salinidad% en pasta saturada	0,10	0,10	0,00	0,20	-----

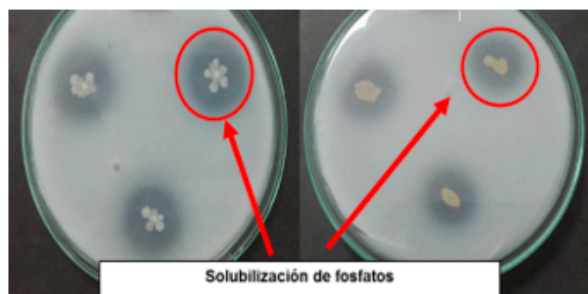
A: Contenido abundante o de alto valor, pero no excesivo; B: Contenido suficiente o valor adecuado (Bien); C: Contenido moderado o valor medio (regular); D: Contenido deficiente o de bajo valor (pobre); E: Contenido excesivo o valor demasiado alto, puede ser perjudicial; F: Contenido mínimo o valor muy bajo (muy pobre) y MA: Contenido muy alto.

**Tabla 3.** Caracterización de los parámetros de textura encontrados en las muestras de suelo analizadas de los cuatro municipios evaluados en el departamento de Sucre.

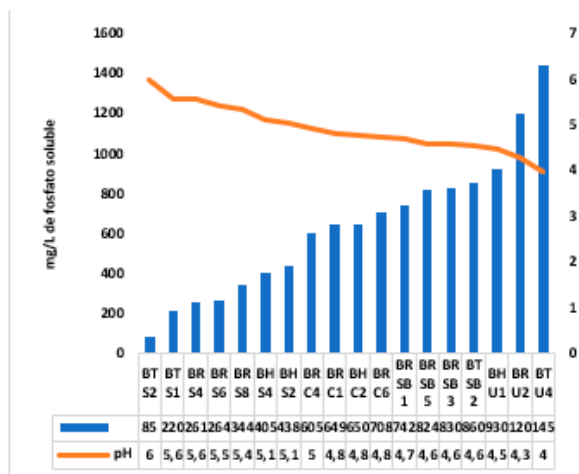
Parámetros de textura (%)	La Unión (Agua de Dios)	San Benito Abad (La estación)	Caimito (Alta Gracia)	San Marcos (Sulemáida)	Valores de referencia
Arena (%)	80,00	73,75	63,75	30,00	
Arcilla (%)	3,75	5,00	7,50	31,67	Triángulo
Limo (%)	16,25	21,25	28,75	38,33	textural
Clasificación textural	Arenoso franco	Franco arenosa	Franco arenoso	Franco arcilloso	de USDA



**Figura 1.** Diversidad y actividad de bacterias endófitas promotoras de crecimiento en *Bothriochloa pertusa* en ecosistemas del San Jorge, Colombia: (a): Densidad poblacional de bacterias endófitas por municipio; (b) Densidad poblacional de bacterias endófitas por tejido vegetal y municipio; (c) Bacteria endófitas fijadora de nitrógeno aislada de raíz en San Marcos-Sucre; (d) Producción de amonio por bacterias endófitas aisladas de *Bothriochloa pertusa*.



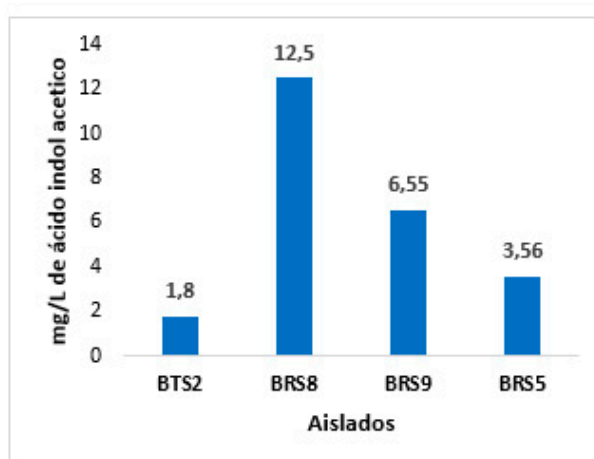
(a)



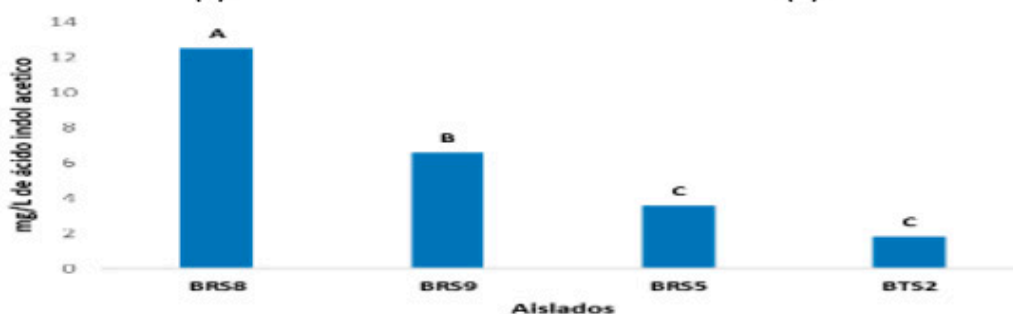
(b)



(c)

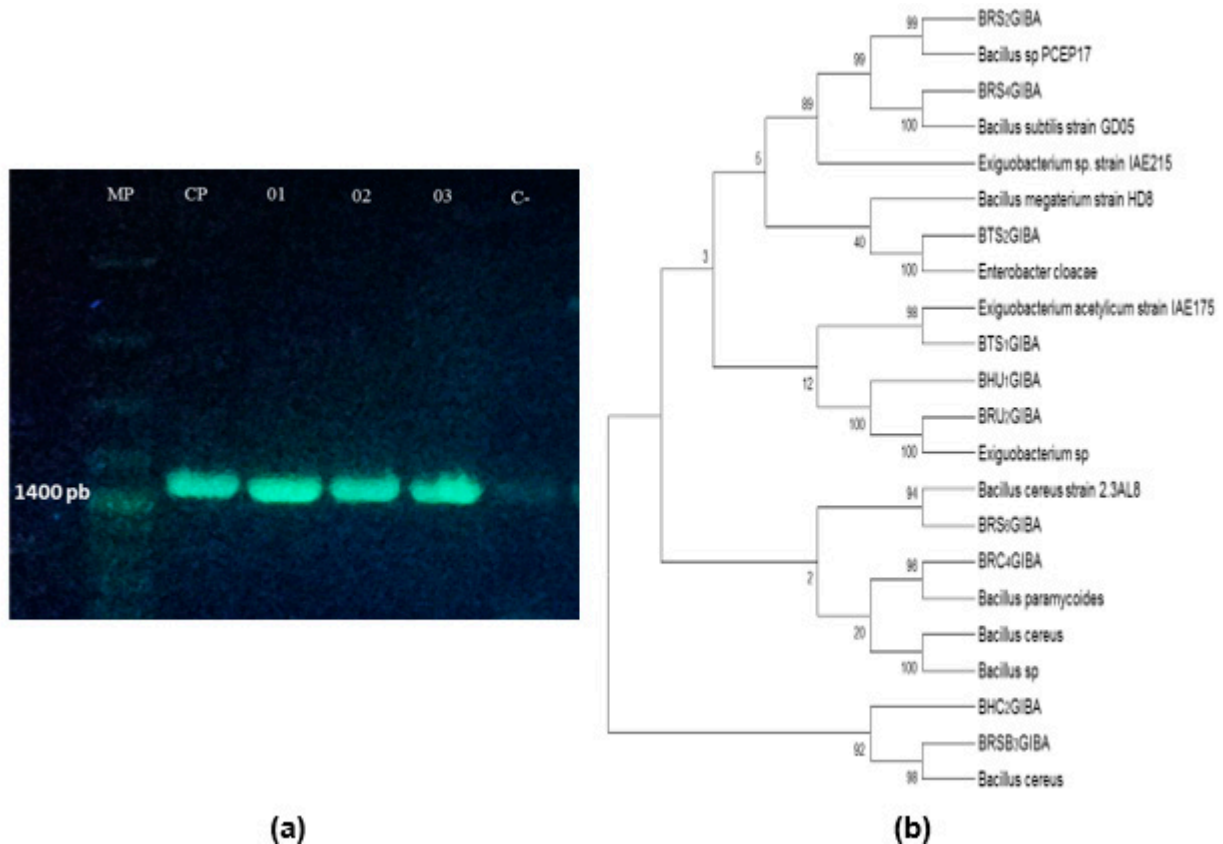


(d)



(e)

**Figura 2.** Actividades funcionales de bacterias endófitas promotoras de crecimiento en *Bothriochloa pertusa*: (a) Bacterias endófitas solubilizadoras de fosfato en medio NBRIP, aisladas de tallo en La Unión; (b) Concentración de fosfato soluble producido por bacterias endófitas en función del pH; (c) Producción cualitativa de sideróforos por el aislado BRS2 (San Marcos); (d) Concentración de ácido indolacético (AIA) producido por bacterias endófitas; (e) Concentración de AIA en *Bothriochloa pertusa* en San Marcos.



**Figura 3.** Identificación molecular y análisis filogenético de bacterias endófitas aisladas de *Bothriochloa pertusa*: (a) Amplificación por PCR del gen 16S rRNA con primers BLS342 y R1392; Árbol filogenético basado en secuencias del gen 16S rRNA de cepas bacterianas aisladas.

En un estudio se identificaron bacterias endófitas en pasto colosoana de fincas ganaderas en la subregión de San Jorge, con densidades poblacionales de  $1,8 \times 10^8 \pm 3,5 \times 10^9$  por g de tejido. Pérez *et al.* (2014) hallaron densidades de  $3,24 \times 10^9 \pm 2,2 \times 10^{10}$  UFC/g de tejido en pasto colosoana de Sucre. Por otro lado, Pérez, Chamorro y Doncel (2018) reportaron densidades por encima, entre  $3,10 \times 10^8 \pm 4,48 \times 10^{10}$  UFC/g de tejido, relacionando las diferencias con varios factores como la cantidad de inóculo, especie de bacteria, condiciones ambientales, y proceso de colonización.

Se determinaron valores de densidad poblacional de bacterias endófitas de pasto colosuana en diferentes municipios de la subregión del San Jorge. Las mayores

densidades se encontraron en San Marcos, seguido por Caimito y La Unión, con menor densidad en San Benito Abad. Los suelos de San Marcos mostraron mayores contenidos de materia orgánica, intercambio catiónico y conductividad eléctrica en comparación con los otros municipios, al igual que el pH. La abundancia de bacterias endófitas varió en cada sitio de muestreo debido a las diferentes variables ambientales y fisicoquímicas del suelo.

Mayor densidad poblacional de bacterias endófitas en raíces, seguidas de tallos y hojas. Estudios muestran valores de hasta  $1,61 \times 10^{10}$  UFC/g en raíces en comparación con tallos y hojas. En pasto colosuana, se encontraron densidades de  $5 \times 10^{10}$  en raíces, seguidas de tallos y hojas.

Presencia de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno en pasto colosuana en la subregión San Jorge. Se aislaron 15 morfotipos capaces de producir ion amonio en concentraciones de 0,21 a 1,11 mg/L (Pérez *et al.*, 2018).

Se aislaron 15 morfotipos de bacterias endófitas productoras de sideróforos. Estas bacterias promueven el crecimiento de las plantas mediante diversos mecanismos indirectos, como producción de metabolitos antimicrobianos y enzimas líticas (Zhen *et al.*, 2016).

En un estudio similar realizado por Pérez *et al.* en 2018, se encontraron bacterias endófitas capaces de producir sideróforos aisladas de *B. pertusa* en fincas ganaderas de Corozal-Sucre. De los 85 aislados de bacterias obtenidos, 10 morfotipos se seleccionaron por su eficiencia en promover el crecimiento vegetal *in vitro* y se identificaron molecularmente como *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus paramycoides*, *Enterobacter cloacae*, y *Exiguobacterium acetylicum*. Las bacterias del género *Bacillus* estudiadas mostraron características de promoción del crecimiento muy favorables, perteneciendo a la clase Firmicutes y siendo comúnmente encontradas como endófitos en diferentes plantas. (Rosenblueth y Martínez, 2006). Los miembros de este género, como *Bacillus*, se han aislado de cultivos importantes como caña de azúcar, algodón, trigo, maíz, papa y arroz. Orhan *et al.* evaluaron cepas de *Bacillus* OSU-142 y M3 en un cultivo de frambuesa en Turquía, mostrando que la cepa M3 promovió el crecimiento vegetal en condiciones orgánicas. (Orhan, Esitken, Ercisli, Turan, y Sahin, 2006).

Klopper, Ryu, y Zhang, (2004) describen al género *Bacillus* sp. como promotor de crecimiento en plantas debido a los mecanismos de resistencia sistémica inducida (ISR) que poseen frente a bacterias y hongos

patógenos, virus sistémicos y nematodos de la raíz.

La fijación biológica de N<sub>2</sub> (FBN) es el primer paso del ciclo del N<sub>2</sub> que va desde la atmósfera hasta la biósfera. Estudios realizados en Brasil por Benneduzi *et al.*, (2008) reportan cepas del género *Bacillus* spp., aisladas de siete zonas de producción de trigo, como fijadoras de nitrógeno, donde además se observó la producción de compuestos indólicos: indol-3-acético-ácido (IAA) y ácido indol pirúvico (IPyA). La identificación se realizó mediante secuenciación del gen 16S rRNA de las cepas, que podrían ser útiles en la formulación de nuevos inoculantes para la mejora de cultivos, ya que demostraron un aumento significativo del follaje en plantas de trigo.

El género *Bacillus* ha sido evaluada y reportada como agente de biocontrol contra patógenos de plantas, bajo condiciones de estrés de Fe, estas cepas producen sideróforos que quelan el Fe disponible y privan de este elemento a los Fitopatógenos respectivos, restringiendo así su proliferación y colonización de la raíz (Solanki *et al.*, 2013). Armenta *et al.*, (2010), describen que los microorganismos empleados en los biofertilizantes se agrupan en aquellos que: A) tienen capacidad para sintetizar sustancias que promueven el crecimiento de las plantas, a través de varios procesos como fijación de N<sub>2</sub> atmosférico, solubilization de Fe y P inorgánicos, incrementan la tolerancia al estrés por sequía, salinidad, metales tóxicos y exceso de plaguicidas; B) son capaces de disminuir o prevenir los efectos de organismos patógenos; y cumplen ambas funciones – promueven crecimiento e inhiben efectos de patógenos, ejemplo de estas características es *Bacillus subtilis*.

Chakraborty, Dey, y Chakraborty, (2011), establecieron que *Bacillus cereus* presentaba atributos de promoción de crecimiento vegetal *in vitro* al determinar su mecanismo

de acción, el cual se daba a través de una serie de mecanismos, algunos de los cuales tales como la solubilización de fosfato. El uso de estos microorganismos que pueden inducir tolerancia al estrés abiótico en el huésped como biofertilizantes puede ser una gran ayuda para la agricultura ya que la urbanización y la industrialización están agotando rápidamente nuestras tierras cultivables.

Las bacterias del género *Enterobacter* son conocidas por promover el crecimiento de las plantas. Aunque no se consideran agentes de control biológico, pueden desplazar a otros microorganismos, incluidos patógenos, reduciendo así enfermedades y fomentando un crecimiento saludable en las plantas. *Enterobacter cloacae* es un ejemplo de estas bacterias, siendo bacilos gramnegativos con colonias circulares, color crema y un borde elevado y suave. (Bashan, y De Bashan, 2002).

Por su parte Ogbo y Okonkwo (2012), observaron efecto hidrolítico de celulasas y pectinasas en *Enterobacter* sp., sugiriendo que la actividad enzimática de las rizo bacterias les facilita la colonización de las plantas hospedantes.

De acuerdo con lo evidenciado por León (2014), determinó cepas de bacterias del género *Enterobacter* con la capacidad de promover el crecimiento vegetal aisladas de la rizósfera en cultivos de maíz.

Estudios de Lara, Esquivel y Negrete (2011) encontraron que *E. cloacae* en suelo de Córdoba tiene alta actividad solubilizadora de fosfato. Se sugiere utilizar bacterias con esta característica en bioinoculantes sin afectar la microbiota nativa. Otros estudios (Lara et al., 2013) mostraron que *E. cloacae* aislada en Sucre beneficia el crecimiento de rábanos. Los biopreparados

podrían ser útiles en la región para aumentar la población microbiana en las plantas. Estudios recientes han encontrado que la bacteria *E. Cloaceae* promueve el crecimiento en plantaciones de *Dioscorea rotundata* y alfalfa. Esta bacteria estimula procesos fisiológicos en las plantas, como el desarrollo de raíces adventicias y pelos absorbentes, clave para la absorción de fósforo en la agricultura.

Otra especie de bacteria endófito aislada de pasto colosuana es *Exiguobacterium acetylicum*, el cual es un género bacteriano que ha emergido con una impresionante diversidad en su distribución geográfica, además de los diversos orígenes de los tipos de cepas (Rodríguez *et al.*, 2006), una de ellas ha sido aislada de los tallos de patata en Australia (Reiter, Pfeiffer, Schwab, H, y Sessitsch 2002). Rajendran, Patel, y Joshi (2012) demostraron la presencia de *Exiguobacterium* en los nódulos de las raíces de *Trigonella foenum graecum*.

*E. acetylicum* fue estudiada por Shivaji, Chaturvedi, Reddy, y Suresh (2005), evidenciando su naturaleza extremofílica, capacidad de producción de enzimas y su promoción de crecimiento vegetal, especialmente a temperaturas subóptimas que antes no se conocían. Considerando el hecho que esta cepa se aisló a 4°C y creció a temperaturas de 4 a 42°C, el cual sería apropiada en la promoción de crecimiento vegetal en plantas de clima frío.

Selvakumar *et al.*, (2010) encontraron a la especie *E. acetylicum* con la capacidad de promover crecimiento vegetal en plantas tolerantes al frío, la cepa 1P se aisló en condiciones de suelo no estéril a temperaturas bajas. Presentaron un correspondiente aumento en la raíz y también se observó un aumento de biomasa en las plántulas bacterizadas. También Azizollahi, Faezi,

y Isaazadeh, (2014), determinaron que *E. acetylicum* es un inhibidor del crecimiento y desarrollo de diferentes hongos Fito patógenos.

Las bacterias endófitas competentes pueden promover el crecimiento de las plantas, inhibir patógenos, y producir compuestos beneficiosos como ACC desaminas para combatir el estrés abiótico. Su conocimiento es fundamental para encontrar soluciones a problemas agroambientales y mejorar los rendimientos en pasturas en la región caribeña de Colombia.

### CONCLUSIONES

La mayor presencia de bacterias endófitas encontradas en el presente estudio fue mayor en los tejidos de raíz con respecto al tallo y hojas respectivamente en los diferentes municipios de la subregión San Jorge. Asimismo, el mayor número de morfo tipos con actividad in vitro de conversión del N<sub>2</sub> a ion amonio y de producción de ácido indolacético se encontraron asociado a este tejido. Las bacterias endófitas aisladas mostraron in vitro actividad de promoción de crecimiento de fósforo, producción de amonio y ácido indolacético y la producción de Sideróforo una proteína implicada en la quitación del elemento hierro y un mecanismo por competencia para el control de Fito patógenos.

En este estudio, se identificaron las especies de bacterias endófitas pertenecientes al filo firmicutes como *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus paramycoides* y *Exiguobacterium acetylicum*, y dentro del filo gamma-proteobacteria, se identificó a *Enterobacter cloacae*. Diversos estudios han demostrado la importancia de estas bacterias endófitas como promotoras de crecimiento en especies vegetales a nivel mundial y se reporta por primera vez la presencia de estas especies en pasto

colosuana en la localidad de San Jorge, donde diversos estudios han mostrado que los suelos presentan deficiencias de elementos minerales como fósforo fundamental para el desarrollo de las pasturas.

### Conflictos de intereses

El (los) autor (es) no declararon conflictos de intereses potenciales con respecto a la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

### Agradecimientos

Agradezco infinitamente a la universidad de sucre por su colaboración, apoyo, y permitir el uso de los laboratorios de investigaciones de microbiología, este estudio fue parcialmente financiado por la universidad de sucre enmarcado dentro del proyecto Evaluación de la actividad promotora de crecimiento de bacterias endófitas asociadas a pasto colosoana en fincas ganaderas del municipio de corozal, Sucre, Colombia.

### REFERENCIAS

- Aeron, A., Kumar, S., Pandey, P. y Maheshwari, D. 2011.** Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiology. En Maheshwari D. K. (Ed.), *Bacteria in agrobiology: Crop ecosystems*. Springer Berlin Heidelberg.
- Aguilera, M. 2005.** La economía del departamento de Sucre: ganadería y sector público. Documento de trabajo sobre economía regional. Centro de Estudios Económicos Regionales.
- Ahmad, F., Uddin, S., Ahmad, N. e Islam, R. 2013.** Phosphorus-microbes interaction on growth: yield and phosphorus-use efficiency of irrigated cotton. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59 (3): 341- 351.

- Andrew, D., Fitak, R., Munguia, A., Racolta, A., Martinson, V. y Dontsava, K. 2012.** Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran deserts soils. *Appl. Environ. Microbiol*, 78(21): 7527-7537.
- Araújo, W., Marcon, J., Maccheroni, W. Jr., Van, J., Van Vuurde, J. y Azevedo, J. 2002.** Diversity on endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in Citrus plants. *Appl Environ Microbiol*, 68(3): 4906-4914.
- Armenta, B., García, G., Camacho, B., Apodaca, S., Gerardo, M. y Nava, P. 2010.** Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai*, 6(1): 51-56.
- Azizollahi, A., Faezi, G. y Isaazadeh, K. 2014.** Antimicrobial activity bioactive compounds produced by *Exiguobacterium acetylicum* PTCC1756 against pathogenic bacteria. *Sci. J. Microbiol*, 3: 55–61.
- Bashan, Y. y De-Bashan, L. 2002.** Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* by using the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum Brasiliense*. *Appl Environ Microbiol*, 68(6): 2637-43.
- Beneduzi, A., Pérez, D., Beschoren, P., Bodanese, Z. y Pereira, B. 2008.** Genetic and phenotypic diversity of plant-growth-promoting bacilli isolated from wheat fields in southern Brazil. *Res Microbiol*, 159: 244–250.
- Calvo, P., Reymundo, L. y Zúñiga, D. 2008.** Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. *Ecología Aplicada*, 7(1,2): 141-48.
- Chakraborty, A.P., Dey, P. y Chakraborty, B. 2011.** Plant growth promotion and amelioration of salinity stress in crop plants by a salt-tolerant bacterium. *Rec. Res. Sci. Technol*, 3: 61-70.
- Chamorro, D., Carulla, J. y Cuesta, P. 2005.** Caracterización nutricional de las asociaciones gramínea-leguminosa con novillas en pastoreo en el Alto Magdalena. *Revista Corpoica*, 6(2): 37-51.
- DANE. 2020. Encuesta nacional agropecuaria (ENA) 2019.** Serie histórica por departamentos agropecuario. Bogotá: Departamento Nacional de Estadísticas (DANE). <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/agropecuario>.
- Dawwam, G., Elbeltagy, A., Emar, H., Abbas, I. y Hassan, M. 2013.** Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(2): 195-201.
- Hernández, A., Caballero, A., Pazos, M., Ramírez, R. y Heydrich, M. 2003.** Identificación de algunos géneros microbianos asociados al cultivo del maíz (*Zea mays* L.) de diferentes suelos de Cuba. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 5(1): 45-55.
- IGAC. 1979.** Métodos analíticos del laboratorio de suelos Bogotá. D.C: Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Colombia Cuarta Edición.
- Khalifa, A., Alsyeeh, A., Almalki, M. y Saleh, F. 2016.** Characterization of the plant growth promoting bacterium, *Enterobacter cloacae* MSR1, isolated from roots of non-nodulating *Medicago sativa*. *Saudi journal of biological sciences*, 23(1): 79-86.

- Kloepper, J., Ryu, C. y Zhang, S. 2004.** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94: 1259-1266.
- Lara, C., Esquivel, A. y Negrete, P. 2011.** Bacterias nativas solubilizadoras de fosfatos para incrementar los cultivos en el departamento de Córdoba-Colombia. *Rev Bio Agro*, 9(2): 114-20.
- 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(4): 276-279.
- León, L. 2014.** Determinación del potencial promotor del crecimiento vegetal de las enterobacterias aisladas de la rizósfera del cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *Scientia Agropecuaria*, 5: 177 – 185.
- Márquez, S., Hernández, L., Orozco, M., Velázquez, S. y Santoyo, G. 2010.** Diversity of bacterial endophytes in roots of Mexican husk tomato plants (*Physalis ixocarpa*) and their detection in the rhizosphere. *Genet. Mol. Res.*, 9: 2372-2380.
- Mocali, S., Bertelli, E., Di, C., Mengoni, A., Sfalanga, A., Viliani, F., Caciotti, A. y Tegli, S. 2003.** Fluctuation of bacteria isolated from elm tissues during different seasons and from different plant organs. *Research in Microbiology*, 154: 105-114.
- Ogho, F. y Okonkwo, J. 2012.** Some Characteristics of a plant growth promoting *Enterobacter* sp. isolated from roots of maize. *Advances in Microbiology*, 2: 368-374.
- Oliveira, M., Santos, T., Vale, H., Delvaux, J., Cordero, A., Ferreira, A. y Moraes, C. 2013.** Endophytic microbial diversity in coffee cherries of *Coffea arabica* from southeastern Brazil. *Canadian journal of microbiology*, 59(4): 221-230.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M. y Sahin, F. 2006.** Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth, and nutrient contents in organically growing raspberry. *Sci. Hort.*, 111: 38-43.
- Pérez, A., Botero, C. y Cepero, M. 2012.** Diversidad de micorrizas arbusculares en pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus) de fincas ganaderas del municipio de Corozal, Sucre. *Revista MVZ Córdoba*, 17(2): 3024-3032.
- Pérez, C., Rojas, S. y Fuentes, C. 2010.** Diversidad de bacterias endófitas asociadas a raíces del pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en tres localidades del departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 15(2): 219-228.
- Pérez, C. A., Chamorro, A. y Doncel, M. 2018.** Bacterias endófitas promotoras de crecimiento aisladas de pasto colosoana, departamento de Sucre, Colombia. *Rev. MVZ Córdoba*, 23(2): 6696-6709.
- Pillay, V. K. y Norwalk, J. 1997.** Inoculum, density, temperature, and genotype effect in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.), seeding inoculated with a *Pseudomonas* bacterium. *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 354-361.
- Rajendran, G., Patel, M. y Joshi, S. 2012.** Isolation and characterization of nodule associated *Exiguobacterium* sp. from the root nodules of Fenugreek (*Trigonella Foenum graecum*) and their possible role in plant growth promotion. *Int. J. Microbiol.*, 10: 212-312.

- Reiter, B., Pfeifer, U., Schwab, H. y Sessitsch, A. 2002.** Response of endophytic bacterial communities in potato plant to infection with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Appl Environ Microbiol*, 68: 2261–2268.
- Reva, O., Smirnov, V., Petterson, B. y Priest, F. 2002.** *Bacillus endophyticus* sp. nov. isolated from the inner tissues of cotton plants (*Gossypium* sp.). *Int. J. of Syst. and Evol. Microbiol.*, 52: 101-107.
- Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, y Bashan, Y. 2006.** Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287(1-2): 15-21.
- Rojas, M., Tejera, B., Larrea, J. y Heydrich, M. 2008.** Caracterización de cepas del género *Bacillus* asociadas al cultivo del arroz (*Oryza sativa*). 4to Encuentro Internacional del Arroz, La Habana.
- Rosenblueth, M. y Martínez, R. 2006.** Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interact.*, 19: 827-837.
- Sánchez, L. y Pérez, P. 2018.** Caracterización y evaluación de PGPRs sobre el crecimiento de plántulas de *Dioscorea rotundata* in vitro. *Agronomía Costarricense*, 42(2): 75-91.
- Schwyn, B. y Neilands, J. 1987.** Ensayo químico universal para la detección y determinación de sideróforos. *Bioquímica analítica*, 160: 47-56. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9).
- Selvakumar, G., Kundu, S., Joshi, P., Nazim, S., Gupta, A. y Gupta, H. 2010.** Growth promotion of wheat seedlings by *Exiguobacterium acetylicum* 1P MTCC 8707, a cold tolerant bacterial strain from the Uttarakhand Himalayas. *Ind. J. Microbiol.*, 50: 50–56.
- Shivaji, S., Chaturvedi, P., Reddy, G. y Suresh, K. 2005.** *Pedobacter himalayensis* sp. nov., from Hamta glacier located in the Himalayan mountain range in India. *Int J Syst Evol Microbiol*, 55: 10830-1088.
- Sierra, O., Bedoya, J., Monsalve, D. y Orozco, J. 1986.** Observaciones sobre *Colosua* (*Bothriochloa pertusa* (L) Camus) en la costa Atlántica de Colombia. *Pasturas tropicales, Boletín* 8.
- Solanki, M., Singh, R., Srivastava, S., Kumar, S., Kashyap, P., Srivastava, A. y Arora, D. 2013.** Isolation and characterization of Siderophore producing antagonistic rhizobacteria against *Rhizoctonia solani*. *J Basic Microbiol.*, (00): 1-14.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. y Kumar, S. 2007.** MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular biology and evolution*, 24(8): 1596-1599.
- Team, R. 2012.** R: A language and environment for statistical computing.
- Trivedi, P., Kumar, B., Pandey, A. y Palni, L. 2007.** Plant Growth promotion of rice by phosphate solubilizing bioinoculantes in a Himalayan location. En: Velázquez E, Rodríguez-Barrueco C, editors. *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*. Springer, 291-9.
- Vazallo, S., Ramírez, L., Carranza, L., García, B. y Bernilla, B. 2013.** Efecto de la inoculación de *Rhizobium etli* y *Trichoderma viride* sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Capsicum annum* var. *longum*. *Revista Rebiolest*, 1(1): 11-21.

**Velázquez, E., Rojas, M., Lorite, M., Rivas, R., Zurdo, P. y Heydrich, M. 2008.** Genetic diversity of endophytic bacteria which could be found in the apoplastic sap of the medullary parenchyma of the stem of healthy sugarcane plants. *Journal of Basic Microbiology*, 48: 118-24.

**Viloria, D. 2005.** La economía de Barrancas y Tolú en función de las regalías: un camino construido entre la abundancia y el despilfarro, *Economía locales en el Caribe colombiano: Siete estudios de caso*. María M. Aguilera Díaz (editor), Colección de Economía Regional, Banco de la República, Cartagena.

**Zheng, Y., Qiao, X., Miao, C., Liu, K., Chen, Y., Xu, L. y Zhao, L. 2016.** Diversity, distribution, and biotechnological potential of endophytic fungi. *Ann Microbiol*, 66: 529-542.