

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS ENDÓFITAS
HALOTOLERANTES DE MANGLAR PARA SU USO POTENCIAL EN LA
PRODUCCIÓN DE UN BIONOCULANTE**

Arnaldo José Serna De La Hoz

Código estudiantil: **201922718378**

Trabajo de investigación del programa académico de Microbiología

Tutores:

Zamira Elena Soto Varela

Roger Alexander Consuegra Rivera

RESUMEN

Las bacterias endófitas halotolerantes que se encuentran en los manglares y que poseen características propicias para el estímulo del crecimiento vegetal se presentan como una opción viable para su empleo como bioinoculantes, especialmente en situaciones donde las plantas enfrentan condiciones adversas de estrés abiótico, como la sequía y la salinidad en el suelo. La selección de la cepa bacteriana adecuada que cumpla con los requisitos mencionados conlleva la necesidad de calcular y analizar los parámetros cinéticos asociados al crecimiento en diferentes medios de cultivo. Además, es fundamental evaluar la formación de biopelícula, ya que su presencia podría plantear desafíos en el proceso de escalado para la producción de un bioinoculante que involucrará la encapsulación de bacterias mediante el empleo del alginato de sodio. El objetivo del trabajo fue evaluar el crecimiento de bacterias halotolerantes para su uso potencial en la producción de un bioinoculante; para ello se estandarizaron preinóculos de 9 cepas endófitas aisladas de manglares en dos medios de cultivos: caldo LB y caldo TSB, el crecimiento de los inóculos y la producción de biopelículas se evaluó con un lector de microplacas midiendo densidad óptica a 600 nm durante 24 a 48 h. La cepa C7 es la de mejor crecimiento con μ : 0.16 h⁻¹ y Td: 4.42 h en LB, y μ : 0.12 h⁻¹ y Td: 5.71 h en TSB. No obstante, la cepa C3 presentó el mayor crecimiento con μ : 0.19 h⁻¹, Td de 3.56 h y formación de biopelícula en LB y una μ de 0.23 h⁻¹ y un Td de 2.90 h en TSB, presentando gráficas atípicas en ambos medios. Se infiere que la producción de biomasa en las cepas evaluadas está influenciada por el medio de cultivo, la formación de biopelícula y el tiempo de fase exponencial. Se pretende continuar el estudio evaluando el crecimiento de la cepa C7 en Erlenmeyer por 24 h, midiendo densidad óptica y haciendo recuento de viables por la técnica de microdiluciones y microgota cada 60 minutos.

Palabras clave: *Bacteria endófitas, cinética del crecimiento, bioinoculante, biopelícula.*

ABSTRACT

The halotolerant endophytic bacteria found in mangroves, exhibiting favorable characteristics for stimulating plant growth, emerge as a viable option for use as bioinoculants, especially in situations where plants face adverse abiotic stress conditions such

as drought and soil salinity. Selecting the appropriate bacterial strain meeting these requirements involves the necessity to calculate and analyze the kinetic parameters associated with growth in different culture media. Additionally, it is crucial to assess biofilm formation, as its presence may pose challenges in the scaling-up process for bioinoculant production, involving bacterial encapsulation through the use of sodium alginate. The objective of this study was to evaluate the growth of halotolerant bacteria for their potential use in bioinoculant production. To do this, pre-inoculants of 9 endophytic strains isolated from mangroves were standardized in two culture media: LB broth and TSB broth. Inoculum growth and biofilm production were assessed using a microplate reader by measuring optical density at 600 nm over 24 to 48 hours. Strain 7 exhibited the best growth with μ : 0.16 h⁻¹ and dT: 4.42 h in LB, and μ : 0.12 h⁻¹ and dT: 5.71 h in TSB. However, strain 3 showed the highest growth with μ : 0.19 h⁻¹, dT of 3.56 h, and biofilm formation in LB, and a μ of 0.23 h⁻¹ and a dT of 2.90 h in TSB, displaying atypical growth curves in both media. It is inferred that biomass production in the evaluated strains is influenced by the culture medium, biofilm formation, and the time of exponential phase. The study intends to continue by evaluating the growth of strain 7 in Erlenmeyer for 24 hours, measuring optical density, and performing viable counts using the microdilution and microdilution methods every 60 minutes.

KeyWords: *Endophytic bacteria, growth kinetics, bioinoculant, biofilm.*

REFERENCIAS

1. Allkja, J., Van Charante, F., Aizawa, J., Reigada, I., Guarch-Pérez, C., Vazquez-Rodriguez, J. A., Cos, P., Coenye, T., Fallarero, A., Zaat, S. A. J., Felici, A., Ferrari, L., Azevedo, N. F., Parker, A. E., & Goeres, D. M. (2021). Interlaboratory study for the evaluation of three microtiter plate-based biofilm quantification methods. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93115-w>
2. Bonilla Buitrago, R. R., González de Bashan, L. E., Pedraza, R. O., Estrada Bonilla, G. A., & Pardo Díaz, S. (2021). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible. In *Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible*. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.analisis.7405019>

3. Contreras Roa, B., López Pérez, S., Reyes, J. P., y Cárdenas-Caro, D. (2011). Producción de un inoculante a base de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Respuestas*, 16(2), 20–29. <https://doi.org/10.22463/0122820X.382>
4. Deivanai, S., Bindusara, A. S., Prabhakaran, G., & Bhore, S. J. (2014). Culturable bacterial endophytes isolated from Mangrove tree (*Rhizophora apiculata* Blume) enhance seedling growth in Rice. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 5(2), 437–444. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.136233>
5. Finkel, O. M., Castrillo, G., Paredes, S. H., González, I. S., & Dangl, J. L. (2017). Understanding and exploiting plant beneficial microbes. *Current Opinion in Plant Biology*, 38, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.018>
6. Gaxiola, J. M. D. (2011). Una revisión sobre los manglares: características, problemáticas y su marco jurídico. Importancia de los manglares, el daño de los efectos antropogénicos y su marco jurídico: Caso Sistema Lagunar de Topolobampo. *Ra Ximhai*, 355-370. <https://doi.org/10.35197/rx.07.03.2011.05.jd>
7. Kaleh, A. M., Singh, P., Mazumdar, P., Chua, K. O., & Harikrishna, J. A. (2022). Halotolerant rhizobacteria isolated from a mangrove forest alleviate saline stress in *Musa acuminata* cv. Berangan. *Microbiological Research*, 265(August), 127176. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127176>
8. Kurokawa, M., & Ying, B. (2017). Precise, high-throughput analysis of bacterial growth. *Journal of Visualized Experiments*, 127. <https://doi.org/10.3791/56197>
9. Lavanya, J., Deepika, D. S., & Sridevi, M. (2022). Screening and Isolation of Plant Growth Promoting, Halotolerant Endophytic Bacteria from Mangrove Plant *Avicennia officinalis* L. at Coastal Region of Corangi Andhra Pradesh. *Agricultural Science Digest - A Research Journal*, 17(Of). <https://doi.org/10.18805/ag.d-5607>
10. Mohite, B. V. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, ahead, 0. <https://doi.org/10.4067/s0718-95162013005000051>
11. Riseh, R. S., Ebrahimi-Zarandi, M., Vazvani, M. G., & Skorik, Y. A. (2021). Reducing drought stress in plants by encapsulating plant Growth-Promoting bacteria

- with polysaccharides. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12979.
<https://doi.org/10.3390/ijms222312979>
12. Rivera, D. M. (2008). Optimización de un medio de cultivo para la producción de un inoculante con base en *Azospirillum brasilense* C16. Recuperado de:
<http://hdl.handle.net/20.500.12324/18647>.
 13. Roberts, A., Matthews, J. B., Socransky, S. S., Freestone, P., Williams, P. H., & Chapple, I. (2002). Stress and the periodontal diseases: Effects of catecholamines on the growth of periodontal bacteria in vitro. *Oral Microbiology and Immunology*, 17(5), 296-303. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.2002.170506.x>
 14. Rodríguez Acosta, Jorge Luis. (2018). Evaluación de la cinética de crecimiento de PGPR y su actividad antagonista hacia *Meloidogyne incognita* “in vitro”. *Quevedo. UTEQ.* 80 p. <https://repositorio.uteq.edu.ec/items/9c65c0bd-0b5d-476c-90c7-7f362f4efc5e>
 15. Rogers, A., Bullard, K. R., Dod, A. C., & Wang, Y. (2022). Bacterial growth curve measurements with a multimode microplate reader. *Bio-protocol*, 12(9).
<https://doi.org/10.21769/bioprotoc.4410>
 16. Sarti, G. C., Míguez, A. E. J. C., & Curá, A. J. (2019). Optimización de las condiciones de cultivo para el desarrollo de una biopelícula bacteriana y su aplicación como biofertilizante en *Solanum lycopersicum* L. Var. Río Grande. *Revista de Protección Vegetal*, 34(2). <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v34n2/2224-4697-rpv-34-02-e01.pdf>
 17. Sepúlveda, L., & Aguilar, C. N. (2014). Cinética microbiana de microorganismos biofertilizantes. *ResearchGate*. <https://www.researchgate.net/publication/264442301>
 18. Soldan, R., Mapelli, F., Crotti, E., Schnell, S., Daffonchio, D., Marasco, R., Fusi, M., Borin, S., & Cardinale, M. (2019). Bacterial endophytes of mangrove propagules elicit early establishment of the natural host and promote growth of cereal crops under salt stress. *Microbiological Research*, 223–225(March), 33–43.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.03.008>
 19. Stanbury, P. F., Whitaker, A., & Hall, S. J. (1995). Principles of fermentation technology. En Elsevier eBooks . <https://doi.org/10.1016/c2009-0-11099-1>

20. Vessey, J. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>