



**Identificación De Morfotipos De *Streptomyces* Spp. Productores De Fitohormonas,
Aislados De Un Cultivo De Piña En El Municipio De Chigorodó.**

María Alejandra Carrillo Castaño
Gloria Patricia Blandón Torres

Trabajo de grado presentado para optar al título de Microbiólogo Industrial y Ambiental

Asesores

Diana Nayibe Polanco Echeverry, Doctor (PhD) en Agroecología
Sergio Andrés Buitrago Arias, Especialista (Esp) en Investigación E Innovación
Educativa

Universidad de Antioquia
Escuela de Microbiología
Microbiología Industrial y Ambiental
Apartadó, Antioquia, Colombia
2024

Cita

(Carrillo Castaño et al., 2024)

Referencia

Estilo APA 7 (2020)

Carrillo Castaño, M. A., Blandón Torres, G. P., Polanco Echeverry, D. P., & Buitrago Arias, S. A. (2024). *Identificación De Morfotipos De Streptomyces Spp. Productores De Fitohormonas, Aislados De Un Cultivo De Piña En El Municipio De Chigorodó*. [Trabajo de grado profesional]. Universidad de Antioquia, Apartadó, Colombia.



Grupo de Investigación Microbiología Veterinaria.



Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

IDENTIFICACIÓN DE MORFOTIPOS DE *Streptomyces* spp. PRODUCTORES DE FITOHORMONAS, AISLADOS DE UN CULTIVO DE PIÑA EN EL MUNICIPIO DE CHIGORODÓ.

IDENTIFICATION OF MORPHOTYPES OF *Streptomyces* spp. PHYTOHORMONE PRODUCERS, ISOLATED FROM A PINEAPPLE CROP IN THE MUNICIPALITY OF CHIGORODÓ.

*Alejandra Carrillo*¹; *Gloria Blandón*¹; *Diana Polanco*¹; *Sergio Buitrago*¹

1 Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología, Apartadó- Antioquia, Colombia; e-mail: alejandra.carrillo1@udea.edu.co; gloria.blandon@udea.edu.co; diana.polanco@udea.edu.co; sergio.buitrago@udea.edu.co

RESUMEN

La piña es un fruto tropical consumido en el mundo por su gran aporte nutricional y propiedades diuréticas, los fertilizantes químicos implementados en su producción, han causado una gran contaminación en suelos y cuerpos de agua que afectan la dinámica de los ecosistemas aledaños a los cultivos. El objetivo del presente trabajo fue identificar *Streptomyces* spp. nativos de un cultivo de piña productores de fitohormonas benéficas para los cultivos de piña en una finca del municipio de Chigorodó. Las muestras fueron tomadas en una finca agrícola de piña del municipio de Chigorodó Antioquia, se tomaron 100 muestras (50 de suelo y 50 de raíz) y con base a la clave taxonómica se aislaron 18 morfotipos los cuales se sometieron a pruebas bioquímicas, seleccionando sólo dos posibles candidatos identificados como *Streptomyces andamanensis* S10M3 y *Streptomyces andamanensis* R10M1, ambas cepas proliferaron en presencia de triptófano (Trp) induciendo a la producción de fitohormonas, obteniendo una producción de Ácido Indol Acético (AIA) de 0,0015 para S10M3 y 0,0007 µg/mL para R10M1. Estos datos no superaron la producción de la cepa control con la que se obtuvo 0,0022 µg/mL. En cuanto al GA₃, no se detectaron valores fiables por baja especificidad del método.

Palabras clave

Streptomyces, Fitohormonas, Fertilizantes químicos, piña Gold MD2.

ABSTRACT

Pineapple is a tropical fruit consumed around the world for its great nutritional contribution and diuretic properties. The chemical fertilizers implemented in its production have caused great pollution in soils and bodies of water, which affect the dynamics of the ecosystems surrounding the crops. The objective of this work was to identify *Streptomyces* spp. natives of a pineapple crop producers of beneficial phytohormones for pineapple crops on a farm in the municipality of Chigorodó. The samples were taken in a pineapple agricultural farm in the municipality of Chigorodó Antioquia, in total 100 samples were taken (50 soil and 50 roots) and based on the taxonomic key, 18 morphotypes were isolated, which were subjected to biochemical tests. selecting only two possible candidates identified as *Streptomyces andamanensis* S10M3 and *Streptomyces andamanensis* R10M1, both strains proliferated in the presence of tryptophan (Trp) inducing the production of phytohormones, obtaining an Indole

Acetic Acid (IAA) production of 0.0015 for S10M3 and 0.0007 µg/ mL for R10M1. These data did not exceed the production of the control strain with which 0.0022 ug/mL was obtained. Regarding GA₃, no reliable values were detected due to low specificity of the method.

Keywords

Streptomyces, Phytohormones, Chemical fertilizers, pineapple Gold MD2.

INTRODUCCIÓN

La piña es el segundo fruto tropical más consumido en el mundo, con una alta demanda por su aporte nutricional y propiedades diuréticas (Araya Salas A. M., 2022). La producción de piña ha aumentado llegando a ocupar el 20% del volumen mundial de frutos tropicales, además en el año 2018 alcanzó una producción mundial de 27.924.287 Toneladas, donde el 36% es ocupado por América latina y el Caribe, siendo los principales productores Brasil, Costa Rica y México con 1736, 1072 y 443 miles de toneladas, respectivamente (Patricio A., 2020). Colombia, aunque cuenta con los mejores ecosistemas para la producción de piña, solamente exporta el 30% de la producción nacional, por tal motivo, se buscan estrategias que aumenten la producción para mejorar la economía del país (Betancur et al., 2018). Dichas estrategias buscan obtener un óptimo crecimiento de la piña, teniendo en cuenta factores como, temperatura entre 23°-24°C, pH de 4,5 a 6,5 (Chuquillanqui, 2018) y precipitaciones anuales entre 2000 y 2500 milímetros (Martinez lacharme L., 2019).

Urabá es una de las regiones del departamento de Antioquia, que tiene amplia biodiversidad productiva, ya que se cultiva plátano, banano, cacao, ñame, palma de aceite, piña y yuca, sin embargo, los cultivos de estas dos últimas ocupan menos hectáreas. Por tanto, existe la necesidad de aumentar las áreas de cultivo de piña para obtener mayor producción (Fagua et

al., 2019). La variedad de piña Gold MD2 (*Ananas comosus* L) es la más cultivada en la región de Urabá, ya que posee propiedades organolépticas atractivas en la industria y el comercio (DANE, 2016). Para obtener un peso ideal del fruto de la piña se necesita de 4 a 5 horas luz/día, pero Urabá solo cuenta con 2,5 horas luz/día, para esto es necesaria una estrategia como el uso de fitohormonas, que tienen la capacidad de contribuir dichas horas luz/día (Sierra., 2021), y son moléculas orgánicas que han estado relacionadas con el crecimiento y la productividad de las plantas en sus diferentes etapas (Munguía R. et al., 2018). Aunque las fitohormonas son producidas de manera natural por las plantas, la cantidad es baja, por lo que se acude a la aplicación de grandes concentraciones de fertilizantes químicos para obtener una mayor producción (Coto Brenes S., 2021), rápida absorción de nutrientes y tener un fácil manejo de los mismos (Alvarado Chávez, J. G., 2021). Estos fertilizantes son compuestos de alta solubilidad que afectan los ecosistemas acumulándose en las aguas subsuperficiales, causando eutrofización y contaminación de suelos y el ambiente (Rivas E. J. G. 2021). No obstante, existen biofertilizantes que usan microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) que mejoran el desarrollo de las plantas, son menos impactantes en el medio ambiente y mejoran la productividad (Beltran Pineda M. E., et al., 2022), además, el

biofertilizante permite disminuir hasta un 50% del volumen de los productos químicos utilizados (Herrera Mendez M. F., 2022). Actualmente existen biofertilizantes fabricados con actinomicetos, bacterias Gram positivas aerobias, caracterizados como controladores biológicos y promotores de crecimiento vegetal (García Portales J. M., 2021). Su temperatura óptima de crecimiento está entre 25°C y 35°C, aunque existen algunas psicrófilas que pueden crecer entre 0 y 20°C y otras termófilas que pueden crecer entre 60 y 70°C, por otra parte, las actinobacterias neutrófilas pueden crecer entre pH de 5 a 9, siendo de 6,5 a 8 el pH óptimo, mientras que las acidófilas crecen entre 1.8 y 4 y las alcalinas entre 6 y 11 (García Portales J. M., 2021). Por otro lado, ayudan con el equilibrio de los suelos, la fitorremediación, la producción de antibióticos y el reciclaje de los componentes más resistentes que se encuentran en la materia orgánica (Condori Titto, X., 2020). Se pueden encontrar en superficies rocosas o suelos rizosféricos, ricos en humus, hojarasca, estiércol y sedimentos marinos (Condori Titto, X., 2020). Su clasificación ha surgido gracias a la variedad en la familia *Actinomycete*, especialmente del género *Streptomyces*, ya que tienen una amplia diferencia morfológica, fisiológica y bioquímica (López, F. R. et al., 2020). Son caracterizados como controladores biológicos y promotores de crecimiento vegetal por su capacidad de producir sideróforos, ácido indol acético (AIA), giberelinas (GA₃), diversos metabolitos y por su capacidad de solubilización del fósforo (Condori, S., et al. 2019). El AIA es una fitohormona que se encuentra

involucrada en el crecimiento y desarrollo de las plantas como el alargamiento y división celular, teniendo gran importancia en la formación del xilema y la raíz, por otra parte, la giberelina (GA₃), que es otro tipo de fitohormonas, poseen la capacidad de influir en la germinación al interrumpir el período de latencia de las semillas, además, de participar en el desarrollo del fruto y la altura de la planta (Cantero, I., 2018). Al conocer estos grandes beneficios para el ambiente, se han buscado alternativas para su implementación como biofertilizantes. El género *Streptomyces*, ha sido el más utilizado por su fácil manejo y mayor producción de metabolitos secundarios (Condori, S., et al. 2019). Teniendo en cuenta los cambios ambientales abruptos en la región de Urabá como la disminución en la temperatura de hasta 23° a 25°C, acompañada por periodos de lluvias, seguido de aumentos de temperatura de 29° a 30°C, se considera pertinente caracterizar los *Streptomyces* que se encuentran adaptados a estos cambios climáticos presentes en los cultivos de piña de una finca del municipio de Chigorodó, para demostrar su potencial productor de fitohormonas y así aportar nuevo conocimiento a proyectos que promuevan la realización de biofertilizantes a base de *Streptomyces*, para cultivos de piña y reducir el uso de los fertilizantes químicos que aportan a la degradación ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras

Se seleccionaron 10 secciones de un lote y utilizando un muestreo aleatorio en zigzag se recolectaron 10

muestras en cada sección, para un total de 100 plantas madre de un cultivo de piña de una finca agrícola del municipio de Chigorodó, las muestras fueron recolectadas en bolsas ziploc y transportadas en refrigeración de 4°C.

Aislamiento e identificación de morfotipos de *Streptomyces*

Las raíces de las plantas madre se llevaron a macerar en grupos de 10, dando un total de 10 muestras compuestas, de las cuales se tomaron 10 g y se agregaron en frascos schott que contenían 90 ml de agua peptonada estéril al 0,1%. Posteriormente, se prepararon diluciones seriadas hasta 10^{-4} y se realizó una siembra por agotamiento de las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} en agar avena suplementado 50000 ug/L de nistatina a pH 7, para evitar el crecimiento de hongos, finalmente se incubaron de 28 a 30°C por 15 días. Pasado este tiempo, se purificaron los morfotipos de *Streptomyces* por medio de repiques en el mismo agar inicial y se llevaron a incubar a 27 °C durante 10 días. Por último, se identificaron las características macroscópicas y microscópicas de *Streptomyces* a partir de una clave taxonómica elaborada en base a varios estudios (Law J. W., et al. 2019) (Zerouki C., et al. 2021), (Tenebro, C. P., et al. 2021).

Caracterización bioquímica

Los morfotipos seleccionados y purificados en el proceso de aislamiento e identificación, se caracterizaron en una primera etapa por su capacidad de hidrólisis en diferentes fuentes de carbono, a través de la siembra en agar almidón y agar citrato (López, et al., 2020), así mismo se realizaron pruebas de

respiración como oxidasa y catalasa. Finalmente, se observaron los resultados y con base al comportamiento de los morfotipos y la clave taxonómica se identificaron aquellos que presentaron características compatibles con el género *Streptomyces*. (Lopez & Lemus, 2018).

Identificación por prueba MALDI-TOF

Para darle paso a la identificación de las cepas, éstas se llevaron al laboratorio SYNLAB ubicado en la clínica León Trece de la ciudad de Medellín-Antioquia. Los morfotipos seleccionados fueron sembrados en agar avena e incubados hasta obtener una biomasa considerable y libre de contaminación para posteriormente ser sometidos a la prueba MALDI-TOF (espectrometría de masas), la cual, es una técnica de ionización aplicada también para la identificación de actinobacterias como *Streptomyces* sp. Esta prueba consiste, en el reconocimiento de la cepa por medio de su perfil proteico específico, determinando la presencia de las proteínas más abundantes, incluyendo las ribosómicas presentes en todas las células vivas (Cobo, F., et al., 2023). Esta técnica posee una alta sensibilidad y alta precisión que posee alta concordancia con métodos de identificación que secuencian el 16s (Cobo, F., et al., 2023).

Proliferación de morfotipos previamente seleccionados y aislados

En este proceso se preparó caldo TSB (2,5 g/L de glucosa, 2,5 g/L de K_2HPO_4 , 17 g/L de peptona de caseína, 5 g/L de NaCl y 3 mg/ L de peptona de soya, a pH 7) con 1,8

g/100 mL triptona, en 6 erlenmeyers de 250 mL con 100 mL del medio para inducir la producción de auxinas y giberelinas (Celis & Gallardo, 2008). Luego se agregó 1 colonia de cada cultivo axénico (por duplicado) correspondiente a los morfotipos seleccionados en la última prueba de caracterización, y el tiempo cero (t₀) se tomó antes de la inoculación. Los erlenmeyers inoculados se llevaron a incubación con una agitación de 100 rpm a 28°C, durante 12 días, en los cuales se tomaron alícuotas de 4 mL cada 48 horas y se llevaron a centrifugación a 5000 rpm por 10 minutos, incluyendo el t₀, para así obtener un sobrenadante libre de sólidos y depositarlo en microtubos de 2 mL para posteriormente almacenarlos a 4°C hasta el día de la lectura (Celis & Gallardo, 2008).

Identificación de fitohormonas

Cuantificación de giberelinas (GA₃) a partir del método Folling-Wu (ácido fosfomolibdico)

-Preparación de la curva: Se preparó 200 ml del reactivo Folling-Wu en 2 fases, en la primera se agregaron 7g/L de ácido molibdico, 1g/L de tungstano de sodio, 40 mL de NaOH al 10%, 40 mL de agua destilada y se llevó a ebullición por 40 minutos para remover rastros de amonio presentes en el ácido molibdico ACS marca Loba Chemie. En la segunda fase, se dejó atemperar la solución, y se añadió 70 mL de agua destilada, 25 mL de H₃PO₄ al 85% y se aforó con agua destilada hasta 200 mL. Para establecer una curva de calibración, se tomaron soluciones concentradas de giberelina comercial marca Merck para obtener soluciones de 100 µg/mL, 200 µg/mL,

500 µg/mL, 750 µg/mL y 1000 µg/mL. Para la lectura se tomó 1 mL de las soluciones concentradas y 3 mL del reactivo Folling-Wu, se llevó a ebullición durante 60 minutos y luego a baño de hielo, una vez atemperada la solución se midió en el espectrofotómetro a una DO de 780 nm (Celis & Gallardo, 2008). Los datos de absorbancia obtenidos se graficaron en Microsoft Excel y se obtuvo la siguiente ecuación:

Ecuación 1

$$y = 0,0009x - 0,0055$$
$$R^2 = 0,987$$

-Lectura de muestras: Se tomaron los microtubos de 2 mL previamente almacenados a 4°C y se llevaron a reacción 1 mL de muestra con 3 mL del reactivo Folling-Wu, se llevó a ebullición durante 60 minutos y luego a baño de hielo, una vez atemperada la solución se midió en el espectrofotómetro a una DO de 780 nm (Celis & Gallardo, 2008). Los datos de absorbancia obtenidos se reemplazaron en la Ecuación 1 para la obtención de las concentraciones de giberelinas (GA₃) producidas. Nota: El reactivo de Folling-Wu detecta la presencia de auxinas y giberelinas, por lo tanto, pese a su poca especificidad para identificar solo giberelinas, es necesario realizar ajuste de los valores restando a la Ecuación 1. las concentraciones obtenidas en la ecuación 2.

Cuantificación de auxinas (ácido indol acético (AIA)) por medio del test colorimétrico Salkowsky

-Preparación de curva: Se realizó una curva de calibración con reactivo de salkowsky a base de ácido perclórico que contiene HClO₄ a una

concentración de 3,48M y FeCl_3 a una concentración de 10mM. Luego, se prepararon diferentes concentraciones de AIA comercial marca Merck (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 $\mu\text{g/mL}$), de las cuales se tomó 1 mL por cada 2 mL de reactivo de Salkowsky y se llevaron a incubar en oscuridad por 30 min a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se midieron las concentraciones a 530 nm por duplicado. Los datos de absorbancia obtenidos se graficaron en Microsoft Excel y se obtuvo la siguiente ecuación:

Ecuación 2

$$y = 117,04x + 0,4064$$

$$R^2 = 0,9965$$

Lectura de muestras: Se tomaron los microtubos de 2 mL previamente almacenados a 4°C y se llevaron a reacción 1 mL con 2 mL del reactivo de Salkowsky previamente estandarizado y se incubaron por 30 minutos a oscuridad para su reacción y posteriormente se midió su absorbancia a 530 nm (Celis & Gallardo, 2008). Los datos de absorbancia obtenidos se reemplazaron en la Ecuación 2 para la obtención de las concentraciones de auxinas (AIA) producidas.

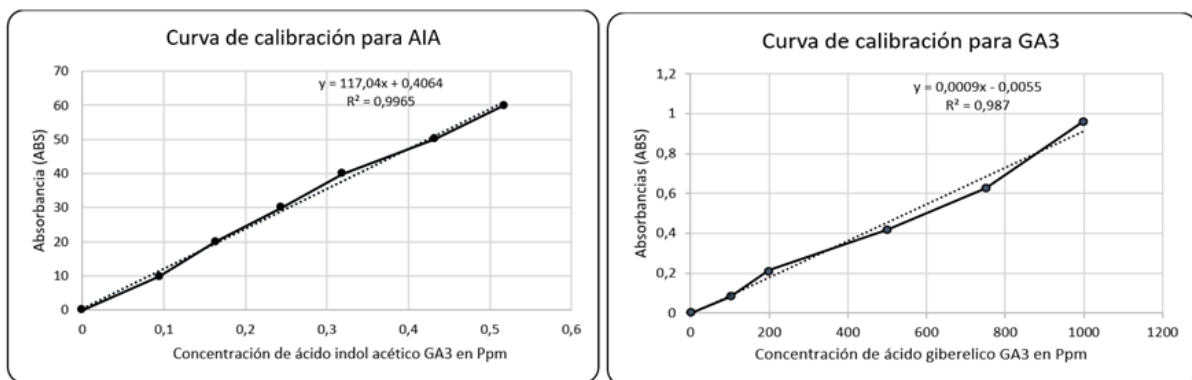


Figura 1. Curvas de calibración de ácido indol acético y ácido giberélico en Ppm.

Análisis estadístico

Los datos de producción de las fitohormonas fueron calculados como el resultado del promedio de las muestras por triplicado \pm la desviación estándar y se realizó un ANOVA de una sola variable para determinar si existen diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.05$ y $F < F$ crítico), todo lo anterior se realizó por medio del software Microsoft Excel 2016.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dado que *Streptomyces* sp. es el género más grande de las actinobacterias (Patiño Parra

D. V., 2021) y que además cuenta con características macroscópicas que difieren entre ellos, para ello se elaboró una clave taxonómica basada en investigaciones realizadas anteriormente por (Law J. W., et al. 2019; Zerouki C., et al 2021; Ramírez L., et al. 2018; Chumpitaz Bermejo 2019), la cual permitió la ejecución de un proceso más exacto al microorganismo en las 10 muestras analizadas, tanto de suelo rizosférico (S) como de raíz (R.).

Características macroscópicas

Dentro de las 10 muestras analizadas en suelo rizosférico (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9 y S10), se seleccionaron inicialmente 19 morfotipos que cumplían

con las características macroscópicas seleccionadas en la clave taxonómica, de los cuales 1 morfotipo era de la muestra S1 (S1M2), 5 morfotipos de la muestra S2 (S2M1, S2M2, S2M3, S2M4 y S2M5), 1 morfotipo de la muestra S3 (S3M1), 3 de la muestra S5 (S5M1, S5M2 y S5M3), 1 de la muestra S6 (S6M1), 1 de la muestra S8 (S8M2), 3 de la muestra S9 (S9M1, S9M2 y S9M3) y 3 de la muestra S10 (S10M1, S10M2 y S10M3). De las 10 muestras analizadas en las raíces (R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, y R10), se seleccionaron inicialmente 7 morfotipos, 2 de la muestra R6 (R6M1 y R6M2), 1 de la muestra R8 (R8M1), 1 de la muestra R9 (R9M1) y 3 de la muestra R10 (R10M1, R10M2 y R10M3). Todo lo anterior se describe en la Tabla 1.

Teniendo en cuenta que los actinomicetos, familia en la que se ubican los *Streptomyces*, presentan colonias secas y pulverulentas con un crecimiento filamentoso, se consideraba que pertenecían al dominio eucariota, sin embargo, al realizar varios estudios notaron que estos individuos no contaban con orgánulos subcelulares y estructuras esqueléticas, por lo que fue determinado como un microorganismo procarionta, además, de contar con pared celular y nucleoides (Li Q., et al., 2016). Por otro lado, debido a las dos características que poseen sus colonias, mencionadas anteriormente, tanto hongos como actinomicetos poseen una gran similitud en este aspecto, por lo que pueden ser fácilmente confundidos (Condori P., et al.,

2019). Esta característica en sus colonias en particular, facilitó la diferenciación entre bacterias y actinobacterias presentes en el aislamiento primario, teniendo en cuenta que la nistatina suplementada al medio de cultivo garantiza la obtención de un medio selectivo para el crecimiento de bacterias. Durante el proceso de caracterización macroscópica, los morfotipos seleccionados que coincidían con las establecidas en la clave taxonómica, tales como el color de la colonia, siendo los más predominantes fueron blanco, gris y café claro (figura 2A, 2B y 2C, respectivamente), lo que coincide con las colonias del género *Streptomyces* según (Lemus A. J. A., 2019). Además, se lograron apreciar características en cuanto al micelio aéreo, micelio del sustrato y la producción de pigmentos difusibles (figura 2D). Los pigmentos difusibles predominantes fueron los de color marrón amarillento y marrón claro, ésta producción de pigmentos se da gracias a que algunas hifas de las actinobacterias tienen la capacidad de producir pigmentos hidrosoluble o liposolubles, los hidrosolubles se filtran en el medio de cultivo obteniendo un color característico al medio, mientras que los liposolubles, hacen que la colonia tenga un color específico, lo anterior le confieren características diferenciadoras en cada especie (Li, Q., et al., 2016). Gracias a lo hallado anteriormente, fue posible la identificación de los morfotipos que poseían las características más similares a miembros del género *Streptomyces* spp.

Tabla 1. Características macroscópicas de los morfotipos seleccionados en muestras de suelo y raíz en el aislamiento primario.

Morfotipo	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS					
	Micelio aéreo			Micelio del sustrato		Producción de pigmento soluble difusible
	Textura	Forma	Color	Forma	Color	
S1M2	Pulverulenta y seca	circular con borde	Blanco	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento

		blanco				
S2M1	Algodonosa	Circular con borde blanco	Gris	Sin fragmento	Marrón claro	Marrón claro
S2M3	Algodonosa y seca	Circular	Gris con blanco	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
S2M4	Seca	Irregular	Blanco	Sin fragmento	Marrón claro	Marrón claro
S2M5	Algodonosa y seca	Circular con borde blanco	Gris	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
S5M2	Algodonosa y seca	Circular	Blanco	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
S8M2	Aterciopelada y seca	circular	Beige	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
S9M1	Aterciopelada y seca	Circular con borde blanco	Beige-crema	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
S9M3	Algodonosa y seca	Circular con borde blanco	Gris con blanco	Sin fragmento	Marrón	Marrón
S10M1	Algodonosa y seca	Circular con borde blanco	Blanco con gris	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
S10M2	Aterciopelada y seca	Circular con borde blanco	Blanco con gris	Sin fragmento	Marrón oscuro	Marrón-amarillento
S10M3	Aterciopelada y seca	Circular	Gris con blanco	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
R6M2	Aterciopelado y seca	Circular con borde blanco	Gris con blanco	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
R8M1	Algodonosa y seca	Irregular	Gris con blanco	Sin fragmento	Gris	Sin pigmento
R9M1	Algodonosa y seca	Circular	Gris oscuro con blanco	Sin fragmento	Marrón claro	Marrón-amarillento
R10M1	Algodonosa y seca	Circular	Beige-crema	Sin fragmento	Marrón	Marrón-amarillento
R10M2	Aterciopelado y seca	Circular	Blanco	Sin fragmento	Marrón claro	Marrón-amarillento
R10M3	Algodonosa y	Circular con	Gris con	Sin	Marrón	Marrón-amarillento

	seca	borde blanco	blanco	fragmento		
RLM1	Aterciopelada y seca	Irregular	Blanco crema	Sin fragmento	Gris	Sin pigmento

Características microscópicas

Durante la identificación microscópica se descartaron 5 Morfotipos de suelo (S1M1, S3M1, S5M1, S5M3 y S9M2) y 1 de raíz (R6M1) por no cumplir con la característica microscópica correspondiente a un bacilo Gram positivo o no presentar el crecimiento micelial, característica microscópica específica de *Streptomyces* sp. Sin embargo, los bacilos seleccionados contaban con otro aspecto importante, el cual es su crecimiento en cadena con formación de esporas que se puede presentar en cuatro tipos como son las Rectiflexibles, que corresponden a cadenas de esporas rectas o flexuosas parcialmente, las Rectinaculiaperti, que son cadenas de esporas con ganchos, bucles abiertos o espirales cortos, las Spira, cadena de espora en espirales con dos subtipos, espiral cerrada y espiral abierta, y finalmente las hifas aéreas ramificadas y fragmentadas, estos tipos de cadena fueron descritas por (Li, Q., et al., 2016) y en la figura 2, se encuentran las imágenes representativas de cada tipo, donde dentro de las cadenas Rectiflexibles (figura 2E) se encontraban los morfotipos R6M2, S1M2, S2M3 y S6M1, en las Rectinaculiaperti (figura 2F) R8M1, RLM1, S8M2, S9M1 y S10M3, en Spira (figura 2G) se encontraron R9M1, R10M3 y S9M3 y finalmente en las hifas aéreas ramificadas y fragmentadas (figura 2H) se encontraron R10M2, S2M4, S10M1 y S10M2. Adicionalmente la formación de pseudohifas, corresponden a un tamaño inferior a las hifas de los hongos, lo que indica que dicha morfología posee similitud con la de un *Streptomyces*, ya que como lo indicó (Lemus, A. J. 2019) el crecimiento filamentoso de los *Streptomyces* genera filamentos largos correspondientes a un tamaño de aproximadamente 0,5 a 1,0 μm

de diámetro. Además en algunas ocasiones se presentan filamentos en espirales, o enroscamientos que se pueden percibir a nivel microscópico, esta característica también pudo ser observada durante la caracterización microscópica como se muestra en la figura 2, también se logró observar que el tipo de crecimiento es en cadena, donde también pueden presentarse con conformaciones de esporas espiraladas (Lemus, A. J, A., 2019). Esta formación de esporas, se da gracias al ciclo de vida con el que cuenta *Streptomyces*, el cual pasa por 3 etapas de desarrollo bien definidas, hifas vegetativas, hifas aéreas y esporas. El paso por estas etapas es dirigido por reguladores (bld y whi) que son reprimidos o activados para dar paso a cada una de ellas (Jones, S., & Elliot, M. 2018). Inicialmente, los tubos germinales surgen de una sola espora inactiva, ésta germina dando inicio a las hifas vegetativas, las cuales se extienden en consecuencia de un crecimiento polar mediado por el polarisoma, encargado de tomar la maquinaria biosintética de peptidoglicanos que se encuentra en la punta de las hifas, y a surgir ramas adicionales laterales de manera aleatoria, formando así una red gruesa de hifas denominada micelio vegetativo (Jones, S., & Elliot, M. 2018). Luego, se activan genes que dan paso al desarrollo de hifas aéreas que se elevan al aire alejándose del micelio vegetativo y activándose genes que son necesarios para la esporulación, estas hifas aéreas son septadas en esporas y éstas se pueden dispersar y dar inicio a un nuevo ciclo de vida (Jones, S., & Elliot, M. 2018). Por todo lo anterior, su crecimiento filamentoso y formación de esporas nos permitieron la identificación específica de morfotipos de *Streptomyces* sp. a nivel microscópico.

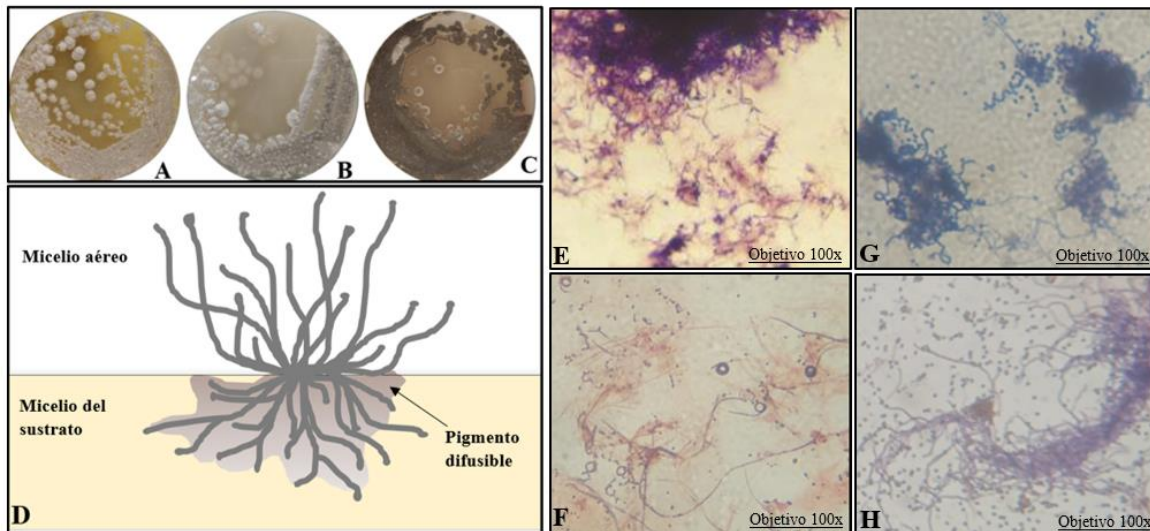


Figura 2. Imágenes de las características macroscópicas y microscópicas observadas en los morfotipos seleccionados, donde las macroscópicas corresponden a **A:** colonias blancas, **B:** colonias grises, **C:** colonias café, **D:** Ilustración del micelio aéreo, micelio del sustrato y pigmentos difusibles; mientras que las microscópicas son **E:** Rectiflexibles, **F:** Rectinaculiaperti, **G:** spira y **H:** hifas aéreas ramificadas y fragmentada.

Caracterización bioquímica

Para esta etapa se realizaron pruebas de utilización de fuentes de carbono y respiración, con el fin de obtener más información de los aislados dando lugar a una caracterización más específica de los aislados. Por lo cual fueron sometidos a las pruebas catalasa, oxidasa, citrato y almidón, cabe resaltar que, los morfotipos sometidos a la prueba fueron aquellos que previamente se seleccionaron en la etapa de identificación macro y microscópica. A continuación, en la tabla 2 se encuentran tabulados los resultados de las pruebas bioquímicas correspondientes a cada morfotipo, a partir de estos resultados se seleccionaron aquellos morfotipos que dieron un resultado positivo para catalasa y almidón y negativo para oxidasa y citrato, como lo fueron R10M1, R10M3, S10M2 y S10M3, además se corroboró este comportamiento en la cepa control.

Para determinar si la capacidad de respiración de los aislados coincidía con *Streptomyces*, se realizó por un lado la prueba catalasa, con el fin de confirmar la presencia de la enzima en *Streptomyces*, ya que se encuentra presente en todas las bacterias aerobias contando con la

capacidad de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno como mecanismo de defensa (López, F. R. et al., 2020). Cuando *Streptomyces* detecta la presencia de peróxido de hidrógeno, se induce la transcripción de la enzima catalasa como respuesta al estrés oxidativo generado por el mismo al ser un resultado de la respiración aerobia (Kim, Y., et al., 2021), este estrés ocurre debido a que, el microorganismo al requerir oxígeno para su metabolismo aerobio y formar micelio aéreo, genera especies reactivas de oxígeno (ROS) por lo que genera mecanismos antioxidantes, como la eliminación de H₂O₂, que son mediados por la actividad de peroxidasas y catalasas, para evitar daños en su ADN, ARN, proteínas y lípidos (Sanfeliu Redondo, D. 2017). Los resultados obtenidos en la presente investigación concuerda con los descritos en la literatura, donde (Kim, Y., et al., 2021) ha realizado estudios que confirman la presencia de dicha enzima en el metabolismo de los Estreptomicetos como *Streptomyces coelicolor*, lo cual nos permitió confirmar que los morfotipos S1M2, S2M1, S2M3, S2M5, S9M1, S10M2, S10M3, R6M2, R9M1, R10M1 y R10M3 (tabla 2) sí coincide con dicha

característica perteneciente a *Streptomyces sp.* Sin embargo, los morfotipos S2M4, S5M2, S9M3, S10M1 y R8M1 no presentaron actividad catalasa, resultados que concuerdan con la literatura ya que (Chanqueo & Morales., 2019) registran actinobacterias que no presentan actividad enzimática de catalasa, como lo es *Actinomyces radingae*, por lo que estos morfotipos sugieren ser parte de las actinobacterias pero no pertenecer al género *Streptomyces sp.*

Cómo segunda prueba se realizó la prueba de citocromo c oxidasa, debido a que la reacción de oxidación del citocromo le concede electrones al oxígeno y es característica de los organismos aerobios, cómo *Streptomyces*, además de algunos aerobios facultativos y en un reducido número de microaerófilos (López, F. R. et al., 2020). Sin embargo, en este género existen individuos que carecen de la citocromo c soluble, razón por la cual el resultado fue negativo (Tabla 2), y en reemplazo de esta poseen una proteína dihema QcrC, cómo lo es el caso de la cepa *Streptomyces coelicolor* A3(2), la cual posee una citocromo c de tipo aa3 de cobre, una bd oxidasa y un complejo bcc (donde se localiza la proteína QcrC), esta maquinaria enzimática hace posible que el microorganismo utilice el oxígeno cómo aceptor de electrones sin requerir la presencia de una citocromo c (Marco F., 2018).

Teniendo en cuenta los resultados de respiración en la prueba catalasa y oxidasa de las cepas R10M1, S1M2, S2M5, S9M1 y S10M3, se hizo posible identificar que estos morfotipos poseían características metabólicas de respiración similares a *Streptomyces*, ya que estas 6 cepas cumplen con las características mencionadas.

Para la determinación de la capacidad de consumo de diferentes fuentes de carbono, los aislados fueron sometidos a la prueba citrato, con el fin de determinar si poseen

en su maquinaria proteínica la enzima citrato permeasa que permite hidrolizar el citrato de sodio cómo única fuente de carbono (López, F. R. et al., 2020), sin embargo, esta hidrólisis puede ocurrir como un catabolismo anaerobio en enterobacterias y bacterias ácido lácticas por medio de la enzima citrato liasa ó como una utilización aerobia por medio de un solo sistema de absorción de citrato (Brocker, M. et al., 2009). Según el sistema de clasificación Saier, existen cinco familias transportadoras de citrato caracterizadas entre las que se encuentra la familia de transportadores de H⁺ CitMHS (Brocker, M. et al., 2009), la cual se encuentra presente en algunos miembros del género de *Streptomyces* como *Streptomyces coelicolor*, quien posee la capacidad de transportar complejos metal-citrato, como citrato de hierro y citrato de calcio, lo cual hace que este sea un sistema único de los miembros de la familia CitMHS (Lensbouer, J. J. et al 2008). Cabe destacar que, aunque los miembros de esta superfamilia se encuentran en bacterias Gram positivas existen miembros del género de *Streptomyces* que no poseen citrato permeasas degradadoras de citrato, ni transportadores de H⁺ CitMHS. Por otra parte, el resultado negativo de la prueba explica que, aunque existen *Streptomyces* con la capacidad de hidrolizar citrato, es importante tener en cuenta el cofactor presente en el medio que permita el proceso, es decir, que aunque el resultado de la prueba es negativo se debe tener en cuenta que el cofactor era Na⁺ mas no Fe³⁺ ni Ca²⁺ (Lensbouer, J. J. et al 2008), por lo que posiblemente este aspecto influyó en el resultado de la prueba. Por esta razón, basado en la literatura se encontró que los miembros del género *Streptomyces* no poseen la capacidad de utilizar el citrato de sodio como única fuente de carbono, lo cual permite su fácil diferenciación de los Actinomicetos (López, F. R. et al., 2020).

Finalmente con la prueba amilasa se determinó que morfotipos de *Streptomyces*

poseían la capacidad de sintetizar enzimas que degradan el almidón, como las amilasas, en el cual el almidón se escinde en azúcares simples durante la actividad enzimática y se confirma un resultado positivo al observar la formación de un halo de color azul al rededor de la colonia después de utilizar lugol (Baskaran, B., et al., 2017). Varios individuos del género *Streptomyces* han sido reportados con la capacidad de degradar moléculas incluso de mayor dificultad que el almidón como la lignina, esta capacidad se encuentra mayoritariamente en hongos de la podredumbre blanca, sin embargo, miembros del género *Streptomyces* poseen dicha capacidad debido a que sintetizan algunas enzimas como Lacasas, Lignino peroxidasa y Manganeso peroxidasa (Rojas Prieto, N. L. 2020).

Los resultados obtenidos en los morfotipos S2M4, S5M2, S8M2, S9M1, S10M1, S10M2, S10M3, R6M2, R8M1, R10M1 y R10M3 concuerdan con las características que confirman un resultado positivo para la

prueba de almidón y un resultado negativo para citrato, lo cual indica que se pudo determinar que el metabolismo, en cuanto al consumo de fuentes de carbono, de estos morfotipos corresponden al comportamiento metabólico de *Streptomyces sp.*.

Finalmente, se realizó un análisis de los resultados de aquellos morfotipos que cumplían con las características de respiración y consumo de fuentes de carbono, ya mencionadas, donde se determinó que los morfotipos S10M3 y R10M1 eran posiblemente cepas pertenecientes al género de *Streptomyces*, por lo que fueron seleccionadas para la siguiente etapa. Lo anterior indica que, es posible realizar un acercamiento preliminar de posibles morfotipos pertenecientes al género *Streptomyces* por medio de una clave taxonómica y pruebas bioquímicas caracterizando los aislados para relacionar los resultados con la literatura y determinar su procedencia.

Tabla 2. Resultados de las pruebas Catalasa, Oxidasa, Citrato y Almidón realizadas a morfotipos seleccionados

Morfotipo	Prueba bioquímica			
	Catalasa	Oxidasa	Citrato	Almidón
R6M2	+	+	-	+
R8M1	-	-	-	+
R9M1	+	+	-	-
R10M1	+	-	-	+
R10M3	+	+	-	+
RLM1	-	+	-	-
S1M2	+	-	-	-
S2M1	+	+	-	-
S2M3	+	+	-	-
S2M4	-	-	-	+
S2M5	+	-	-	-
S5M2	-	-	-	+
S8M2	-	+	-	+
S9M1	+	-	+	+
S9M3	-	-	-	-
S10M1	-	-	-	+
S10M2	+	+	-	+
S10M3	+	-	-	+
Cepa control	+	-	-	+

Identificación por prueba MALDI-TOF

El proceso de identificación de las cepas a través de la prueba MALDI-TOF MS permitió la identificación de las cepas S10M3 y R10M1, seleccionadas previamente, y la corroboración de la cepa control, indicando en el resultado qué las tres cepas no solo pertenecían al género *Streptomyces*, sino que además comparten la misma especie *Streptomyces andamanensis*, según los resultados de la prueba, los cuales poseen el 98% de confiabilidad (tabla 3).

Según (Sripreechusak., et al, 2016) la especie *Streptomyces andamanensis*, fue

aislada en las islas Similan, Tailandia, dicha especie contaba con características macroscópicas similares a la de nuestros aislados, como micelios aéreos de color blanco o gris y el micelio del sustrato no se encontraba fragmentado, mientras que, dentro de la característica microscópica presenta la formación de cadenas de esporas. Sin embargo, hay características diferenciales entre ellos a nivel microscópico, como la formación de espirales en su cadena de esporas, ya que (Sripreechusak., et al, 2016) mencionan que *Streptomyces andamanensis* presenta cadenas de esporas en espiral, pero nuestros aislados presentan diferencias al tener esporas Rectinaculiaperti en S10M3, e hifas

aéreas ramificadas y fragmentada en R10M1 y cepa control. Por otro lado, dentro de las pruebas bioquímicas, se realizó una comparación en la literatura de dicho microorganismo con nuestros aislados y se observó diferencias en la prueba de almidón, al presentarse positivo para la cepa control, R10M1 y S10M3, pero al observar el de la literatura, mencionan que *Streptomyces andamanensis* presenta negativo la hidrólisis de almidón dentro de su prueba bioquímica (Sripreechusak., et al, 2016), lo anterior confirma las diferencias que pueden existir dentro de una misma especie al encontrarse en nichos ecológicos diversos, debido a que, nuestros aislados

son pertenecientes a la región de Urabá, en Colombia, mientras que, el de la literatura fue aislado en Tailandia y presentan condiciones ambientales muy diferentes entre ellos.

La identificación de actinobacterias a través de características morfológicas y pruebas bioquímicas aún sigue siendo complejo al seguir presentando diferencias entre ellas, por lo que se hace importante realizar la identificación a partir de la prueba MALDI-TOF, o pruebas moleculares, para lograr confirmar que sí nos encontramos frente al género *Streptomyces*.

Tabla 3. Resultados de la identificación de los morfotipos y la cepa control a través de la prueba MALDI-TOF

Morfotipo	Nomenclatura de especie
Cepa control	<i>Streptomyces andamanensis</i>
R10M1	<i>Streptomyces andamanensis</i>
S10M3	<i>Streptomyces andamanensis</i>

Fitohormonas

Para procesar los resultados de los métodos de colorimetría Salkowski (para AIA) y Folin-Wu (para GA₃), se hallaron las concentraciones de las fitohormonas empleando los resultados de absorbancia y reemplazandolos en la Ecuación 1 para AIA y en la Ecuación 2 para GA₃ (figura 1.). Una vez se hallaron los valores de concentración, éstos se graficaron en el tiempo para S10M3, R10M1 y Cepa control; y se obtuvieron 2 gráficos de la cinética de producción de AIA (figura 3A) y GA₃ (figura 3B).

La producción de AIA se extiende entre diversos microorganismos, entre los que se encuentran algunos actinomicetos del género *Streptomyces*, algunos de sus miembros poseen la capacidad de degradar el triptófano y transformarlo en AIA, además la capacidad de producir esta

fitohormona puede estar relacionada con la diferenciación entre actinomicetos y *Streptomyces* spp. (Monroy Guerrero, M. 2021)

Las concentraciones de AIA se obtuvieron con mayor rapidez con la Cepa control en comparación a S10M3 Y R10M1, ya que, cómo se observa en la figura 3A, pasados 6 días de incubación la producción muestra un comportamiento exponencial. Sin embargo, previo a estos días la producción de esta fitohormona era nula, lo que podría ser explicado por el hecho de que los actinomicetos producen el AIA cómo metabolito secundario, así mismo cómo lo describió (Nazari, M. T., et al 2023). Cabe destacar que, la capacidad de producir AIA se encuentra principalmente en bacterias del género *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, entre otras; las cuales lo producen a través de la vía indol 3

piruvato (IPvA) (Leontovyčová, H., et al., 2020), y es por medio de esta que se secretan las auxinas para inducir a la formación de los nódulos de *Rhizobium* (Gao, J. L., et al., 2020), además se ha demostrado que existen una gran variedad de bacterias productoras de AIA donde la mayoría son bacterias del suelo, epífitas y colonizadoras de tejidos vegetales; se estima que aproximadamente el 80% de la microbiota bacteriana del suelo es productora de auxinas (Cantero, I., 2018). Por otra parte, existen 4 rutas dependientes del triptófano (Trp) para la síntesis microbiana de AIA, cómo lo es la indol-3-acetamida (IAM), la ácido indol-3-pirúvico (IPvA), la indol-3-acetonitrilo y la triptamina (Imada et al., 2017). Las dos más ampliamente encontradas son la IPvA y la IAM (Tijero Esteve, V. 2019), esta última es una de las más utilizadas por miembros del género *Streptomyces*, incluso ha sido identificada en individuos cómo *Streptomyces venezuelae*, quien posee en el gen *iaaM* que codifica la triptófano-2-monooxygenase que da paso a la producción de AIA a través de la presencia del intermediario IAM (Berckx, F., 2022). No obstante, existen algunos miembros del género *Streptomyces* que han demostrado la capacidad de convertir ácido indol-3-láctico (ILA) e indol-3-etanol (IEt) en AIA por vías adicionales, donde el ILA se encuentra cómo intermediario y es descarboxilado para producir IEt para que este finalmente se oxide en AIAld y AIA (Imada et al., 2017).

Por su parte el GA₃ mostró altas concentraciones desde el día 0 (figura 3B) para las tres cepas y del mismo modo se observa cómo la Cepa control es quien lleva consigo la mayor producción en comparación a S10M3 y R10M1. Sin embargo, se debe tener en cuenta que según (Celis & Gallardo, 2008) el reactivo folin-wu posee una baja especificidad a la hora de detectar giberelinas, ya que también interactúa con las auxinas presentes en el medio (Celis & Gallardo, 2008).

Lo anterior podría explicar la razón por la cual la fitohormona se detecta desde el día 0 de incubación sin que la cepa haya sido sometida a la presencia del triptófano, además, algunos artículos de la literatura han reportado producciones de GA₃ por hongos cómo *Fusarium fujikuroi* con una producción máxima de 2,90 ppm (Suga, H., et al., 2019), cantidades con una diferencia abismal en comparación a los resultados obtenidos en el presente estudio. Sumado a esto, la literatura indica que el AIA generalmente se encuentra presente en concentraciones mayores en comparación al GA₃ (Bessai et al., 2022), ya que entre los microorganismos PGPR, existen bacterias que tienen la capacidad de producir AIA a través de múltiples vías, cómo las anteriormente mencionadas, cómo lo es el caso de algunos miembros del género *Streptomyces*, el cual ha sido denominado líder en la producción de AIA (Nazari, M. T., et al 2023).

Así mismo, se realizaron dos gráficos de barras de la máxima producción de AIA (figura 3C) y GA₃ (figura 3D) en ug/mL por cada morfotipo. En estos gráficos se logra apreciar que la cepa control posee una mayor capacidad de producción de AIA en comparación a las otras cepas (figura 3C), ya que al alcanzar los 12 días de incubación este alcanza una producción máxima de 0,0022 µg/mL, mientras que R10M1 y S10M3 produjeron 0,0015 y 0,0007 µg/mL, respectivamente.

Aunque existe potencial biosintético para la producción de AIA entre los aislados, las concentraciones obtenidas son bajas en comparación con la literatura donde (Ravinder et al., 2022) encontró que la cepa *Streptomyces puniceus* RHPR9 mostró una producción significativa de AIA de 41µg/mL.

Las fitohormonas como AIA y GA₃ cumplen funciones muy importantes para el desarrollo de las plantas mejorando la

producción de los cultivos, las giberelinas como el GA₃ poseen la capacidad de regular varios aspectos del desarrollo como la promoción de la elongación de los órganos (Alejandro, 2020), además activan la división celular, acumulación de pigmentos, controlan el crecimiento y desarrollo de las semillas (Bonilla, S., et al 2021). Por su parte las Auxinas como el AIA poseen un alto potencial antagónico, donde su alto contenido exógeno ha sido capaz de inhibir el crecimiento de hongos patógenos del maíz como *Harpophora maydis* (Leontovyčová et al., 2020). Este potencial de las fitohormonas anteriormente mencionado es una gran ventaja para los miembros de *Streptomyces*, ya que, gracias a su capacidad de producir estas fitohormonas ha permitido mejorar el rendimiento de cultivos acelerando el crecimiento de las plantas y controlando fitopatógenos (Nazari, M. T., et al 2023).

Sin embargo se debe tener en cuenta que las condiciones para la producción de fitohormonas por parte de *Streptomyces* deben ser lo más óptimas posibles para obtener resultados satisfactorios, ya que es esencial una cepa estable y de alto rendimiento para una producción industrial (Cen et al., 2023).

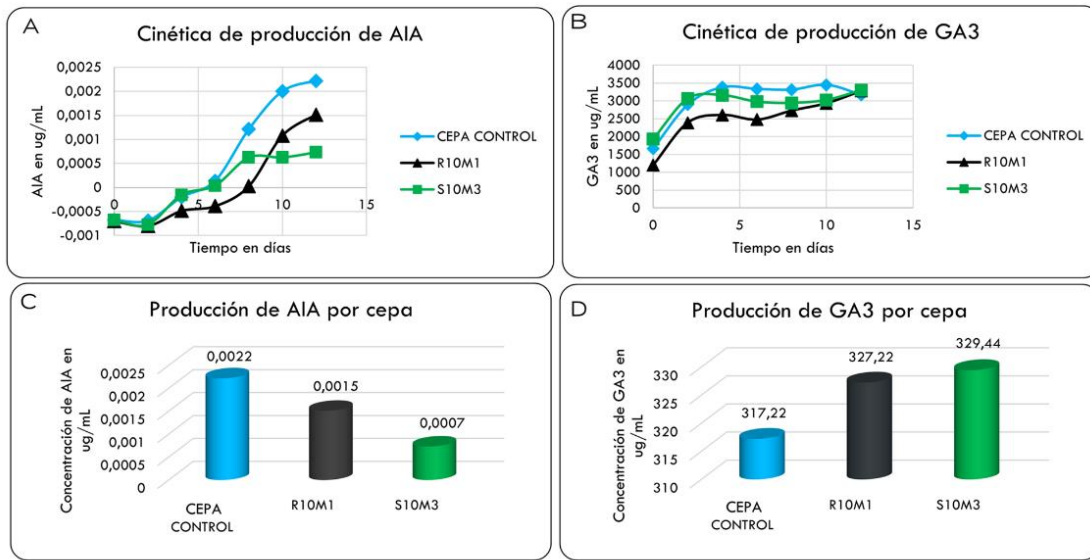
No obstante, según el análisis estadístico en el que se realizó un ANOVA de una sola variable, se obtuvieron varianzas mucho menores para las cepas en las curvas de la producción de AIA ($1,0058 \times 10^{-6}$, $4,2195 \times 10^{-8}$ y $1,703 \times 10^{-6}$ para Cepa control, S10M3 y R10M1, respectivamente) por lo que las diferencias de producción entre cepas no son muy grandes. Por otra parte en comparación a las de GA₃ ($0,61728$ para Cepa control, S10M3 y R10M1).

Se realizó un ANOVA con el fin de obtener un valor de P y un valor F para determinar si existen diferencias significativas entre los morfotipos al producir fitohormonas (figuras 3E y 3F). En la figura 3E, donde se

encuentran los valores de AIA, se puede apreciar que el F experimental es menor que el F crítico, mientras que el valor P es mayor a 0.05, lo que permite identificar que no existen diferencias significativas entre los morfotipos al producir AIA, aceptando la hipótesis nula que nos indica que los resultados presentan una distribución normal y que la producción de AIA es independiente en cada uno de los morfotipos, señalando que son datos confiables (Kim, T. K., 2017).

Por otro lado, en la figura 3F observamos los valores de GA₃, donde se obtiene un F experimental mayor al F crítico, mientras que el valor P es menor a 0.05, identificando que sí hay diferencias significativas entre los morfotipos en la producción de GA₃ rechazando la hipótesis nula e indicando que, al menos una de las medias poblacionales de los tres grupos es diferente (Kim, T. K., 2017) y no presenta una distribución normal, por lo que se realizó una prueba Tukey para determinar cuáles eran las diferencias significativas entre los morfotipos, y encontramos que efectivamente no existe diferencia significativa entre las cepas aisladas, mientras que, al compararlas con la cepa control sí existe diferencia, esto sugiere estar relacionado con el hecho de que, si bien, las tres cepas son de la misma especie, estas difieren en las condiciones ambientales que fueron aisladas, debido a que, los morfotipos S10M3 y R10M1, son aislados de cultivos de piña, mientras que, la cepa control es aislada de un cultivo distinto, lo cual hace que la producción de metabolitos de los aislados difiera con la de la cepa control. Lo anterior, se puede ver reflejado en la figura 3 D, donde hay una menor producción de GA₃ en la cepa control al compararlo con los morfotipos aislados. Además, (Celis & Gallardo, 2008) indican una baja especificidad a la hora de detectar giberelinas con el reactivo de Folling-Wu al interactuar también con las auxinas presentes en el medio, por lo que se recomienda implementar una prueba más

sensible y específica para la detección de GA₃.



Análisis de varianza de un factor AIA

E

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CONTROL	2	0,00443609	0,00221805	1,0058E-06
S10M3	2	0,00146275	0,00073137	4,2195E-08
R10M1	2	0,00301777	0,00150889	1,703E-06

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2,2117E-06	2	1,1059E-06	1,20597601	0,41271569	9,5520945
Dentro de los grupos	2,751E-06	3	9,17E-07			
Total	4,9627E-06	5				

Análisis de varianza de un factor para GA3

F

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
CONTROL	2	634,444444	317,222222	0,61728395
S10M3	2	658,888889	329,444444	0,61728395
R10M1	2	654,444444	327,222222	0,61728395

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	169,547325	2	84,7736626	137,333333	0,00112304	9,552094496
Dentro de los grupos	1,85185185	3	0,61728395			
Total	171,399177	5				

Prueba tukey para GA3

Diferencia poblacional	Diferencia muestral	Decisión
C-S	12,22	significativa
C-R	10	significativa
S-R	2,22	no significativa

Figura 3. A y B: Producción de fitohormonas en el tiempo de S10M3, R10M1 y Cepa control; C y D: Producción máxima de fitohormonas de S10M3, R10M1 y Cepa control. E y F: Análisis de varianza de S10M3, R10M1 y Cepa control.

BIBLIOGRAFÍA

- PATÍÑO PARRA, D. V. (2021). Efecto de metabolitos secundarios producidos por actinobacterias spp. en el crecimiento de diferentes líneas celulares de cáncer y búsqueda de clústeres biosintéticos actinobacterianos con efecto antitumoral (Bachelor's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).
- BETANCUR A., PALENCIA A. (2018). Estrategias para la competitividad de la piña tipo exportación en Colombia. 1-59.
- CONDORI, P. S. J., FERNÁNDEZ. G. P. R., Y VALDERRAMA. V. M. R. (2019). Aislamiento y caracterización de *Streptomyces* spp. rizosféricos promotores del crecimiento vegetal. *Idesia (Arica)*, 37(2), 109-116.
- PATRICIO, A., GORDILLO, B., PATRICIO, E., & MGS, V. P. (2020). Estudio comparativo de abonos orgánicos y fertilización química para la producción de hijuelos en vivero de piña en Santo Domingo de los Tsáchilas.
- CHUQUILLANQUI RUIZ, J. (2018). Fertilizantes en el cultivo de piña (*Ananás comosus* L Merr. Var. *Comosus*) CV. Golden en Satipo. 3-16.
- LEMUS, A. J. A., (2019). Multiplicación de *Streptomyces* sp. con propósitos de biocompostaje de subproductos de caña de azúcar.
- BETANCUR A., PALENCIA A. (2018). Estrategias para la competitividad de la piña tipo exportación en Colombia. 1-59.
- MARTÍNEZ LACHARME, L. (2019). Cambios físicos, químicos y biológicos en dos épocas climáticas contrastantes en el golfo de Urabá, Caribe colombiano.
- FAGUA NIÑO, L., & PEDRAZA LANCHEROS, L. (2019). Unidad procesadora y satélites de acopio de piña y yuca en el Urabá Antioqueño. 1-79.
- MUNGUÍA, R., AARÓN, G., & MARTÍNEZ TRUJILLO, M. (2018). Las auxinas: síntesis, transporte y señalización. *DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 20(1), 1-7.
- ZHI, Y., WU, Q., DU, H., & XU, Y. (2016). Biocontrol of geosmin-producing *Streptomyces* spp. by two *Bacillus* strains from Chinese liquor. *International Journal of Food Microbiology*, 231, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.021>
- JONES, S., & ELLIOT, M. (2018). 'Exploring' the regulation of *Streptomyces* growth and development. *Current Opinion in Microbiology*. Volume 42, Pages 25-30.
- LI, Q., CHEN, X., JIANG, Y., & JIANG, C. (2016). Morphological Identification of Actinobacteria. *Basics and Biotechnological Applications*. doi: 10.5772/61461.
- COTO BRENES, S. (2021). Evaluación del impacto del manejo de fertilización convencional y orgánico del cultivo de piña (*Ananás comosus*) sobre la generación de GEI, en ultisoles de la zona de Sarapiquí, Heredia, Costa Rica.
- LÓPEZ, F. R., ÁLVAREZ, A. A., LEÓN, R. D. A., TAYLOR, O. V. M., GUIRAL, G. D., RÍOS, C. S., LORANZ, E., PAVAS, L. K., & VERGARA, A. S.

(2020). La investigación con *Streptomyces* spp. como herramienta para el estudio de los microorganismos del suelo. Centro de investigaciones Facultad de Ciencias de la Salud. Primera edición, Volumen 1. Editorial Zapata-Manizales. ISBN: 978-958-8859-62-0.

CELIS B. L. X., & GALLARDO I. R. (2008) Estandarización de métodos de detección para promotores de crecimiento vegetal (Ácido indol acético y giberelinas) en cultivos microbianos.

RIVAS, E. J. G. (2021). Riesgos de eutrofización y sus implicaciones en lagos y embalses. Acta Biologica Venezuelica, 41(1), 17-25.

BELTRÁN PINEDA, M. E., & BERNAL-FIGUEROA, A. A. (2022). Biofertilizantes: alternativa biotecnológica para los agroecosistemas. Revista Mutis, 12(1).

GARCÍA PORTALES, J. M. (2021). Caracterización de actinobacterias de zonas áridas y su efecto promotor de crecimiento en *Arabidopsis thaliana* y *Zea mays*. REPOSITORIO NACIONAL CONACYT.

MARCO F., DÖRTE F., CAROLIN N., R. GARY S. (2018). Cytochrome bd Oxidase Has an Important Role in Sustaining Growth and Development of *Streptomyces coelicolor* A3(2) under Oxygen-Limiting Conditions. Journal of Bacteriology. 200-16

BASKARAN, B. & MUTHUKUMARASAMY, A. (2017). Isolation, characterisation and enzymatic activity of *Streptomyces* sp. and its pH control during fermentation process. Journals IET Systems Biology. Volume 1, Pág 1-5.

BROCKER, M., SCHAFFER, S., MACK, C., & BOTT, M. (2009). Citrate

utilization by *Corynebacterium glutamicum* is controlled by the CitAB two-component system through positive regulation of the citrate transport genes citH and tctCBA. Journal of bacteriology, 191(12), 3869-3880.

LENSBOUER, J. J., PATEL, A., SIRIANNI, J. P., & DOYLE, R. P. (2008). Functional characterization and metal ion specificity of the metal-citrate complex transporter from *Streptomyces coelicolor*. Journal of bacteriology, 190(16), 5616-5623.

ARAYA SALAS, A. M., & UMAÑA ARTAVIA, Y. (2022). Aplicación de comunidades simbióticas en procesos fermentativos en una bebida que permita generar aportes nutricionales, aprovechando subproductos, a base de los residuos de piña (*Ananás comosus*).

CHUQUILLANQUI RUIZ, J. D. (2018). Fertilización en el cultivo de piña (*Ananas comosus* L.) Merr. Var. *Comosus*) CV. Golden en Satipo.

JAIR, C. Q. K. (2021). Efectos de la aplicación de tres fitohormonas en el cultivo del maracuyá (*Passiflora edulis*) en la parroquia rosa zarate (doctoral dissertation, universidad agraria del ecuador).

HERRERA MENDEZ, N. F. (2022). Micorrizas arbusculares en *Lycopersicon esculentum* (Tomate Santa Clara): el bioensayo como una estrategia para la elaboración de un material didáctico que reconozca el uso de los biofertilizantes.

CHANQUEO, L., & MORALES P. (2019). *Actinomyces radingae*. Revista chilena de infectología. vol.36 no.3.

Información suministrada el día 8 de octubre del 2021 por Nicole Sierra, ingeniero de la empresa Agrícola Uberaba. (Sierra, 2021)

- LÓPEZ R., & LEMUS J. A. (2018). Multiplicación de *Streptomyces sp.* con propósitos de biocompostaje de subproductos de caña de azúcar.
- LAW, J. W., CHAN, K. G., HE, Y. W., KHAN, T. M., AB MUTALIB, N. S., GOH, B. H., & LEE, L. H. (2019). Diversity of *Streptomyces spp.* from mangrove forest of Sarawak (Malaysia) and screening of their antioxidant and cytotoxic activities. *Scientific reports*, 9(1), 15262. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51622-x>
- ZEROUKI, C., BENSALAH, F., KUITTINEN, S., PAPPINEN, A., & TURUNEN, O. (2021). Whole-genome sequencing of two *Streptomyces* strains isolated from the sand dunes of Sahara. *BMC genomics*, 22(1), 578. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07866-x>
- TENEBRO, C. P., TRONO, D., VICERA, C., SABIDO, E. M., YSULAT, J. A., JR, MACASPAC, A., TAMPUS, K. A., FABRIGAR, T., SALUDES, J. P., & DALISAY, D. S. (2021). Multiple strain analysis of *Streptomyces* species from Philippine marine sediments reveals intraspecies heterogeneity in antibiotic activities. *Scientific reports*, 11(1), 17544. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96886-4>
- COBO, F., PÉREZ-CARRASCO, V., MARTÍN-HITA, L., GARCÍA-SALCEDO, J. A., & NAVARRO-MARÍ, J. M. (2023). Comparative evaluation of MALDI-TOF MS and 16S rRNA gene sequencing for the identification of clinically relevant anaerobic bacteria. Critical evaluation of discrepant results. *Anaerobe*, 82, 102-754. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2023.102754>
- CORTÉS LOZANO, A. X. (2011). Selección de cepas nativas de bacterias diazotróficas simbióticas asociadas a la leguminosa *Clitoria ternatea* en el César y la Guajira.
- OYEDOH, O. P., YANG, W., DHANASEKARAN, D., SANTOYO, G., GLICK, B. R., & BABALOLA, O. O. (2023). Rare rhizo-Actinomycetes: A new source of agroactive metabolites. *Biotechnology Advances*, 108205.
- CONDORI TITTO, X. (2020). Identificación y clasificación de microorganismos eficientes del suelo, en la estación experimental Patacamaya (Doctoral dissertation).
- ROJAS PRIETO, N. L. (2020). Evaluación de dos residuos pecuarios en la elaboración de un biofertilizante empleando fermentación anaerobia (Master's thesis, Escuela de Ingenierías).
- MONROY GUERRERO, M. (2021). Identificación molecular de actinomicetos y su evaluación como microorganismos promotores del crecimiento vegetal.
- BERCKX, F., BANDONG, C. M., WIBBERG, D., KALINOWSKI, J., WILLEMSE, J., BRACHMANN, A., & PAWLOWSKI, K. (2022). *Streptomyces coriariae* sp. nov., a novel streptomycete isolated from actinorhizal nodules of *Coriaria intermedia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(12), 005603.
- SUGA, H., ARAI, M., FUKASAWA, E., MOTOHASHI, K., NAKAGAWA, H., TATEISHI, H., ... & HYAKUMACHI, M. (2019). Genetic differentiation associated with fumonisin and gibberellin production in Japanese *Fusarium fujikuroi*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(1), e02414-18.

NAZARI, M. T., SCHOMMER, V. A., BRAUN, J. C. A., DOS SANTOS, L. F., LOPES, S. T., SIMON, V., MACHADO B. S., FERRARI V., COLLA L. M., & PICCIN, J. S. (2023). Using *Streptomyces* spp. as plant growth promoters and biocontrol agents. *Rhizosphere*, 100741.

SRIPREECHASAK, P., TAMURA, T., SHIBATA, C., SUWANBORIRUX, K., & TANASUPAWAT, S. (2016). *Streptomyces andamanensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(5), 2030-2034.

CANTERO GARCÍA, I. (2018). Aislamiento y selección de actinobacterias promotoras del crecimiento vegetal: efecto biofertilizante. Universidad de Almería. 1-50.

TIJERO ESTEVE, V. (2019). Regulación hormonal del crecimiento, maduración y sobremaduración en un modelo de fruto no climatérico: *Prunus avium* L var. *Pime Giant*.

LEONTOVYČOVÁ, H., TRDÁ, L., DOBREV, P. I., ŠAŠEK, V., GAY, E., BALESSENT, M. H., & BURKETOVA, L. (2020). Auxin biosynthesis in the phytopathogenic fungus *Leptosphaeria maculans* is associated with enhanced transcription of indole-3-pyruvate decarboxylase LmIPDC2 and tryptophan aminotransferase LmTAM1. *Research in microbiology*, 171(5-6), 174-184.

GAO, J. L., WANG, L. W., XUE, J., TONG, S., PENG, G., SUN, Y. C., ZHANG X., & SUN, J. G. (2020). *Rhizobium rhizophilum* sp. nov., an indole acetic acid-producing bacterium isolated from rape (*Brassica napus* L.) rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(9), 5019-5025.

IMADA, E. L., DE PAIVA ROLLA DOS SANTOS, A. A., DE OLIVEIRA, A. L. M., HUNGRIA, M., & RODRIGUES, E. P. (2017). Indole-3-acetic acid production via the indole-3-pyruvate pathway by plant growth promoter rhizobium tropici CIAT 899 is strongly inhibited by ammonium. *Research in Microbiology*, 168(3), 283-292.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.10.010>

BESSAI, S. A., BENSIDHOUM, L., & NABTI, E. (2022). Optimization of IAA production by telluric bacteria isolated from northern Algeria. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 41, 102319.
<https://doi.org/10.1016/j.cbab.2022.102319>

RAVINDER, P., MANASA, M., ROOPA, D., BUKHARI, N. A., HATAMLEH, A. A., KHAN, M., REDDY, M. S., HAMEEDA, B., ENSHASY, H. A. E., HANAPI, S. Z., & SAYYED, R. Z. (2022). Biosurfactant producing multifarious *Streptomyces puniceus* RHPR9 of *Coscinium fenestratum* rhizosphere promotes plant growth in chilli. *PLOS ONE*, 17(3), e0264975.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264975>

CEN, Y., LI, M., WANG, Q., ZHANG, J., YUAN, J., WANG, Y., LIU, Z., & ZHENG, Y. (2023). Evolutionary engineering of *Fusarium Fujikuroi* for enhanced production of gibberellic acid. *Process Biochemistry*, 125, 7-14.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.12.009>

SANFELIU REDONDO, D. (2017). Estudio de la degradación de complejos respiratorios en el proceso de mitofagia en respuesta al estrés. Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València.

ALEJANDRO, G. C. M. (2020). Evaluación de la eficiencia de giberelinas en la producción de fréjol arbustivo (*Phaseolus vulgaris L.*) Var. Iniap 430 Portilla, en la granja experimental “La Pradera”.
<http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/10291>

BONILLA, S., REYES, J. P., MARTÍNEZ, G., EXTOCAPAN, J., ARMENTA, J. A., & JUÁREZ, L. F. (2021). Evaluación de fitohormonas y peróxido de hidrógeno en el cultivo de maíz (*Zea mays L.*).

KIM, Y., ROE, J. H., PARK, J. H., CHO, Y. J., & LEE, K. L. (2021). Regulation of iron homeostasis by

peroxide-sensitive CatR, a Fur-family regulator in *Streptomyces coelicolor*. *Journal of Microbiology*, 59(12), 1083-1091.

ALVARADO CHÁVEZ, J. G. (2021). Respuesta del cultivo de rábano (*Raphanus sativus l*) a la aplicación de fitohormonas y fertilización química-orgánica, cantón Zamborondón, provincia del Guayas. (*Bachelor 's thesis*, Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil).

KIM, T. K. (2017). Understanding one-way ANOVA using conceptual figures. *Korean journal of anesthesiology*, 70(1), 22-26.