

1-1-2017

Efecto de la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en maracuyá y badea cultivadas en condiciones de estrés hídrico

Angie Natalia Murcia Linares

Sebastian Felipe Cruz Bustos

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia>

Citación recomendada

Murcia Linares, A. N., & Cruz Bustos, S. F. (2017). Efecto de la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en maracuyá y badea cultivadas en condiciones de estrés hídrico. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/14>

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Departamento de Ciencias Básicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Biología by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Efecto de la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en Maracuyá
y Badea cultivadas en condiciones de estrés hídrico.

ANGIE NATALIA MURCIA LINARES

SEBASTIAN FELIPE CRUZ BUSTOS

TRABAJO DE GRADO

Presentado como requisito parcial para optar al título de
BIÓLOGO

TUTOR

Lucia Cristina Lozano Ardila PhD

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

PROGRAMA DE BIOLOGÍA

BOGOTÁ D.C.

MAYO, 2017

RESUMEN

La agricultura ha permitido el desarrollo de la población mundial en diferentes ámbitos, sin embargo, en la región colombiana de la Orinoquia, esto no ha sido posible por las condiciones ambientales y topográficas que presentan estos territorios, que a pesar de su gran extensión tiene serios problemas por sus extremos regímenes de lluvias los cuales abundan en la primera mitad del año y escasean en la segunda, lo que ha limitado seriamente su capacidad productiva a nivel agrícola. En vista de estos problemas se busca generar alternativas de nuevos cultivos, que impliquen poca extensión de tierra e inversión, para ello se ha pensado en siembras de plantas frutales que no requieran grandes infraestructuras para su desarrollo, como el maracuyá, las cuales tienen un gran potencial de exportación. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) influyen tanto en el crecimiento como en el rendimiento de las plantas. En este estudio, siete cepas aisladas de suelo rizosférico de la región de la Orinoquia fueron evaluadas respecto a su capacidad de producir ácido indolacético (AIA), promover la germinación de semillas de Maracuyá y Badea y el crecimiento ante situaciones de estrés hídrico en semillas y plántulas de Maracuyá. Todas las cepas produjeron AIA, las cepas no causaron un aumento en la germinación de semillas pero si en la longitud de plántulas de maracuyá; de estas se escogieron las cepas Y16 y P8 como las de mayor producción de AIA (8,222 $\mu\text{g/mL}$ y 7,917 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente) y con estas se realizaron las pruebas de invernadero con y sin estrés hídrico en donde la cepa Y16 promovió el aumento de raíces secundarias y la biomasa de la planta en los tratamientos de sequía progresiva y sin estrés hídrico, mientras que P8 aumento la longitud tallo- raíz (T-R) en ambos tratamientos. Las pruebas de antagonismo *in vitro* frente a *Fusarium oxysporum* arrojaron resultados negativos. Finalmente se concluyó que ambos microorganismos producen AIA, generan cambios fisiológicos en la planta tales como aumento de número de raíces secundarias, aumento de biomasa y longitud de tallo y raíz, y posiblemente brinden tolerancia en respuesta a una situación de déficit hídrico.

ABSTRACT

Agriculture has allowed world population development in different ways. However, in Colombian eastern plains region it has not been possible due to the environmental and topographic conditions in this territory. In spite of its big extension it has problems due to the extreme rainfall regimes which are abundant in first half of the year but they are scant in the second half. This rainfall regime, has limited the agricultural productive capacity. Because these problems, it is necessary to find alternatives for new crops which imply a few extensions of land and a few investments. For this purpose, fruit plants that do not require large infrastructures for their development are good alternative for crops; for example, passionfruit which has a great export potential. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) influence both the growth and yield of plants. In this study, seven bacterial isolates from Casanare soils were evaluated for their ability to produce indoleacetic acid (AIA) and promote the germination of passionfruit and giant passionfruit seeds. Also, the strains were tested for its influence in growth of passionfruit seedlings in situations of hydric stress. All the strains produced AIA, and they did not cause an increase in the seeds germination, but they caused an increase in the length of passionfruit seedlings. Of these strains, Y16 and P8 were chosen for greenhouse experiment, because their higher AIA production (8.222 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 7.917 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively). In greenhouse experiments carried out with and without hydric stress, Y16 strain promoted the growth of secondary roots and the plant biomass, whereas P8 increased the stem length - root (TR) in both treatments. In vitro antagonism tests against *Fusarium oxysporum* tests showed negative results. Finally, it was concluded that both microorganisms produced AIA, generate physiological changes on the plants as the increase of the secondary roots plant biomass, stem and root length and possibly they may provide tolerance in response to a water deficit situation.

INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista histórico, la agricultura ha jugado un papel muy importante en el proceso de desarrollo económico de las naciones. Tanto en los países desarrollados como en muchas de las economías emergentes se ha visto cómo la agricultura ha sido el motor del crecimiento de los demás sectores y, en general, de los países (1). En este sentido, el Banco Mundial destaca que la agricultura contribuye al desarrollo general de las naciones de tres formas: como actividad económica, como medio de subsistencia y como proveedor de servicios ambientales (2). En Colombia, la producción agrícola se ha visto limitada a regiones en las cuales la calidad de los suelos ha sido más apta para esta clase de actividad, dejando a un lado regiones que por sus condiciones climáticas y ambientales no han tenido esta suerte, y por ende el desarrollo social y económico de estas se está viendo estancado (3).

Tal es el caso de la Orinoquia, región colombiana en la que los suelos presentan características comunes que afectan seriamente su capacidad de uso. Por ejemplo, el nivel de fertilidad es muy bajo como lo demuestra la pobreza en materia orgánica y en nutrientes para las plantas, así como acidez marcada, la presencia de aluminio en cantidades tóxicas y la carencia parcial de minerales que son requeridos por la vegetación (4). Dentro de las plantas que han logrado adaptarse a las condiciones de esta región encontramos el pasto *Brachiaria* (*Brachiaria decumbens*), que es muy usado en la ganadería extensiva; y en algunas áreas se ha empezado a practicar una agricultura a menor escala con ayuda de fertilizantes, encalado, riego, drenaje, utilización de la energía solar e infraestructura de toda clase, las plantas que mejor han tolerado estas condiciones son: arroz, tabaco rubio, maní, cítricos, nueces y cauchos (4).

A pesar de los grandes esfuerzos que hacen los agricultores de la región para sacar provecho de sus tierras, solo aquellos que tienen una gran capacidad económica logran implementar estas estrategias, lo que no favorece a pequeños productores que buscan sobrevivir y hacer de sus terrenos una forma de tener éxito económico; para lograr esto se debe pensar en implementar siembras que tengan potencial de comercialización en el mercado nacional o exportación y que no necesiten grandes inversiones en

infraestructura.

En otras regiones del país las siembras de plantas frutales han tenido mucho éxito, tal es el caso de la familia de Passifloraceae, Colombia es el país con mayor riqueza de especies de esta familia, particularmente del género *Passiflora* de la cual hay 42 especies productoras de fruto en el país y nueve de ellas son comercializadas debido a su alto nivel nutricional (5), entre estas se encuentra *Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener (Maracuyá) y *Passiflora quadrangularis* (Badea). Los cultivos de estas dos especies se han desarrollado en gran parte del territorio colombiano destacando la región Andina con casi el 81 % de la producción (6), dado esto, las pasifloras podrían llegar a ser una alternativa para brindar nuevas oportunidades a los agricultores de la Orinoquia ya que el rango altitudinal que presenta esta región se encuentra entre el óptimo para el crecimiento de este tipo de planta las cuales lo hacen entre 0 a 1300 msnm y una temperatura entre 24 y 28 °C (7).

El cultivo de pasifloras ha presentado una muy buena adaptación a los suelos de nuestro país y se ha convertido en una muy buena posibilidad de exportación y de ingresos para los agricultores; sin embargo, en los últimos años se ha visto una disminución en la producción de tan importantes productos alimenticios, esto ha sido originado principalmente por problemas fitosanitarios provocados por diferentes hongos patógenos, especialmente por *Fusarium oxysporum* (8).

F. oxysporum es un hongo cosmopolita que existe en muchas formas que son patógenas para cultivos agrícolas, se caracteriza por producir colonias de alto crecimiento y esporas que sobreviven en el suelo. Gracias a estas y a algunas otras características de su reproducción y fisiología ha podido vencer las defensas y parasitar a más de 100 especies de plantas (9). En el caso de la familia Passifloraceae este hongo patógeno es causante de una enfermedad conocida como “secadera”, ocasionando en la planta clorosis foliar leve, seguida de marchitamiento generalizado, necrosis foliar, secamiento total, posterior defoliación y pudrición a nivel radicular. Se tiene conocimiento de que esta enfermedad en particular ha causado la pérdida del 30% de la producción de cultivos de la familia Passifloraceae anual del país (8).

Como se ha mencionado anteriormente el principal problema que presenta la región de la Orinoquia se encuentra en el bajo nivel nutricional de los suelos, tradicionalmente este problema se mitiga por medio de fertilizantes que son poco compatibles con el ambiente y tienden a generar contaminación tanto en suelo como en cuerpos de agua (10); no siendo suficiente, la región posee unos regímenes hidrológicos caracterizados por seis meses de lluvias y seis meses de intensa sequía (11), siendo esta, otra razón por la cual se dificulta la manutención de cualquier cultivo en esta región, dado que la mayoría de estos necesita un riego continuo para su desarrollo óptimo, por lo tanto se busca que esta nueva estrategia de cultivos frutales rompa con las tradiciones y encuentre una forma de adaptarse a las situaciones adversas brindadas por el territorio de los llanos con la ayuda de microorganismos, también conocidos como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) que han tenido éxito en gran variedad de plantas en diferentes condiciones de estrés (12).

Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. La rizosfera es un volumen de tierra que se encuentra bajo la influencia de exudados químicos de la raíz de la planta, estos atraen y permiten la relación mutualista entre diferentes tipos de rizobacterias y las plantas, esta interacción es esencial en los procesos de producción de cultivos para la movilización de nutrientes y su posterior absorción (13). Las rizobacterias que tienen un efecto benéfico en la planta son usualmente referidas como promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por su sigla en inglés) y muchas de estas han sido usadas como inoculantes para mejorar la producción y el rendimiento de cultivos agrícolas (14).

Las PGPR pueden actuar sobre la planta por mecanismos directos o indirectos: los mecanismos indirectos se caracterizan porque las PGPR causan una eliminación o disminución de microorganismos patógenos, uno de los métodos es por medio de la activación de mecanismos conocidos como resistencia sistémica inducida (RSI) la cual genera respuestas ante situaciones de estrés común tanto bióticas como abióticas. Los mecanismos directos le permiten a la planta incrementar la capacidad de absorción de nutrientes disponibles en la rizosfera (13). Dos de los mecanismos directos más importantes de estas rizobacterias son la producción de la enzima ácido 1-

aminociclopropano-1-carboxílico o ACC desaminasa que se encarga de controlar los niveles de etileno en la planta (15), el cual en altas concentraciones induce cambios en las características de la planta y la lleva a la muerte (14). El segundo mecanismo directo es la síntesis de Ácido indol acético (IAA) que ayuda en la producción de raíces más largas con mayor número de pelos radiculares y laterales que están implicados en la absorción de nutrientes de la planta (16).

La ausencia de agua, como el estrés osmótico afectan el correcto desarrollo de la planta, esto se ve disminuido al estar en contacto con bacterias PGPR en el suelo ya que estas poseen una tolerancia al estrés osmótico, algunas poseen capacidad endofítica y en algunos casos proporcionan cambios morfo fisiológicos tales como acumulación de osmolitos, regulación estomática y disminución del potencial de membrana, todo esto contribuyendo a una mitigación del estrés hídrico (17), tal es el caso de estudios realizados con maíz en donde las plantas inoculadas con este tipo de microorganismos mostraron un aumento en su longitud de tallo y raíz, aumento de la tasa fotosintética y disminución en la actividad estomática lo que reduce la tasa de transpiración en las plantas (18).

El presente trabajo planteó la preselección y evaluación de bacterias con potencial como promotoras del crecimiento vegetal en semillas y plantulas de maracuyá y badea para la producción de AIA, la incidencia sobre la germinación, el efecto ante un estrés hídrico y un antagonismo frente a *Fusarium oxysporum*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Seleccionar bacterias con potencial como promotoras de crecimiento vegetal y evaluar su efecto en el crecimiento de Maracuyá y Badea en condiciones de estrés hídrico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Seleccionar bacterias aisladas de los suelos de Yopal Casanare, como promotoras de

crecimiento vegetal en Maracuyá y Badea.

Comparar la influencia de las bacterias con potencial PGPR en el crecimiento vegetal de Maracuyá cultivado en condiciones de estrés hídrico.

Evaluar el efecto antagónico de las bacterias seleccionadas frente a *Fusarium oxysporum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

- 1. Aislamientos:** Las cepas del presente estudio pertenecen a una colección de bacterias aisladas de suelos de cultivos de café, yuca y palma de la sede Utopía de la Universidad de La Salle ubicada en Yopal, Casanare. Dichas cepas fueron seleccionadas por tener diferentes características de bacterias PGPR (Tabla 1), según evaluaciones realizadas anteriormente (Lucía Lozano, comunicación personal).

Tabla 1. Características evaluadas previamente de las cepas

Aislamiento	Crecimiento de 4 pases en MLN	Solubilización de fosfato	Actividad celulolítica
C11	+	+	+
C17	+	+	-
C25	+	-	+
P4	+	+	+
P8	+	+	ND
Y16	+	-	-
Y26	+	-	-

ND: No determinado. MLN: Medio libre de nitrógeno.

- 2. Cuantificación de la producción de AIA.** Se realizó la técnica colorimétrica utilizando el reactivo de Salkowski (19). Los siete aislamientos se inocularon en caldo nutritivo con adición de triptona y se incubaron a 27 °C durante 72 horas.

Una vez transcurrido este tiempo se centrifugó 1 mL a 5000 rpm durante 5 minutos, al sobrenadante se le adicionó 2 mL de reactivo de Salkowski (1,2% FeCl_3 , H_2SO_4 7,9M), se mezcló en vortex hasta visualizar una homogeneidad y se incubó a temperatura ambiente y total oscuridad durante 30 minutos. La densidad óptica se registró a 530 nm para cada una de las muestras de cada cepa, las cuales se realizaron por triplicado (16).

2.1 Curva de calibración. La curva de calibración se realizó por medio de cinco concentraciones conocidas de AIA (1, 2, 4, 10 y 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) con las cuales se siguió el procedimiento descrito anteriormente para las cepas y adicional se realizó una regresión lineal para determinar la significancia de los valores obtenidos y con esto calcular la concentración de AIA de los cultivos.

3. Pruebas de germinación en semillas de Maracuyá y Badea. Partiendo de las cepas inoculadas en agar nutritivo e incubadas por 48 horas, se realizaron suspensiones en agua destilada estéril por cada cepa; dicha suspensión se llevó a una absorbancia de 0.1 a 600 nm; este procedimiento se realizó por triplicado para cada cepa.

Se colocaron con pinzas estériles 10 semillas comerciales de maracuyá y 10 de badea por separado en cajas de Petri estériles con papel absorbente de cocina estéril, se adicionaron 4 mL de agua destilada estéril y 1 mL del inóculo descrito anteriormente. Todas las cajas se colocaron en una cámara húmeda a total oscuridad durante 15 días, al finalizar este proceso se evaluó el porcentaje total de germinación y la longitud de tallo y raíz (T_R) de las plántulas.

4. Selección de cepas. A partir de los resultados obtenidos en las dos pruebas mencionadas anteriormente se seleccionaron las dos cepas con los valores más altos en la cuantificación de AIA, porcentaje de germinación de las semillas y longitud (T-R) de las plántulas para ser las utilizadas en las pruebas de promoción del crecimiento ante estrés hídrico en condiciones de invernadero.

5. Pruebas de estrés hídrico en invernadero. Se manejó un tratamiento de sequía progresiva y otro tratamiento control sin estrés hídrico con un riego día de por medio el cual constó de 25 ml de agua para cada alveolo, durante 4 semanas con un intervalo de fotoperiodo 12 h luz – 12 h oscuridad; cada tratamiento constó de tres réplicas en donde cada una de éstas estaba constituida por un semillero de 8 alveolos cada uno, a los cuales se les agregó 65 g de tierra orgánica estéril autoclavada dos veces a 121 °C. Se colocó una plántula de maracuyá con 8 días de germinada e inoculada como en el mismo procedimiento descrito para la prueba de germinación de semillas a 3 cm de profundidad en cada alveolo para una cobertura total y se adicionaron 50 mL de agua para cubrir la capacidad de campo en cada uno de estos.

Cada uno de estos tratamientos fueron realizados para las dos cepas seleccionadas teniendo en total seis tratamientos: Control sequía progresiva, control sin estrés, sequía progresiva para ambas cepas y sin estrés también para ambas cepas.

Se realizó un seguimiento durante un mes, evaluando al final: longitud de tallo y raíz, peso seco, peso fresco, contenido relativo de agua, número de raíces secundarias.

6. Pruebas de antagonismo *in vitro* frente a *Fusarium oxysporum*. Se realizó un enfrentamiento dual en medio PDA sembrando las cepas antagonistas (Y16 y P8) las cuales ocuparon 2 cm del borde al centro de la caja de Petri, se dejó incubando durante 48 h a 25 °C; una vez transcurrido este periodo de tiempo se sembró a 3 cm del borde al centro de la caja de Petri, un disco de agar de la cepa de *F. oxysporum* brindado por la Universidad Antonio Nariño. A parte se sembró otro disco de agar con el hongo sin presencia de bacteria para verificar el crecimiento del hongo. Tanto el control como la siembra de las dos bacterias se realizó por triplicado, para obtener el porcentaje de inhibición.

7. Análisis. Las variables continuas (concentraciones de AIA, longitud tallo-raíz (T-R), número de raíces secundarias, peso seco y contenido relativo de agua (CRA)) fueron sometidas a un análisis estadístico de varianza (ANOVA MULTIFACTORIAL), y se hicieron comparaciones en los parámetros de crecimiento de las plantas por medio de la prueba de Duncan para poder determinar si existía una diferencia entre las medias de los tratamientos para cada una de las variables evaluadas; los tratamientos fueron evaluados en principio por separado y después en conjunto para compararlos. Todas las hipótesis se probaron con un grado de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de ácido indolacético (AIA).

Uno de los parámetros para medir los posibles efectos beneficiosos de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal es la producción de la auxina ácido indolacético (AIA). En el presente trabajo se evaluó la producción de AIA por medio de método colorimétrico con el reactivo de Salkowski (Tabla 2). Las bacterias se cultivaron en medio con triptona, el cual posee un alto contenido de triptófano, que es un precursor de este metabolito (20).

Tabla 2: Producción promedio de AIA por cada cepa evaluada.

Cepa	AIA promedio ($\mu\text{g/mL}$)
Y16	8.222 ^a
P8	7.917 ^b
P4	7.847 ^b
C11	4.931 ^c
C17	3.444 ^d
Y26	1.792 ^e
C25	1.458 ^f

Significancia < 0.05. Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas acorde al test de rango múltiple de Duncan.

Los resultados encontrados por medio de la prueba de medias de Duncan (Tabla 2, nos muestran que existen diferencias significativas en la producción de AIA en todas las cepas aisladas, a pesar de ser nativas de la misma región del país (Yopal – Casanare). Entre las cepas que mayor producción de la auxina presentaron se encuentran la P8 (*Pseudomonas sp.*) con 8,22 µg/mL y Y16 (*Bacillus sp.*) con 7,92 µg/mL (Tabla 2), lo anterior concuerda con los resultados encontrados por Hernández y colaboradores en (21) quienes caracterizaron la producción de AIA en bacterias asociadas al maíz y hallaron rangos de producción entre los 5 y 20 µg/mL, ellos concluyen que los reguladores del crecimiento vegetal actúan en pequeñas concentraciones sobre el crecimiento de la planta, por lo cual la producción de AIA fue el ítem más importante a tener en cuenta para la selección de las cepas usadas en los bioensayos finales de este trabajo.

Pruebas de germinación y crecimiento.

En la mayoría de los resultados obtenidos en otros trabajos las bacterias promotoras del crecimiento vegetal presentan efectos positivos sobre la germinación de las semillas, tal es el caso del trabajo realizado por Santillana y colaboradores (22) quienes probaron 19 cepas de *Rhizobium* en la germinación y en el crecimiento de plantas de *Lycopersicon esculentum* (tomate) en donde sus resultados arrojaron que el 47% de sus cepas presentaron un efecto estimulante sobre la germinación de las semillas. Otros resultados positivos para germinación de semillas fueron encontrados por Gomez-Luna y colaboradores (23) quienes evaluaron los efectos de 9 cepas de *Bacillus subtilis* como promotoras de crecimiento vegetal en guayaba en condiciones de invernadero, en este trabajo se encontró que el 100% de las cepas estudiadas estimularon la germinación de las semillas de guayaba con respecto al control. Sin embargo en este trabajo los resultados fueron opuestos a lo encontrado por los autores citados anteriormente, por un lado las semillas de *Passiflora quadrangularis* (Badea) tuvieron un porcentaje de germinación nulo dado que presentaron contaminación por hongos, se hicieron varias repeticiones de este ensayo en donde se les dio diferentes tratamientos a las semillas

antes de ponerlas a germinar: en el primer ensayo no se hizo ningún tratamiento especial, para el segundo ensayo las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial al 5%, en el tercer ensayo las semillas fueron desinfectadas con etanol 96% durante 7 minutos y en el cuarto ensayo y último se combinó los dos tipos de desinfección realizados anteriormente y colocando las semillas en papel filtro pero para todos los ensayos los resultados fueron los mismos en cuanto a la contaminación. Resultados similares a éste fueron encontrados por Gutiérrez y colaboradores (24) quienes probaron diferentes tratamientos pre-germinativos en semillas de 3 especies de la familia Passifloraceae en donde se observó que las semillas de gulupa, granadilla y cholupa tienen una gran capacidad germinativa pero que en algunos de sus ensayos esto se veía afectado por tres razones: la primera presencia de latencia en las semillas, la segunda infección de las semillas con hongos y la tercera deterioro de las semillas durante las pruebas de germinación.

En otro estudio realizado por Torres y colaboradores (25) quienes caracterizaron los microorganismos fúngicos en especies de Arazá, atribuyeron la contaminación por hongos en los ensayos de germinación a la alta humedad que presenta el medio en el que se está desarrollando la semilla y a la misma humedad que las semillas tienen. Esto da a entender que los 4 mL de agua utilizados por caja de Petri en la prueba de germinación de badea son suficientes para generar una alta humedad y con ello tener un medio apropiado para la generación de estos microorganismos fúngicos.

Respecto a las semillas de maracuyá inoculadas con cada una de las cepas se observó que ninguna de estas tiene un porcentaje de germinación mayor al control, por el contrario, algunas de las cepas presentaron inhibición de la germinación y otras un porcentaje igual al control (Figura 1). Según Venner y Martin (26) hay que tener en cuenta que en Colombia no se tienen variedades de semillas genotípicamente homogéneas, lo que puede causar que no exista diferencia en la germinación de las semillas con respecto al control (Figura 1), también se debe tener en cuenta que el porcentaje de germinación reportado por la casa comercial en donde se adquirieron las semillas, garantiza únicamente un 60% de germinación de las semillas, por debajo del 83,3% obtenido para el control negativo en este estudio.

También hay que tener en cuenta que según Castro (27), para una respuesta positiva de la planta a la cepa aplicada, debe existir cierta afinidad entre los componentes generados por ambos organismos, por otro lado se podrían generar interacciones que reducen la germinación, crecimiento o desarrollo de la planta, lo que concuerda con los resultados obtenidos para las pruebas de germinación, en donde se observa que existe algunos tipos de interacciones entre la planta y la cepa que no resultan positivas para el correcto estímulo de la germinación.

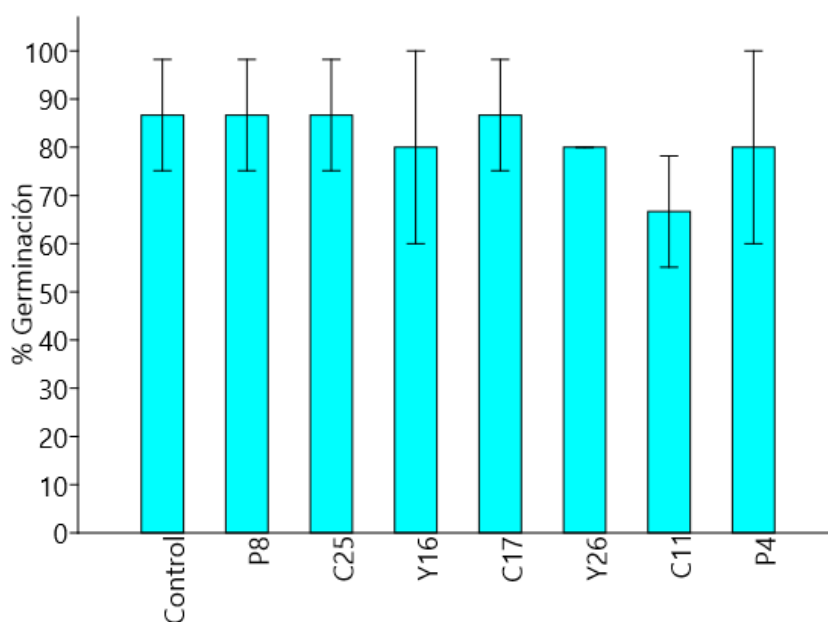


Figura 1: Efecto de la inoculación de las cepas en la germinación de semillas de maracuyá.

Finalizados los 15 días después de la germinación se fotografiaron todas las semillas y se midió la longitud de tallo y raíz principal por medio del programa Image J v. 1.8.0_77, a los resultados se les realizó una comparación de medias por medio de la prueba Duncan (Tabla 3) dando como resultado que todas las cepas produjeron un aumento en el crecimiento representado en la longitud tallo-raíz (T-R) respecto al control lo que muestra un efecto positivo de las cepas sobre las semillas de maracuyá, sin embargo

ninguna de las cepas presentó diferencias significativas entre ellas.

Tabla 3: Efecto de la inoculación de las cepas en la longitud tallo-raíz (T-R).

Agrupación Duncan	Cepa	Longitud promedio T-R (cm)
a	C11	6.395
a	P4	6.31
a	C25	6.267
a	P8	5.829
a	Y16	5.745
a	Y26	5.632
a	C17	5.435
b	Control	4.022

Significancia < 0.05

Selección de cepas.

Teniendo en cuenta que las pruebas de germinación no arrojaron resultados significativos y que las de crecimiento muestran diferencias de las cepas con respecto al control, pero no entre ellas, se decidió tomar como ítem de selección para las pruebas de invernadero, las cepas que presentaron una mejor actividad en la producción de AIA en donde la cepa Y16 (*Bacillus* sp.) y P8 (*Pseudomonas* sp.) presentaron mayor producción de la auxina.

Pruebas de estrés hídrico en invernadero.

Los resultados obtenidos en las pruebas de invernadero sin estrés hídrico (Tabla 4), dejan en evidencia que *Bacillus* sp. (Y16) muestra un aumento significativo con respecto al control en el crecimiento radicular, el peso seco y CRA, lo que se esperaba siendo esta, la que mayor producción de AIA presentó en las pruebas hechas anteriormente, sin embargo, no hay una diferencia significativa en la longitud T-R.

Por otro lado, para *Pseudomonas* sp. (P8) los resultados fueron significativamente mayores con respecto al control en la longitud T-R y CRA. Algo similar fue encontrado

en el estudio hecho por Venner y Martin (26) quienes afirman que una alta concentración de AIA producido por las rizobacterias sumado al AIA producido endógenamente por la planta pueden activar la producción de 1-Acido 1-aminocilopropano 1-carboxílico (ACC), precursor del etileno, el cual puede anular la acción de AIA inhibiendo la elongación celular de la planta, lo que explicaría porque siendo *Pseudomonas* sp. P8 quién menor producción de AIA presentó, mostró mejores resultados en la elongación de la plántula. El peso seco no mostró una diferencia significativa respecto al control en las plántulas tratadas con esta bacteria.

Tabla 4. Efecto de las pruebas de invernadero sin estrés hídrico en plántulas de Maracuyá.

	Longitud (T-R) (cm)		Numero Raíces		Peso Seco (g)		CRA (%)
	Promedio ± DS	Aumento %	Promedio ± DS	Aumento %	Promedio ± DS	Aumento %	
P8	14,76667 ± 1,8 ^{a*}	7,22	5,142857 ± 1,3 ^{ab}	20,36	0,014 ± 0,09 ^{ab}	55,43	95,69 ^a
Y16	13,53182 ± 2,2 ^b	1,55	6,272727 ± 1,4 ^a	46,81	0,017 ± 0,06 ^a	88,82	95,73 ^a
Control	13,37727 ± 1,7 ^b	0	4,272727 ± 0,8 ^b	0	0,009 ± 0,07 ^b	0	93,86 ^b

*Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas acorde al test de rango múltiple de Duncan (p < 0,05).

CRA: Contenido relativo de agua. Aumento: Respecto al control.

Por otro lado, en los resultados para la prueba de sequía progresiva (Tabla 5), *Bacillus* sp. Y16 no presentó diferencias significativas con respecto al control en la longitud T-R; pero se puede observar claramente que las plántulas presentaron un aumento en número de raíces y a pesar de no diferenciarse al control en longitud T-R si lo hizo en biomasa (peso seco), presentando el mismo comportamiento que en la prueba sin estrés, siendo esto una evidencia, de que ante una inoculación previa al sometimiento de una situación de estrés de un microorganismo benéfico a la planta, se activa el estado fisiológico denominado cebado (28), el cual demanda un cambio en el metabolismo de la planta para redirigir las fuentes de carbono hacia el sistema defensivo y con esto contrarrestar el estrés (13); para este caso, *Bacillus* sp. Y16 promovió el aumento de biomasa representado en un mayor número de raíces y así tener la capacidad de absorber en mayor cantidad tanto el agua como los nutrientes disponibles en el suelo, los cuales con el correr del tiempo se fueron reduciendo.

Tabla 5. Efecto de las pruebas de invernadero con estrés hídrico en plántulas de Maracuyá.

	Longitud (T-R) (cm)		Numero Raíces		Peso Seco (g)		CRA (%)
	Promedio ± DS	Aumento %	Promedio ± DS	Aumento %	Promedio ± DS	Aumento %	
P8	14,84286 ± 1,7 ^a	14,64	5,428571 ± 1,6 ^b	0	0,015 ± 0,06 ^b	24,93	92,06 ^b
Y16	13,22083 ± 1,3 ^{ab}	2,11	7,791667 ± 0,9 ^a	35,22	0,021 ± 0,05 ^a	74,94	92,80 ^a
Control	12,94762 ± 1,8 ^b	0	5,761905 ± 1,4 ^b	0	0,012 ± 0,08 ^b	0	91,67 ^c

*Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas acorde al test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$).

CRA: Contenido relativo de agua. Aumento: Respecto al control.

Con respecto a *Pseudomonas* sp. P8 se comportó de la misma forma que en el tratamiento sin estrés hídrico, mostrando diferencias significativas solo en peso fresco y longitud (T-R), en las demás fue igual estadísticamente que el control.

Comparando los tratamientos con y sin estrés hídrico (Tabla 6), encontramos que los controles no son estadísticamente diferentes respecto a la longitud (T-R) y peso seco. Este resultado conduce a lo planteado por Gaudio y colaboradores (29) en donde se concluye que las plántulas de maracuyá sometidas a condiciones de sequía son igual o más estables y eficientes que las que están a condiciones normales de agua; estos resultados incitan a pensar que las plantas de maracuyá pueden ser tolerantes a un déficit hídrico lo cual indica que esta planta puede ser una buena alternativa para los llanos orientales.

En cuanto a longitud (T-R) las plántulas con presencia de *Pseudomonas* sp. P8 en ambos tratamientos mostraron diferencias significativas respecto a los demás, obteniendo las plántulas con la mayor longitud; los individuos tratados con *Bacillus* sp. Y16 mostraron diferencias entre tratamientos en esta medida, siendo mayores los que no se vieron sometidos a situación de estrés.

Teniendo en cuenta que la longitud de tallo y raíz se encuentra relacionada con el peso seco de la planta (30), se esperaba que las plántulas tratadas con P8 fueran las de mayor peso seco, pero en este caso fueron las que tenían presencia de Y16, tanto en sequía progresiva como en el tratamiento sin estrés. Esto puede estar relacionado con el resultado obtenido en número de raíces secundarias, donde nuevamente las plántulas con *Bacillus* sp. Y16 tuvieron los valores más altos y estadísticamente diferentes al resto de los individuos, siendo las plántulas sometidas a estrés las de mayor número de raíces.

Tabla 6: Comparación del efecto de las pruebas de invernadero con y sin estrés hídrico en plántulas de maracuyá.

	Longitud (T-R) (cm)	Numero Raíces	Peso Seco (g)	CRA (%)
P8 SE	14,76667 ± 1,8 ^{a*}	5,142857 ± 1,3 ^{bc}	0,014 ± 0,09 ^{ab}	95,69 ^a
Y16 SE	13,53182 ± 2,2 ^b	6,272727 ± 1,4 ^b	0,017 ± 0,06 ^a	95,73 ^a
Control SE	13,37727 ± 1,7 ^b	4,272727 ± 0,8 ^d	0,009 ± 0,07 ^b	93,86 ^b
P8 CE	14,84286 ± 1,7 ^a	5,428571 ± 1,6 ^c	0,015 ± 0,06 ^b	92,06 ^b
Y16 CE	13,22083 ± 1,3 ^{ab}	7,791667 ± 0,9 ^a	0,021 ± 0,05 ^a	92,80 ^a
Control CE	12,94762 ± 1,8 ^b	5,761905 ± 1,4 ^c	0,012 ± 0,08 ^b	91,67 ^c

*Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas acorde al test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). CRA: Contenido relativo de agua.
SE: Sin estrés. CE: Con estrés.

Según La Rosa y colaboradores (31) la respuesta principal a situaciones de estrés hídrico se da en las raíces y es el ajuste osmótico de la planta expresado en una reducción del CRA lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio en donde las plántulas sometidas a sequía progresiva tuvieron un CRA menor respecto a las plántulas sin estrés; resaltando que ante la situación de sequía progresiva las plántulas en presencia de alguna de las dos bacterias arrojaron un CRA mayor al control.

En términos generales *Pseudomonas* sp. P8 y *Bacillus* sp. Y16 favorecen características fisiológicas de las plantas de maracuyá en condiciones de estrés hídrico. En otro estudio (18) en donde se utilizaron bacterias pertenecientes a alguno de estos géneros se ha encontrado aumento de la longitud de tallo - raíz y peso seco frente al control en plantas de maíz sometidas a condiciones de sequía.

Pruebas de antagonismo *in vitro* frente a *Fusarium oxysporum*. A diferencia de otros estudios (32, 33) en donde con cepas de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas fluorescens* obtuvieron inhibición de *F. oxysporum*, en nuestro caso se presentó un resultado negativo para antagonismo frente a este microorganismo; lo cual, se evidenció por un crecimiento masivo del hongo en todas las réplicas realizadas para las dos cepas escogidas en este estudio, con un porcentaje del 0% de inhibición. *Bacillus subtilis* es de los microorganismos más estudiados como agente de control biológico frente a *F. oxysporum* (34), en nuestro caso la cepa Y16 que pertenece a este género, no presentó un indicio de que pueda ser utilizada como alternativa de combate frente a este hongo que tantos problemas causa a diferentes cultivos en nuestro país.

CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos en este estudio permitieron caracterizar microorganismos nativos del Departamento de Casanare, que presentan potencial en la producción de AIA, promoción del crecimiento y resistencia frente a estrés abiótico, en este caso estrés hídrico en plantas de maracuyá; estos microorganismos de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* son una alternativa potencial para el tratamiento de suelos que sufren de este tipo de estrés. En el futuro pueden ser utilizados para las pruebas en campo en cultivos de Maracuyá, evaluar la eficiencia a mayor escala y su comportamiento al interactuar con otros microorganismos presentes en el suelo.

AGRADECIMIENTOS. Agradecemos a la Universidad de La Salle y en especial a los encargados de laboratorio por los espacios y materiales brindados para la realización de este proyecto. Igualmente, se le agradece al Museo de La Salle y todo su equipo de trabajo por el préstamo de sus instalaciones para llevar a cabo las pruebas de invernadero. Del mismo modo damos gracias a nuestra directora por todo el conocimiento brindado, por su paciencia todo este tiempo y por su don de enseñar.

Finalmente agradecemos a nuestros padres por ser los financiadores emocionales de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

[1]Pingali, P. (2006). "Agricultural Growth and Economic Development: a view through the globalization lens". Presidential Address to the 26th International Conference of Agricultural Economists, Gold Coast, Australia, August, 2006.

[2]Perfetti, J. J., Hernández, A., Leibovich, J., & Balcázar, Á. (2013). Políticas para el desarrollo de la agricultura en Colombia. Sociedad de agricultores de Colombia.

[3]Malagón Castro, D. (2000). Los suelos de Colombia. Boletín de la Sociedad Geográfica de Colombia. *Revista de la Academia de Ciencias Geográficas*, 46(135).

[4]Viloria De la Hoz, J. (2009). Geografía económica de la Orinoquia. Banco de la república-economía regional.

[5]Rodríguez, L., & Bermúdez, L. (2009). Economía y gestión del sistema de producción de pasifloráceas en Colombia. *Miranda D.; G. Fischer; C. Carranza*, 303-326.

[6]Ocampo, J. (2011). Diversidad y distribución de las Passifloraceae en el departamento del Huila en Colombia. *Acta biológica Colombiana*. 18(3), 511-516.

[7]Miranda, D., Fischer, G., Carranza, C., Magnitskiy, S., Casierra, F., Piedrahíta, W., & Flórez, L. E. (2009). Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: maracuyá, granadilla, gulupa y curuba. Bogotá: *Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas*.

[8]Cubillos, J., Paez, A., Valero, N., Mejía, L., & Gamez, R. (2008). Efecto biocontrolador de *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium oxysporum* causante de la secadera del maracuyá en la zona bananera del Magdalena, Colombia. *Fitopatología Colombiana*, 32(1), 19-23.

[9]de Granada, E. G., de Amézquita, M. O., Bautista, G. R., & Valencia, H. (2001). *Fusarium oxysporum*: El hongo que nos falta conocer. *Acta biológica colombiana*, 6(1), 7-25.

[10]Hernández-Rodríguez, O. A., Ojeda-Barrios, D. L., López-Díaz, J. C., & Arras-Vota, A. M. (2010). Abonos orgánicos y su efecto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. *Tecnociencias Chihuahua*, 4, 1-6.

[11]López-Hernández, D. (2005). Historia del uso reciente de tierras de Las Sabanas de América del Sur: estudios de casos en Sabanas del Orinoco. *Interciencia*, 30(10), 623-630.

[12]Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., & Nawaz, S. (2013). Mitigation of salinity-induced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting rhizobacteria in naturally saline conditions. *Annals of Microbiology*, 63(1), 225-232.

[13]Lucas, J. A., García-Cristobal, J., Bonilla, A., Ramos, B., & Gutierrez-Manero, J. (2014). Beneficial rhizobacteria from rice rhizosphere confers high protection against biotic and abiotic stress inducing systemic resistance in rice seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 44-53.

[14]Esquivel-Cote, R., Gavilanes-Ruiz, M., Cruz-Ortega, R., & Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacteria, una revisión. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(3), 251-258.

[15]Bal, H. B., Nayak, L., Das, S., y Adhya, T. K. (2013). Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant and soil*, 366(1-2), 93-105.

[16]Mohite, B. (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*, 13(3), 638-649.

[17]Armada, E. (2015). Efectos de microorganismos rizosféricos autóctonos (bacterias y hongos micorrízico arbusculares) sobre la tolerancia de las plantas al déficit hídrico en zonas semiáridas: mecanismos implicados. *Doctoral dissertation, Universidad de*

Granada.

[18] Ocampo, E. Z. M. (2015) Reducción de estrés hídrico en maíz mediada por bacterias endófitas de la raíz. Avances de Investigación. *Posgrado en Fitosanidad Colegio de postgraduados*, 95-99.

[19]Ehmann, A. (1977). The Van Urk-Salkowski reagent-a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives. *Journal of Chromatography*. 132, 267-276.

[20]Rodríguez, C., & Hernández, M. J. M. (2009). Aislamiento y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en cultivos de Uchuva (*Physalis peruviana L.*) con capacidad antagónica frente a *Fusarium sp.*(*Doctoral dissertation, Tesis de grado. Bogotá, Colombia. Pontificia Universidad Javeriana*).

[21]Hernández, A., Rives, N., Caballero, A., Hernández, A. N., & Heydrich, M. (2004). Caracterización de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz en la producción de metabolitos del tipo AIA, sideróforos y ácido salicílico. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(1), 6-13.

[22]Santillana, N., Arellano, C., & Zúñiga, D. (2005). Capacidad del *rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) PGPR capacity of *Rhizobium* on *Lycopersicon esculentum* Miller.(tomato). *Ecología Aplicada*, 4, 1-2.

[23]Gómez-Luna, B. E., Hernández-Morales, A., Herrera-Méndez, C. H., Arroyo-Figueroa, G., Vargas-Rodríguez, L., & Olalde-Portugal, V. (2012). Aislamiento de bacterias promotoras del crecimiento de la rizósfera de plantas de guayaba (*Psidium guajava*). *Ra Ximhai*, 8(3), 97-102.

[24]Gutiérrez, M. I., Miranda, D., & Cárdenas Hernández, J. F. (2012). Efecto de tratamientos pregerminativos sobre la germinación de semillas de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y cholupa (*Passiflora maliformis* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(2), 209-219.

- [25]Torres, C., Correa, N. D., & Díaz, J. E. (2008). Caracterización de microorganismos fúnicos en semillas de arazá (*Eugenia stipitata*). *Orinoquia*, 12(1), 31-44.
- [26]Venner, R., & Martin, M. (2009). Aislamiento y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en cultivos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) con capacidad antagonica frente a *Fusarium* sp. *Microbiología industrial y Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología. Bogotá, Colombia.*
- [27]Castro Gil, H. C. (2013). Selección in vitro de cultivos rizobianos que promueven la germinación de semillas de *Lactuca sativa* "lechuga". *Tesis de microbiología y parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Ciencias Biológicas. Trujillo, Perú.*
- [28]Conrath, U., Beckers, G. J., Flors, V., García-Agustín, P., Jakab, G., Mauch, F., . & Pugin, A. (2006). Priming: getting ready for battle. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(10), 1062-1071.
- [29]Gomes, M. T. G., da Luz, A. C., dos Santos, M. R., Batitucci, M. D. C. P., Silva, D. M., & Falqueto, A. R. (2012). Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll a fluorescence transient. *Scientia horticultrae*, 142, 49-56.
- [30]Lopez, F.J.; Guio, N.R.; Fischer, G.; Miranda, D. (2007). Propagación de uchuva (*Physalis peruviana* l.) Mediante diferentes tipos de esquejes y sustratos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. 61(1):4347-4357.
- [31]La Rosa, R., Acuña, R., Acurio, K., Castillo, A., Cepeda, C., Chavarry, C., & Jáuregui, J. (2011). Respuestas fisiológicas de *Hibiscus Rosa-Sinensis* L.(Malvaceae) en el cerro" El Agustino", Lima, Perú. *The Biologist*, 9(1), 1-8.
- [32]Shobha, G., & Kumudini, B. S. (2012). Antagonistic effect of the newly isolated PGPR *Bacillus* spp. on *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Applied Science and Engineering Research*, 1(3), 463-474.
- [33]Ramamoorthy, V., Raguchander, T., & Samiyappan, R. (2002). Induction of defense-

related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Plant and soil*, 239(1), 55-68.

[34] Guillén-Cruz, R., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar-González, C. N., Padrón-Corral, E., & Reyes-Valdés, M. H. (2006). *Bacillus* spp. como Biocontrol en un Suelo Infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su Efecto en el Desarrollo y Rendimiento del Cultivo de Chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(2).