



CARACTERIZACIÓN DE FACTORES PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL DE *Pseudomonas* PSICRÓFILAS Y SU EFECTO EN LA PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO EN TOMATE (*Solanum lycopersicum*)

Angie Melissa Orobio López
Juliana Paola Rozo Archila

ASESORAS:
INTERNA: Laura Inés Cuervo Soto
EXTERNA: Jovanna Acero Godoy



INTRODUCCIÓN

Tomate (*Solanum lycopersicum*)



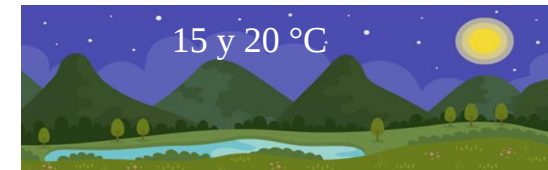
Hortaliza originaria de Sudamérica.

Etapas fenológicas:

Germinación 5- 7 día

Floración: 20- 40 día

Maduración: 80- 120 día



CONTENIDO NUTRICIONAL

- Fuente de vitaminas B1, B2, B5, A y C necesarias para diferentes procesos celulares.
- Carotenoides como el licopeno (que junto a la vitamina C actúan como antioxidantes).
- Los principales minerales son el potasio, magnesio y fósforo
- Gran porcentaje de agua.

Tabla 1. Producción mundial de tomate en el año 2017.

País	Producción (ton)	Porcentaje
China, Continental	59.514.773	32.6
India	20.708.000	11.4
Turquía	12.750.000	7.0
Estados Unidos de América	10.910.990	6.0
Egipto	7.297.108	4.0
Irán (República Islámica)	6.177.290	3.4
Italia	6.015.868	3.3
México	4.243.058	2.3
Brasil	4.230.150	2.3

Base Agraria de MinAgricultura, 2018

Colombia ocupa el puesto N° 32
Producción consolidada en Colombia fue de 632.268 toneladas (2018).
Es la hortaliza que más se siembra en el país con 14.855 hectáreas.



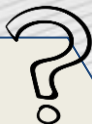
Base Agraria de MinAgricultura, 2018

Departamento	Producción (t)
Antioquia	156.421
Norte de Santander	86.017
Boyacá	72.851
Cundinamarca	70.631
Santander	65.948





**ALTA
DEMANDA**



Producción de
cultivos con
fertilizantes



-Contaminación del
agua subterránea
-Salinización del suelo

USO
INDISCRIMINADO=
DAÑO AMBIENTAL



Desarrollo de una
agricultura sostenible
con el uso de
biofertilizantes

BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (PGPM)



Tienen la capacidad de
colonizar el sistema radicular o
el entorno más cercano

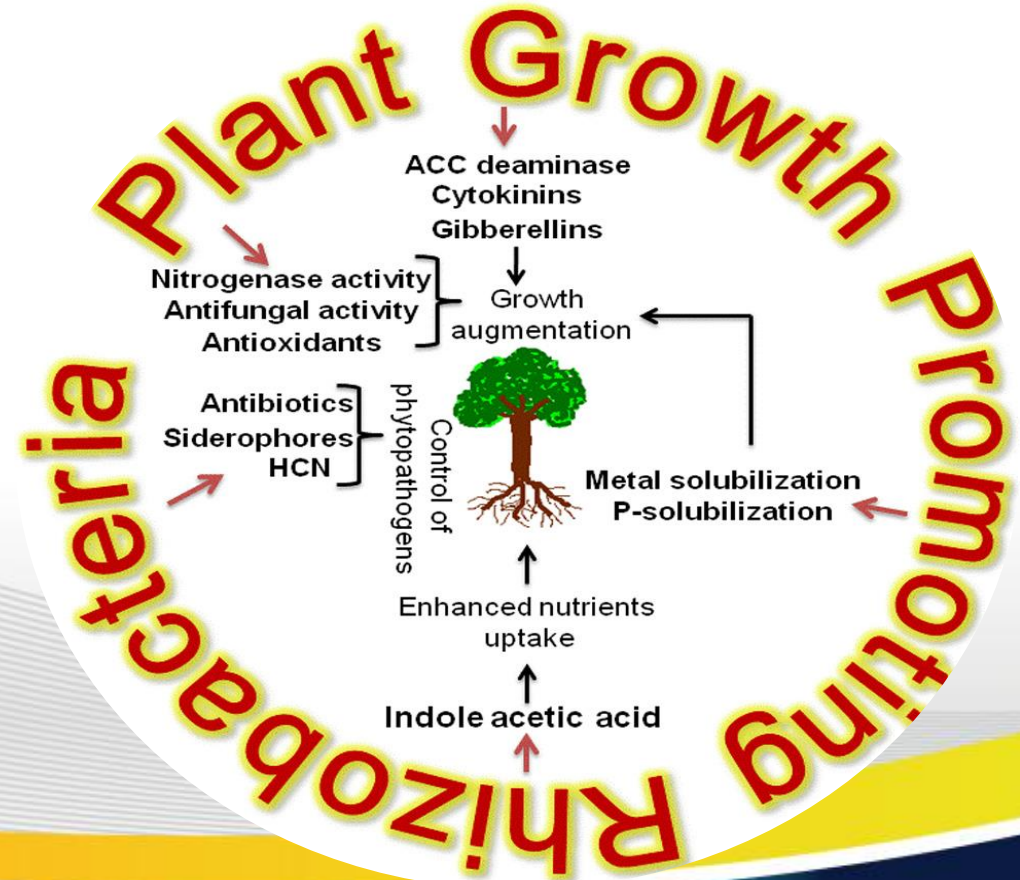


Simbióticas
Endófitas
De vida libre

Algunas de los géneros
empleados como
biofertilizantes son
Azospirillum,
Rhizobium, *Bacillus*,
Acinetobacter,
Burkholderia,
Pseudomonas.

**Mecanismos que mejoran la productividad
de los cultivos.**

- Mecanismos directos
- Mecanismos indirectos





Pseudomonas spp



Bacilos Gram negativos aerobios, rectos o ligeramente curvos con motilidad (uno o varios flagelos polares).

Amplia distribución en el suelo, agua, plantas y animales.

Catalasa y oxidasa positivo.

TAXONOMÍA

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase:

Gammaproteobacteria

Orden: Pseudomonadales

Familia:

Pseudomonadaceae

Género: *Pseudomonas*

Antecedentes

PGPB	CULTIVO	PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL	REFERENCIAS
<i>P. fluorescens</i>	-	Solubilización de fosfatos y producción AIA	Parani y Saha 2012
<i>Pseudomonas putida</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Tomate	Solubilización de fosfato, producción de AIA	Sánchez et al. 2012
<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Maíz	Fijación de nitrógeno atmosférico	Kifle y Laing en 2016
<i>P. putida</i> y <i>P. fluorescens</i>	Lenteja	Sideróforos y AIA	Meliani et al. en 2017





Antecedentes

Sitio-aislamiento	Organismos	Metabolitos	Referencia
Aguas marinas- Golfo de Khambhat, Gujarat	<i>Pseudomonas</i> sp	IAA- NH_4 - HCN, SP tolerancia a estrés salino - tomate	Goswami et al. 2012
Glaciar-Andes Venezolanos	<i>Pseudomonas</i> sp	Fito hormonas- HCN Sideróforos- ESP- inhibición de fitopatógenos.	Balcazar et al. 2015

Microorganismos psicrófilos

Microorganismos extremófilos.

Organismos presentes en ambientes fríos como regiones polares, sedimentos marinos y zonas montañosas que durante el invierno alcanzan temperaturas de 5°C o menos

Grupo	Mínima	Optima	Máxima
Termófilos	40-50	55-75	60-90
Mesófilas	5-15	30-45	25-47
Psicrófilas	-5 hasta +5	15-20	15-20
Psicrótrofas	-5 hasta +5	25-30	30-35

Fuente: (Bohm *et al.*, 2001)

Han desarrollado mecanismos moleculares y fisiológicos que les permiten sobrevivir en dichos ambientes:

- Proteínas de choque frío
- Proteínas anticongelantes



<http://www.aula365.com/regiones-polares/>



<https://universomarino.com/2009/08/30/hablando-sobre-sedimentos-marinos/>



<https://www.t13.cl/noticia/mundo/tbc/los-6-graficos-que-demuestran-cuan-mortal-es-el-monte-everest>

Objetivo General

Caracterizar factores promotores de crecimiento vegetal en *Pseudomonas* psicrófilas y evaluar su efecto en la promoción de crecimiento de tomate (*Solanum lycopersicum*).

Objetivos Específicos

- Caracterizar cualitativamente y cuantitativamente factores promotores de crecimiento vegetal en *Pseudomonas spp.* psicrófilas.
- Evaluar efecto de *Pseudomonas* psicrófilas sobre la germinación de semillas de tomate.
- Evaluar el efecto de *Pseudomonas* psicrófilas sobre el crecimiento de tomate.

AISLAMIENTO DE *Pseudomonas* PSICRÓFILAS

A partir de rizosfera de una planta nativa que sobresalía entre un montículo de nieve, y a partir del mismo sitio, a una distancia de 40 cm aproximadamente se tomó una muestra de suelo nevado (5 cm debajo de la superficie).



Nevado de Toluca

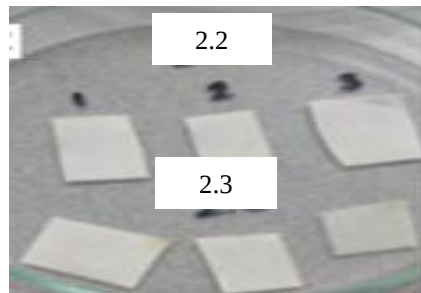
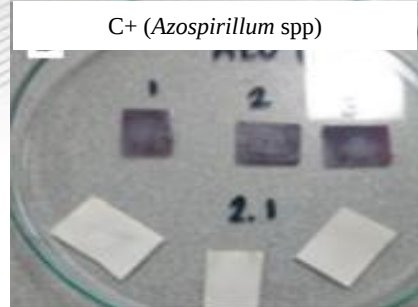


1. Caracterizar cualitativamente y cuantitativamente factores promotores de crecimiento vegetal en *Pseudomonas spp.* psicrófilas.

Producción de auxinas (AIA)

Metodología propuesta por Glickman y Dessaux





PRUEBA CUANTITATIVA- PRODUCCIÓN DE AIA (µg/ml)	
CEPA	CONCENTRACIÓN (µg/ml)
2.1	574.4
2.2	424.9
2.3	233.7
<i>Azospirillum sp.</i>	612.7
Control negativo	-

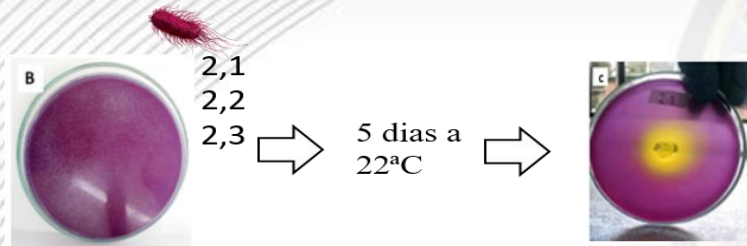
Tabla 3. Concentraciones de producción de AIA por *Pseudomonas psicrófila*.

Según Meliani et al. 2017 → *P. putida* y *P. fluorescens* → Producción de AIA 166 µg/ml y 89 µg/ml respectivamente.

Goswami et al. 2013 → *Pseudomonas psicrófila* → Producción máxima de IAA: 29 µg/ ml.

Solubilización de fosfatos

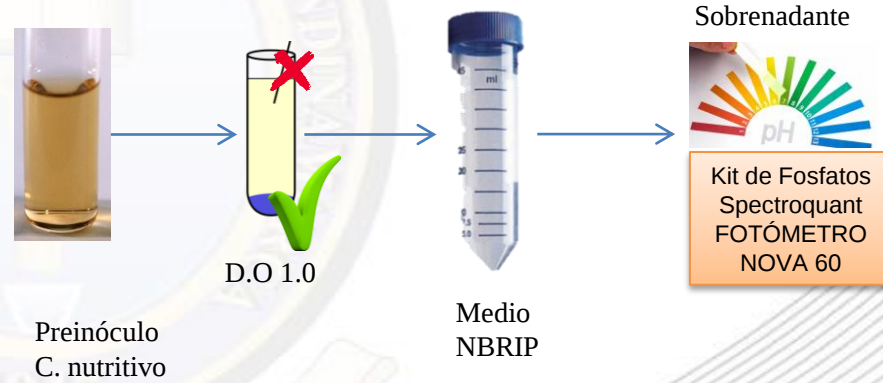
Metodología propuesta por
Sundara Rao y Sinha (1963)



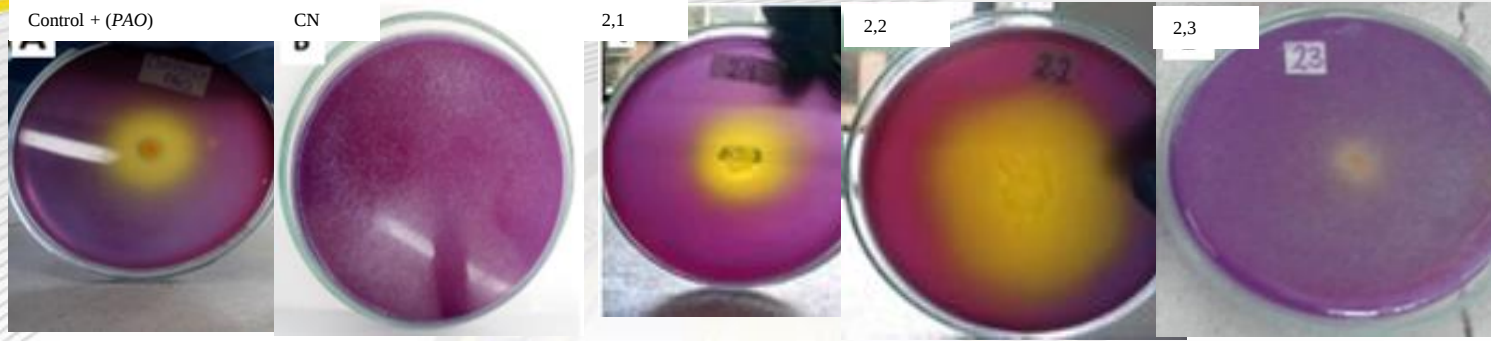
Medio SRS

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KCl,
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$,
 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl, glucosa,
extracto de levadura, **púrpura**
de bromocresol, agar,
 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, pH 7.0-7.2

Metodología propuesta por Chen et al. 2006,
Nautiyal et al. 1999 y Kadiri et al. 2013



Curva estándar de
fosfatos de 7, 12, 17,
22 y 27 mg/l



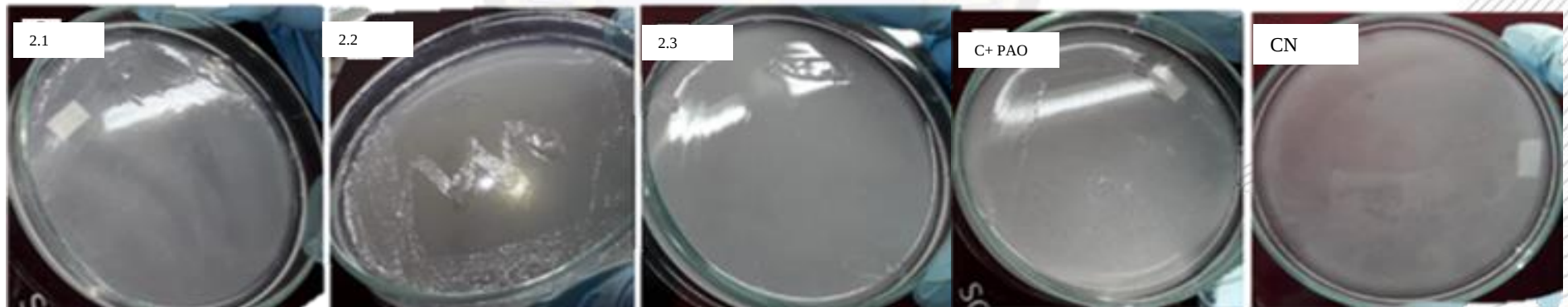
PRUEBA CUANTITATIVA- FOSFATO SOLUBLE (mg/l)	
CEPA	CONCENTRACIÓN (mg/l)
2.1	81.8
2.2	199.6
2.3	118
PAO	77.6
Control negativo	-

Tabla 4. Concentraciones de fosfato soluble por las *Pseudomonas* psicrófilas.

Balcazar et al. 2015, evaluaron cepas de *Pseudomonas* psicrófilas: *P. orientalis*, *P. brenneri*, produjeron disminución del pH del medio, comuna concentración de fosfato soluble entre 142.7 a 98.4 mg/L.

Fijación de nitrógeno

- Según Kifle y Laing 2016, *P. nitroreducens* tiene la capacidad de fijar nitrógeno.
- Según Suyal et al. 2017, *P. jessenii*, tiene la capacidad de fijar nitrógeno.



Producción de amonio

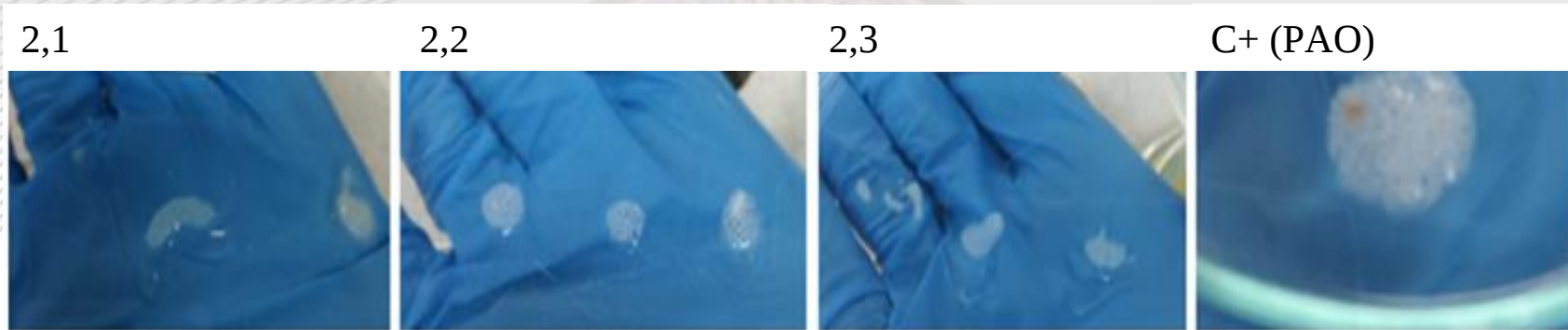
Goswami et al. 2013 evaluaron una cepa psicrófila de *Pseudomonas* spp., con una producción entre 0,27 y 0.32 mg/L.

(Aguas marinas- Golfo de Khambhat, Gujarat)

PRODUCCIÓN DE AMONIO (mg/L)	
CEPA	CONCENTRACIÓN (mg/l)
2.1	0.07
2.2	0.21
2.3	0.05
PAO	0.25
Control negativo	-

Tabla 5. Concentraciones de producción de amonio por *Pseudomonas* psicrófilas.

Catalasa

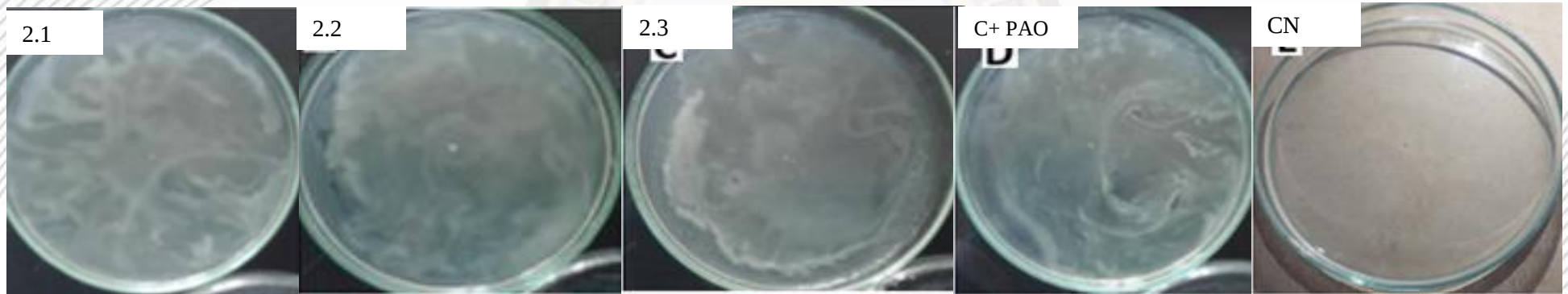


Cerqueira et al. 2013 sometieron unas plantas de frijol a estrés oxidativo y se inocularon con diferentes PGPM, entre ellas una cepa de *P. graminis* y *P. durus*. Evidenciaron que en la floración no hubo acumulación de peróxido de hidrógeno, lo que indico la acción eficaz de la actividad enzimática (catalasa) controlando el estrés oxidativo al que fueron inducidas las plantas.

Motilidad

Protocolo de Boyer.

10.0 μ l de la suspensión bacteriana en medio nutritivo semisólido al 0,85% (5.0 días a temperatura ambiente).



Según Martín et al. 2014, las bacterias *P. putida* y *P. aeruginosa* poseen flagelos polares que permiten el movimiento conocido como swarming cuando el experimento es realizado en superficies sólidas.

2. Evaluar efecto de *Pseudomonas* psicrófilas sobre la germinación de semillas de tomate.

Promoción de crecimiento



Porcentaje de germinación

CEPA	NÚMERO DE PLÁNTULAS	PORCENTAJE DE GERMINACIÓN
2.1	16	80%
2.2	19	95%
2.3	18	90%
C+	18	90%
C-	17	85%

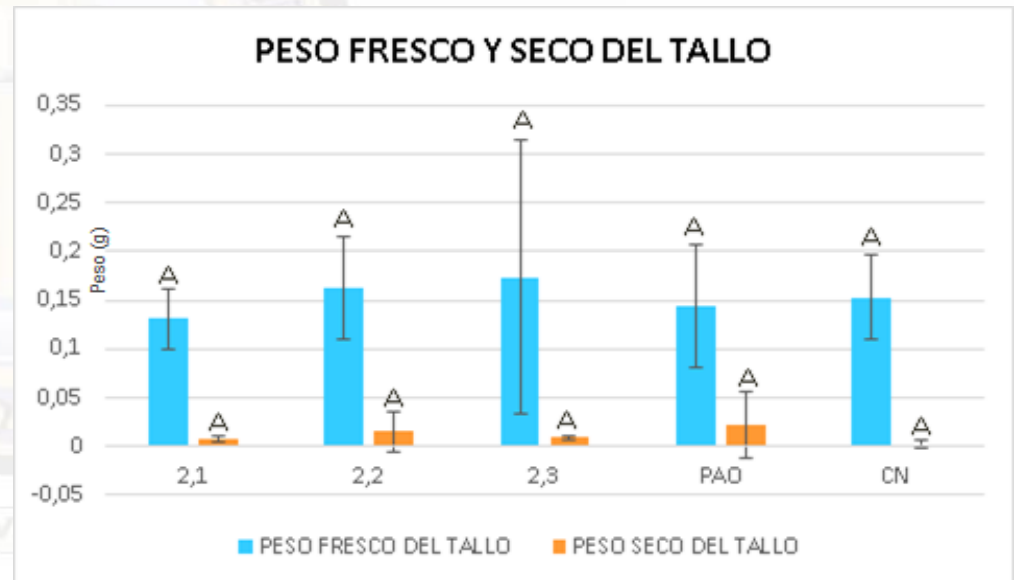
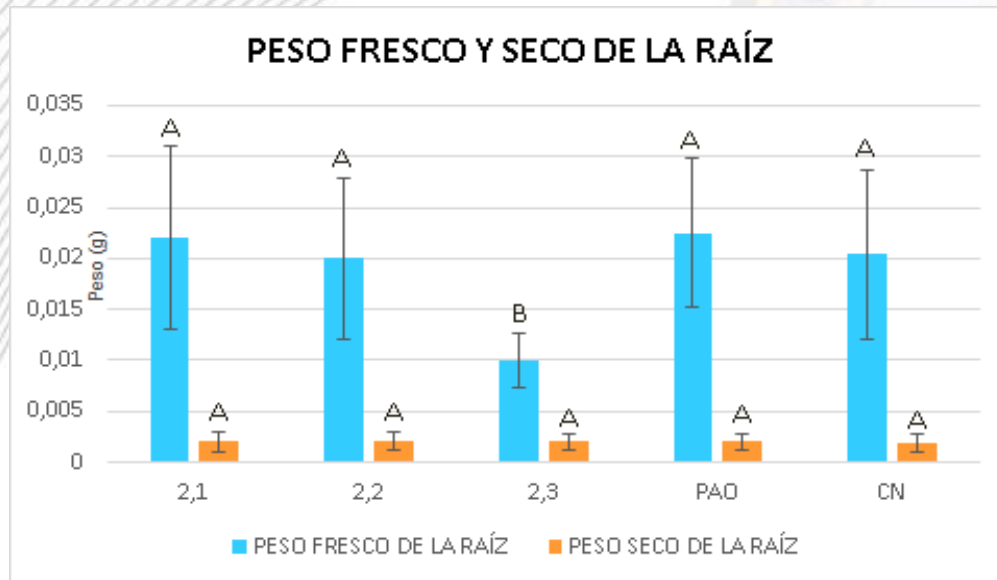
Tabla 8. Porcentaje de germinación de plántulas de tomate, estimuladas con *Pseudomonas psicrófilas* y *Pseudomonas aeruginosa* (PAO)



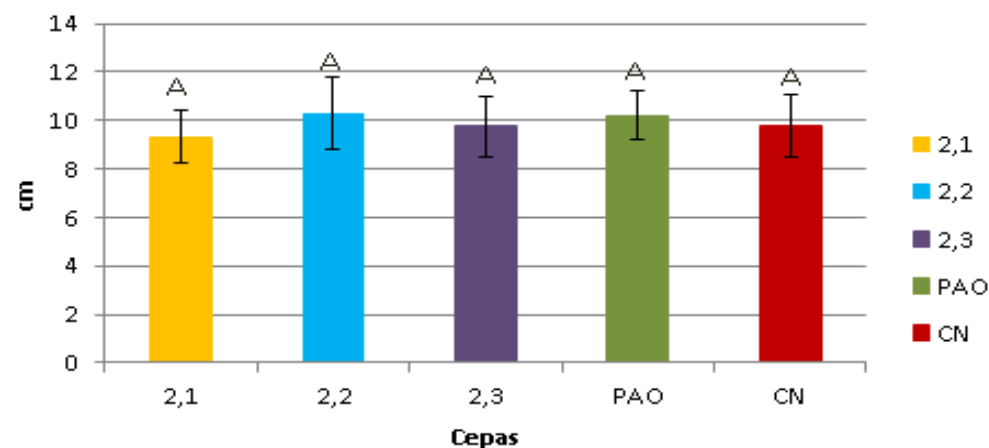
3. Evaluar el efecto de *Pseudomonas* psicrófilas sobre el crecimiento de tomate.

Evaluación de promoción de crecimiento

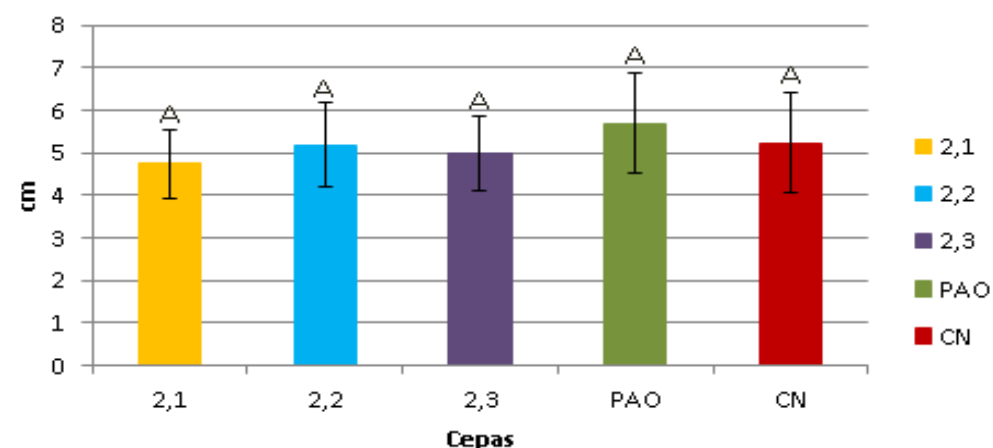
El efecto de promoción de crecimiento de tomate por las *Pseudomonas* ssp, se registró después de 45 días de crecimiento de las plántulas.



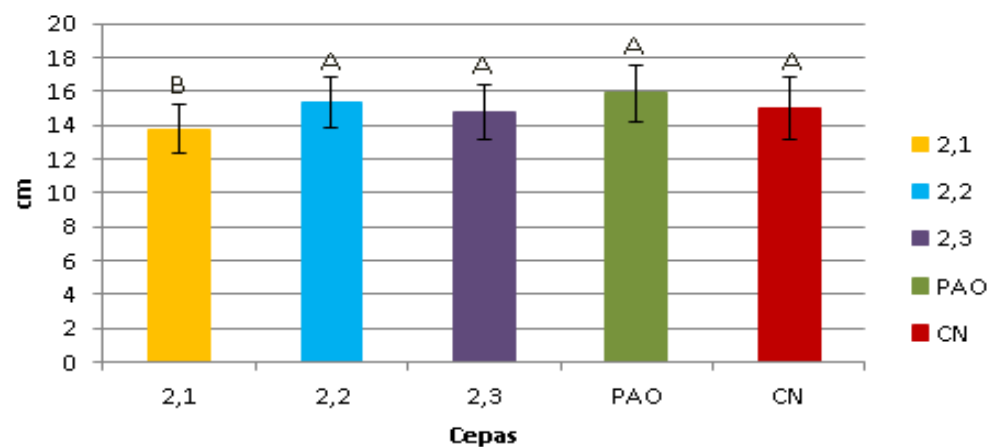
LONGITUD DEL TALLO



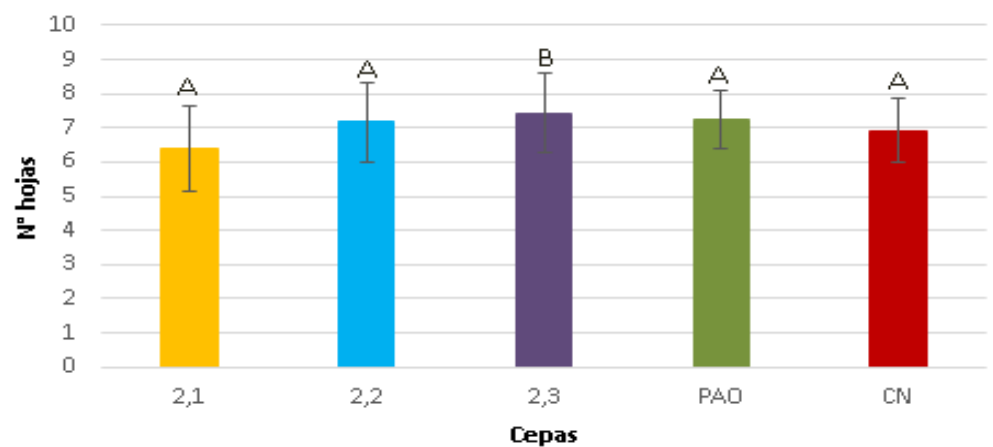
LONGITUD DE LA RAÍZ



LONGITUD DE LA PLANTA



NÚMERO DE HOJAS





Conclusiones

1. Las tres cepas en estudio tuvieron la capacidad de producir factores
2. La cepa 2.2 tuvo el mayor porcentaje de geminación en las plantas
3. Ninguna de las cepas de *Pseudomonas* spp. psicrófilas promovió el crecimiento de las plantas en las condiciones evaluadas, sin embargo, ninguna fue perjudicial para la planta.



RECOMENDACIONES

Para próximas investigaciones se recomienda regular la temperatura y ambiente en cabinas de crecimiento vegetal.

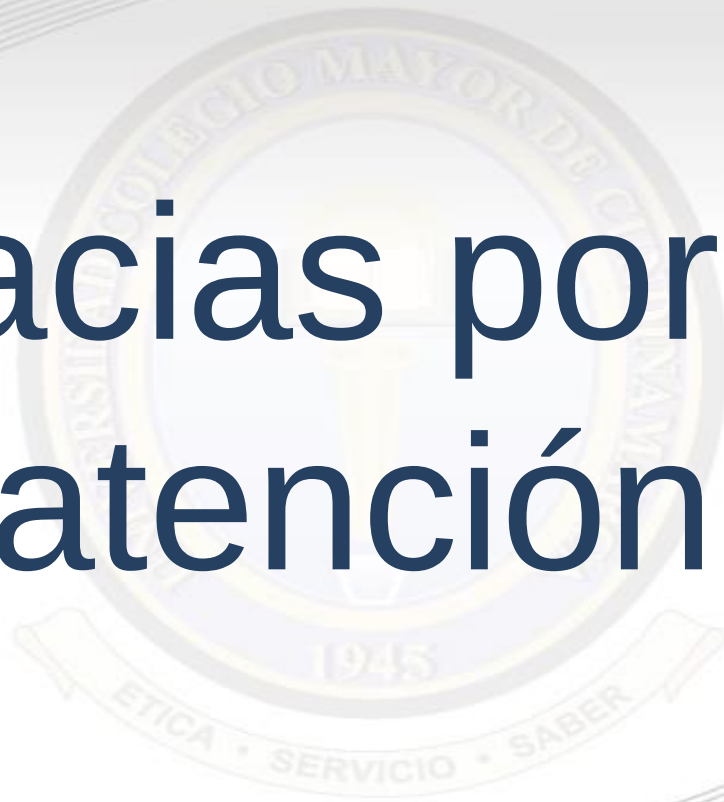
Debido a que la cepa 2.2 generó resultados positivos en cada uno de los ensayos *in vitro* se podría secuenciar para identificar la especie de *Pseudomonas*.

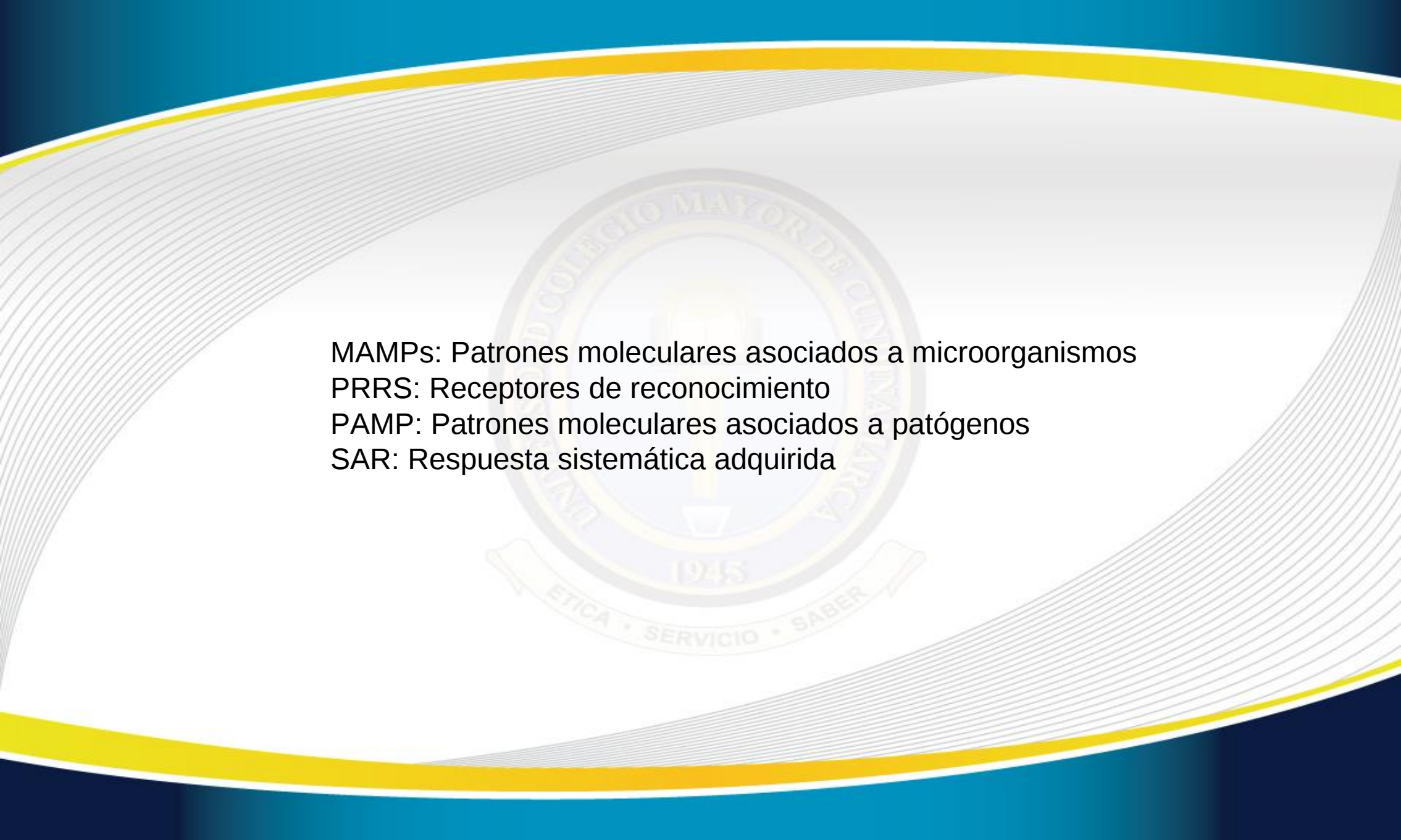
En próximos ensayos de promoción de crecimiento vegetal exponer la planta en condiciones de estrés a bajas temperaturas.

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia agradecemos a Dios por permitirnos culminar nuestros estudios y nuestro proyecto de grado, a nuestras familias por su apoyo durante este proceso, a nuestras asesoras por darnos la oportunidad de trabajar con ellas, por apoyarnos y direccionarnos, a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por acogernos y formarnos como profesionales íntegras y por último, a la Universidad Antonio Nariño por darnos la oportunidad de realizar nuestro trabajo de grado en sus instalaciones.

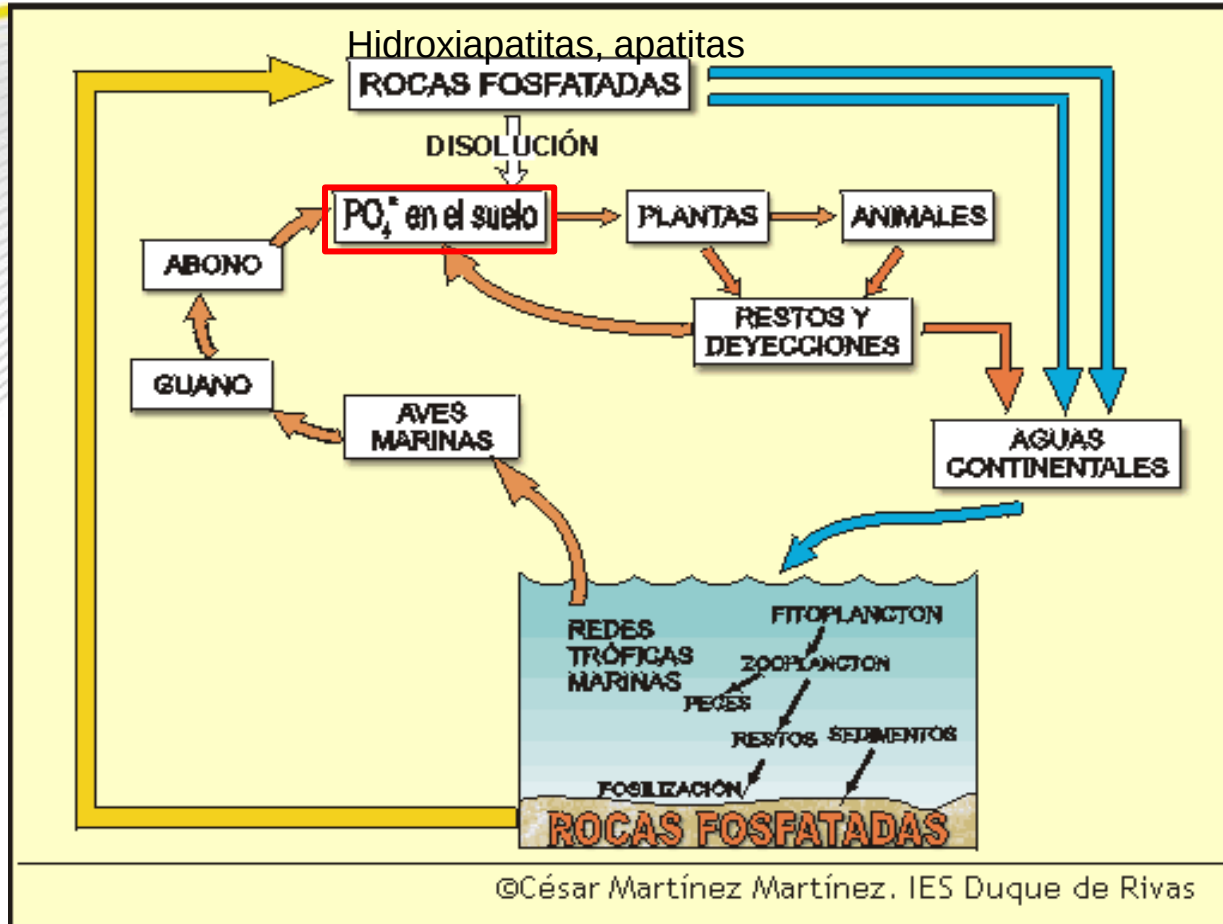
**Gracias por su
atención**



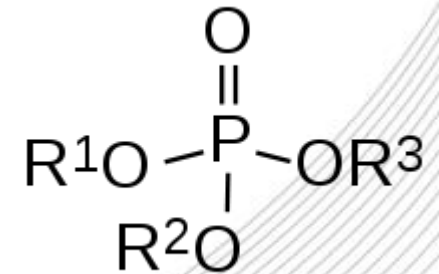


MAMPs: Patrones moleculares asociados a microorganismos
PRRS: Receptores de reconocimiento
PAMP: Patrones moleculares asociados a patógenos
SAR: Respuesta sistemática adquirida

CICLO DEL FÓSFORO

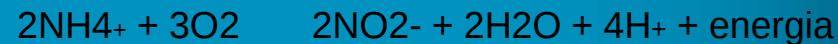
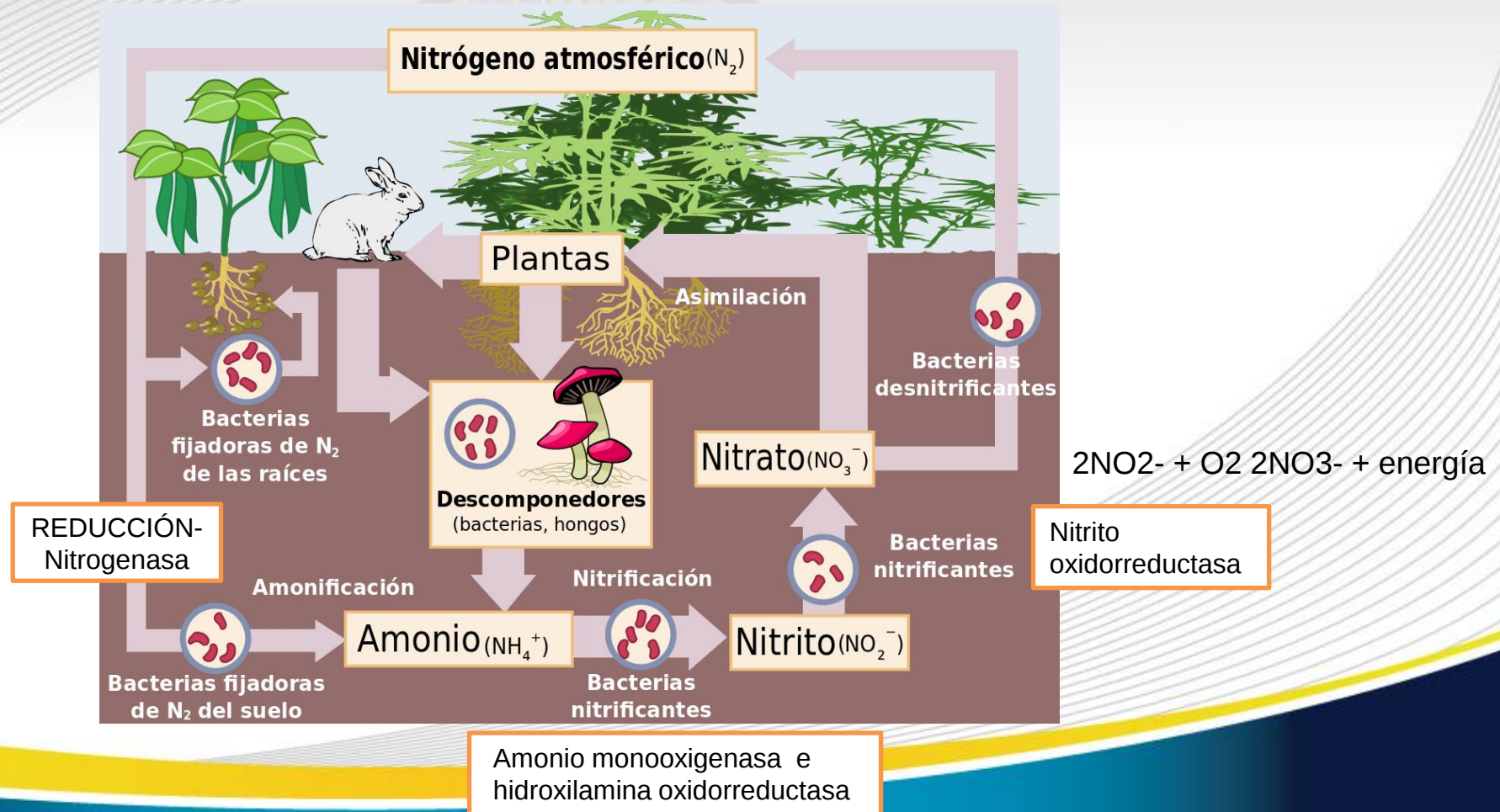


1. Fosfatasas: Enlaces de éster del fosfato orgánico.
2. Ácidos orgánicos (glucónico y oxálico)

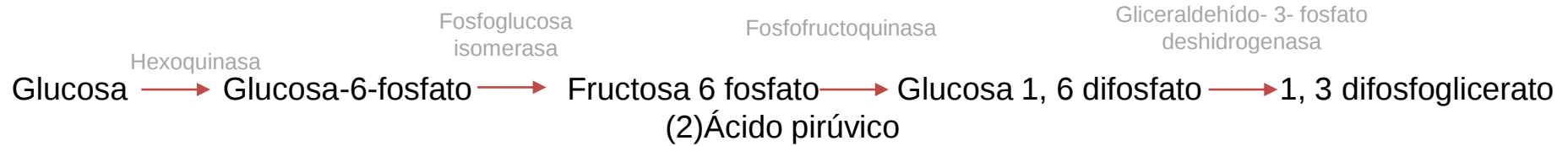


Iones metálicos forman precipitados insolubles con el oxalato

CICLO DEL NITRÓGENO



Vía Embder- Meyerhoff (fosforilación)



Vía pentosa fosfato



Ruta de Entner- Doudoroff

