

**Actividad promotora de crecimiento vegetal y biocontroladora de rizobacterias
aisladas de cultivos de papa.**

YULIET YAISA MOSQUERA SALAS

Asesor externo

JAVIER VANEGAS GUERRERO

Asesor interno

VILMA YAMILETH MARTÍNEZ GRANADOS

Noviembre, 2019



RESUMEN

66 Rizobacterias

1. OBJETIVO

NFB

SRS

AIA

HCN

PROTEASAS

SIDEROFOROS

6 Rizobacterias

2. OBJETIVO

Promoción de
crecimiento en papa

Peso seco de
raíz, estolón

Biocontrol

Inhibición por VOCs

PAPA

Genero
Solanum,
familia
Solanaceae

Alto
contenido
nutricional

Proteínas,
carbohidratos
Minerales
Vitamina C

FAO 2008



PAPA EN COLOMBIA



Boyacá, Nariño y
Cundinamarca

3.000.000 de toneladas
producidas anuales 2018

130.000 hectáreas
sembradas

3.3% PIB Agricultura

Infoagro, 2018

Patógenos de la papa



Fitopatógeno

**Sustancias
Químicas**

**Aumenta el
valor en la
cadena de
producción
12%**

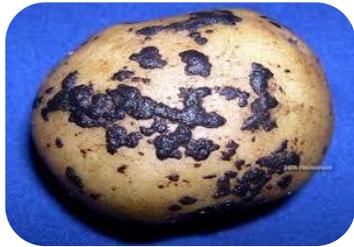
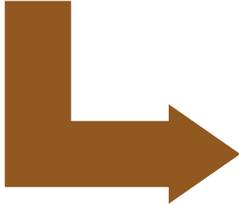
**Genera
residuos
tóxicos**



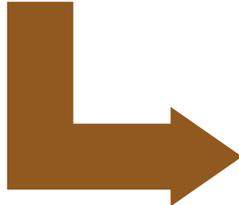
PATÓGENOS QUE AFECTA EL CULTIVO DE PAPA EN COLOMBIA



- *Streptomyces scabies*



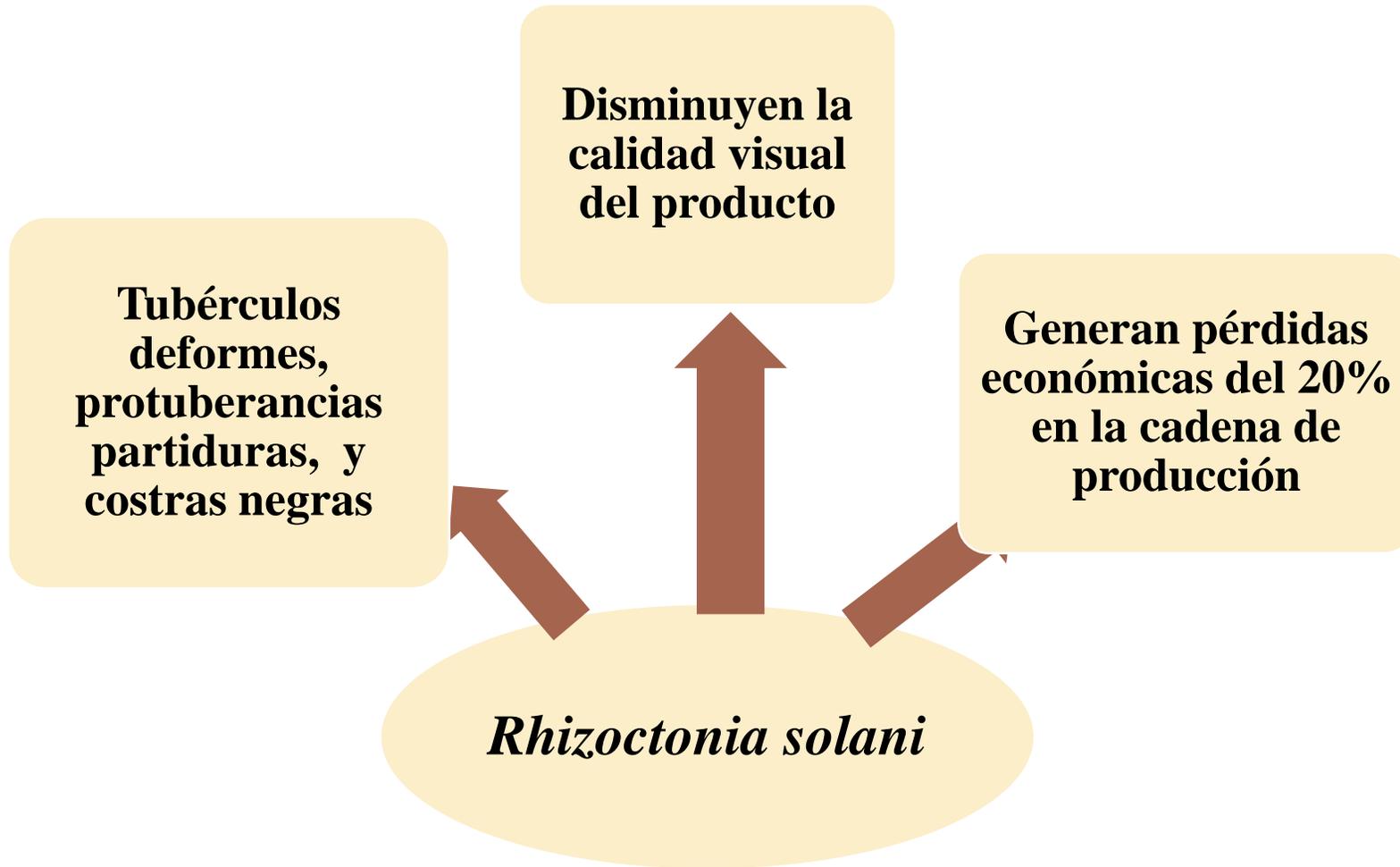
- *Rhizoctonia solani*



- *Tectia solanivora*



RHIZOCTONIASIS



Rizobacterias



Fitopatógeno



Rizobacterias

**Metabolizan
sustancias**

**Promueven el
crecimiento**

Antagonismo con *Rhizoctonia*

A
N
T
E
C
E
D
E
N
T
E
S

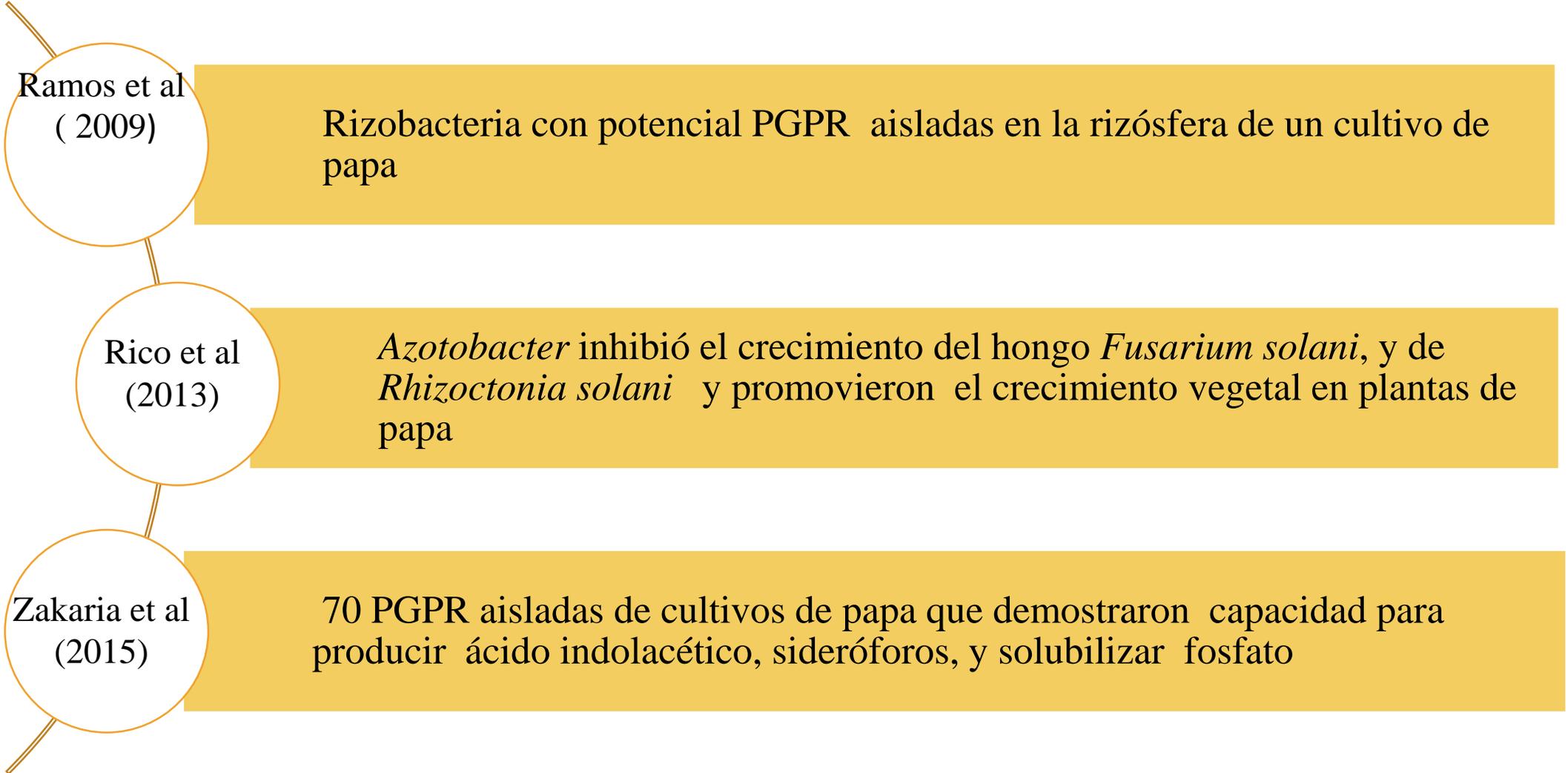
Garbeva et al
(2004)

Pseudomonas sp inhibió el crecimiento de *Rhizoctonia solani* mediante la capacidad de producción quinolinas y antimicrobianos.

Gil et al
(2012)

Bacillus subtilis y *Bacillus lentimorbus* inhibieron el crecimiento del micelio del fitopatógeno *Rhizoctonia solani*.

Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR)





OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad biocontroladora y promotora de crecimiento vegetal de rizobacterias aisladas de cultivos de papa.

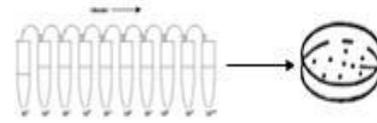


OBJETIVOS ESPECÍFICOS

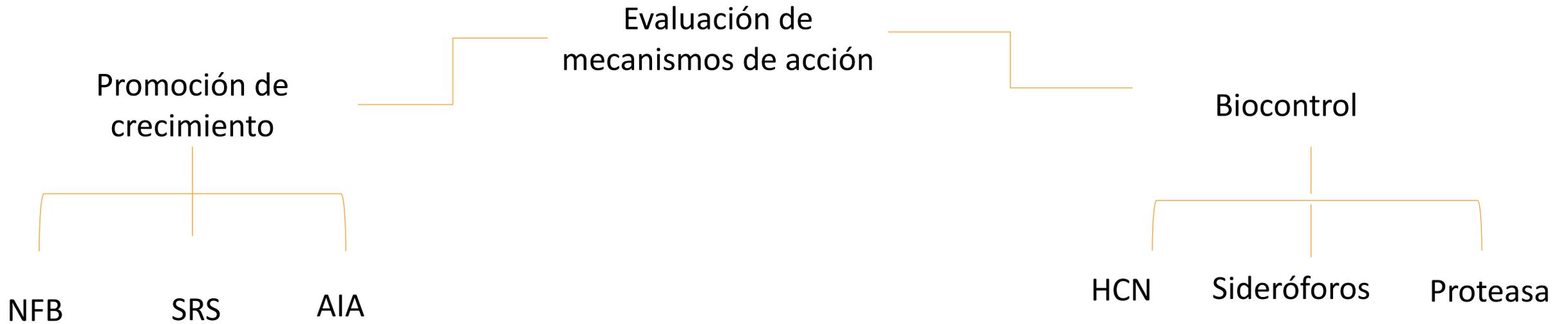
1. **Caracterizar los potenciales mecanismos de acción** de rizobacterias para biocontrolar y promover el crecimiento vegetal.
2. Evaluar la capacidad de rizobacterias para **biocontrolar** el hongo fitopatógeno *R. solani* y **promover el crecimiento** en papa

**METODOLOGÍA
Y
RESULTADOS**



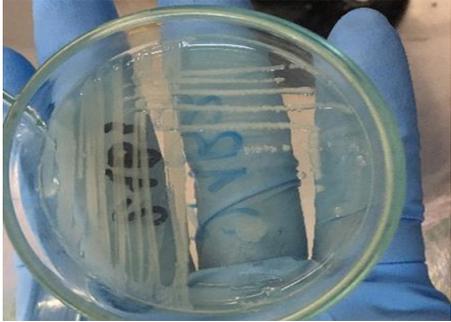


A partir de 66 rizobacterias
aisladas de cultivos de papa

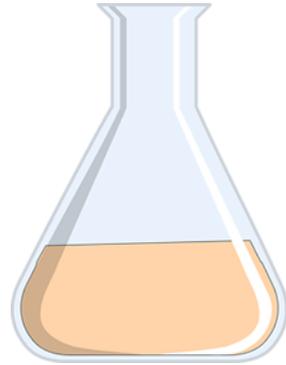


Obj 1. Caracterizar los potenciales mecanismos de acción de rizobacterias para biocontrolar y promover el crecimiento vegetal.

CRECIMIENTO EN MEDIO NFB



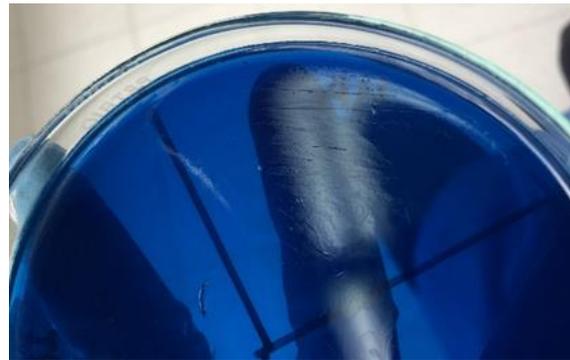
1. Reactivación de los 66 aislamientos en medio LB



2. Preparación del medio NFB



3. Siembra por estrías e incubación 30°C por 5 días

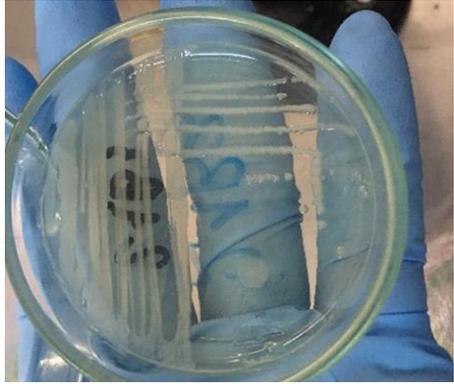


4. Crecimiento de microorganismos en medio NFB al 5 día el cambio de color indica fijación de nitrógeno

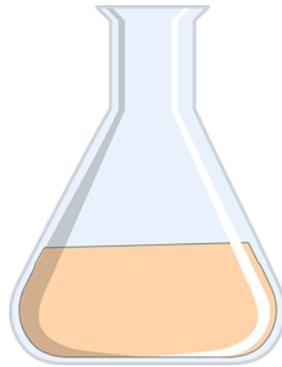
PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO

Dobereiner 1994

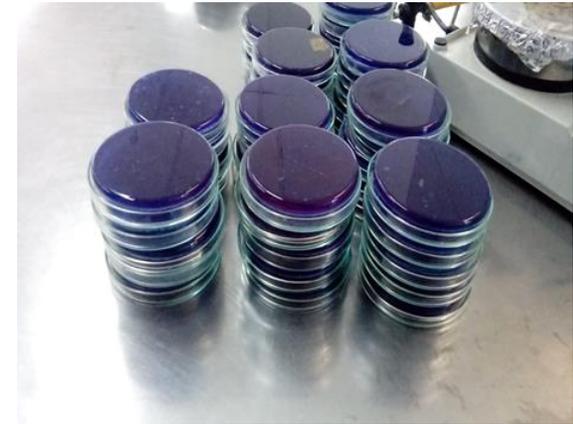
SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO MEDIO SRS



1. Reactivación de los 66 aislamiento en medio LB



2. Preparación del medio SRS



3. Siembra por estrías y punción, con incubación 30°C por cinco días

PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO

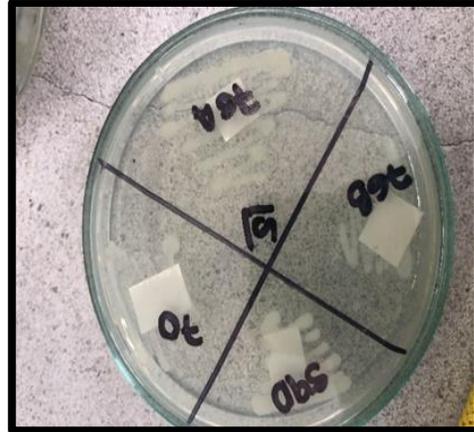


4. Crecimiento de microorganismos en medio SRS al 5 día el cambio de color indica acidificación del medio y el halo solubilización de fosfatos

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO INDOLACÉTICO (AIA)



Medio LB
enriquecido con
triptófano
Incubación

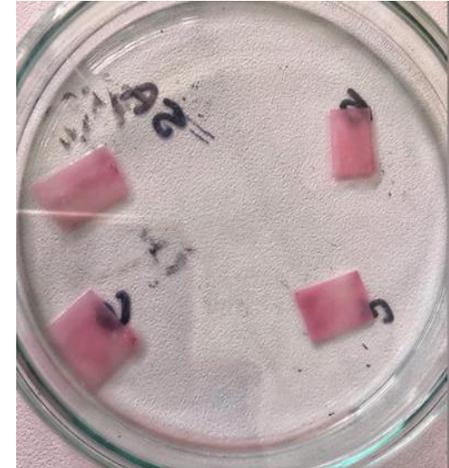


48 h después se s
papel filtro estéril y
se lleva a incubar
durante 24 horas
mas

Glickmann 1995



Una gota de
reactivo de
Salkowsky, se
incuba por 24
horas.



Un cambio de color
del papel filtro
indica producción
de ácido
indolacético

PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO CIANHÍDRICO (HCN).



Ajuste de
inóculo



Papel picrosódico



Un cambio de color en el papel
picrosódico indica la producción
de HCN

BIOCONTROL

Kumari-Jha et al. (2009) Bakker et al (1987).

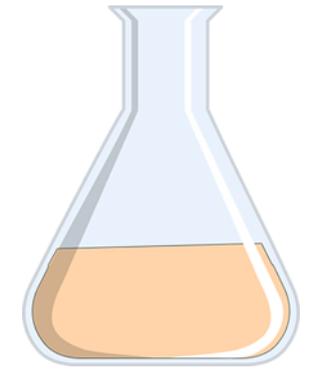
SIDERÓFOROS



Agar LB

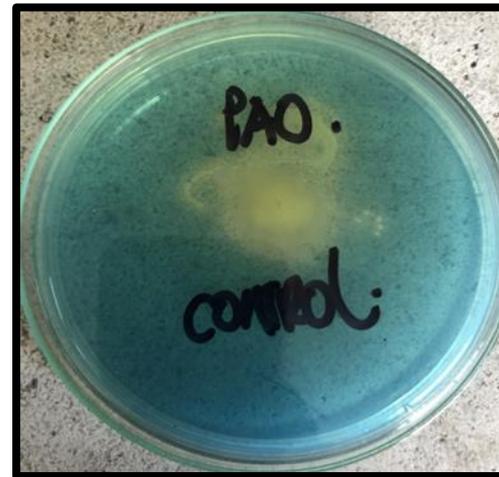
Siembra por
única
punción

Incubar
30°C por 48
horas



Solución CAS con
agar agar

Segunda
incubación 30°C
por 3 horas



Producción de
hidroxamatos

BIOCONTROL

Pérez et al (2007).

Proteasas

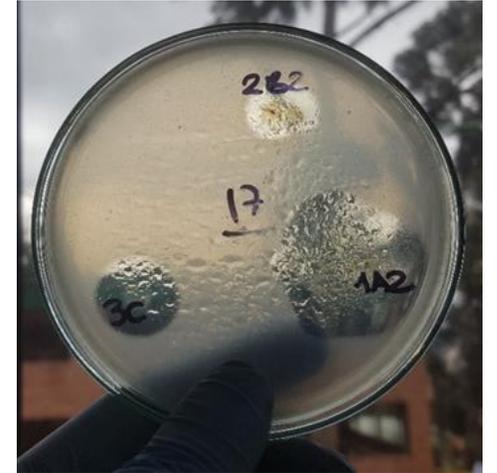


Medio Skim Milk

BIOCONTROL

Siembra por
única punción

Incubar 30°C por 3
días



Formación de halo
hidrólisis de caseína
por acción de
proteasas cepas

Suarez y Herrera., 2012.

SELECCIÓN DE RIZOBACTERIAS

Tahir et al (2016) aislaron PGPR de las rizósfera de un cultivo de papa y demostraron capacidad para fijar nitrógeno, solubilizar fosfato y producir ácido indolacético

Bakker et al (2007) *Pseudomona sp* aislada de cultivos de papa productoras de HCN y quelantes de hierro

Mecanismos de Acción	Número de aislamientos positivo	%
NFB	66	100
SRS	65	98,48
AIA	26	39,39
HCN	50	75,75
Proteasas	42	63,63
Sideróforos	26	39,39

NFB – Fijación de nitrógeno y producción de amoniaco, SRS – Solubilización de fosfatos, AIA – Ácido indolacético, HCN – Producción de ácido cianhídrico, Proteasas , Sideróforos

- **Obj 1. Caracterizar los potenciales mecanismos de acción de rizobacterias para biocontrolar y promover el crecimiento vegetal.**

Gustavo et al (2010)
rizobacterias
Pseudomonas producen
sustancias biocontrol de
diversos fitopatógenos

Arcos et al (2015)
Metabolitos secundarios
funcionan como
mecanismo antagónico

Martinez et al (2017)
producción de AIA en
PGPR de tomate

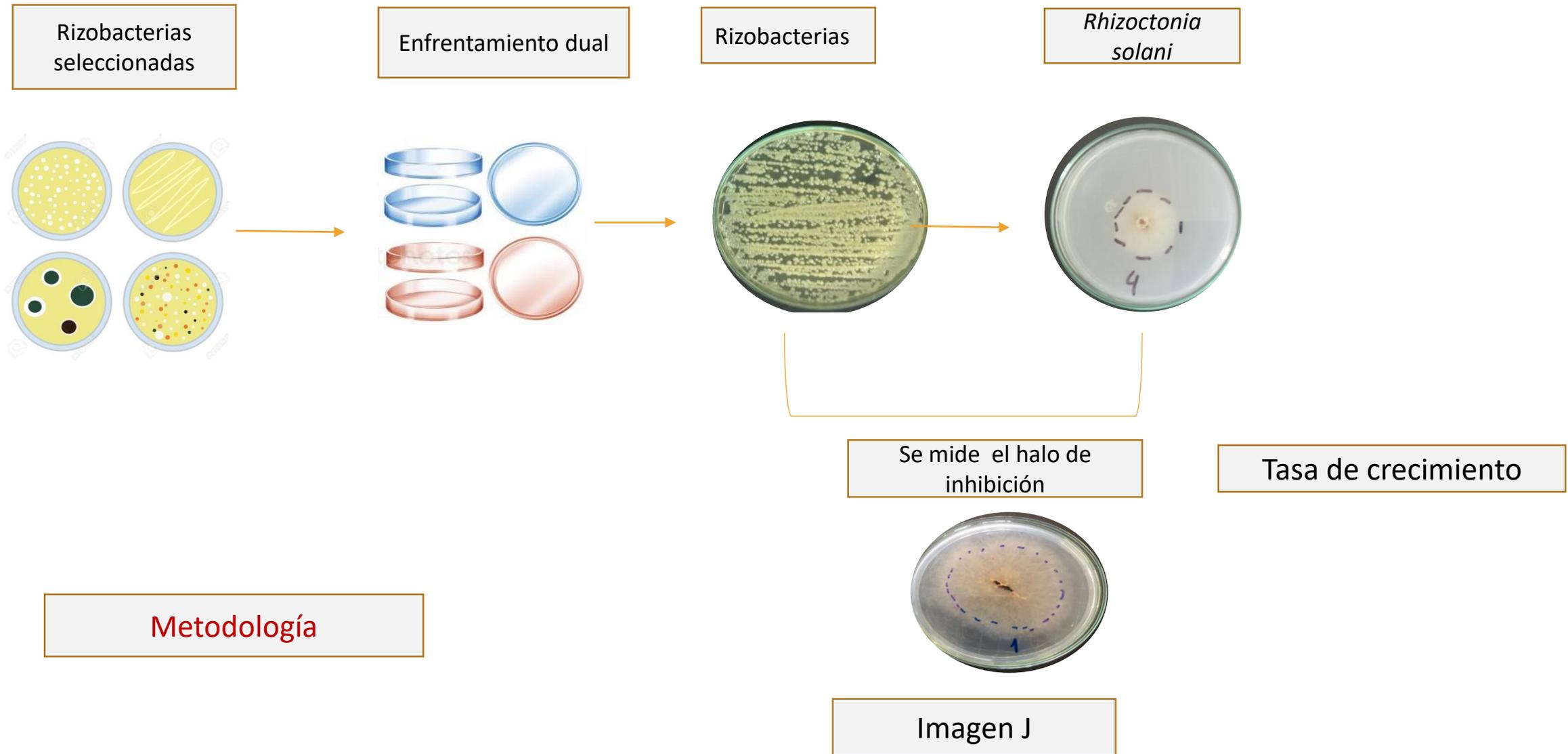
Aislamiento	AIA	NFB	SRS	Proteasas	HCN	Sideróforos
4 A	+++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
21A2-1	+	(+)	(+)	(+)	(+++)	(+)
76 B	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
21 A3	++	(+)	(+)	(+)	(++)	(+)
59 A	+++	(+)	(+)	(+)	(+++)	(+)
202 B	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

(+) Positivo, + Baja producción, ++ Media producción, +++ Alta producción. AIA - Ácido indolacético, NFB - Fijación de nitrógeno y producción de amoníaco, SRS - Solubilización de fosfatos.



Objetivo 2.

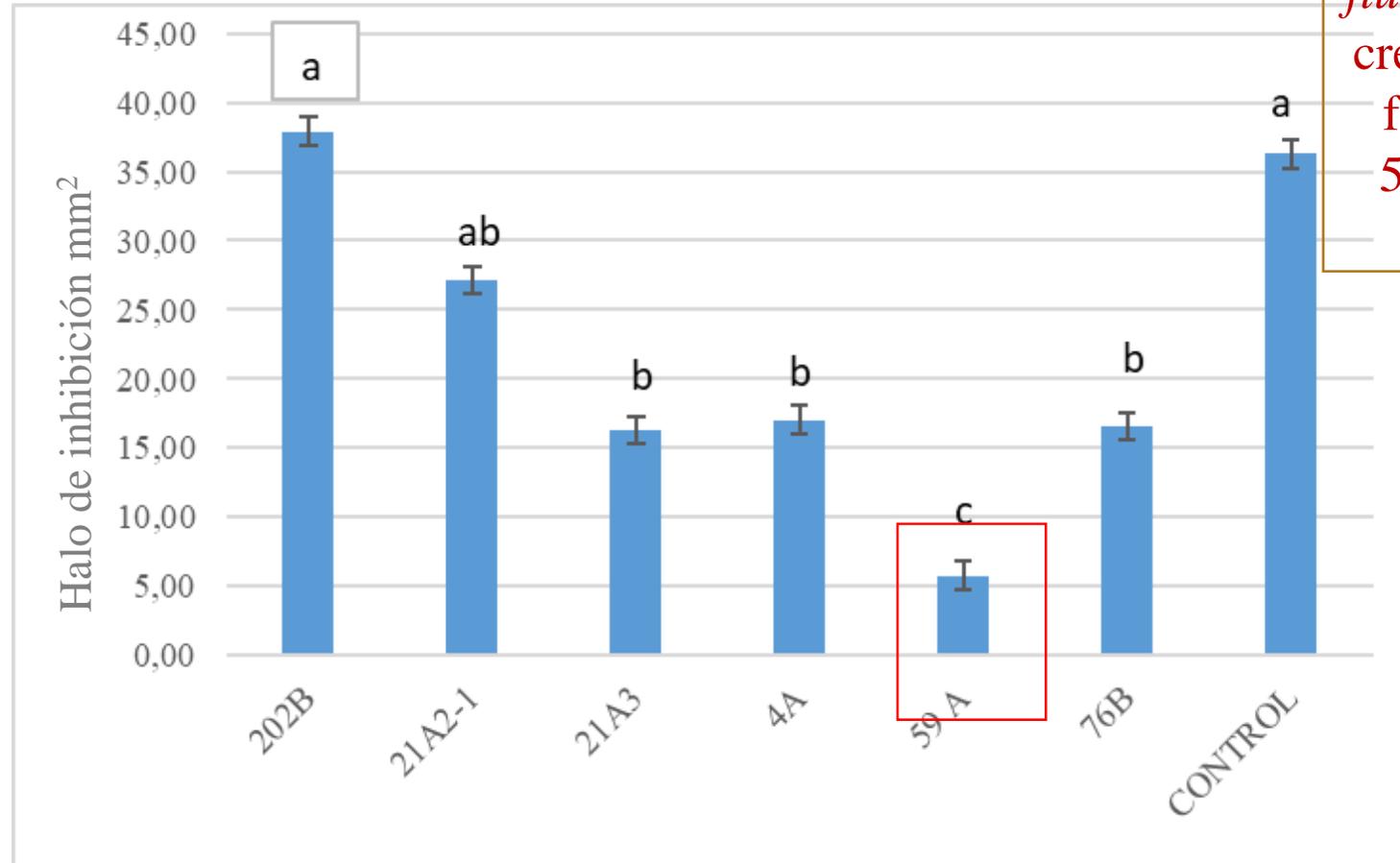
- Obj 2. Evaluar Actividad Biocontroladora Producción de VOCs



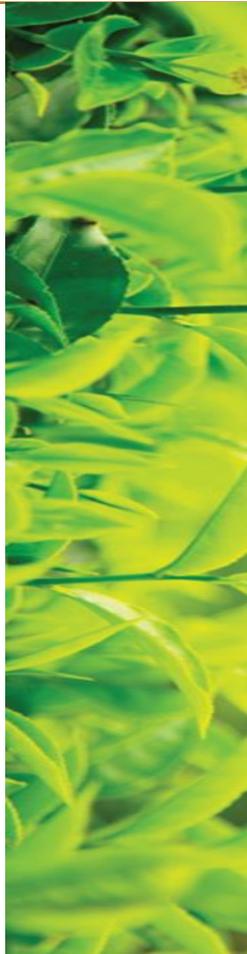
• Obj 2. Actividad Biocontroladora Producción de VOCs

Giorgio et al (2015) reportó la capacidad inhibitoria de rizobacterias aisladas de plantas de frijoles mediante la producción de gases volátiles como el ácido acético, p-cymeno, dimetil disulfido, dimetil trisulfido, d- limoneno

Garbeva et al(2004) reportó que entre el 30 y 60% de las bacterias que proviene del suelo producen compuestos volátiles inhibidores de hongos, protozoos y nemátodos.



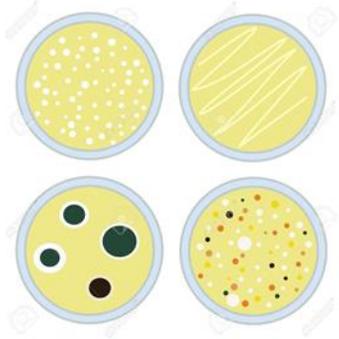
Villa et al (2007)
Pseudomonas fluorescentes inhibe el crecimiento de hongo fitopatógeno en un 50% en cultivos de caña de azúcar



Resultados

Obj 2. Actividad Promotora de Crecimiento

Rizobacterias seleccionadas



Ajuste de inóculos



Preparación de semilla



Siembra

Metodología

Recolección de muestras
Parámetros de crecimiento
Peso seco de raíz, estolón y total



Obj 2. Actividad Promotora de Crecimiento

Picherky et al (2010) la promoción de crecimiento vegetal mediadas por rizobacterias productoras de AIA ,fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato

Dawwam et al (2011) demostraron que *Stenotrophomonas* spp, *Acetobacter pasteurianus* y *Stenotrophomonas metalico* aumentan el crecimiento vegetal en papa en 30% producción AIA y la solubilizan fosfatos

Tabla 2. Valores promedio de las variables evaluadas en promoción de crecimiento

Cepas	Peso seco (g)									Número estolones	ES	
	Raíz	ES	%	Estolones	ES	%	Total	ES	%		ES	%
202B	4,18	1,39	36,16	4,72	1,38	39,23	8,9	2,24	37,56	3,8	0,49	26,67
21A2-1	2,7	1,39	-12,05	2,46	0,95	-27,43	5,16	2,29	-20,25	2,6	0,81	-13,33
21A3	3,02	0,82	-1,63	1,96	0,23	-42,18	4,98	0,82	-23,03	3,8	0,58	26,67
4A	3,91	0,91	27,36	6,18	2,01	82,30	10,09	1,63	55,95	4,2	0,58	40,00
59 A	3,22	1,09	4,89	4,61	1,89	35,99	7,83	2,81	21,02	2,2	0,49	-26,67
76B	1,38	0,19	-55,05	3,32	1,6	-2,06	4,7	1,65	-27,36	3,8	0,37	26,67
CONTROL	3,07	0,76	0,00	3,39	0,76	0,00	6,47	0,42	0,00	3	0,32	0,00
Valor P	0,57			0,39			0,15			0,15		

ES: Error estándar, % con respeto al control.

Resultados

Conclusiones

1. Cuatro aislamientos presentaron la capacidad de inhibir a *R. solani* posiblemente mediante la producción de ácido cianhídrico, sideróforos y proteasas.
2. No se observó incremento significativo en la promoción de crecimiento vegetal. Aunque las rizobacterias presentaron mecanismos de acción de promoción de crecimiento como la producción de AIA, solubilización de fósforo y el crecimiento en medio NFB.
3. No todos los aislamientos productores de ácido cianhídrico inhibieron a *R. solani* esto podría deberse a otros compuestos volátiles no evaluados en este trabajo.

Recomendaciones

- 1. Caracterizar taxonómicamente las cepas.
- 2. Evaluar otros compuestos volátiles mediante técnicas analíticas como cromatografía de gases.
- 3. Evaluar bajo condiciones de invernadero las rizobacterias para inhibir a *R. solani*.



Agradecimiento

La **Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca** por brindarme las herramientas y conocimientos necesarios para crecer como profesional y la **Universidad Antonio Nariño** por permitirme desarrollar mi trabajo de grado en sus instalaciones, y acogerme como una más de sus estudiantes en cada uno de sus laboratorios.

El profesor **Javier Vanegas Guerrero** Dr. MSc, mi asesor externo por brindarme la oportunidad de hacer parte de su equipo de trabajo, guiarme y acompañarme en cada uno de los procesos desarrollados en este trabajo.

Gracias