

Mitigación del estrés por sequía e inundación en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) por rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.

**PAOLA ANDREA MONTENEGRO GUZMAN
MARÍA FERNANDA MORALES HERNÁNDEZ**

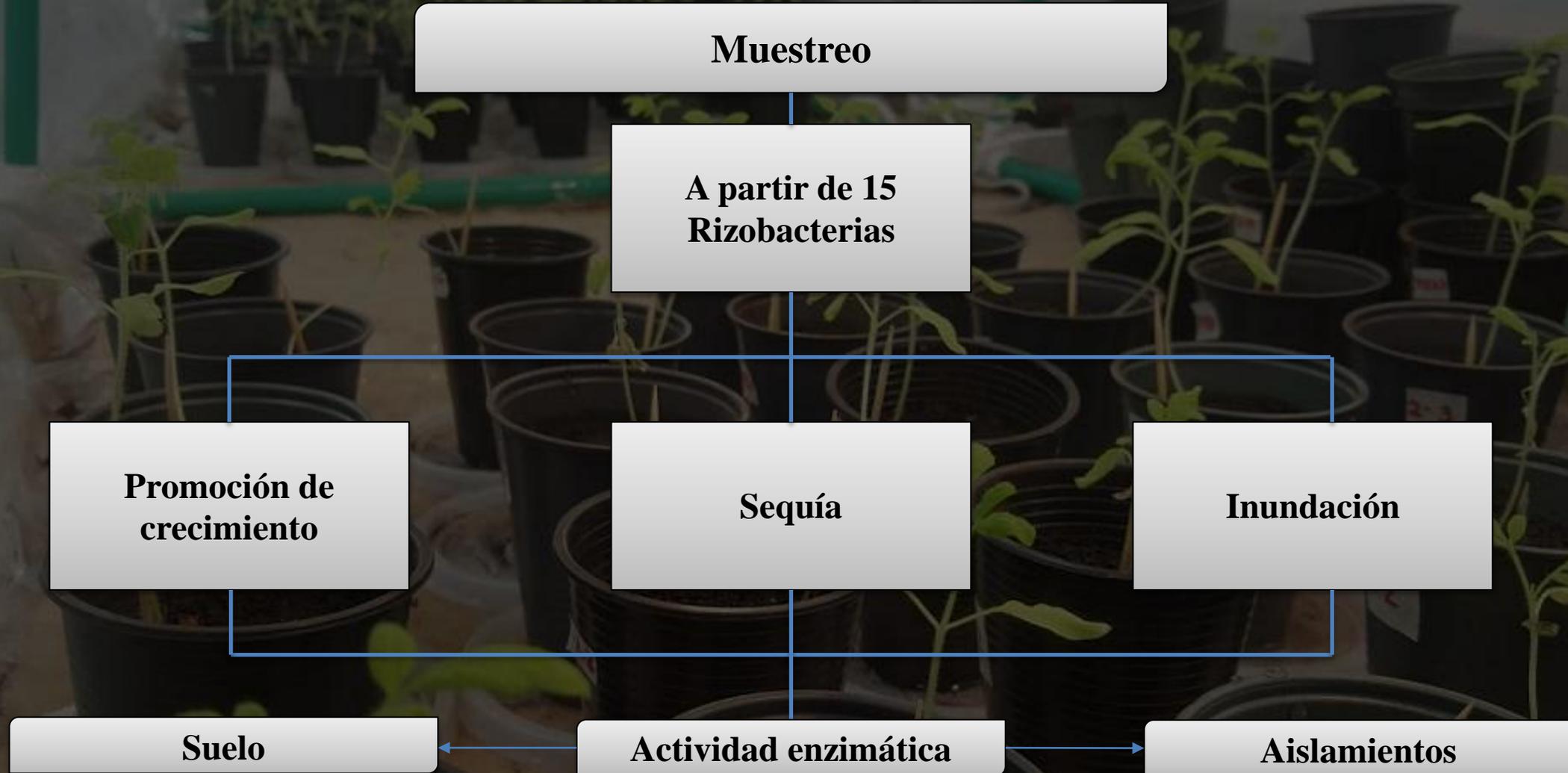
**Asesor externo
JAVIER VANEGAS GUERRERO**

**Asesor interno
VILMA YAMILE MARTINEZ GRANADOS**

Junio, 2019



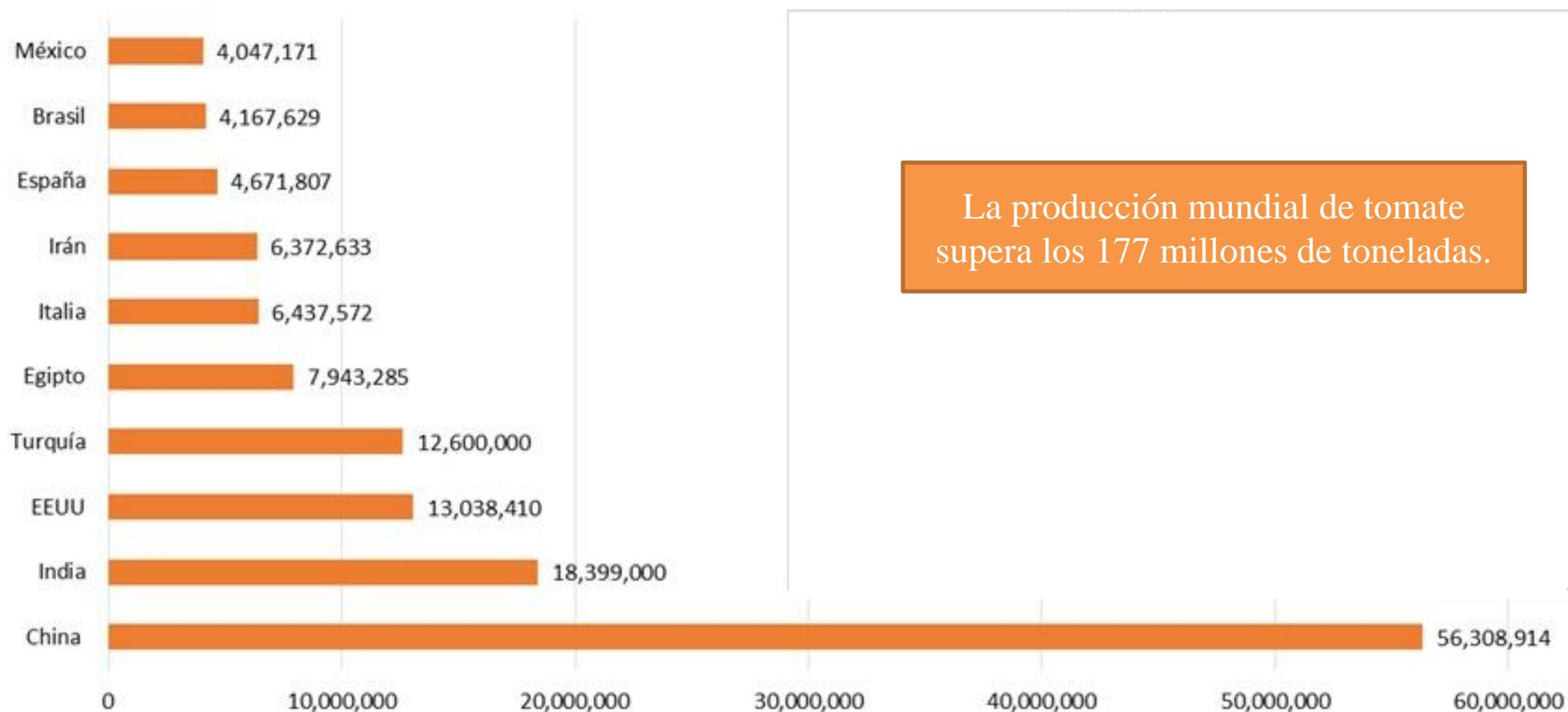
RESUMEN



- 
- Hortaliza de gran importancia a nivel mundial.
 - Asociado al retardo del envejecimiento.
 - Previene enfermedades cardiovasculares.

PRODUCCIÓN MUNDIAL

Fuente: Agrotendencia Junio 2019



TOMATE EN COLOMBIA



Colombia es el puesto No. 30 en la producción mundial de tomate

41 Ton/ha rendimiento promedio

15.538 Hectáreas de área cosechada

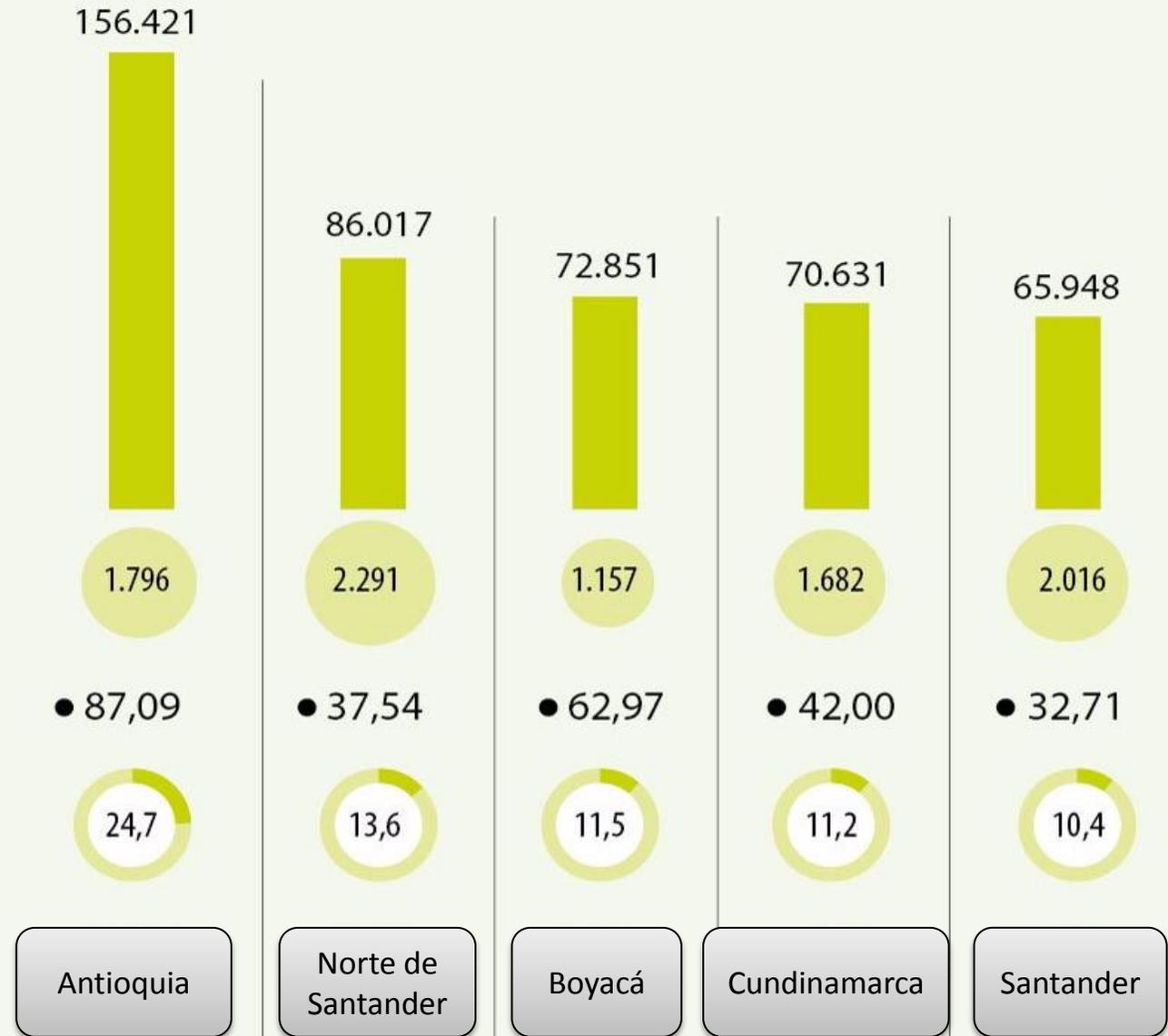
632.268 Toneladas (2017)



PRODUCCIÓN NACIONAL

Fuente: Agronegocios

LOS CINCO PRODUCTORES PRINCIPALES



TEMPORADA DE LLUVIAS

Fenómenos cada vez mas intensos fuertes vientos, granizadas y tormentas eléctricas.



Adaptabilidad de cultivos, preparación del suelo.



Precipitaciones por encima del 50% de lo normal.



Antioquia,
Cundinamarca,
Cauca, Nariño,
Santander y Valle del
Cauca.

TEMPORADA DE SEQUÍA

Cruce de fenómenos,
lluvias y sequías de
forma paralela.



Heladas que afectan
zonas rurales
Santander, Nariño,
Cauca, Antioquia y
zona cundiboyacense.



Colombia perdió
188.650 hectáreas de
bosques (2016)

EXCESO DE AGUA

- Asfixia radicular.
- Disminuye la tasa de crecimiento
- Daño en brotes
- Enfermedades como los hongos

AUSENCIA DE AGUA

- Reducción del crecimiento
- Disminuye la actividad fotosintética .
- Marchitamiento
- Daño en brotes



Mitigación de estrés por inundación en tomate

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

**Porcel et al
2014**

Bacillus megaterium aumenta la resistencia a plantas de tomate crecidas bajo el agua

**Saleem et al
2007**

PGPR con actividad ACC desaminasa eliminan los efectos del estrés hídrico en plantas de tomate inundadas.

**Khaliq et al
2013**

Las PGPR confieren resistencia al tomate bajo del riego continuo de aguas residuales

Mitigación de estrés por sequía en tomate

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

**Mayak et al
2007**

Achromobacter favorece crecimiento de tomate durante el estrés de sequía.

**Calvo et al
2016**

Rhizophagus sp y *Variovorax* sp mejoran el rendimiento de tomate en condiciones de sequía

**Wang et al
2012**

Bacillus cereus potencial biofertilizante y de tolerancia a la sequía en tomate.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la mitigación del estrés por sequía e inundación en plantas de tomate por rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.



A photograph of a greenhouse filled with rows of tomato seedlings in black plastic pots. The plants are young, with green leaves and thin stems. Some pots have small white labels with numbers like '2-2' and '2-3'. The background shows the structure of the greenhouse with white plastic covering and green support poles.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. **Seleccionar rizobacterias con actividad promotora de crecimiento vegetal** en plantas de tomate.
2. **Determinar el crecimiento** de plantas de tomate al ser inoculadas y sometidas a estrés de sequía e inundación, con y sin rizobacterias.
3. **Evaluar la actividad enzimática** en suelos inoculados.

METODOLOGÍA Y RESULTADOS

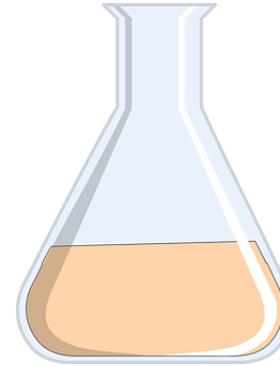
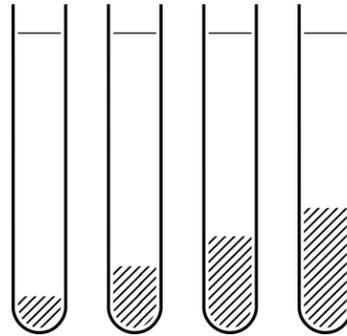


Metodología

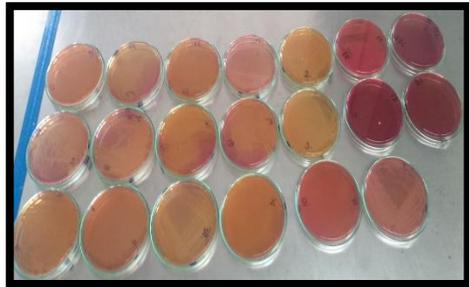
Tres plantas



10^{-2} 10^{-4} 10^{-6}



Medio Mínimo líquido
suplementado con
glicerol



Agar MacConkey

Medio sólido SRS

Medio semisólido NFB



Agar LB

Obj 1. Seleccionar rizobacterias con actividad promotora de crecimiento vegetal.

Metodología



Ajuste del Inóculo



Siembra de semillas de tomate



Raleo, trasplante e inoculación



Recolección de muestras

Parámetros de crecimiento

Longitud

Peso seco de vástago, raíz y total

Obj 1. Seleccionar rizobacterias con actividad promotora de crecimiento vegetal.

Obj 1. Caracterización de aislamientos a 42 y 30°C, ácido indolacético (AIA) y fluorescencia.

Aislamiento (42°C)	AIA	Fluorescencia	Aislamiento (30°C)	AIA	Fluorescencia
LZ2	+++	(-)	LZ22	+	(+)
LZ3	++	(-)	LZ25	(-)	(-)
LZ4	+++	(-)	LZ27	(-)	(-)
LZ5	++	(-)	LZ28	(-)	(+)
LZ6	++	(-)	LZ29	+++	(+)
LZ7	++	(-)	LZ30	+++	(+)
LZ10	+++	(-)	LZ54	(-)	(-)
LZ15	+	(-)	LZ57	(-)	(-)
LZ33	(-)	(+)	LZ59	+++	(-)
LZ38	++	(-)	LZ60	++	(-)
LZ40	+	(-)	LZ61	++	(-)
LZ50	+	(-)	LZ62	++	(-)
LZ33C	+	(-)	LZ63	++	(-)

(-): Negativo, (+) Positivo; + baja producción, ++ media producción, +++ alta producción, respecto a la producción de color generada al momento de aplicar reactivo de Salkowski.

Moustaine et al (2017)
AIA y PGPR en
tomate.

Kumar et al (2007)
Pseudomonas spp
Fluorescencia y PGPR,
en sorgo.

Obj 1. Efecto de la inoculación bacteriana sobre tomate.

Aislamientos	Longitud (cm)	Peso seco raíz (mg)	Peso seco Vástago (mg)	Peso seco Total (mg)
LZ59	15.33 (12.7%) cba	3.99 (749%) a	7.12 (11%) dcb	11.11 (62%) a
LZ4	16.05 (18.04%) a	1.85 (294%) fed	9.21 (44%) a	11.06 (61%) a
LZ29	14.45 (6.25%) fedcb	2.82 (499%) cb	6.68 (4%) dcb	9.5 (38%) ba
LZ38	13.81 (1.54%) fed	3.38 (619%) ba	5.99 (-6%) edc	9.37 (36%) ba
LZ6	14.07 (3.48%) fed	2.15 (356%) edc	7.21 (13%) dcb	9.35 (36%) ba
LZ3	14.96 (9.99%) dcba	1.29 (175%) gf	7.91 (24%) ba	9.2 (34%) ba
LZ2	14.81 (8.88%) edcb	1.76 (275%) fe	7.31 (14%) cb	9.07 (32%) ba
LZ61	15.63 (14.93%) ba	1.64 (249%) fe	7.38 (15%) cb	9.02 (31%) cba
LZ30	14.36 (5.57%) fedc	2.55 (443%) dcb	6.31 (-1%) edcb	8.86 (29%) cb
LZ7	13.89 (2.14%) fed	2.28 (386%) edc	6.57 (3%) dcb	8.85 (29%) cb
LZ10	13.59 (-0.06%) f	2.06 (338%) fedc	6.2 (-3%) edc	8.26 (20%) dcb
LZ5	14.61 (7.41%) fedcb	1.62 (244%) fe	6.56 (3%) dcb	8.18 (19%) dcb
LZ62	13.78 (1.35%) fed	1.8 (283%) fed	6.29 (-2%) edcb	8.09 (18%) dcb
LZ60	13.4 (-1.47%) f	2.07 (341%) fedc	5.56 (-13%) ed	7.64 (11%) dcb
C (-)	13.6 (0%) f	0.47 (0%) g	6.4 (0%) edcb	6.87 (0%) dc
LZ63	13.78 (1.31%) fed	1.41 (200%) fe	4.67 (-27%) e	6.08 (-12%) d

La selección de aislamientos productores de ácido indolacético fue exitosa para promoción de crecimiento.

(%): incremento porcentual relativo con respecto al control negativo, LSD: comparación de medias por la prueba de diferencias mínimas significativas. (la diferencia entre la media de los aislamientos no será significativa si los respectivos intervalos LSD se superponen) C (-) Control negativo, plántulas sin inocular.



Objetivo 2.

Obj 2. Determinar el crecimiento bajo estrés hídrico



Siembra de semillas de tomate



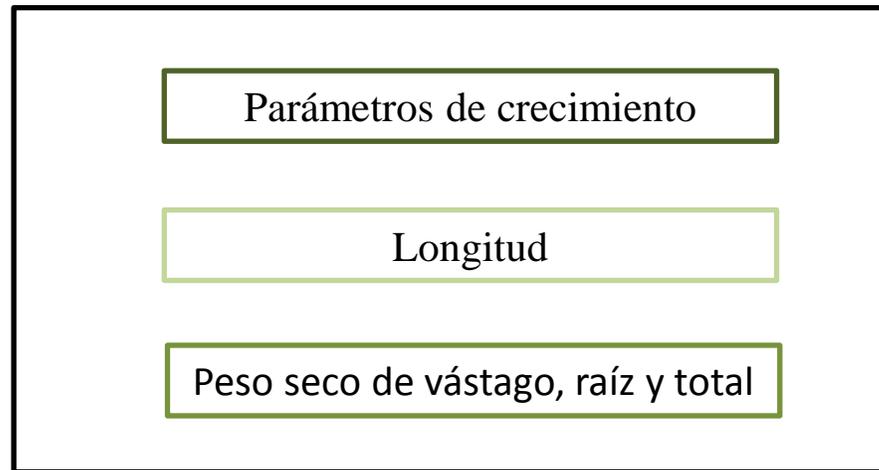
Raleo, trasplante e inoculación



30 días bajo inundación



30 días sin riego



Obj 2. Efecto de la inoculación frente al estrés por sequía en tomate.

Aislamientos	Longitud (cm)	Peso seco raíz (mg)	Peso seco Vástago (mg)	Peso seco Total (mg)
LZ6	18.4 (29%) a	9.1 (142.6%) a	55.28 (299.1%) a	64.38 (265.8%) a
LZ7	17.3 (21%) ba	7.84 (109.0%) ab	23.52 (69.8%) bc	31.36 (78.18%) cb
LZ62	17.26 (21%) ba	7.72 (105.8%) ab	17.66 (27.5%) bcd	25.38 (44.2%) dc
LZ63	15.96 (12%) dcb	5.9 (57.3%) abc	17.86 (28.9%) bcd	23.76 (35%) dc
LZ5	16.77 (18%) cba	5.72 (52.5%) abc	36.23 (161.5%) b	41.95 (138.3%) b
LZ29	18 (26%) a	5.58 (48.8%) abc	13.92 (0.5%) de	19.5 (10.8%) dc
LZ60	16.64 (17%) cba	5.44 (45.0%) abc	11.22 (-18.9%) e	16.66 (-5.3%) d
LZ61	18.2 (28%) a	5.06 (34.9%) bcd	14.94 (7.8%) de	20 (13.6%) dc
LZ10	17.5 (23%) ba	5.05 (34.6%) abcd	16.8 (21.3%) cde	21.85 (24.1%) dc
LZ38	17.82 (25%) a	4.97 (32.5%) abc	14.18 (2.3%) de	19.15 (8.8%) dc
C (-)	14.25 (0%) d	3.75 (0%) cd	13.85 (0%) de	17.6 (0%) dc
LZ4	17.76 (25%) ba	3.58 (-4.5%) d	22.86 (65.0%) bc	26.44 (50.2%) dc
LZ59	17.72 (24%) ba	3.38 (-9.8%) d	12.93 (-6.6%) de	16.32 (-7.2%) d
LZ2	14.96 (5%) dc	3.2 (-14.6%) d	13.34 (-3.6%) de	16.54 (-6.02%) d
LZ30	16.93 (19%) cba	2.2 (-41.3%) d	13.5 (-2.5%) de	15.7 (-10.8%) d

Jaleel et al (2007) *Pseudomonas*

Aislamientos seleccionados
para valoración de actividad
enzimática.

Obj 2. Efecto de la inoculación bacteriana frente al estrés por inundación en tomate

Aislamientos	Longitud (cm)	Peso seco raíz (mg)	Peso seco Vástago (mg)	Peso seco Total (mg)
LZ38	17.25 (24%)	5.65 (78%) a	12.78 (36%)	18.43 (47%)
LZ2	15.67 (12%)	5.6 (76%) a	12.06 (29%)	17.66 (40%)
LZ3	15.16 (9%)	5.03 (58%) ba	10.03 (7%)	15.05 (20%)
LZ4	15.6 (12%)	4.78 (50%) ba	14.3 (52%)	19.08 (52%)
LZ5	14.83 (6%)	4.48 (41%) cba	11.58 (23%)	16.05 (28%)
LZ7	15.64 (12%)	4.42 (39%) cba	9.37 (0%)	12.53 (0%)
LZ61	17 (22%)	4.4 (38%) cba	9.78 (4%)	14.18 (13%)
LZ6	14 (0%)	4.38 (38%) cba	10.22 (9%)	14.6 (16%)
LZ63	16.28 (17%)	4.25 (34%) dcba	11.7 (25%)	15.95 (27%)
LZ62	17 (22%)	4.05 (27%) dcba	11.05 (18%)	15.1 (20%)
LZ59	16.48 (18%)	3.83 (20%) dcba	9.27 (-1%)	13.1 (4%)
LZ29	15.63 (12%)	3.45 (8%) dcb	10.12 (8%)	13.57 (8%)
C (-)	13.95 (0%)	3.18 (0%) dcb	9.38 (0%)	12.57 (0%)
LZ30	15.98 (15%)	2.95 (-7%) dcb	8.63 (-8%)	11.58 (-8%)
LZ10	15.72 (13%)	2.4 (-25%) dc	7.96 (-15%)	10.36 (-18%)
LZ60	13.8 (-1%)	2.32 (-27%) d	7.02 (-25%)	9.33 (-26%)

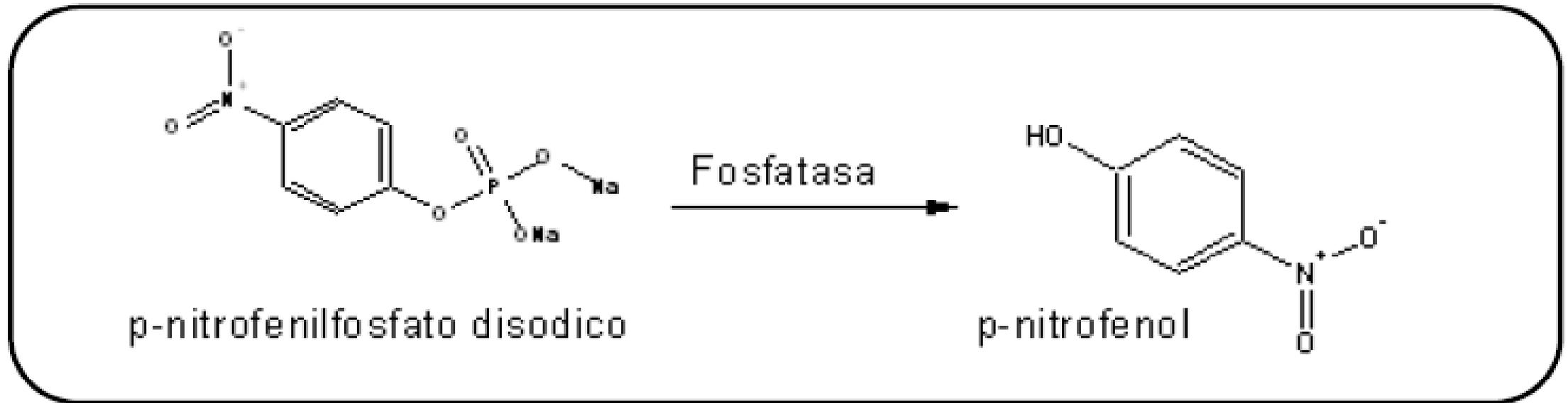
Mutumba et al (2010) *Bacillus sp*,

Los aislamientos promovieron el crecimiento en las plantas de tomate y mitigaron el estrés por sequía e inundación.

Objetivo 3.



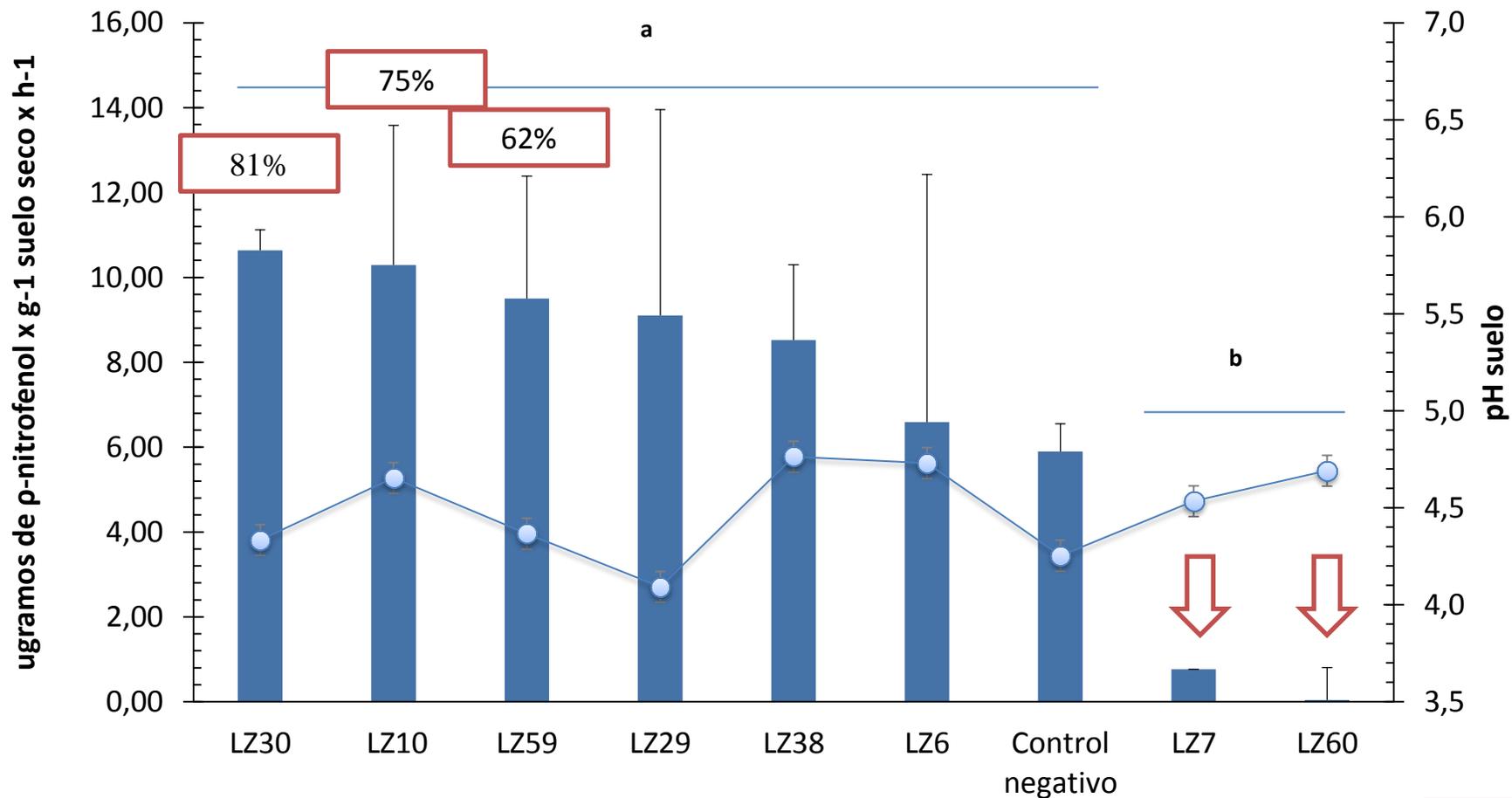
FOSFATASA ÁCIDA Y ALCALINA EN SUELOS



Adicionar 0.8 ml buffer MUB pH 6.5 o pH 11, para fosfatasa ácida o alcalina respectivamente.

Obj 3. Evaluar actividad enzimática.

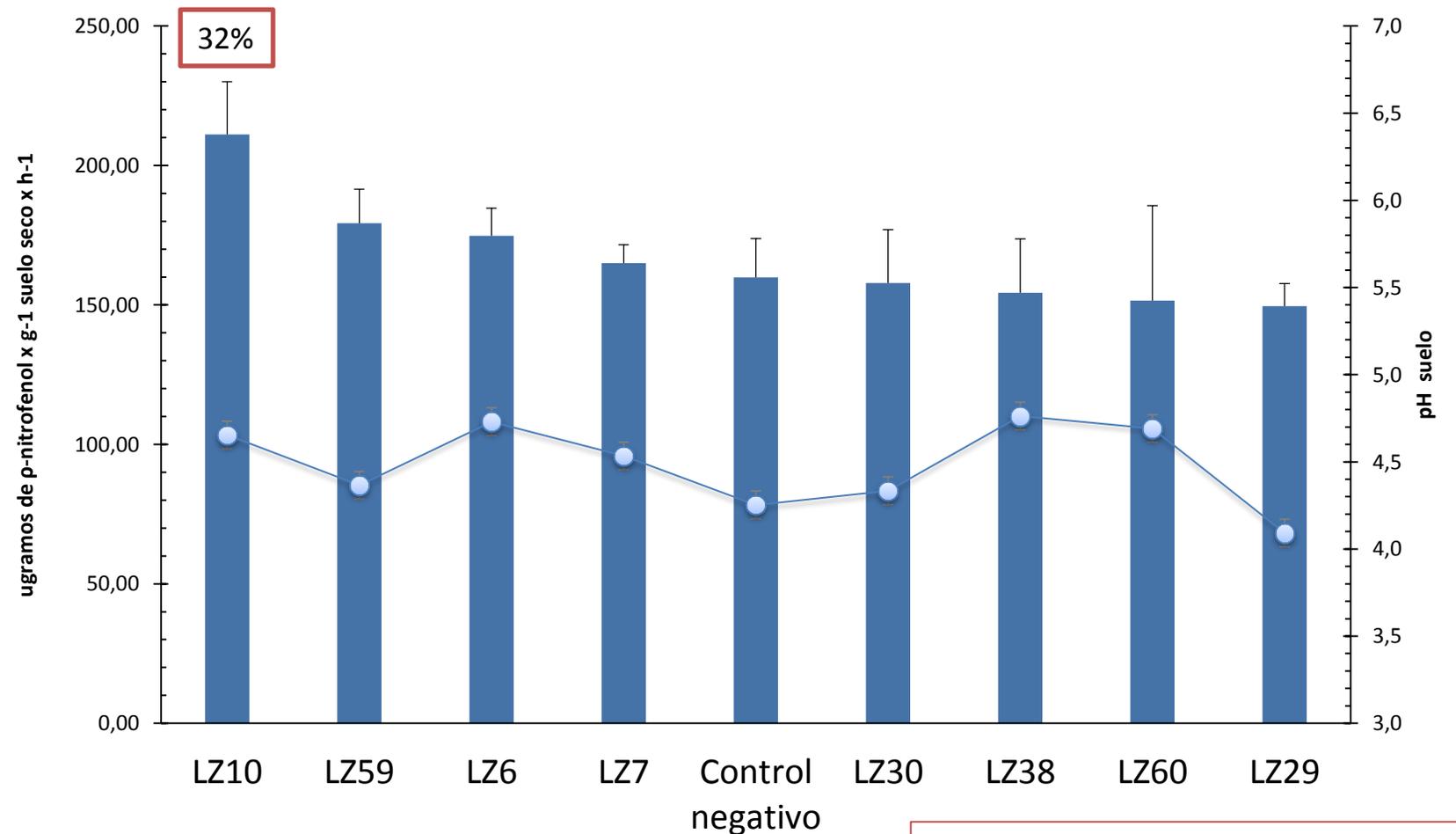
Obj 3. Actividad enzimática de Arilsulfatasa en suelos de **promoción de crecimiento**.



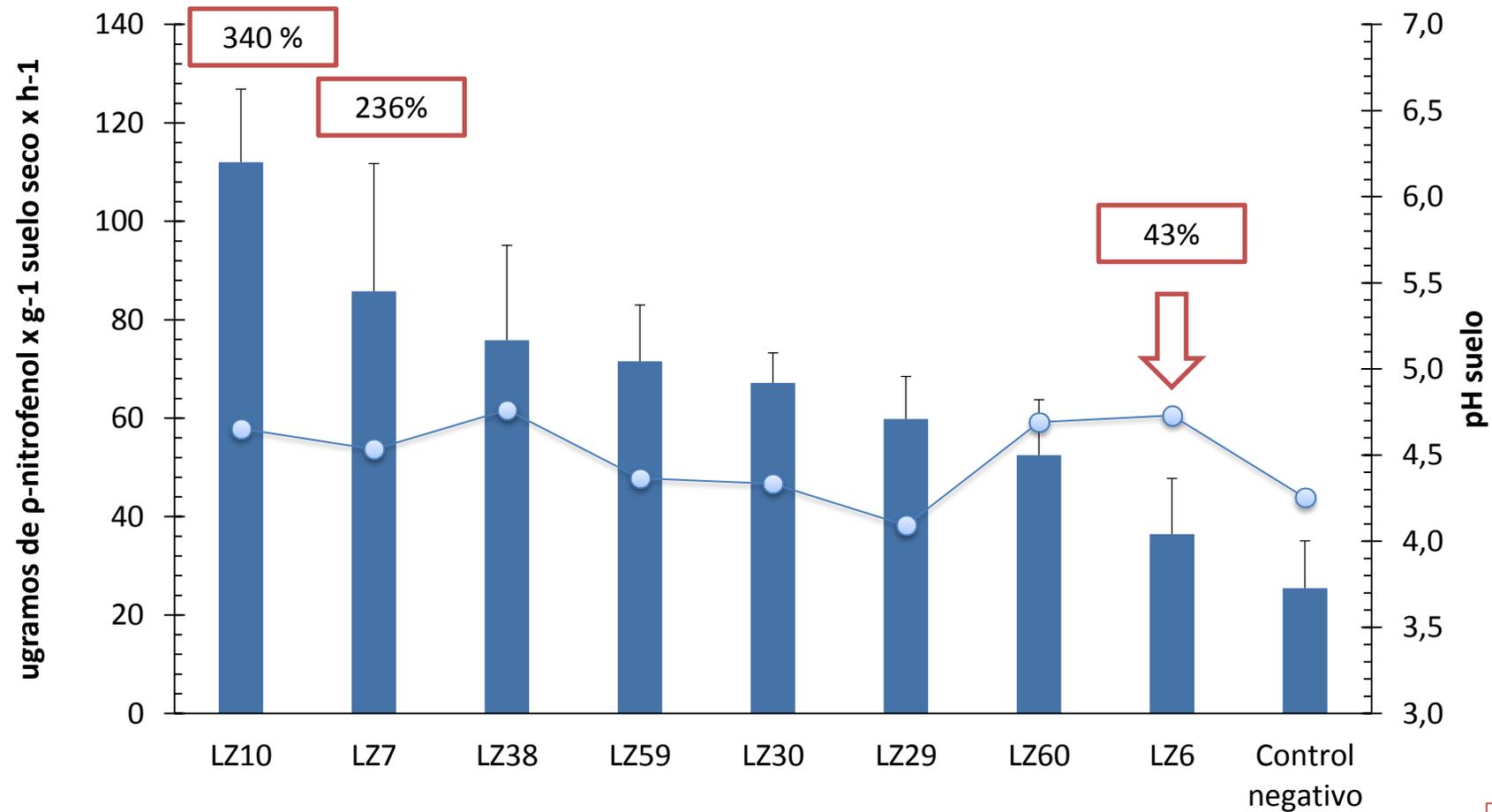
Grayston et al (2012)
 PGPR en canola mejora absorción por efectos de arilsulfatasa en suelo.

Obj 3. Actividad enzimática de Fosfatasa ácida en suelo de **promoción de crecimiento**.

Park et al (2010) actividad fosfatasa ácida en bacterias aisladas de tomate, es variable para géneros como *Pantoea* y *Enterobacter*.

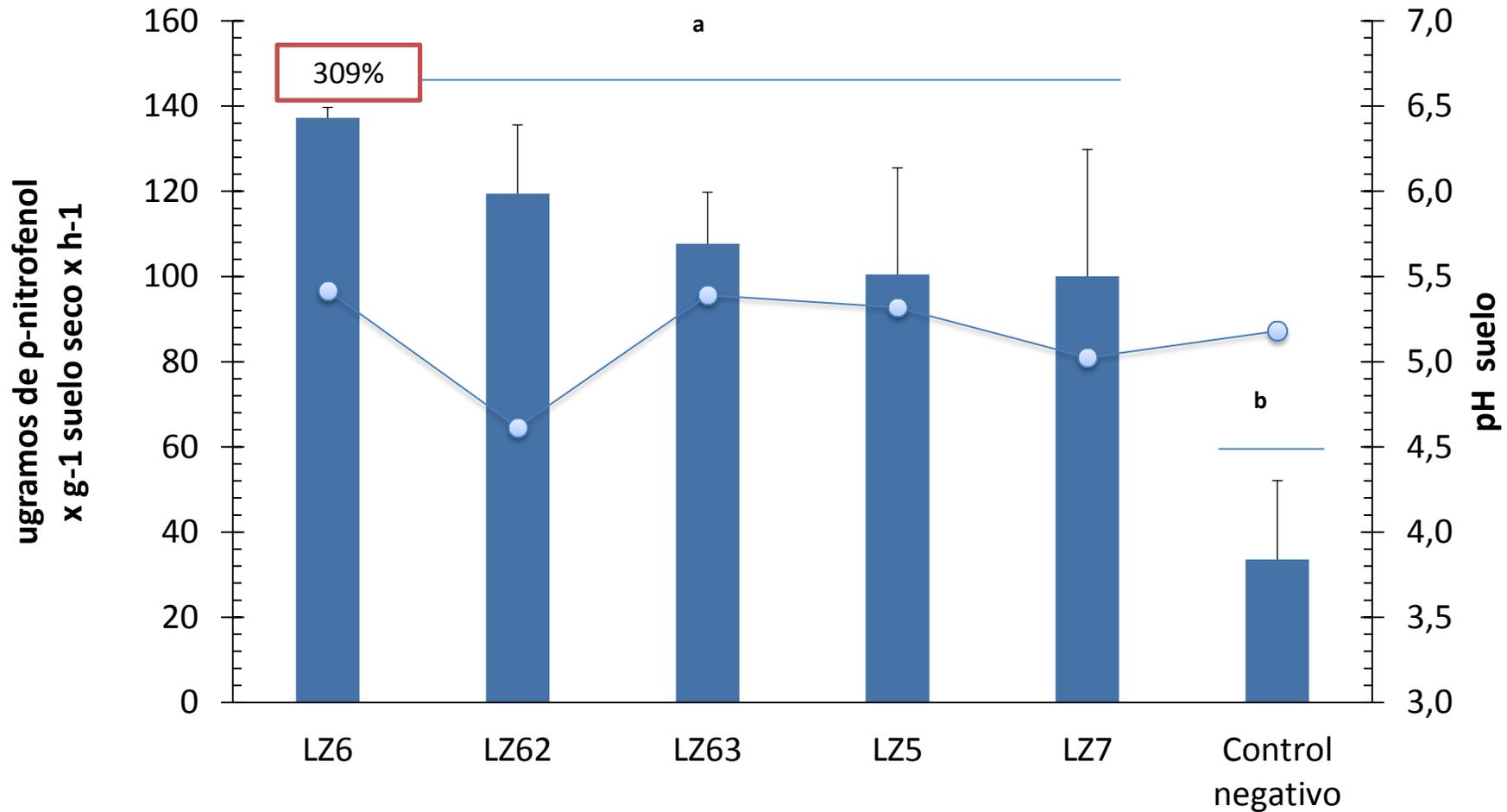


Obj 3. Actividad enzimática de fosfatasa alcalina para **promoción de crecimiento**.

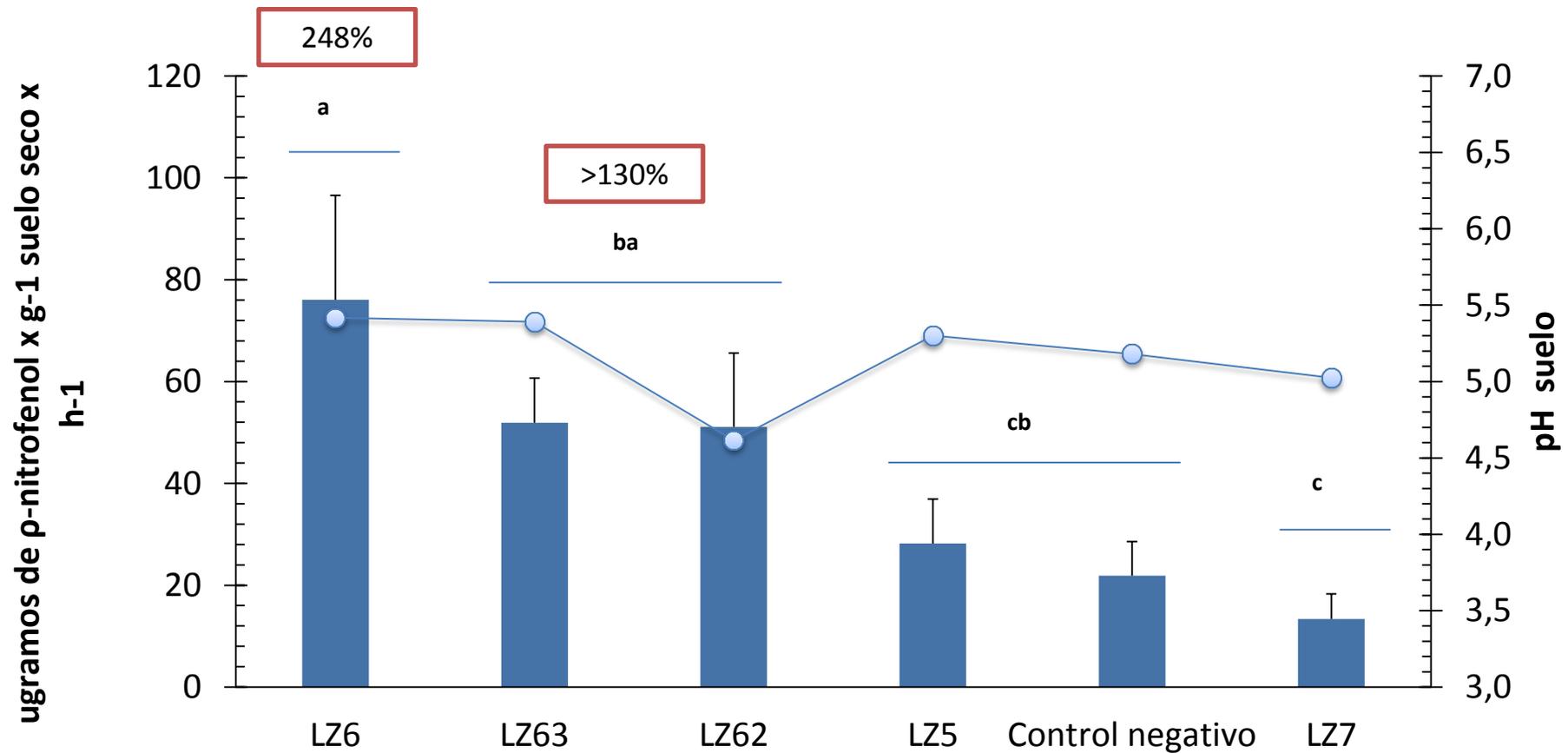


Banerjee et al (2010)
Arthrobacter sp. y *Bacillus sp.* como rizobacterias solubilizadoras de fosfato y potenciales PGPR.

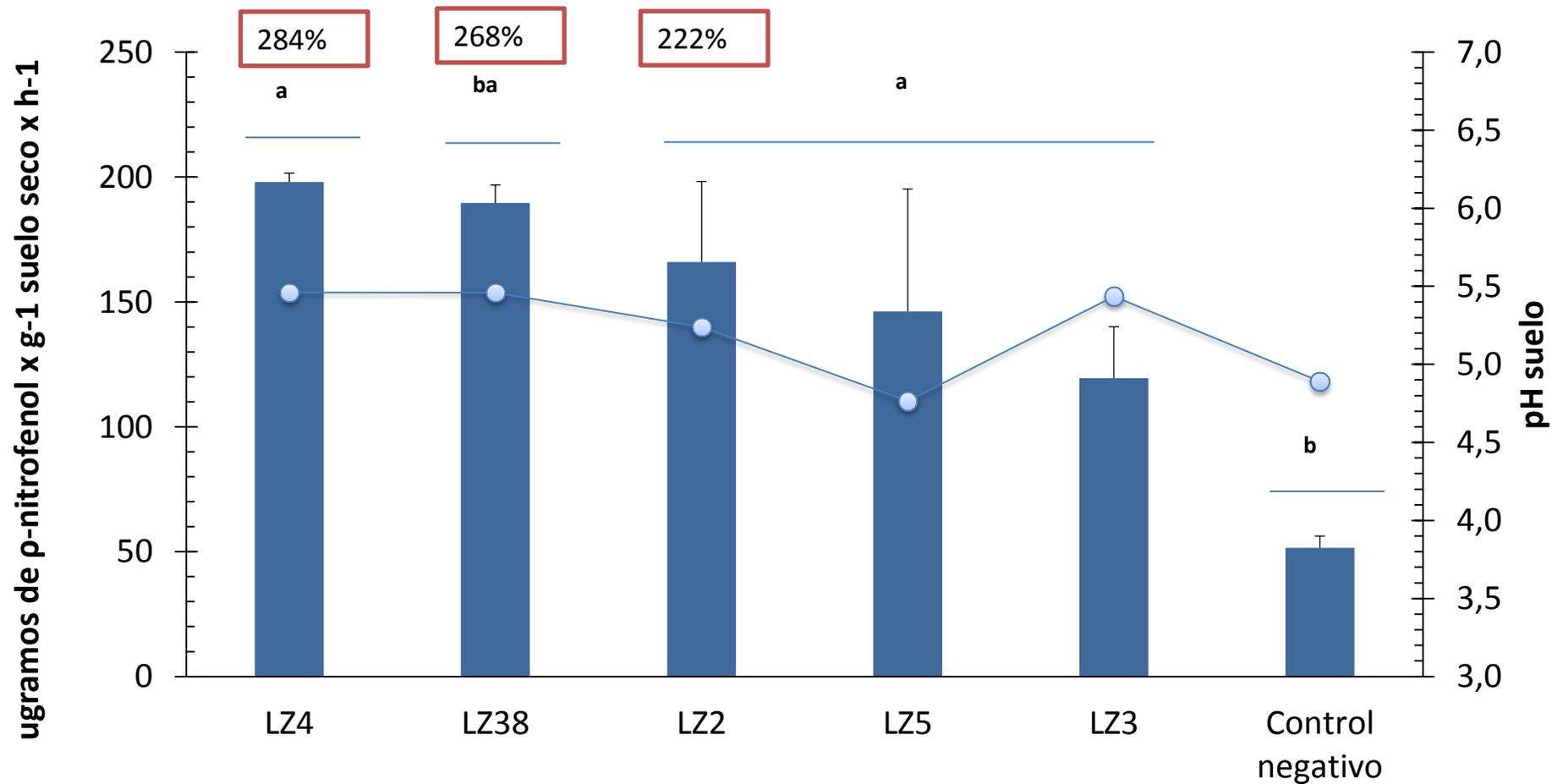
Obj 3. Actividad enzimática de fosfatasa ácida para estrés por sequía.



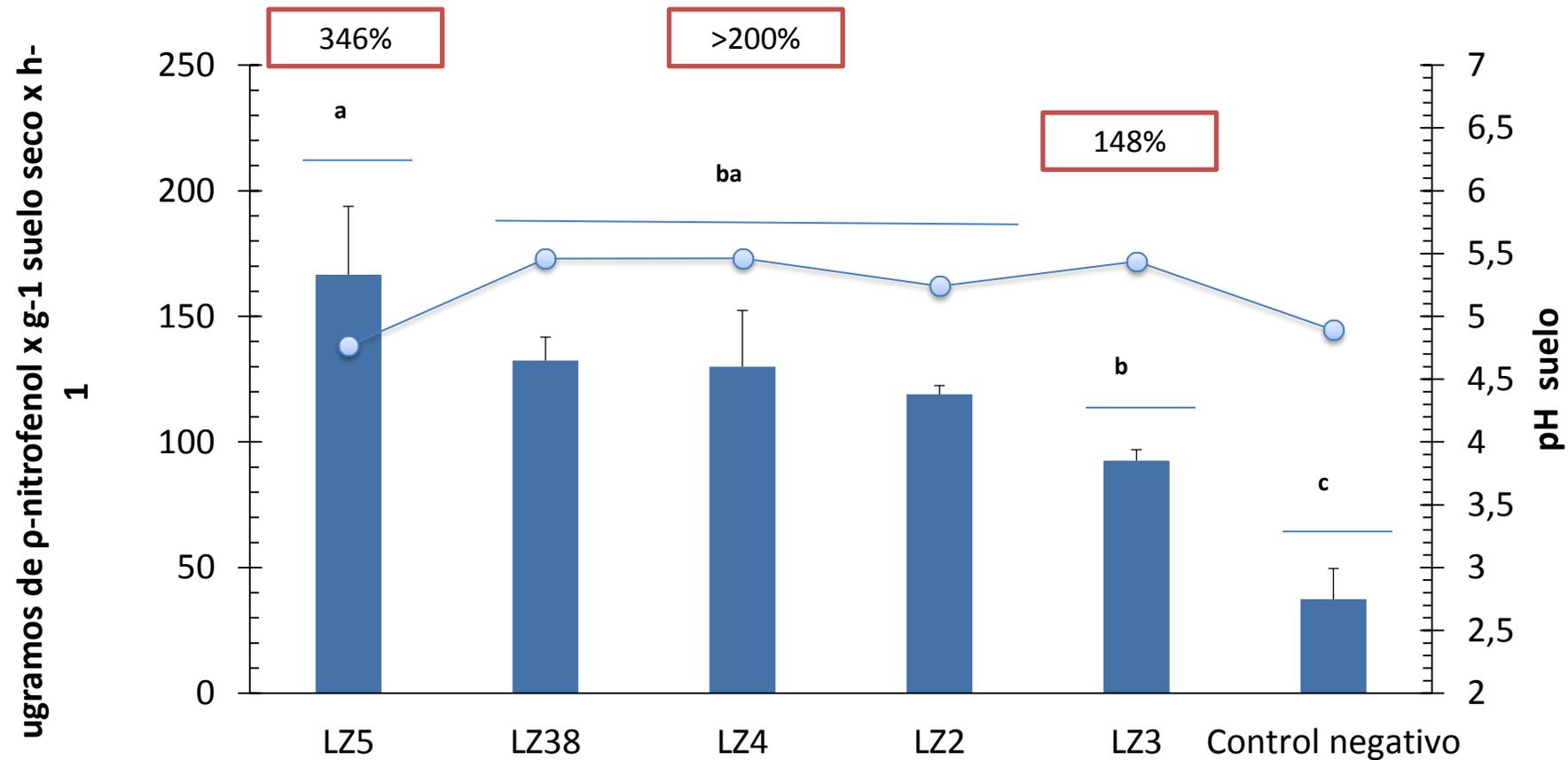
Obj 3. Actividad enzimática de fosfatasa alcalina para estrés por sequía.



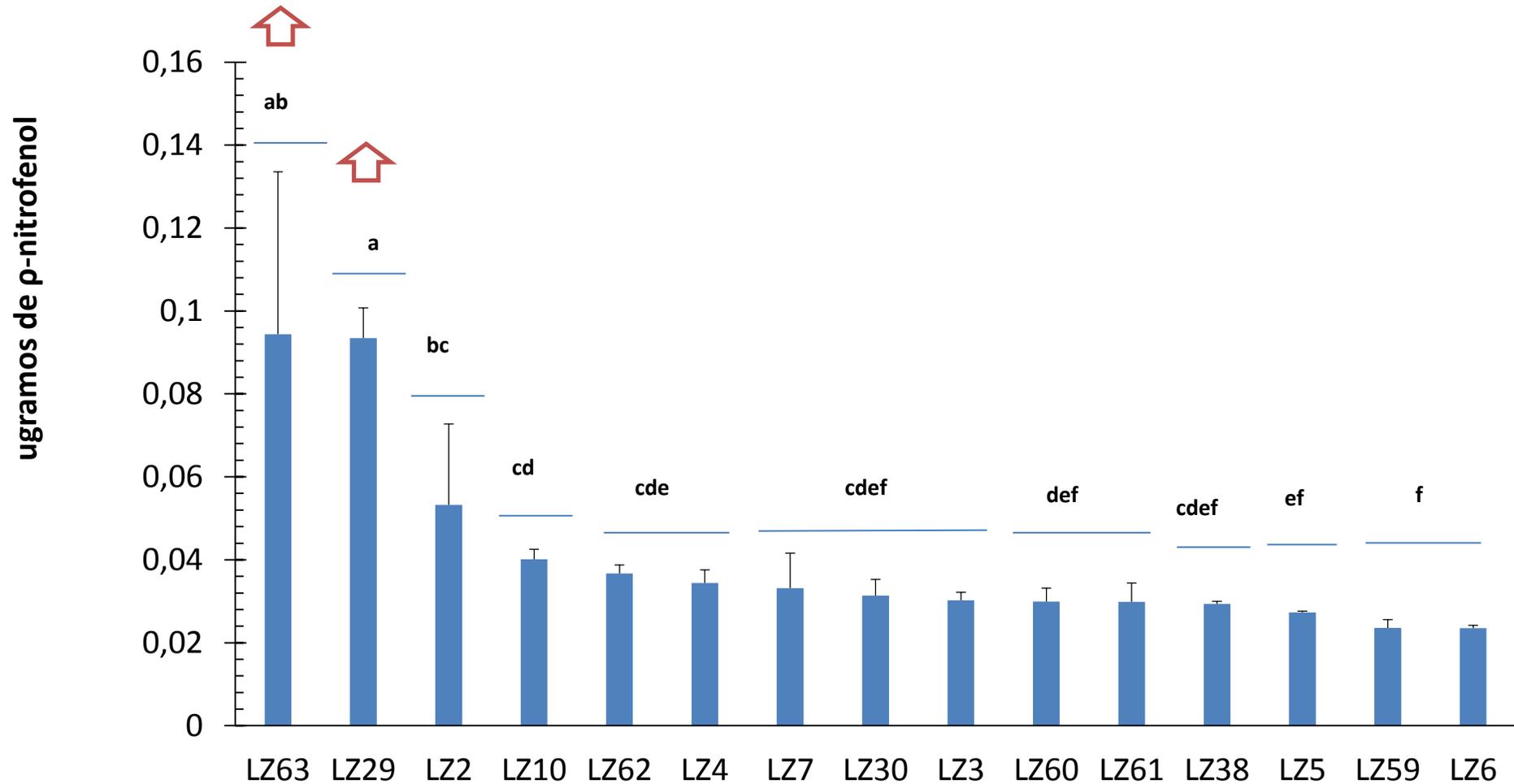
Obj 3. Actividad enzimática de fosfatasa ácida para estrés por inundación.



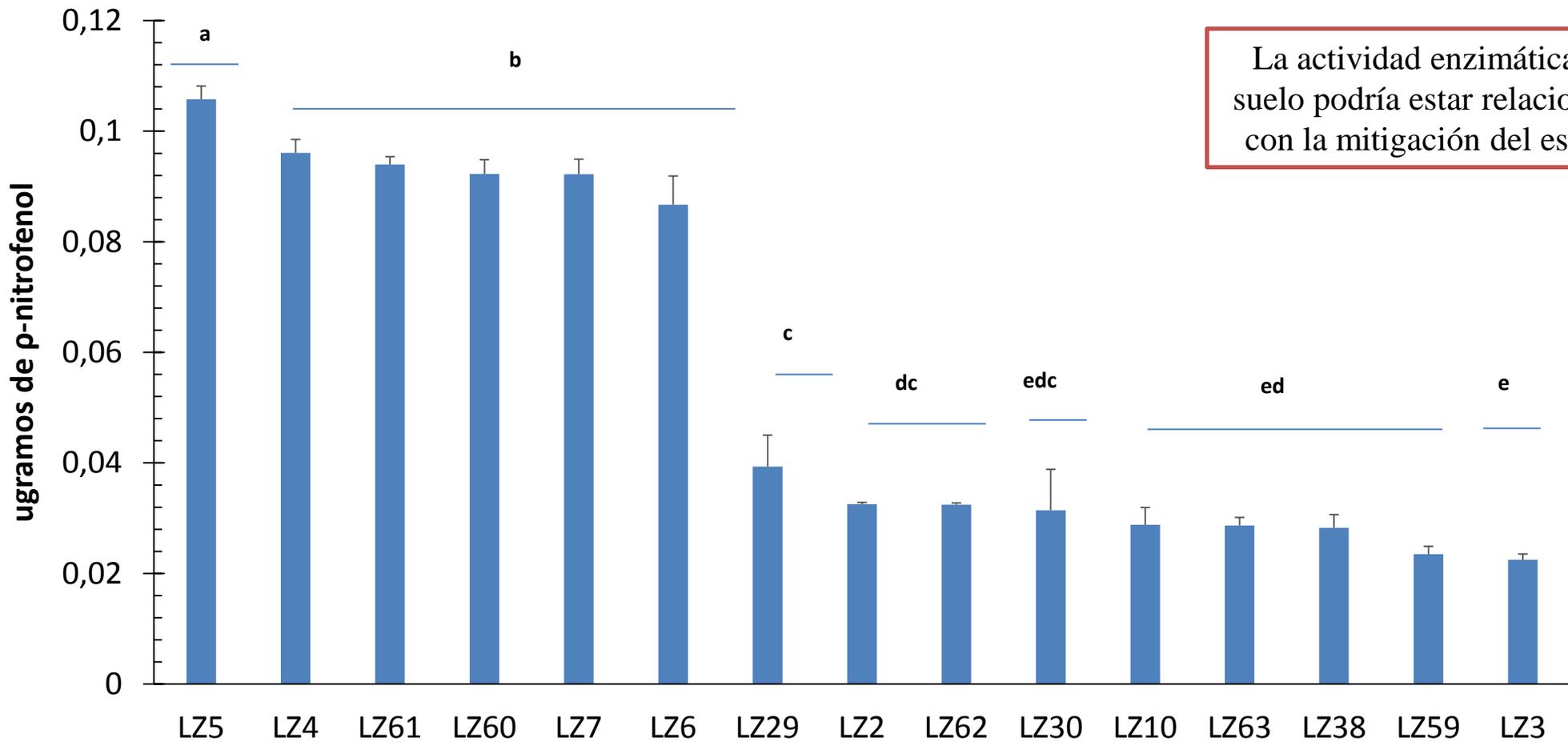
Obj 3. Actividad enzimática de fosfatasa alcalina estrés por inundación.



Obj 3. Actividad enzimática de Fosfatasa Alcalina para los aislamientos.



Obj 3. Actividad enzimática de Fosfatasa Ácida para los aislamientos.



La actividad enzimática en suelo podría estar relacionada con la mitigación del estrés.

CONCLUSIONES

1. Los aislamientos promovieron el crecimiento en las plantas de tomate y mitigaron el estrés por sequía e inundación.
2. La selección de aislamientos productores de ácido indolacético fue exitosa para la mitigación del estrés y promoción de crecimiento
3. La actividad enzimática en suelo podría estar relacionada con la mitigación del estrés.
4. Los aislamientos que generaron mejor respuesta frente a cada ensayo pueden brindar al agricultor alternativas que le permitan tener mayor rentabilidad de sus cultivos y menos efectos negativos al ambiente.



RECOMENDACIONES

- Evaluar los aislamientos en plantas de papa.
- Realizar secuenciación e identificación de cada uno de los aislamientos.
- Evaluar otras actividades enzimáticas.



AGRADECIMIENTOS

La **Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca** por brindarnos las herramientas y conocimientos necesarios para crecer como profesionales y la **Universidad Antonio Nariño** por permitirnos desarrollar nuestro trabajo de grado en sus instalaciones, y acogernos como uno más de sus estudiantes en cada uno de sus laboratorios.

El profesor **Javier Vanegas Guerrero** Dr. MSc, nuestro asesor externo por brindarnos la oportunidad de hacer parte de su equipo de trabajo, guiarnos y acompañarnos en cada uno de los procesos desarrollados en este trabajo.

Este trabajo fue financiado por el **Organismo Internacional de Energía Atómica - OIEA** mediante el **Acuerdo Regional de Cooperación para la promoción de la Ciencia y la Tecnología Nuclear en América Latina y el Caribe - ARCAL RLA 5078 “Mejora de las prácticas de fertilización en los cultivos mediante el uso de genotipos eficientes, macronutrientes y bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (ARCAL CLVII)”**

Thank You

