

PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO EN ESPECIES FORESTALES PARA SU ADAPTACIÓN Y REFORESTACIÓN

Sánchez-Vargas Mayra Vanesa (1), Hernández-Hernández Victoria (2) y Colli Mull Juan Gualberto (3)

1. Licenciatura en Biología, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato-Silao km 12.5. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, México. vanesitha_26@hotmail.com
2. Licenciatura en Biología, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato-Silao km 12.5. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, México. vhernandez@itesi.edu.mx
3. Licenciatura en Biología, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato-Silao km 12.5. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, México. jcolli@itesi.edu.mx

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de promoción de crecimiento de consorcios bacterianos (MSVC1 y MSVC2) generados por la confrontación de 86 aislados provenientes del Área Natural Protegida (ANP) Las Palomas, del estado de Guanajuato, se inocularon en especies forestales de Bosque Tropical Caducifolio. Así mismo se determinaron actividades de síntesis de Ácido Indolacético (AIA) y Solubilización de fosfatos de las cuales se obtuvieron resultados positivos para las dos pruebas. Los consorcios fueron evaluados por separado en bioensayos a nivel invernadero en las especies *Lysiloma microphyllum* (Palo Prieto) y *Albizia occidentalis* (Palo Blanco), en un diseño comparativo plantas con tratamiento con consorcio y plantas control sin inóculo, teniendo dos grupos de plantas, en el primer grupo se aplicó los dos consorcios y control, y en el grupo dos solo la aplicación de un consorcio y su control. Se determinaron variables como, tamaño de tallo, raíz, peso seco de las plantas después de 10 meses con los consorcios, obteniendo resultados significativos en la prueba estadística con el programa Minitab, entre las diferencias se observó con el consorcio MSVC1, mayor crecimiento de tallo, raíz y longitud de planta en *Albizia occidentalis* en comparación con *Lysiloma microphyllum* y tratamiento control.

ABSTRACT

In the present study we evaluated the capacity of plant growth promotion of bacterial consortia (MSVC1 and MSVC2) generated by the confrontation of 86 isolated from from the Natural protected Area (NPA) Las Palomas, of the State of Guanajuato, consortia was inoculated in Tropical deciduous forest species. Likewise are determined activities of synthesis of acid Indoleacetic (AIA) and solubilization of phosphates of which is obtained results positive for the two consortia. Consortia were evaluated in greenhouse bioassays in *Lysiloma microphyllum* (Palo Prieto) and *Albizia occidentalis* (Palo Blanco), a comparative design plants with treatment with Consortia and control plants without treatment, taking two groups of plants, in the first group inoculated the two consortia and control, and the group only two of a consortium and its control. Determined variables such as size of the stem, root, dry weight of the plants after 10 months with the consortia, obtaining significant results in the statistical test with the Minitab program, differences were observed with the MSVC1 Consortium, growing stem, root and length of plant in *Albizia occidentalis* compared to *Lysiloma microphyllum* and control treatment.

Palabras Clave

Bacterias; Rizosfera; Fabaceas; Bioensayos; Microbiología

INTRODUCCIÓN

Tras la germinación, las plántulas son individuos muy vulnerables que están expuestos a diversas amenazas bióticas como la herbivoría, competencia, alelopatía, y abióticas como la desecación del suelo, temperatura inadecuada y radiación los cuales limitan su adaptación y supervivencia. Esto provoca que solo una parte de los individuos consiga establecerse, y que la fase de plántula sea una etapa crítica en el ciclo de vida de una planta (5). La sobrevivencia de los árboles en los bosques incide en la relación que existe entre los contaminantes originados por el hombre y otros factores ambientales tensionantes (3). Así mismo la dinámica poblacional de la especie humana ha llevado a la explotación de los recursos naturales para cubrir sus necesidades (2). En los suelos existen una multitud de microorganismos benéficos o patógenos que interactúan en la raíz de las plantas. Entre los microorganismos benéficos se encuentran las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), las cuales favorecen el crecimiento de la planta mediante diversos mecanismos (7). En relación a lo anterior en el presente trabajo se llevó a cabo la evaluación de la promoción de crecimiento de especies forestales para obtener una mejor germinación, adaptación y sobrevivencia de las mismas con la implementación de consorcios bacterianos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de aislados

Los aislados de bacterias empleados en el presente estudio forman parte del Cepario regional de la Licenciatura de Biología del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Se trabajó con un total de 86 aislados provenientes del Área Natural Protegida "Las Palomas", éstos se encuentran conservados en glicerol al 25% a una temperatura de -80°C .

Reactivación y Confrontación

Los aislados fueron activados en medio LB líquido (5 mL), el cual se incubó a 28°C y en agitación durante 48 horas. Posteriormente del crecimiento, se realiza la centrifugación del cultivo a 4000 rpm por 5 min. Y el sobrenadante se desecha, se continúa con el lavado del cultivo con PBS.

La confrontación de los aislados se realizó en cajas Petri con medio LB sólido. Para la confrontación de dos aislados se colocó con una micropipeta 5 μl de la muestra del aislado ITCC 4 seleccionado de manera horizontal en la caja y 5 μl de la muestra del segundo aislado ITCC 7 de manera vertical, con las gotas formando una cruz (+) y para la confrontación en forma de asterisco (*) se utilizaron 3 aislados seleccionados del resultado de la primera confrontación, para determinar que los 3 aislados presentaran compatibilidad y no formaran un halo de inhibición, estos se dejaron en crecimiento por 24 hrs, para su observación.

Preparación del Inoculo e Inoculación

Los aislados seleccionados por sus características de interacción se estriaron en cajas de medio LB sólido por separado para tener su cultivo. Se tomó una muestra y se colocó en incubación por 24 hrs, en tubos de 5 mL de medio LB líquido. Posteriormente se prepararon matraces con un litro de medio LB líquido, se dejó en el agitador orbital (Shaker) por 72 hrs. Después se llevó a cabo una centrifugación y se hace un lavado con PBS. Posteriormente se hicieron diluciones seriadas 10⁻⁸ y se sembraron en cajas con medio LB sólido para así determinar las UFC. La evaluación de las unidades formadoras de colonias demostró que existían alrededor de 1×10^8 UFC por ml, por cada aislado utilizado en el bioensayo. La cantidad inoculada fue de un volumen de 321 mL en total y 3 mL por plantas.

Ensayos en Invernadero

Los bioensayos se realizaron en el invernadero ubicado en la estación biológica del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, para el crecimiento de las plántulas se utilizaron semilleros

y suelo “lama” previamente esterilizado como sustrato. Para su inoculación, se tuvieron 3 tratamientos, consorcio 1, consorcio 2 y control, los grupos de plantas destinadas para la prueba con consorcios fueron inoculadas con 3 mL.

Caracterización Bioquímica

Producción de auxinas, Acido indolacético (AIA) y Solubilización de Fosfatos

Se inoculó con cada uno de los aislados tubos de ensayo que contenían 5 ml de medio para determinación de auxinas y se incubaron en oscuridad y agitación constante por 72 horas, seguida a ello se reveló con la solución de Salkowsky (8).

Para la solubilización de fosfatos, se utilizó el medio de cultivo Pikovskaya (PVK) con modificación según Sundara Rao y Sinha (1963), se hicieron siembras de los aislados sobre placas de Petri de manera puntual (botón) sin picar el medio.

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza con una vía (Anova) y Prueba de T-Student, para los caracteres como el tamaño de las plantas, número de folíolos, tamaño de la raíz, tamaño de tallo y peso fresco en las plántulas control, consorcio 1 y consorcio 2, con el programa Minitab 17.3 (4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo la descripción botánica de las especies en el presente estudio, las cuales pertenecen a la familia Fabaceae, son *Albizia occidentalis* (Palo blanco) y *Lysiloma microphyllum* (Palo prieto), cada una de ellas teniendo descritas sus características más importantes para llegar a su identificación y distribución.

En cuanto a la confrontación de los aislados bacterianos, se obtuvo un resultado positivo, dando a conocer los aislados que presentaban una interacción, posteriormente obteniendo su cultivo. Los consorcios quedaron conformados de la siguiente manera: Consorcio No.1 (MSVC1); ITCC 4, ITCC 7, ITCC 37 y Consorcio No. 2 (MSVC2); ITCC 11, ITCC 15, ITCC 18.

Por otra parte en las pruebas bioquímicas realizadas, se logró tener los siguientes resultados.

Auxinas, Ácido Indolacético (AIA): Las pruebas bioquímicas para síntesis de Ácido Indolacético (AIA) realizadas a los 6 aislados de nuestros consorcios mostraron que tienen una actividad positiva a la síntesis de AIA, al presentar reacción con el revelador de Salkowski, (*Tabla 1*), el método es colorimétrico lo cual genera una coloración que va de la gama de los rosados a los fucsia (*Celis et al*, 2008) y esto nos da a conocer que existe presencia de síntesis de AIA, para comparar se colocó un control.

Solubilización de fosfatos: Las pruebas bioquímicas para solubilización de fosfatos, fueron positivas para cada uno de los aislados (*Tabla 1*), esto al presentar halos de solubilización que evidencian por la acidificación del medio Pikovskaya que contiene fosfato tricálcico (TCP).

Tabla 1. Actividad positiva de los 6 aislados ante la prueba de AIA y solubilización de fosfatos.

| Aislado | Auxinas | Solubilización de Fosfatos |
|---------|---------|----------------------------|
| ITCC 4 | + | + |
| ITCC 7 | + | + |
| ITCC 37 | + | + |
| ITCC 11 | + | + |
| ITCC 15 | + | + |
| ITCC 18 | + | + |

Trasplante de plantas en el invernadero

Las plantas se obtuvieron a partir del proyecto de tesis en proceso, “Germinación y sobrevivencia de especies arbóreas del Bosque Tropical Caducifolio inoculados con consorcios bacterianos”. Las semillas germinaron a las dos semanas e inicio el

desarrollo de la plántula, las cuales el estudio se llevó a cabo después del trasplante a semilleros.

Las plantas de un mes de edad se inocularon con los consorcios MSVC1 y MSVC2, observando diferencias en el crecimiento de estas, las plantas inoculadas con los consorcios presentaron mayor número de ramificación en el follaje y mayor tamaño de la raíz de las plantas control y/o testigo. Al concluir el experimento se obtuvieron plantas de 10 meses de *Albizia occidentalis* y *Lysiloma microphyllum*.

Para su evaluación del efecto del consorcio en comparación del control se tomaron datos como

Para el parámetro de tallo en *Albizia occidentalis* a los 10 meses obtuvo un mayor crecimiento siendo el consorcio 1 el que presentó más promoción de crecimiento en la especie en comparación con *Lysiloma microphyllum*, donde se obtuvo crecimiento pero en menor rango de diferencia con la aplicación de los consorcios. En raíz, *Albizia occidentalis* a los 10 meses de igual manera presentó mayor diferencia significativa en el crecimiento observándose que de los tratamientos el consorcio 1 fue el de mayor diferencia (Figura 1A), para *Lysiloma microphyllum* se obtuvo mínimo crecimiento sin embargo no presentó diferencias significativas con los consorcios (Figura 1B). En

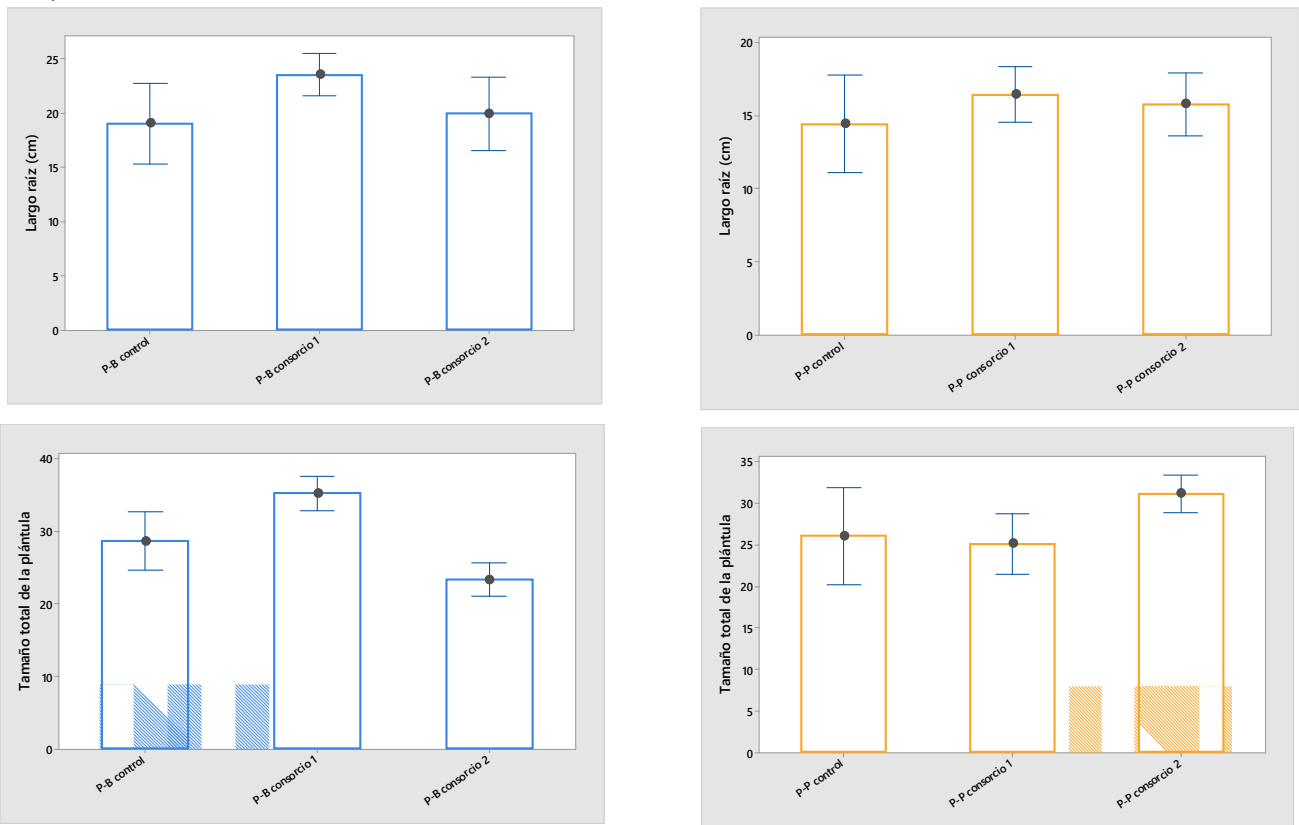


Figura 1. Promoción de crecimiento. A. Largo de raíz *Albizia occidentalis*, B. Largo de raíz *Lysiloma microphyllum*, C. Longitud total de planta *Albizia occidentalis*, D. Longitud total de planta *Lysiloma microphyllum*.

son el tamaño de tallo, raíz, longitud total de la plántula, peso fresco y número de hojas que presentaban. Teniendo así algunos de los siguientes resultados en los tratamientos estadísticos.

Longitud de la planta, *Albizia occidentalis* presentó diferencias significativas con la aplicación de consorcio 1 (Figura 1C), en cambio *Lysiloma microphyllum* el consorcio 2 fue el que presentó mayor crecimiento (Figura 1D). En cuanto al número de hojas, *Albizia occidentalis* presentó crecimiento favorable con el consorcio 1. En el caso

de *Lysiloma microphyllum*, la prueba Anova tampoco dio un resultado significativo en las diferencias del tratamiento, sin embargo de los tres tratamientos el consorcio 1 tuvo más diferencias.

Se observó diferencias en la prueba entre las plantas inoculadas y en las plantas control en cuanto a su tamaño de tallo, raíz, longitud total de la planta y número de hojas, teniendo un resultado positivo en los parámetros con aplicación de los consorcios, lo que nos pone a pensar que la aplicación de un consorcio al tener interacción de varias bacterias ayudan a un mejor desarrollo de la planta como es mencionado en su trabajo (1), además La familia *Leguminosae* o fabaceae presenta asociación con la bacteria *Rhizobium* y la formación de nódulos para la fijación de nitrógeno atmosférico en las raíces de las plantas (6); en el taxón *Albizia occidentalis* se observó la formación de nódulos en plantas con edad de 10 meses.

La promoción del crecimiento en las especies, se obtuvo con el empleo del consorcio 1 en su mayoría, sin embargo la promoción no actuó de igual manera en las dos especies ya que en *Albizia occidentalis* se observó más favorable al empleo de los consorcios en comparación con *Lysiloma microphyllum* donde su crecimiento fue mínimo, se comenta que esto podría ser causa por la adaptación e interacción de cada especie ante las bacterias, actividad enzimática del suelo, etc (1).

CONCLUSIONES

De acuerdo a la confrontación realizada se lograron generar 2 consorcios bacterianos cada uno de ellos conformados por 3 aislados que presentaron compatibilidad. Así mismo los 6 aislados que conforman los dos consorcios dieron un resultado positivo a la producción de Auxinas, ácido indolacético (AIA), y son potenciales a la solubilización de fosfatos, características importantes que favorecen la nutrición y desarrollo de la planta. En el estudio se obtuvo que la especie *Albizia occidentalis* fue la que presentó mayor diferencias en cuanto a variables medidas.

REFERENCIAS

- [1] Avellaneda Torres, Lizeth Manuela; Melgarejo Muñoz, Luz Marina; Narváez Cuenca, Carlos Eduardo; Sánchez Nieves, Jimena. (2012). Actividades Enzimáticas en Consorcios Bacterianos de Suelos Bajo Cultivo de Papa con Manejo Convencional y Bajo Pastizal. Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín, 65(1), pp.
- [2] Camelo R.M., Sulma P. Vera M., y Bonilla. R.R., (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 12(2), 159-166.
- [3] Granados Sánchez D., López Ríos G. F., (2001.). Declinación forestal. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 7(1), 5-13
- [4] Marín Fernández Josefa. 2010. Manual de prácticas con Minitab 15. Departamento de estadística operativa, Universidad de Murcia
- [5] Padilla Ruiz F. M. (2008). Factores limitantes y estrategias de establecimiento de plantas leñosas en ambientes semiáridos. Implicaciones para la restauración. Ecosistemas 17 (1): 155-159
- [6] Paredes, M. C. (2013). Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/fijacion-biologica-nitrogeno-leguminosas.pdf> [Fecha de consulta: 29 de mayo de 2016]
- [7] Sarabia Ochoa M. et al. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. 12(1): 65-71.
- [8] Sarwar, M., & Kremer, R. (1995). Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. Letters in Applied Microbiology, 282-285.