



www.grupocalesa.com



II Simposio Científico CINAP

USO DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL COMO ALTERNATIVA AL USO DE FERTILIZANTES QUIMICOS EN LA AGRICULTURA EN PANAMA.

Prudencia Guevara, Heidi Hernández, Silvia López, Ángela Fuentes, Yumelis Saavedra, Iroel Rodriguez, Abby Guerra.

Gerencia de Operaciones Agrícolas
Gerencia de Campo
Departamento de Agronomía
Laboratorios de Biotecnología

Octubre 2022



INTRODUCCIÓN

Los microorganismos benéficos poseen propiedades de promotores del crecimiento vegetal, fijación biológica de nitrógeno, inducción de resistencia sistémica adquirida y antagonismo contra fitopatógenos.

Actualmente se conocen cerca de 300,000 especies de plantas en el planeta y se piensa que cada planta puede hospedar una o mas especies de bacterias endófitas, **Almeida, 2011**.

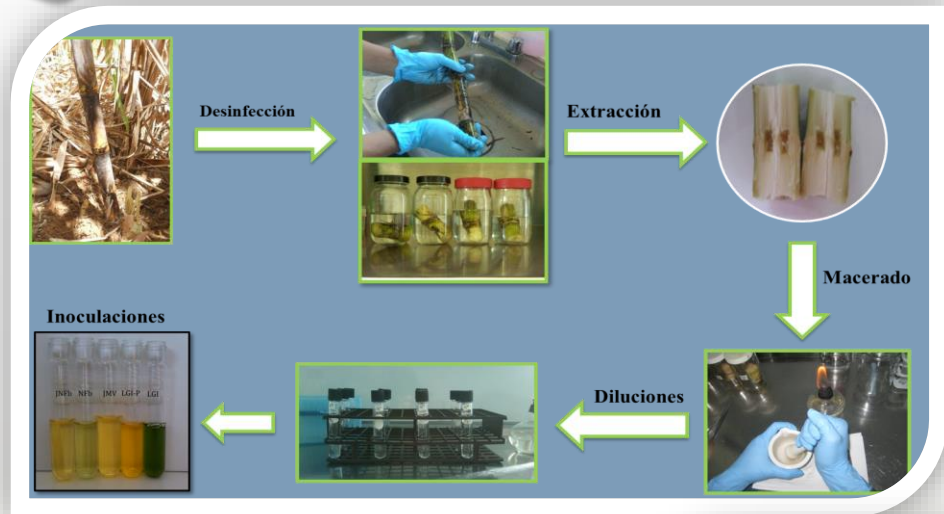
Las bacterias endófitas son reconocidas como aquellos organismos que residen en tejidos de las plantas, principalmente espacios intercelulares, raramente en espacios intracelulares y dentro de tejidos vasculares sin causar síntomas de enfermedad en la planta (**Bacon y White, 2000**).

El objetivo de este estudio fue aislar e identificar bacterias endófitas provenientes de diferentes tejidos de caña de azúcar, para el desarrollo de un bioproducto a través de inoculaciones y evaluaciones tanto en invernadero como en campos comerciales.

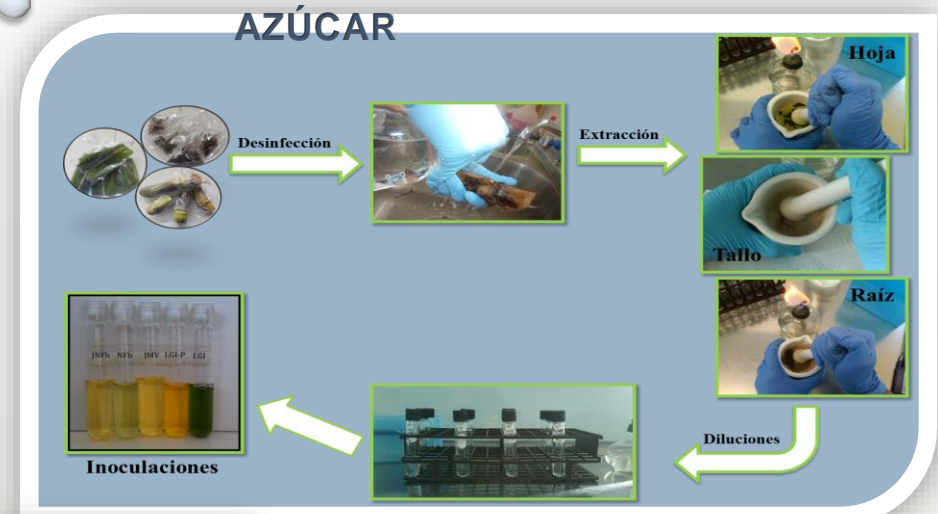
MATERIALES Y MÉTODOS

AISLAMIENTO DE BACTERIAS ENDOFITAS DE LA CAÑA DE AZÚCAR

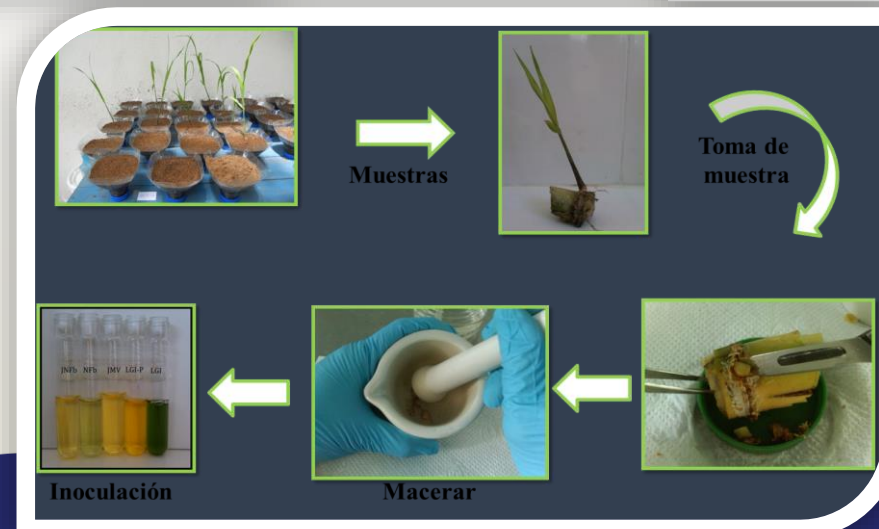
1. NUDOS Y ENTRENUDOS



2. TEJIDOS DE CAÑA DE AZÚCAR



3. YEMAS GERMINADAS



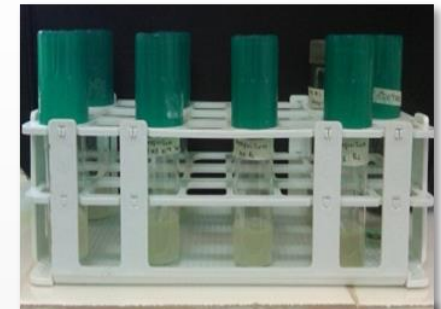
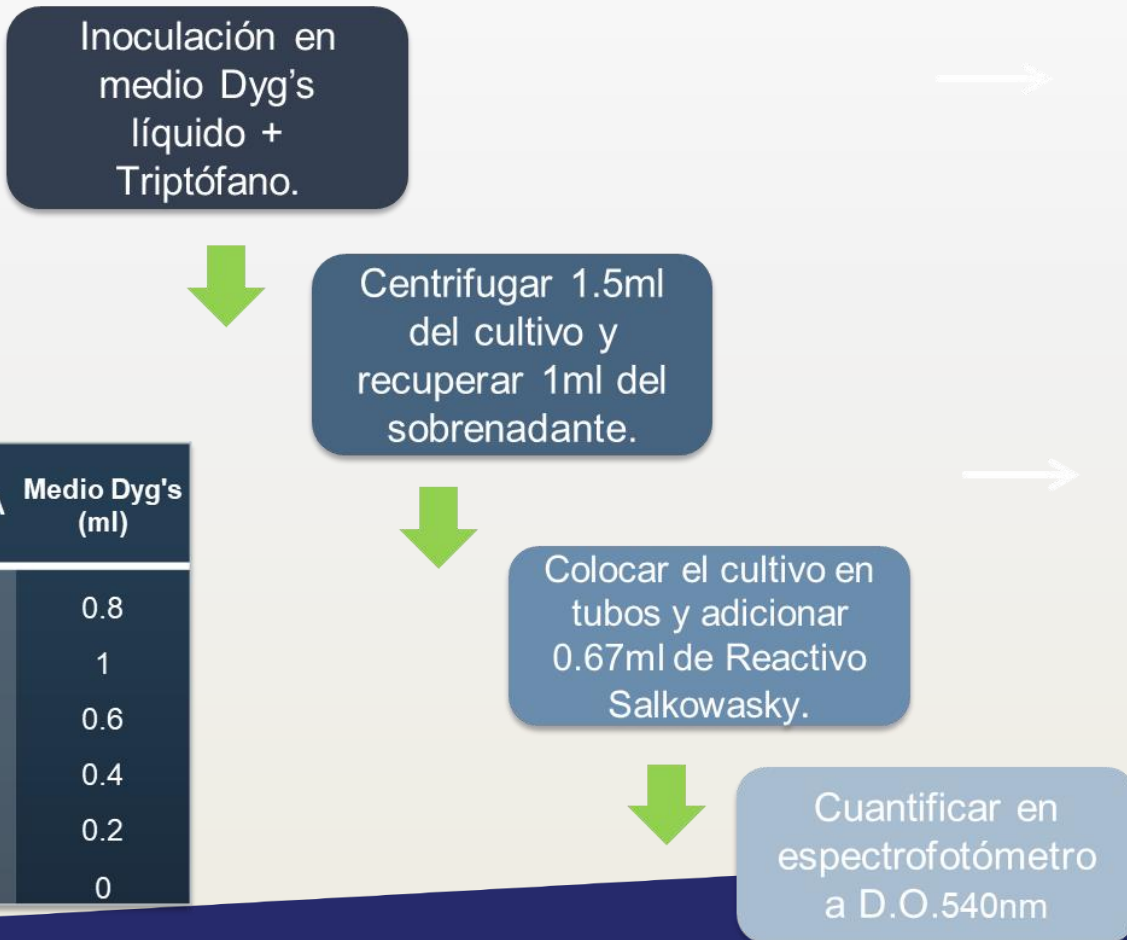
MATERIALES Y MÉTODOS

Pruebas

Determinación de la concentración de AIA

Curva de calibración, a partir de 2 soluciones patrón de ácido indol acético (A=875 μ M y B=87.5 μ M). Para esto se determinó la absorbancia a 540 nm y colorimetría a partir del reactivo Salkowasky (Salkowaski 1889).

Soluciones	Concentración n (μ M)	Solución Patrón de AIA (ml)	Medio Dyg's (ml)
A	175.06	0.2	0.8
	0	0	1
B	35.01	0.4	0.6
	52.52	0.6	0.4
	70.03	0.8	0.2
	87.53	1	0



MATERIALES Y MÉTODOS

Pruebas

Solubilización de Fosfato

Cultivo Puro en medio sólido Dyg' s

Medio sólido



Medio líquido



Inocular en medio líquido Dyg' s

Con la ayuda de un palillo de dientes inocular en medio NBRIP

Inoculación en medio NBRIP

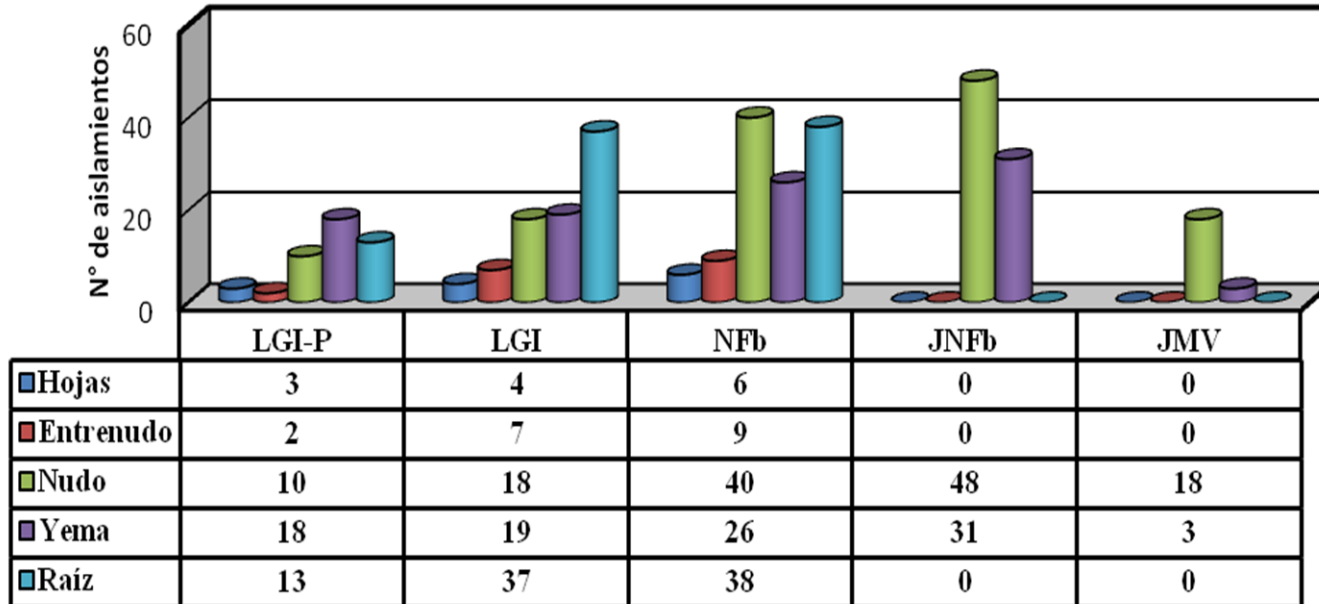
Incubar a 30°C por 5 días.



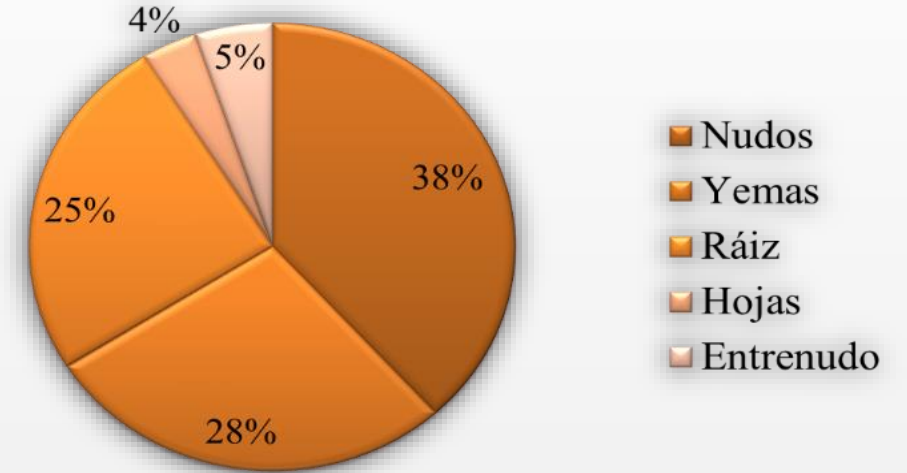
RESULTADOS

Aislamientos positivos obtenidos en diferentes medios de cultivos a partir de tejidos de caña de azúcar

AISLAMIENTOS POSITIVOS POR MEDIO DE CULTIVOS



350 aislados totales



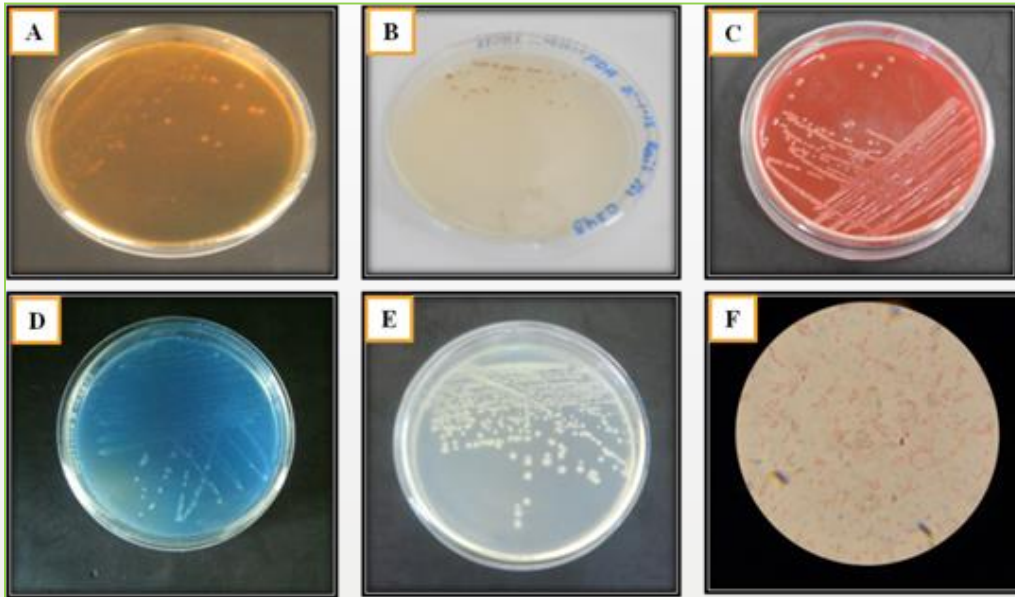
Porcentaje de Muestras Positivas por tipo de Tejidos

Del total de muestras procesadas, las muestras de nudo de caña de azúcar se obtuvo el mayor porcentaje de aislados (38%).

66% de nudos y yemas

RESULTADOS

Identificación mediante técnica Microbiológicas y Tinción de Gram



Características morfológicas de algunas bacterias endófitas cultivadas en medios sólidos semi-específicos. **A.** *Gluconacetobacter spp* en medio LGI-P; **B.** *Gluconacetobacter spp* en medio PDA; **C.** *Azospirillum spp* en medio Rojo Congo; **D.** *Herbaspirillum spp* en medio JNFb; **E.** *Burkholderia spp* en medio JMV; **F.** Tinción de Gram (Cepa G625-Y2).

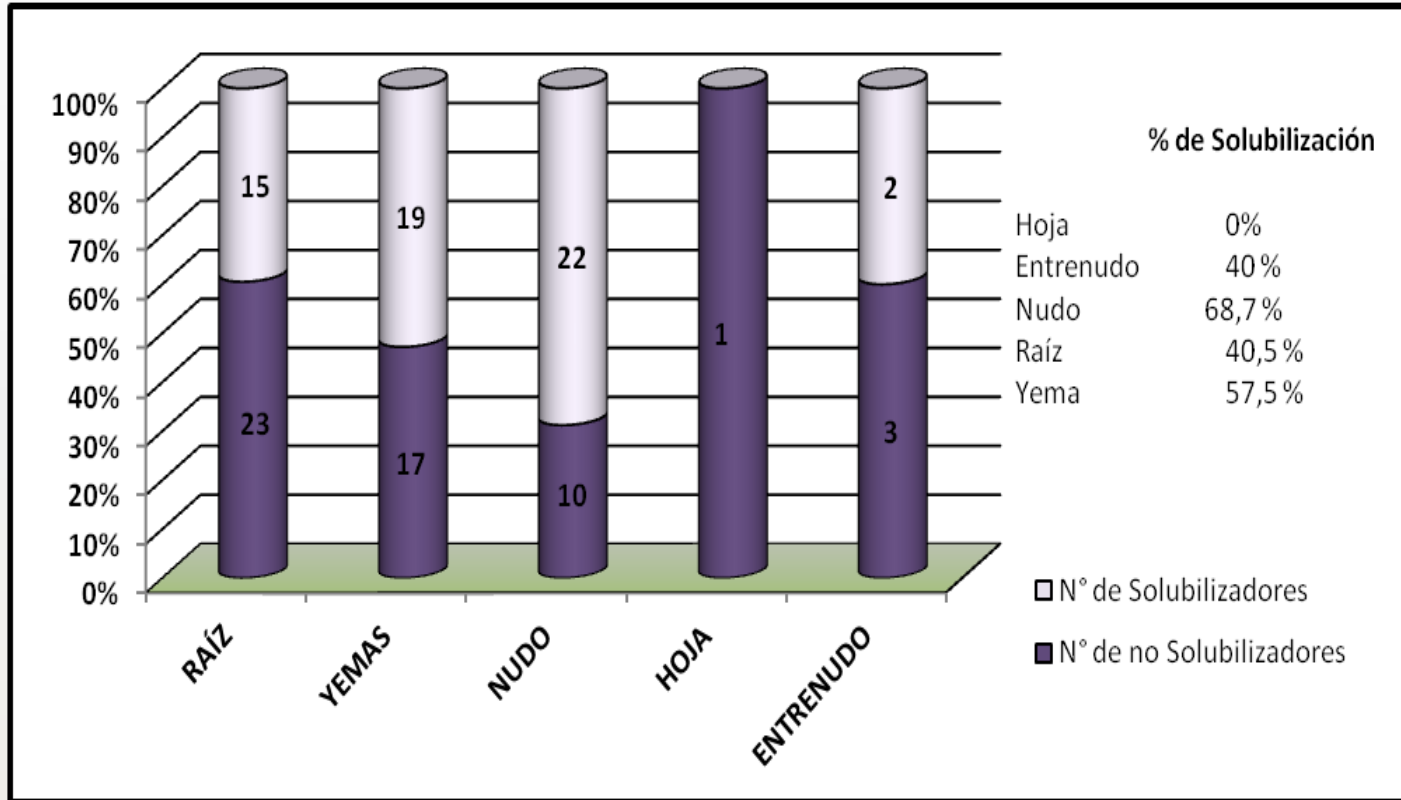
Pruebas Bioquímicas	Identificación Bioquímica Géneros Bacterianos							
	Gluconacetobacter spp		Herbaspirillum spp		Azospirillum spp		Burkholderia spp	
	G625-Y2	G109-Y4	H658-Y1	H668-Y2	A614-Y1	A641-Y1	B668-N1	B109-Y3
Glucosa	+	+	-	-	-	-	-	-
Sacarosa	+	+	-	-	-	-	-	-
Manitol	+	+	-	-	-	-	-	-
Lactosa	+	+	-	-	-	-	-	-
Movilidad	-	-	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrato	+	+	-	-	-	-	N/R	N/R
Oxidasa	-	-	+	+	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+/-	+/-	+	+	+	+

Utilizando las tres metodologías se logró la recuperación de bacterias endófitas de los géneros en estudio, lo cual tuvo como criterio principal de elección la verificación de la formación de aro en la superficie de los viales y viraje de color de los medios semi-sólidos.

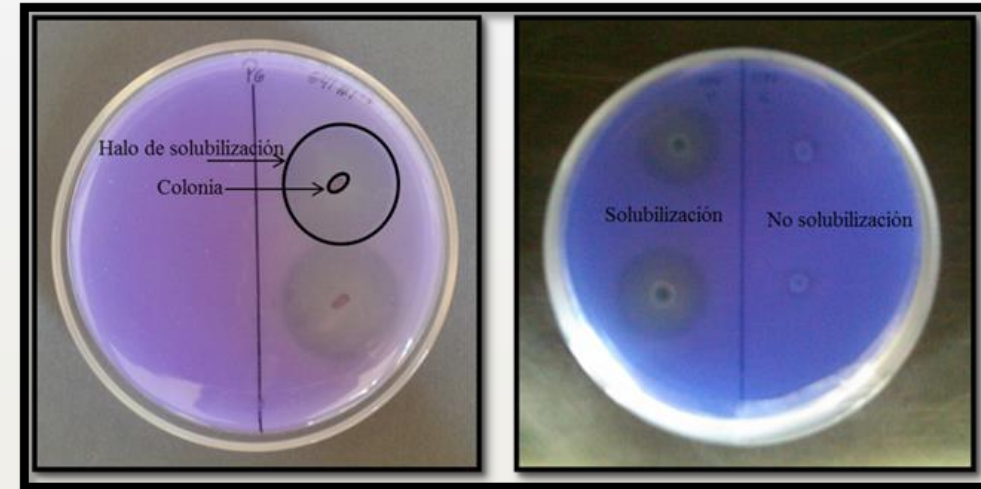
RESULTADOS

Resultados

Solubilización de Fosfato



El mayor número de aislados positivos para la prueba de solubilización de fosfatos fue obtenido a partir de muestras del nudo, el cual representó el 68,7% y los aislamientos con mayor IS se obtuvieron de muestras de raíces y yemas.



Número y Porcentaje de bacterias solubilizadoras de fósforo a partir de diferentes tejidos de caña de azúcar.

Halos de solubilización de fosfato

RESULTADOS

Variables e índices para la selección de Cepas

Variables	Puntaje			
	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Valor 4
Producción AIA μm	> 80	80 - 30	< 30	
Solubilización de Fosfatos	0.1 - 2.1	2.1 - 4.1	4.1 - 6.1	> 6.1
Factor Dilución	10^{-3}	10^{-4}		
Productividad Ton Ha^{-1} año 1	< 80	80 - 110	> 110	
Productividad Ton Ha^{-1} año 2	< 80	80 - 110	> 110	

- De 128 cepas iniciales, se seleccionaron 6 cepas por género (*Azospirillum spp.*, *Gluconacetobacter spp.* y *Herbaspirillum spp.*), para un total de 18 cepas, para los ensayos experimentales y de campo.

Bioensayos

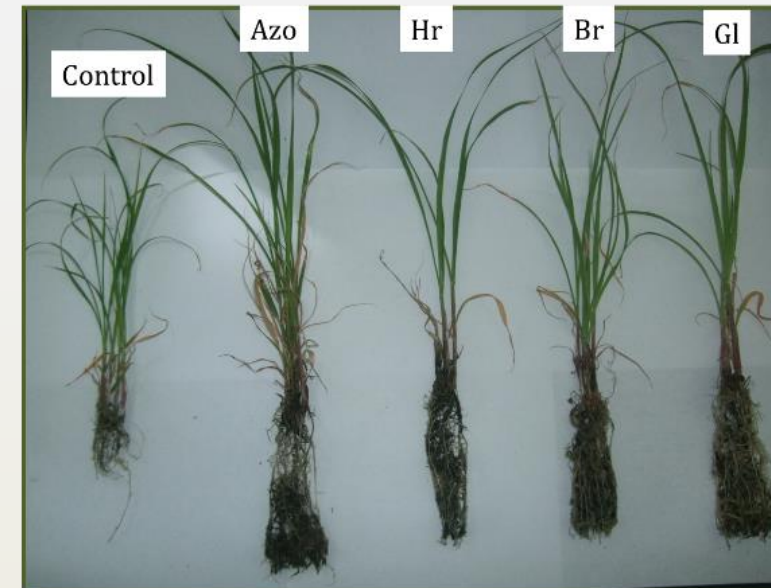
Vitroplantas en Casa de Sarán

Porcentaje de Mortalidad
Vitroplantas de caña de Azúcar

Bandeja	Azo	Gl	Hr	Br	CONTROL
1	10	12	5	5	10
2	0	10	1	5	3
3	4	5	15	2	1
4	5	3	6	9	14
5	2	3	1	1	4
6	2	3	7	6	15
7	2	2	9	6	14
Muertas	25	38	44	34	61
Vivas	255	242	236	246	219
% Mortalidad	8.92	13.57	15.71	12.14	21.79



Azospirillum spp *Burkholderia spp* *Herbaspirillum spp* *Gluconacetobacter spp*



Evaluaciones biométricas en caña de azúcar bajo invernadero, mostraron resultados entre 7 y 34% superior al testigo sin el uso de BEB.

El % sobrevivencia en vitroplantas de caña, usando BEB osciló entre 85 y 91%, comparado con 79% del testigo.

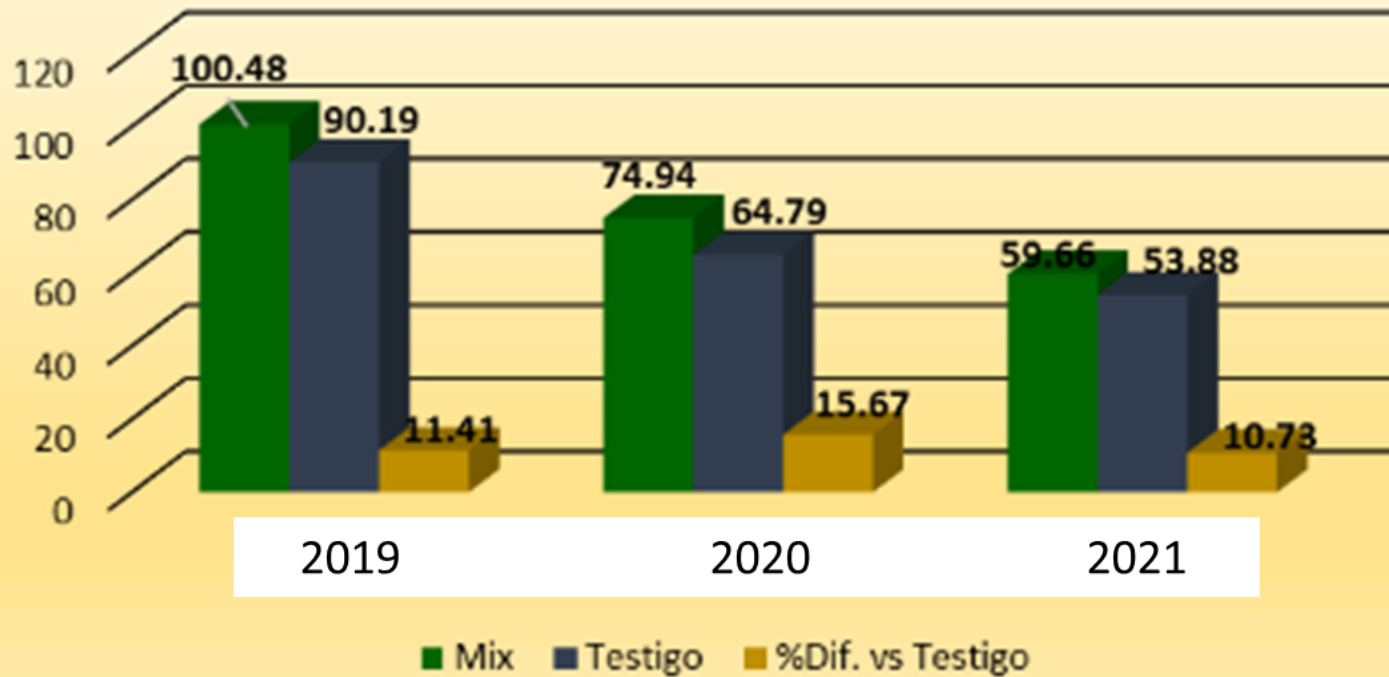
RESULTADOS

Bioensayos en Campos Comerciales Caña

**Campos Comerciales
(desde 2019- 2020 y 2021)**

Las evaluaciones en campos comerciales en los últimos 3 años, mostraron incrementos en la productividad entre 10 al 15.7% en caña de azúcar

Ton/ha de Campos con Aplicación de Bioproducto.



RESULTADOS

Evaluación de Bacterias Endofitas en Campos de Arroz

Tratamientos	Granos Enteros	%Granos enteros vs Control	Productividad	% Productividad vs Control
Mix1	44,55	-5,91	114,51	7,92
Mix2	45,30	-4,33	113,24	6,71
Mix3	43,05	-9,08	129,55	22,09
Control	47,35	0,00	106,11	0,00

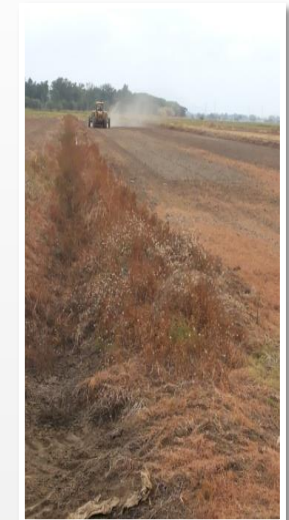
Las evaluaciones en campos comerciales de arroz en los últimos 3 años, mostraron incrementos en la productividad entre 7.9 y 22%, en comparación con el testigo sin uso de BEB.



Preparación del Inoculo



Aspersión en Semillas



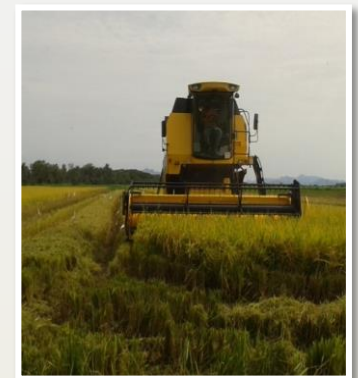
Siembra



Preparación del Inoculo



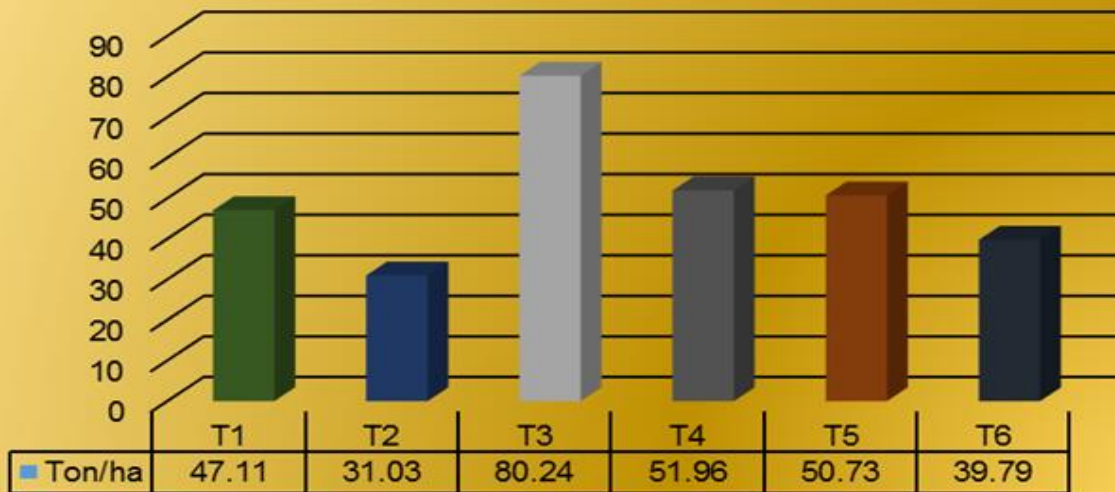
Aspersión 20 – 40 dpg



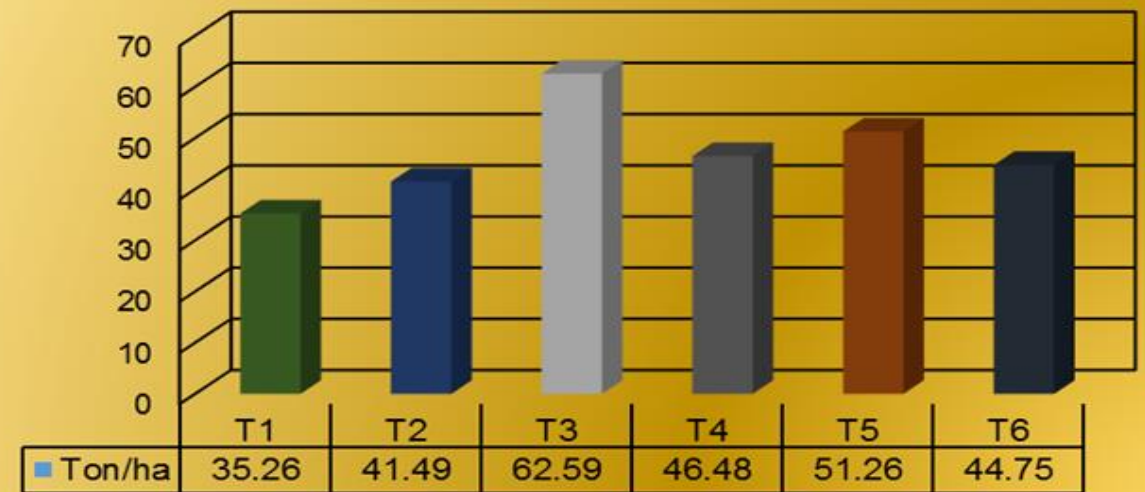
Cosecha

Inoculaciones en parcelas experimentales de caña de azúcar

Ton/ha de Caña según Inoculante más Dosis de Fertilizante para la Variedad E-0709



Ton/ha de Caña según Inoculante más dosis de Fertilizante para la Variedad SP 01



Tratamientos: T1=Inoculante. T2=Ino.+25%Fert. T3=Ino.+50%Fert. T4=Ino.+75%Fert. T5=100%Fert. T6=Sin Ino.+Sin Fert.

Como resultado se obtuvo que tanto para la variedad E-0709 como para la SP 01-2050, el tratamiento N°3 (50% de Fert. + Bacterias), logró superar los testigo.

CONCLUSIONES

- Se lograron aislar más de 300 cepas de BEB, donde 128 presentaron un crecimiento típico y fueron preseleccionadas.
- Pruebas bioquímicas, solubilización de fosfatos y producción de auxinas se aplicaron a estas bacterias, seleccionando 18 cepas de interés que se evaluaron en invernadero y campo.
- Se aislaron bacterias pertenecientes a los géneros *Gluconacetobacter*, *Azospirillum* y *Herbaspirillum*.
- El mayor % de bacterias fueron aisladas de nudos 38% y yemas 25%.
- El % sobrevivencia en vitroplantas de caña, usando BEB osciló entre 85 y 91%, comparado con 79% del testigo.

CONCLUSIONES

- Evaluaciones biométricas en caña de azúcar bajo invernadero, mostraron resultados entre 7 y 34% superior al testigo sin el uso de BEB.
- Las evaluaciones en campos comerciales en los últimos 3 años, mostraron incrementos en la productividad entre 10 al 15.7% en caña de azúcar y entre 7.9 y 22% en arroz, en comparación con el testigo sin uso de BEB.
- Se adelantan ensayos usando BEB y reducciones incrementales hasta 50% de los fertilizantes químicos, donde se lograrían disminuciones considerables de costos y un impacto positivo al medio ambiente.

info@grupocalesa.com

abby.guerra@grupocalesa.com

www.grupocalesa.com



British Embassy
Panama City



Gracias

