

## Efecto de un bioproducto a base de *Pseudomonas aeruginosa* en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* Mill)

### The effect of a *Pseudomonas aeruginosa*-based bioproduct on a tomato crop (*Solanum lycopersicum* Mill)

Elein Terry Alfonso<sup>1</sup>, Josefa Ruiz Padrón<sup>2</sup>, Tamara Tejeda Peraza<sup>3</sup>

---

#### Resumen

El uso de bioproductos se incrementa gradualmente en la agricultura de países que propugnan un cambio hacia un modelo en armonía con el medioambiente. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta del cultivo del tomate a la aplicación del bioproducto Glutucid®, obtenido a partir de metabolitos activos de *Pseudomonas aeruginosa*. Los experimentos se desarrollaron en áreas experimentales del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) de Cuba, y se estudiaron cinco tratamientos, cuatro con la aplicación de Glutucid® y un tratamiento testigo (sin aplicación del producto). Los tratamientos con Glutucid® (5 g.L<sup>-1</sup>), se realizaron imbibiendo las semillas con el producto (15 y 30 min) y a su vez se realizó una segunda aplicación foliar del bioproducto. En el cultivo se evaluaron algunas variables de crecimiento y desarrollo, y se determinó el rendimiento agrícola. Los resultados mostraron la efectividad del bioproducto, destacándose el tratamiento que recibió la aplicación de Glutucid® una sola vez con 30 min de imbibición, confirmándose la efectividad de este bioproducto en la obtención de plantas más vigorosas, así como un estímulo en el crecimiento y desarrollo de las plantas con la consiguiente obtención de rendimientos aceptables.

**Palabras clave:** bioproducto, tomate, crecimiento, desarrollo, rendimiento.

#### Abstract

Bioproduct use has gradually increased in the agriculture of countries promoting change towards an insecticide model more in harmony with the environment. The present work was aimed at evaluating the response of a tomato crop to the application of Glutucid® (a bioproduct obtained from *Pseudomonas aeruginosa*, PSS strain). The experiments were carried out in experimental areas belonging to the Cuban National Institute of Agricultural Sciences (INCA); five treatments were studied, four involving Glutucid® application and a test treatment. The Glutucid® treatments were carried out by submerging the seed with the product (15 and 30 minutes) and then a second foliate application of the bioproduct was carried out. Some growth indicators were evaluated and agricultural yield was determined. The results confirmed the bioproduct's effectiveness;

---

1 Dra.C. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) Carretera de Tapaste km 3 ½. San José de las Lajas. La Habana, Cuba. E-mail: terry@inca.edu.cu.

2 MsC. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) E-mail: fefita@inca.edu.cu

3 MsC. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). E-mail: ttejeda@inca.edu.cu

a single application of Gluticid® involving 15 minutes' submersion stood out as being the most effective treatment. This confirmed this bioproduct's effectiveness in obtaining vigorous plants and obtaining acceptable yields.

**Key words:** Bioproduct, tomato, growth, development, yield.

Recibido: febrero 26 de 2010

Aprobado: abril 19 de 2010

## Introducción

La agricultura ha de estar siempre en armonía con la naturaleza para mantener un equilibrio entre la producción de alimentos y la conservación de los recursos naturales. En la naturaleza todo se recicla, y como la materia no se destruye —sólo se transforma— la utilización de productos y residuos biológicos es una gran alternativa para la producción agrícola que deberá utilizar procesos o productos que no sean dañinos para el medioambiente (Mor-te, 2009).

Los llamados bioproductos o bioinsumos agrícolas son productos económico y ambiental-mente aceptables, ya que además de reducir costos, contribuyen a la obtención de produc-ciones inocuas así como a mejorar la fertilidad nativa del suelo, de ahí la importancia de poten-ciar su utilización agrícola.

Dentro de los bioproductos desarrollados con gran perspectiva en la actualidad, se en-cuentran los denominados biofertilizantes, bio-estimuladores y bioplaguicidas. En este sentido, son varios los bioproductos elaborados a par-tir de la bacteria *Pseudomonas* sp; en los últimos años, esta especie adquiere vital importancia en estudios relacionados con la agricultura, debido fundamentalmente a la producción de una amplia gama de metabolitos activos que influyen positivamente sobre el crecimiento y desarrollo saludable de los cultivos. Actúa en las plantas de dos formas, directamente por la supresión de patógenos, e indirectamente a través de la secreción de fitohormonas y vitaminas, o por el incremento de la absorción de minerales por la planta. Uno de los minerales más importantes

es el hierro, que convertido en sideróforo (mo-léculas de bajo peso con afinidad a hierro (III) quelado) por ciertas cepas bacterianas está más disponible para la planta, reduciendo el uso de fertilizantes minerales (Hernández *et al.*, 2004).

De este género existen cepas patogénicas y saprofiticas, debido fundamentalmente a su gran diversidad genética. De aquí la importan-cia de trabajar con su parte activa, es decir, con los metabolitos secundarios que al parecer son los responsables de los efectos benéficos en plantas por lo que, al eliminar la célula se evita cualquier problema de índole ecológico.

En el mundo, el hecho de usar metaboli-tos activos de *Pseudomonas* sp como activadores de diferentes mecanismos en las plantas no es una temática ampliamente abordada, algunos auto-res refieren su efectividad sobre todo desde el punto de vista de su utilización como biocontrol de enfermedades en los cultivos (Prithiviraj *et al.*, 2005). En Cuba, a partir de metabolitos activos de *Pseudomonas aeruginosa* se obtuvo el producto de nombre comercial Gluticid®, del cual se ha evaluado su efecto en el crecimiento y desarrollo de diferentes cultivos agrícolas.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad del producto comercial Gluticid® en plantas de tomate, según su efec-to en el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo.

## Materiales y métodos

El trabajo experimental fue realizado en-tre los meses de octubre-diciembre de 2008 y

2009, en el área experimental del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), ubicado en San José de las Lajas, provincia La Habana, Cuba, en un suelo ferralítico rojo lixiviado tí-

pico (Hernández, 1999). La caracterización de un perfil de este suelo en dos profundidades, se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1.** Características químicas del suelo

Horizonte	Profundidad (cm)	PH H <sub>2</sub> O	M.O (%)	Cationes cambiabiles (cmol/kg <sup>-1</sup> )				
				Calcio	Magnesio	Sodio	Potasio	Suma
A11p	0-12	7,5	1,61	16,0	2,0	0,1	0,5	18,6
B11t	12-22	7,4	1,67	17,5	2,5	0,1	0,5	20,6

El producto comercial Glucid® fue obtenido en el Instituto Científico de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (Icidca) en Cuba, mediante proceso biotecnológico a partir de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* cepa PSS, aislada del suelo (Patente Número 2085 Certificado 1079/ 2002) (Icidca, 2007).

Para el desarrollo del experimento se utilizó la variedad de tomate Mara, procedente del Programa de Mejoramiento Genético del INCA, y generalizada en el país. Las plántulas se produjeron en bandejas de poliespuma conformadas por una mezcla de suelo, cachaza y litonita (3:2:1) en condiciones semicontroladas. La plantación se realizó por el método de trasplante de cepellones, a una distancia de 1,40 x 0,30 m en parcelas de 35 m<sup>2</sup>, con un área de cálculo para la cosecha de 21 m<sup>2</sup>.

La tecnología de utilización del bioproducto consistió en una suspensión de 10<sup>8</sup> ufc/mL<sup>-1</sup>, a una dosis de 5 g/L<sup>-1</sup>, dando lugar a los siguientes tratamientos:

1. 15 min de imbibición
2. 15 min de imbibición + 1 aplicación foliar a los 10 DDS
3. 30 min de imbibición
4. 30 min de imbibición + 1 aplicación foliar a los 10 DDS

#### 5. Testigo sin inocular

DDS: días después de la siembra

Las atenciones culturales (fertilización, riego y labores fitotécnicas) realizadas al cultivo fueron las recomendadas por el Instructivo técnico del mismo (Cuba, MINAG, 1984).

#### Evaluaciones realizadas

Análisis químico del suelo: los muestreos de suelos se realizaron al inicio de los experimentos con barrena edafológica. Las evaluaciones que a continuación se enumeran fueron realizadas siguiendo las técnicas descritas en el Manual de técnicas analíticas para el análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos (INCA, 1999).

- Materia orgánica (%): por el método de Walkley y Black.
- pH (H<sub>2</sub>O): por el método potenciométrico.
- P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (ppm): mediante extracción con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N y determinación colorimétrica.
- K, Ca, y Mg intercambiables (cmol/kg<sup>-1</sup>): mediante extracción con NH<sub>4</sub>Ac 1 N a pH 7 y determinación de K por fotometría de llama y Ca y Mg por complexometría.

## Evaluaciones a las plantas

- Crecimiento y desarrollo: altura de las plántulas (cm), número de hojas por planta, diámetro del tallo (cm) y longitud radicular (cm).
- Contenidos de NPK foliar (%). Las muestras fueron tomadas en la fase de floración-fructificación del cultivo, entre el tercero y quinto par de hojas. Se utilizó la técnica por digestión húmeda con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Se, según método Kjeldahl y determinación colorimétrica con reactivo Nessler y azul de molibdeno para N y P respectivamente, y fotometría de llama para el K.
- En la etapa de floración-fructificación del cultivo se evaluó: número de racimos y frutos por planta.
- En la cosecha se evaluó la masa fresca promedio de los frutos (g) y rendimiento agrícola (t.ha<sup>-1</sup>).

Para las evaluaciones en semillero se siguió un diseño completamente aleatorizado con 15 repeticiones, los tratamientos llevados al campo se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con cinco réplicas por tratamientos. Los resultados experimentales fueron sometidos a Análisis de Varianza de clasificación simple (semillero) y doble (campo), y en los casos que existieron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos se utilizó como criterio discriminante la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan al 5%. Se utilizó el programa SPSS (versión 9.0).

## Resultados y discusión

La primera evaluación realizada a los 7 días posteriores a la siembra (tabla 2) no mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos evaluados para las variables altura y número de hojas por plantas, no obteniéndose un efecto positivo de los diferentes tiempos de imbibición sobre estos indicadores.

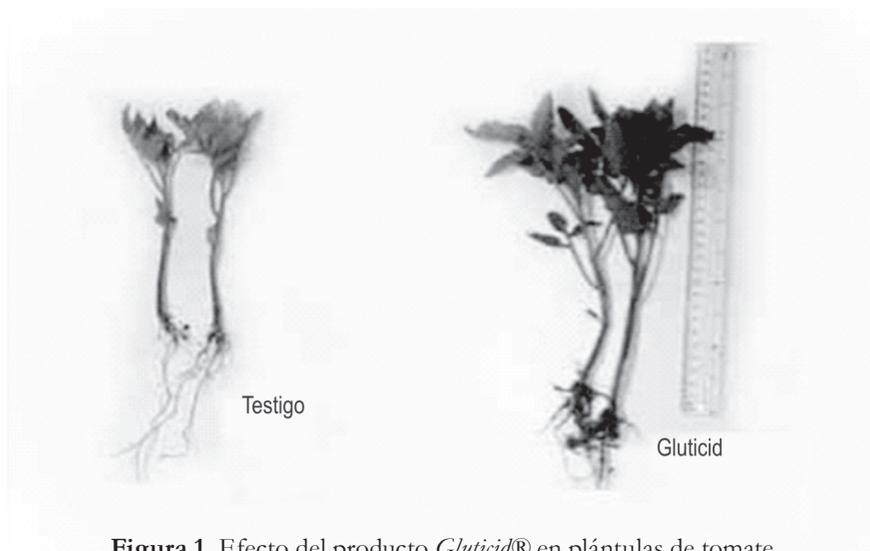
**Tabla 2.** Efecto del Gluticid® en el crecimiento de las plantas (Primera evaluación)

Tratamientos	Altura (cm)	Número de hojas.planta <sup>1</sup>
15 min de imbibición	6,25	3,17
15 min de imbibición + 1 aplicación foliar	6,33	2,83
30 min de imbibición	7,00	2,67
30 min de imbibición + 1 aplicación foliar	6,67	3,00
Testigo sin inocular	6,83	2,92
ES x	0,37 n.s	0,24 n.s

En la segunda evaluación, realizada a los 15 días posteriores a la siembra (tabla 3), comienzan a diferenciarse significativamente los tratamientos, siendo mayor la altura de las plantas y la longitud radicular en aquellas donde la semilla fue imbibida durante 30 min, y se realizó una aplicación foliar a los 10 días posteriores a la siembra. En la figura 1 se aprecia el efecto

del producto en la plántula, observándose mayor vigor con respecto a las plantas testigo.

Las bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas sp* poseen la propiedad de producir diferentes sustancias, cuyas principales ventajas son las de estimular la germinación de las semillas, acelerar el crecimiento de las plantas espe-



**Figura 1.** Efecto del producto *Gluticid*® en plántulas de tomate.

cialmente en sus primeros estadios, inducir la iniciación radicular e incrementar la formación de raíces y pelos radiculares, según indicaron Ezziyyani *et al.* (2005). Las principales sustancias estimuladoras producidas son de tipo hor-

monal como auxinas, giberelinas y citoquininas, pero también producen sustancias de otro tipo como aminoácidos y promotores específicos del crecimiento.

**Tabla 3.** Efecto del *Gluticid*® en el crecimiento de las plantas (segunda evaluación)

Tratamientos	Altura (cm)	Número de hojas. planta <sup>-1</sup>	Longitud radicular (cm)
15 min de imbibición	9,50c	3,08bc	6,14c
15 min de imbibición + 1 aplicación foliar	13,87b	3,42ab	8,23b
30 min de imbibición	10,21c	2,83bc	8,14b
30 min de imbibición + 1 aplicación foliar	16,58a	3,83a	10,26a
Testigo sin inocular	9,08c	2,50c	5,15d
ES x	0,68***	0,21***	0,04***

Medias con letras comunes no difieren significativamente para  $p < 0,001$ .

Sin embargo, para la variable número de hojas, igualmente la imbibición durante 30 min, más la aspersión foliar, tuvo mayor efecto, aunque en este caso no difirió significativamente del tratamiento donde se imbibió durante 15 min con una aplicación foliar.

El género *Pseudomonas sp* presenta propiedades que lo ubican dentro de las PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), debido a

que las bacterias de este grupo tienen la capacidad de crecer colonizando los órganos de las plantas tales como raíces y tubérculos, utilizan un gran número de sustratos orgánicos comúnmente encontrados en exudados radiculares, y producen una gran variedad de metabolitos secundarios. Walker *et al.* (2004), han demostrado que en la colonización radicular, *P. aeruginosa* forma biofilmes que confieren resistencia contra los antibióticos segregados por las raíces.

Igualmente, otros estudios han demostrado que *Pseudomonas aeruginosa* cepa IE6, coloniza las raíces de las plantas y promueve su crecimiento, es supresora de *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* en tomate, a través del secuestro de hierro en el suelo, según ha sido demostrado por Díaz de Villega *et al.* (2002). Por otra parte, la inoculación de *P. aeruginosa* en el cultivo del tomate (van Wess, 1999) demostró que la cepa 7NSK-562 no produce ácido salicílico ni sideróforos del tipo piochelin, por lo que la respuesta en el cultivo podría estar relacionada con la presencia de otros determinantes bacte-

rianos que hayan sido reconocidos por la planta hospedera.

En la evaluación de alguno de los componentes del rendimiento del cultivo (tabla 4) se encontró que, para el número de racimos, con sólo la imbibición durante 15 o 30 min se estimula este parámetro del rendimiento, no siendo así para el número de frutos por planta, la masa fresca de los frutos y el rendimiento agrícola donde, el hecho de imbibir las semillas durante 30 min, más la aspersión foliar, provoca un efecto positivo en cada una de estas variables.

**Tabla 4.** Efecto del Glutucid® en el rendimiento y algunos de sus componentes

Tratamientos	Número de racimos. planta <sup>-1</sup>	Número de frutos. planta <sup>-1</sup>	Masa fresca promedio. fruto <sup>-1</sup> (g)	Rendimiento (t/ha <sup>-1</sup> )
15 min de imbibición	4,92b	10,33d	78,33d	20,44d
15 min de imbibición + 1 aplicación foliar	4,75b	13,08c	80,14c	23,05c
30 min de imbibición	6,83a	15,25b	85,33a	28,02b
30 min de imbibición + 1 aplicación foliar	7,50a	17,33a	83,67b	30,55a
Testigo sin inocular	5,25b	15,33b	85,23a	27,66b
ES x	0,55**	1,10***	34,65***	0,97***

Medias con letras comunes no difieren significativamente para 0,01 p<0,001

En estudios realizados con diferentes cepas de *Pseudomonas* sp, se ha demostrado que producen sideróforos y ácido salicílico, compuestos que podrían estar involucrados en la respuesta en el estímulo del crecimiento y desarrollo de las plantas así como con la inducción de resistencia a la presencia de patógenos (Hernández *et al.*, 2002).

Respecto a la utilización de microorganismos benéficos o los metabolitos activos de estos, se plantea la idea de acelerar la respuesta de las plantas mediante la aplicación de inductores de resistencia sistémica (bióticos o abióticos,

respetuosos con el medioambiente), la cual es del todo atractiva y supondría, al mismo tiempo, una alternativa biológica, ambiental y comercialmente viable (Walker *et al.*, 2004).

## Conclusiones

Se demuestra el efecto positivo del producto Glutucid®, a base de *Pseudomonas aeruginosa*, sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo del tomate, siendo favorecido este efecto por dos vías diferentes de aplicación: la imbibición de las semillas durante 30 min,

combinado con la aspersión foliar a los 10 días posteriores a la siembra.

### Referencias bibliográficas

- Cuba. MINAG. 1984. Instructivo Técnico para semillero de tomate. Folleto, 48 p.
- Díaz de Villegas, Villa, P., Frías, A. 2002. Evaluation of the siderophores production by *Pseudomonas aeruginosa* PSS. Revista Latinoamericana de Microbiología 44 (3-4): 112-117.
- Ezziyyani, M., Requena, M., Pérez-Sánchez, C., Candela, M. 2005. Efecto del sustrato y la temperatura en el control biológico de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología 27: 119-126.
- Hernández, A. J. 1999. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. La Habana: Ministerio de la Agricultura. 23 p.
- Hernández, A., Caballero, A., Hofte, M., Heydrich, M. 2002. Rizobacterias asociadas al maíz y su aplicación en la agricultura. Contribución a la Educación y la Protección Ambiental 3: 136-139.
- Hernández, A., Hernández, A. N., Velásquez, M., Bigirama, Y., Audenaert, K., Hofte, M. 2004. Aplicación de rizobacterias para inducir resistencia en los sistemas frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) – *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. Y Magnus). Revista Mexicana de Fito patología 22 (1): 100-106.
- ICIDCA. 2007. Biopreparados. Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico.
- INCA (Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas). 1999. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. La Habana. 90 p.
- Morte, A. 2009. Biofertilizantes de última generación. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. España. Disponible en: <http://hortalizas.com/quality and safety> [Fecha de consulta: 10 de enero de 2010].
- Prithiviraj, B., Bais, H., Weir, T., Suresh, B., Najarro, E., Dayakar, B., Schweizer, H., Vivanco J. 2005. Down regulation of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by salicylic acid attenuates its virulence on *Arabidopsis thaliana* and *Caenorhabditis elegans*. Infect Immun 73 (9): 5319-28.
- van-Wess, S. 1999. Rizobacteria Mediated Induced Systemic Resistance in Arabidopsis Signal Transduction and Expression. Ph.D. Thesis. University of Utrecht. Utrecht The Netherlands. 112 p.
- Walker, T. S., Bais, H. P., Déziel, E., Schweizer, H. P., Rahme, L. G., Fall, R., Vivanco, J. M. 2004. *Pseudomonas aeruginosa*-plant root interactions. Pathogenicity, bio-film formation, and root exudation. Plant Physiol 134: 320-331.