



Efecto de *Bacillus amyloliquefaciens* y *Pseudomonas migulae* sobre el crecimiento de plántulas de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en semillero¹

Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Pseudomonas migulae* on the growth of gooseberry (*Physalis peruviana* L.) seedlings

Camilo Rubén Beltrán-Acosta², Yimmy Alexander Zapata-Narváez², Duván Albeiro Millán-Montaño³,
Andrés Díaz-García³

¹ Recepción: 1 de abril, 2022. Aceptación: 4 de julio, 2022. Este trabajo formó parte del Proyecto “Microorganismos benéficos recomendados que permitan incrementar la tolerancia de la uchuva a estrés biótico (*Fusarium*) y abiótico (nutrición) a nivel de invernadero”, financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) de Colombia.

² Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Centro de Investigación Tibaitatá. Mosquera, Cundinamarca, Colombia. cbeltran@agrosavia.co (autor para la correspondencia; <http://orcid.org/0000-0002-6063-6962>), jzapatan@agrosavia.co (<http://orcid.org/0000-0002-7586-209X>).

³ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Centro de Investigación Sede Central. Mosquera, Cundinamarca, Colombia. dmillan@agrosavia.co (<http://orcid.org/0000-0001-5493-9177>), adiaz@agrosavia.co (<http://orcid.org/0000-0002-8638-7968>).

Resumen

Introducción. El uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal es una alternativa a integrar en estrategias de manejo del cultivo de uchuva, mediante su aplicación en etapas de semillero, con el fin de obtener plántulas de mayor vigor que puedan tolerar estreses bióticos y abióticos en condiciones de campo. **Objetivo.** Evaluar la actividad promotora de crecimiento vegetal y capacidad endófito de las rizobacterias *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006 y *Pseudomonas migulae* Pf014 inoculadas durante la etapa de semillero de uchuva (*Physalis peruviana* L.). **Materiales y métodos.** Se realizó un experimento de abril a mayo de 2018, en un invernadero ubicado en el Centro de Investigación Tibaitatá, Mosquera, Colombia, con un diseño de bloques completos al azar y tres repeticiones. Se inocularon las rizobacterias de forma individual en el sustrato de siembra, a una concentración de 1×10^8 UFC/mL y se cuantificaron como variables de respuesta: biomasa seca (g) de raíz, tallo y hojas, altura (cm), área foliar (cm^2) y número de hojas, y se comprobó su endofitismo mediante la evaluación de la colonización del tejido vegetal. **Resultados.** *B. amyloliquefaciens* Bs006 estimuló el crecimiento de plántulas de uchuva con respecto al testigo y demostró mayor capacidad de promoción que *P. migulae* Pf014, ya que aumentó la longitud de la planta en 34 %, el crecimiento en tallo y raíz en 59 % y 16 %, respectivamente; aumentó la biomasa seca de la raíz en 178 %, en tallo en 161 % y en hojas en 96 %. Bs006 se aisló del interior del tejido vegetal, lo que indica su capacidad como endófito en uchuva. **Conclusiones.** La respuesta positiva en todas las variables agronómicas evaluadas con la aplicación de *B. amyloliquefaciens* Bs006, indica que esta bacteria puede ser validada durante la etapa de semillero de uchuva.

Palabras clave: rizobacterias, endófitas, biomasa, *Solanaceae*.



Abstract

Introduction. Using plant growth-promoting bacteria is an alternative to integrate into cape gooseberry crop management strategies, through its application in seedling stages, in order to obtain more vigorous seedlings that can tolerate biotic and abiotic stresses under field conditions. **Objective.** To evaluate the plant growth-promoting activity and endophytic capacity of the rhizobacteria *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006 and *Pseudomonas migulae* Pf014 inoculated during the seedling stage of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). **Materials and methods.** An experiment was carried out from April to May 2018, in a greenhouse located at the Tibaitatá Research Center, Mosquera, Colombia, with a randomized complete block design and three replications. The rhizobacteria were inoculated individually in the substrate at a concentration of 1×10^8 CFU/mL and were quantified as response variables: dry biomass (g) of root, stem, and leaves, height (cm), leaf area (cm²), and number of leaves, and their endophytism was verified by evaluating the colonization of plant tissue. **Results.** *B. amyloliquefaciens* Bs006 stimulated the growth of cape gooseberry seedlings with respect to the control. It showed greater promotion capacity than *P. migulae* Pf014, since it increased the length of the plant by 34 %, the stem and root growth by 59% and 16 %, respectively. It increased root dry biomass of the root by 178 %, stem by 161 %, and leaves by 96 %. Bs006 was isolated from the interior of the plant tissue, which indicates its capacity as an endophyte in cape gooseberry. **Conclusions.** The positive response in all the agronomic variables evaluated with the application of *B. amyloliquefaciens* Bs006 indicates that this bacterium can be validated during the seedling stage of cape gooseberry.

Keywords: rhizobacteria, endophytes, biomass, Solanaceae.

Introducción

Colombia es el mayor exportador de uchuva (*Physalis peruviana* L.) a nivel mundial, alcanzó en 2021 valores de exportación por US\$37 820 445, para una producción de 7872 toneladas para el consumo en fresco (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022). La fruta se caracteriza por su exquisito sabor y aroma, además de presentar propiedades nutricionales y alto contenido de antioxidantes, ácidos grasos poliinsaturados y fitoesteroles (Puente et al., 2011), con alto contenido de provitamina A, ácido ascórbico y vitaminas del complejo B (tiamina, niacina y vitamina B12); además de altos contenidos de proteína cruda, fósforo y hierro (Fischer et al., 2014). Es considerada como una fruta deseada para el consumo en diferentes partes del mundo (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022).

La uchuva es importante por su impacto social, ya que el 45 % de los costos de producción, incluidos la cosecha y la postcosecha, corresponden a mano de obra, en particular de mujeres cabeza de familia, por lo que aporta al desarrollo rural y fortalecimiento de la economía familiar campesina con importancia para la seguridad alimentaria (Ministerio de Agricultura y desarrollo Rural, 2022).

Contar con plántulas de calidad es una condición que influye significativamente en el rendimiento del cultivo de uchuva (Martínez et al., 2008), para lo cual es importante que durante la etapa de propagación en semillero se integren alternativas que contribuyan a mejorar la calidad agronómica y sanitaria. La inoculación de bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal en plantas de interés comercial, tiene como objetivo reducir las aplicaciones de fertilizantes químicos y plaguicidas con potencial contaminante (Ambrosini et al., 2016; Blake et al., 2021; Grageda-Cabrera et al., 2012; Hamedi & Mohammadipanah, 2014), que se enmarca dentro de procesos de producción sostenibles, que permiten reducir el tiempo de obtención de plántulas con características ideales para el trasplante y a bajo costo.

Conocer la diversidad microbiana y sus posibles aplicaciones en la agricultura es útil para llegar a medidas que puedan actuar como indicadores del crecimiento de las plantas, el rendimiento y la salud del suelo (Verma et al., 2017). Las bacterias presentan una amplia adaptabilidad fisiológica y versatilidad metabólica, y su influencia en la rizosfera de las plantas es un componente importante en los agroecosistemas del suelo (Sturz & Christie, 2003). Ciertas bacterias del microbioma rizosférico, además de estimular el crecimiento de las plantas, contribuyen con su adaptación a diferentes condiciones extremas y en mejorar la salud del suelo, así como la aptitud de las plantas a adaptarse al medio ambiente (Verma et al., 2017).

Diversos géneros de bacterias se han identificado como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (de sus siglas en inglés PGPR), de los cuales *Bacillus* y *Pseudomonas* son predominantes (Podile & Kishore, 2007). Estas bacterias pueden promover el crecimiento de las plantas, ya sea de forma directa mediante la fijación de nitrógeno, la solubilización de fósforo, potasio y zinc, por la producción de sideróforos y fitohormonas como ácido indolacético, ácidos giberélicos y citoquininas, o indirecta a través de la producción de sustancias antagonistas, como la producción de antibióticos y enzimas líticas (Deketelaere et al., 2017; Glick, 2012; Olanrewaju et al., 2017; Tilak et al., 2005). Estas características han contribuido al éxito de bioproductos basados en estas especies, no solo por su capacidad para promover el crecimiento de las plantas, sino también para reducir el uso de fertilizantes químicos y contribuir a la sanidad de los agroecosistemas (Olanrewaju et al., 2017; Tiing Lau et al., 2020; Tzecz-Interián et al., 2020).

Tanto *Bacillus* como *Pseudomonas* han demostrado características endófitas, ya que tienen la capacidad de colonizar el interior del tejido vegetal, un proceso crítico para la interacción entre microbios benéficos y plantas, que puede tener varios mecanismos que confieren efectos beneficiosos sobre el crecimiento del huésped como la fitoestimulación, la biofertilización y el biocontrol (Compant et al., 2010; Deketelaere et al., 2017; Mohamed Eid et al., 2019; Olanrewaju et al., 2017). De acuerdo con lo anterior, una de las alternativas que podría integrarse en la etapa de producción de plántulas de uchuva es el uso de PGPR, con el fin de favorecer la emergencia temprana de las semillas y mejorar parámetros de crecimiento vegetativo en las plántulas (Caglar Kaymak, 2019; Hallmann et al., 1997; Podile & Kishore, 2007).

En la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) se desarrollaron estudios previos que permitieron aislar y seleccionar a partir de la rizosfera de plantas de uchuva, las rizobacterias *Bacillus amyloliquefaciens* cepa Bs006 y *Pseudomonas migulae* cepa Pf014, que en pruebas *in vitro* presentaron producción de ácido indol acético (AIA) e influyeron de forma positiva sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas de uchuva (Díaz et al., 2013).

La colonización temprana de la rizosfera y la interacción directa con las plántulas de uchuva por parte de las rizobacterias seleccionadas no se han caracterizado y evaluado previamente. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad promotora de crecimiento vegetal y la capacidad endófitas de las rizobacterias *B. amyloliquefaciens* Bs006 y *P. migulae* Pf014 inoculadas durante la etapa de semillero de uchuva.

Materiales y métodos

Localización

El experimento en condiciones de invernadero se realizó en el Centro de Investigación Tibaitatá, de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), situado en el kilómetro 14, vía Bogotá - Mosquera, a 2600 m s. n. m., municipio de Mosquera, departamento de Cundinamarca, Colombia, con localización a 4° 42' de latitud norte y 74° 12' longitud oeste.

Material vegetal

Se utilizaron semillas de *Physalis peruviana* L. (uchuva) de la variedad Dorada, desarrollada y registrada por AGROSAVIA (Núñez Zarantes et al., 2016). Los bioensayos se desarrollaron entre abril y mayo de 2018, bajo condiciones de invernadero (temperatura promedio 19,5 °C, humedad relativa promedio 64,3 %), ubicado en las instalaciones de AGROSAVIA, Centro de Investigación Tibaitatá, Mosquera.

Microorganismos

Las rizobacterias utilizadas se aislaron de la rizosfera de plantas sanas de uchuva presentes en focos de plantas con síntomas de marchitamiento vascular (*Fusarium oxysporum* f. sp. *physali*), en cultivos comerciales de los municipios de Combita departamento de Boyacá y Granada departamento de Cundinamarca (Colombia). Fueron identificadas como *Bacillus amyloliquefaciens* cepa Bs006, cuyo genoma fue secuenciado en su totalidad con base en el Illumina Hi ScanSQ System (Gámez et al., 2015) y *Pseudomonas migulae* cepa Pf014 identificada mediante secuenciación de la subunidad 16s rARN (Díaz et al., 2013), las cuales fueron suministradas por la Colección de Microorganismos con Interés en Control Biológico – AGROSAVIA (Uribe Gutiérrez et al., 2021).

Fermentación líquida

Para la preparación de los inóculos de *B. amyloliquefaciens* cepa Bs006, la biomasa obtenida en una caja de Petri con agar nutritivo, se suspendió en 200 mL de caldo nutritivo contenido en Erlenmeyer de 500 mL. Los inóculos se dejaron en agitación a 150 rpm, 30 °C por 48 h. Se determinó la viabilidad con y sin choque térmico, mediante recuento en placa como control de calidad microbiológica final. Para la preparación de los inóculos de *P. migulae* cepa Pf014, se aplicó un procedimiento similar, con condiciones de incubación de 28 °C, agitación a 125 rpm durante 24 h y determinación de viabilidad mediante recuento en placa sin choque térmico.

La producción masiva de las rizobacterias se realizó en la Planta de Bioproductos de AGROSAVIA, mediante fermentación líquida en un biorreactor Infors® modelo Labfors 3. Para *B. amyloliquefaciens* cepa Bs006, se utilizaron 8 L de un medio de cultivo optimizado y codificado como JM (Díaz-García et al., 2015), con un volumen de inóculo de 800 mL, con unas condiciones de fermentación controladas de 30 °C, con agitación y aireación de tipo escalón previamente estandarizadas, por 48 h. Para *P. migulae* cepa Pf014 se utilizaron 8 L de un medio de cultivo optimizado (Díaz et al., 2012), con un volumen de inóculo de 800 mL, condiciones de fermentación controladas de 28 °C, a 125 rpm y aireación de 0,5 vvm, por 48 h.

Promoción del crecimiento vegetal

El bioensayo se realizó en bandejas plásticas de propagación de cincuenta alveolos (volumen de 113 cm³), con turba PRO-MIX® ref. PGX *Sphagnum* canadiense. Cada bandeja representó una unidad experimental. Se sembró una semilla de uchuva por alveolo. Una vez las plántulas presentaron dos hojas verdaderas (siete días después de la siembra), se inocularon 5 mL de una suspensión de rizobacterias con una concentración de 1x10⁸ UFC/mL. Se aplicaron dos refuerzos adicionales de las rizobacterias cada quince días. A todos los tratamientos se les aplicó una fertilización química con Irricol Inicio® 13-36-12, veintiún días después de la siembra.

Una vez que las plántulas alcanzaron una altura de 10 a 15 cm de altura (45 días después de la siembra), se tomaron cinco plántulas por unidad experimental. Las raíces de las plántulas se lavaron con agua de grifo. Se midió la longitud de la parte aérea y de la raíz (cm). Se contó el número de hojas y el área foliar (cm²) se midió con el

software Image J[®]. Las plantas se secaron (raíz y parte aérea por separado) en un horno a 50 °C durante cuatro días, hasta conseguir peso constante para determinar la biomasa seca.

Endofitismo

Finalizado el ensayo, se tomaron tres plántulas y se lavaron con agua de grifo para remover las partículas de sustrato adheridas a la raíz. Las plántulas se dividieron en tres secciones: raíces, tallo y hojas, para conformar una muestra compuesta de 10 g de cada estructura. La desinfección de los tallos y hojas se realizó por inmersión en hipoclorito de sodio (1 %) (5 min), seguida de un enjuague en agua destilada estéril (1 min), un enjuague en etanol (70 %) (3 min) y tres lavados con agua estéril (1 min). Para la desinfección de raíces se siguió el mismo procedimiento, pero se excluyó el uso de hipoclorito de sodio (Lodewyckx et al., 2002).

Las muestras desinfectadas de cada sección, se maceraron en un mortero con solución salina (0,85 %) y Tween 80 (1 %), la proporción de la muestra con el diluyente fue de 1:10. Con la muestra macerada se realizaron diluciones seriadas decimales hasta 10^{-4} y se sembraron en superficie 100 μ L de cada dilución en cajas de Petri con agar King B y agar nutritivo, respectivamente, estas se incubaron por 72 h a 28 °C. La concentración endófito se expresó en UFC/g muestra vegetal, solo se usaron las cajas con recuentos entre 20-200 colonias para asegurar reproducibilidad.

Diseño experimental

Se aplicó un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron: *B. amyloliquefaciens* y *P. migulae*, estos aplicados en plántulas de 7 días y refuerzos a los 21 y 35 días, en concentración de 1×10^8 UFC/mL. Se utilizó un control absoluto, en el cual no se inocularon las rizobacterias.

Análisis estadístico

Los datos experimentales se sometieron a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias entre tratamientos de mínima diferencia significativa (LSD) ($p < 0,05$), se usó el programa estadístico SPSS[®] v.17.

Resultados

Promoción del crecimiento

En general, se observaron diferencias significativas con la aplicación de las rizobacterias y su interacción con plántulas de uchuva con respecto a las plantas no inoculadas (control). Sin embargo, con *B. amyloliquefaciens* Bs006 se obtuvo mejor respuesta del material vegetal, expresado como promoción de crecimiento (altura de plántula y biomasa seca) y área foliar.

Para la altura, las plántulas tratadas con las rizobacterias mostraron una mayor longitud (≥ 16 cm) con respecto al control, presentaron diferencias significativas; en tanto que, para la longitud de la raíz, aunque no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, presentaron mayor longitud las plántulas tratadas con las rizobacterias (≥ 17 cm) (Cuadro 1).

Con respecto al peso seco, las plántulas inoculadas con *B. amyloliquefaciens* Bs006 presentaron los mayores valores para el peso seco del tallo, hojas y raíz, fueron estadísticamente superior ($p < 0,05$) al tratamiento inoculado con *P. migulae* Pf014 y aún más comparado con el control (Cuadro 1).

Cuadro 1. Peso seco (g) y longitud (cm) de plántulas de *P. peruviana* (*Pp*) inoculadas o no con *B. amyloliquefaciens* (Bs006) o *P. migulae* (Pf014), después de 45 días de crecimiento en semillero. Invernadero, Centro de Investigación Tibaitatá, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Mosquera, Cundinamarca, Colombia. 2018.

Table 1. Dry weight (g) and length (cm) of *P. peruviana* (*Pp*) seedlings inoculated or not with *B. amyloliquefaciens* (Bs006) or *P. migulae* (Pf014) after 45 days of growth in nursery. Greenhouse, Tibaitata Research Center, Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria (AGROSAVIA). Mosquera, Cundinamarca, Colombia. 2018.

Tratamiento	Longitud (cm)		Peso seco (g)		
	Tallo	Raíz	Tallo	Hojas	Raíz
<i>Pp+B. amyloliquefaciens</i>	17,4 ^a	17 ^a	0,186 ^a	0,270 ^a	0,103 ^a
<i>Pp+P. migulae</i>	16 ^a	18 ^a	0,130 ^b	0,196 ^b	0,063 ^b
<i>Pp</i>	11 ^b	14,6 ^a	0,071 ^c	0,137 ^c	0,037 ^c

Letras diferentes son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba LSD ($p < 0,05$). / Different letters are significantly different according to the LSD test ($p < 0,05$).

La aplicación de *B. amyloliquefaciens* Bs006 incrementó 58 % la longitud de los tallos, 16 % la longitud de la raíz, 119 % el peso seco aéreo y 178 % el peso seco de la raíz de plántulas de uchuva en comparación con el control. La aplicación de *P. migulae* Pf014 aumentó 45 % la altura, 23 % la longitud de la raíz, 57 % el peso seco aéreo y 70 % el peso seco de la raíz de plántulas de uchuva en comparación con el control.

Para el área foliar no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos (Cuadro 2), sin embargo, con la aplicación de *B. amyloliquefaciens* Bs006 se obtuvo el mayor incremento en el área foliar comparado con *P. migulae* Pf014 y el control en un 12 % y 11,4 %, respectivamente. En cuanto al número de hojas, *B. amyloliquefaciens* Bs006 mostró un incremento significativo de 1 a 1,4 hojas comparado con el control y con *P. migulae* Pf014, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Área foliar (cm²) y número de hojas de plántulas de *P. peruviana* (*Pp*) inoculadas o no con *B. amyloliquefaciens* (Bs006) o *P. migulae* (Pf014) después de 45 días de crecimiento en semillero. Invernadero, Centro de Investigación Tibaitatá, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Mosquera, Cundinamarca, Colombia. 2018.

Table 2. Foliar area (cm²) and number of leaves of *P. peruviana* (*Pp*) seedlings inoculated or not with *B. amyloliquefaciens* (Bs006) or *P. migulae* (Pf014) after 45 days of growth in the nursery. Greenhouse, Tibaitata Research Center, Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria (AGROSAVIA). Mosquera, Cundinamarca, Colombia. 2018.

Tratamiento	Variable de crecimiento	
	Área foliar (cm ²)	Número de hojas
<i>Pp+B. amyloliquefaciens</i>	121,48 ^a	7,9 ^a
<i>Pp+P. migulae</i>	109,07 ^a	6,5 ^b
<i>Pp</i>	108,46 ^a	6,9 ^b

Letras diferentes son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba LSD ($p < 0,05$). / Different letters are significantly different according to the LSD test ($p < 0,05$).

Endofitismo

Cuando se cuantificaron las bacterias al interior de las plántulas de uchuva y en las diferentes secciones en que fue dividida (raíz, tallo y hoja), se demostró que *P. migulae* Pf014 no es endófito en uchuva; en contraste, *B. amyloliquefaciens* Bs006 demostró capacidad endófito en todos los tejidos vegetales de uchuva, con un claro efecto de dilución acropétala (Figura 1). La concentración endófito promedio más alta se encontró en las raíces de la plántula con un valor de $8,16 \times 10^4$ UFC/g, mientras que la concentración más baja se encontró en las hojas con un valor de $1,34 \times 10^2$ UFC/g.

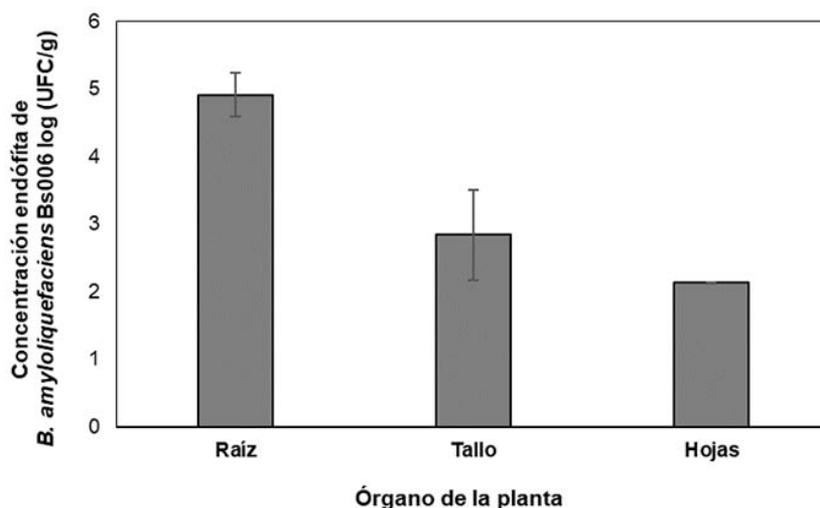


Figura 1. Concentración endófito de *B. amyloliquefaciens* Bs006 en plántulas de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Laboratorio Planta Piloto de Bioproductos, Centro de Investigación Tibaitatá, Sede Central, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Mosquera, Cundinamarca, Colombia. 2018.

Las barras de error representan la desviación estándar, N = 10.

Figure 1. Endophytic concentration of *B. amyloliquefaciens* Bs006 in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) seedlings. Bioproducts Pilot Plant Laboratory, Tibaitata Research Center, Main Centre, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Mosquera, Cundinamarca, Colombia. 2018.

The error bars represent the standard deviation, N = 10.

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que la aplicación de *B. amyloliquefaciens* Bs006 incrementó la longitud de la planta relacionado con tallo y raíz, la biomasa total y el área foliar (Cuadro 1), variables importantes en la calidad del material vegetal, con un aumento de 0,248 g en el peso seco aéreo y de 0,066 g en peso seco de la raíz de plántulas de uchuva, en comparación con el control convencional sin aplicación de microorganismos benéficos. El género *Bacillus* ha mostrado su alta capacidad de promoción del crecimiento vegetal en múltiples sistemas vegetales (Olanrewaju et al., 2017; Tiing Lau et al., 2020; Tzec-Interián et al., 2020).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo fueron similares a los reportados por Xu et al. (2019), quienes demostraron que *Bacillus* sp. cepa CW16-5 aplicada a plantas de morera bajo condiciones de invernadero promovió el crecimiento vegetal en longitud de los brotes y en el peso fresco de la raíz con magnitudes de aumento del 83,4 % y un 217,7 %, respectivamente.

La aplicación de *P. migulae* Pf014 aumentó la longitud de la planta y la biomasa seca de plántulas de uchuva, en comparación con el control sin la aplicación de los microorganismos benéficos. Este incremento fue de 0,118 g en el peso seco aéreo y de 0,026 g en el peso seco de la raíz por cada plántula de uchuva. En ese sentido, al inocular *Pseudomonas putida* cepa PCI2 (10^9 UFC/mL) en semillas de tomate durante 30 min, Pastor et al. (2016) obtuvieron aumentos del peso seco de brotes y raíces en 0,066 y 0,022 g, en comparación con plántulas sin inocular, cinco semanas después de sembrar las semillas. La inoculación de semillas con PCI2 aumentó el peso seco de los brotes de las plantas en 0,055 g y el peso seco de las raíces en 0,040 g, en comparación con un control inoculado con *F. oxysporum*.

La mayor área foliar presentada en el tratamiento con *B. amyloliquefaciens* Bs006, estuvo relacionada con el peso seco y le permitió a la plántula tener una capacidad fotosintética mayor por área, lo que ayuda a entender la acumulación de biomasa, lo cual es favorable en condiciones de campo con buen brillo solar para obtener mejor calidad, tamaño y maduración del fruto (Fischer & Melgarejo, 2020).

En el presente trabajo, se demostró que *B. amyloliquefaciens* Bs006 presentó concentraciones endófitas entre 10^2 UFC/g y 10^4 UFC/g en hojas y tallos de uchuva, respectivamente, densidades acordes con lo reportado en la literatura. Tanto *B. amyloliquefaciens* como *P. migulae* son habitantes naturales del suelo y es usual que las concentraciones de estas bacterias halladas en la rizosfera y el rizoplasma estén en el orden de 10^3 a 10^6 UFC/g, según la especie vegetal y del ambiente en el que se encuentren (Hallmann, 2001; Hallmann et al., 1997). Dentro de la primera a la tercera semana después de la siembra, la densidad de esta población, por lo general, aumentó a una capacidad de carga óptima de 10^5 UFC/g y luego permaneció en este nivel durante el resto del período de crecimiento (Hallmann et al., 1997). Después de entrar en las raíces, las bacterias endófitas pueden colonizar de manera sistemática los tejidos por encima del suelo (Hardoim et al., 2008). Sin embargo, la densidad de población disminuye de manera acropetal, alcanza 10^4 UFC/g en tallo y 10^3 UFC/g en hojas. Órganos como flores, frutos y semillas son colonizados por cantidades aún menores de bacterias cultivables, incluso por debajo del límite de detección, que son solo una parte de la comunidad bacteriana endófito total (Hallmann & Berg, 2006).

La aplicación de rizobacterias como *B. amyloliquefaciens* Bs006 y *P. migulae* Pf014 mejoraron el crecimiento de las plántulas de uchuva, lo que puede representar una alternativa de desarrollo biotecnológico y de manejo sustentable en etapas iniciales de semillero. Lo anterior debido a que la obtención de plántulas de buena calidad está relacionada con su mayor adaptación a condiciones de campo. La colonización endófito de tejidos, además, conlleva a una tolerancia al estrés biótico causado por fitopatógenos; por ejemplo, se demostró que *B. amyloliquefaciens* cepa SN16-1 inoculada en suelo donde crecían plantas de tomate, no solo promovió significativamente el crecimiento vegetal (altura de la planta, biomasa fresca y seca), sino que cambió de forma temporal la composición y diversidad de los microorganismos de la rizosfera nativa por su efecto sinérgico, además de tener un gran potencial biocontrolador de *F. oxysporum* con una eficacia del 55,5 % sobre la incidencia del marchitamiento vascular (Wan et al., 2018).

Conclusiones

La inoculación de *B. amyloliquefaciens* Bs006 promovió el crecimiento (altura de tallo y longitud de raíz, el área foliar y el peso seco) de las plántulas de uchuva en condiciones de invernadero, con diferencias significativas sobre el tratamiento control sin la aplicación de microorganismos benéficos.

La aplicación de *B. amyloliquefaciens* Bs006 en semillero de uchuva, contribuyó a producir plántulas con mayor calidad fisiológica, así como a reducir el tiempo de obtención de plántulas óptimas para el trasplante a campo y su capacidad endófito, lo que podría permitir una mayor adaptabilidad a las condiciones de estrés biótico y abiótico.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) de Colombia por financiar el proyecto “Microorganismos benéficos recomendados que permitan incrementar la tolerancia de la uchuva a estrés biótico (*Fusarium*) y abiótico (nutrición) a nivel de invernadero”, del cual formó parte este trabajo.

Referencias

- Ambrosini, A., de Souza, R., & Passaglia, L. M. P. (2016). Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity. *Plant and Soil*, *400*(1-2), 193–207. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2727-7>
- Blake, C., Nordgaard Christensen, M., & Kovács, Á. T. (2021). Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *34*(1), 15–25. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR>
- Caglar Kaymak, H. C. (2019) Potential of PGPR in Improvement of Environmental-Friendly Vegetable Production. In D. Maheshwari, & S. Dheeman (Eds.), *Field crops: Sustainable management by PGPR. Sustainable Development and Biodiversity* (Vol. 23, pp. 221–251). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30926-8_9
- Compant, S., Clément, C., & Sessitsch, A. (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(5), 669–678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Deketelaere, S., Tyvaert, L., França, S. C., & Höfte, M. (2017). Desirable traits of a good biocontrol agent against *Verticillium* Wilt. *Frontiers in Microbiology*, *8*, Article 1186. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01186>
- Díaz, A., Mejía, C., Cruz, L. C., & Sáenz, J. (2012). Producción masiva de rizobacterias. En A. Díaz (Eds.), *Estrategias de control biológico de Fusarium oxysporum en el cultivo de uchuva (Physalis peruviana)* (pp. 32–44). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/12610>
- Díaz, A., Smith, A., Mesa, P., Zapata, J., Caviades, D., & Cotes, A. M. (2013). Control of *Fusarium* wilt in cape gooseberry by *Trichoderma koningiopsis* and PGPR. *IOBC/WPRS Bulletin*, *86*, 89–94. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133172497>
- Díaz-García, A., García-Riaño, J., & Zapata-Narváez, J. (2015). Improvement of sporulation conditions of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* in liquid fermentation. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, *6*(4), 302–310. <http://doi.org/10.4236/abb.2015.64029>
- Fischer, G., Almanza-Merchán, P. J., & Miranda, D. (2014). Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, *36*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-441/13>
- Fischer, G., & Melgarejo, L. M. (2020). The ecophysiology of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) - an Andean fruit crop. A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, *14*(1), 76–89. <https://doi.org/10.17584/rcch.2020v14i1.10893>

- Gámez, R. M., Rodríguez, F., Bernal, J. F., Agarwala, R., Landsman, D., & Mariño-Ramírez, L. (2015). Genome Sequence of the Banana Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BS006. *Genome announcements*, 3(6), Article e01391-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01391-15>
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J., & Vera-Nuñez, J. A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261–1274. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i6.1376>
- Glick, B. R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, Article 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Hallmann, J. (2001). Plant interactions with endophytic bacteria. In M. J. Jeger, & N. J. Spence (Eds.), *Biotic interactions in plant-pathogen associations* (pp. 87–119). CABI Publishing Series. <https://doi.org/10.1079/9780851995120.0087>
- Hallmann J., & Berg, G. (2006). Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. In B. J. E. Schulz, C. J. C. Boyle, & T. N. Sieber (Eds.), *Microbial root endophytes. Soil biology* (Vol. 9, pp. 15–31). Springer, Berlin. https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_2
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., & Klopper, J. W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(10), 895–914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>
- Hamedí, J., & Mohammadipannah, F. (2014). Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 42(2), 157–171. <https://doi.org/10.1007/s10295-014-1537-x>
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, 16(10), 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.07.008>
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, Y., Porteous, F., Moore, E. R. B., Taghavi, S., Mezgeay, M., & van der Lelie, D. (2002). Endophytic Bacteria and Their Potential Applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(6), 583–606. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044377>
- Martínez, F., Sarmiento, J., Fischer, G., & Jiménez, F. (2008). Efecto de la deficiencia de N, P, K, Ca, Mg y B en componentes de producción y calidad de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agronomía Colombiana*, 26(3), 389–398. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/11470>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022, mayo 18). *Colombia es el mayor productor y exportador de uchuva a nivel mundial*. <https://bit.ly/3adKNtn>
- Mohamed Eid, A. M., Salim, S. S., El-Din Hassan, S., Ismail, M. A., & Fouda, A. (2019). Role of endophytes in plant health and abiotic stress management. In V. Kumar, R. Prasad, M. Kumar, & D. Choudhary (Eds.), *Microbiome in plant health and disease: Challenges and Opportunities* (pp. 119–144). Springer, Sigapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_6
- Núñez Zarrantes, V. M., Sánchez-Betancourt, E. P., Mayorga Cubillos, F. G., Navas Arboleda, A. A., & Gómez Gil, L. F. (2016). *Corpoica Dorada. Variedad de uchuva para Boyacá, Cundinamarca y Antioquia*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/11565>
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Oluranti Babalola, O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33, Article 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>

- Pastor, N., Masciarelli, O., Fischer, S., Luna, V., & Rovera, M. (2016). Potential of *Pseudomonas putida* PCI2 for the protection of tomato plants against fungal pathogens. *Current Microbiology*, 73, 346–353. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1068-y>
- Podile, A. R., & Kishore, G. K. (2007). Plant growth-promoting rhizobacteria. In S.S. Gnanamanickam (Ed.), *Plant-associated bacteria* (pp. 195–230). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7_6
- Puente, L. A., Pinto-Muñoz, C. A., Castro, E. S., & Cortés, M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733–1740. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.034>
- Sturz, A. V., & Christie, B. R. (2003). Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil and Tillage Research*, 72(2), 107–123. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(03\)00082-5](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(03)00082-5)
- Tiing Lau, E., Tani, A., Yuen Khew, C., Qin Chua, Y., & San Hwang, S. (2020). Plant growth-promoting bacteria as potential bio-inoculants and biocontrol agents to promote black pepper plant cultivation. *Microbiological Research*, 240, Article 126549. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126549>
- Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., Pal, K. K., De, R., Saxena, A. K., Shekhar Nautiyal, C., Mittal, S., Tripathi, A. K., & Johri, B. N. (2005). Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*, 89(1), 136–150. <https://www.currentscience.ac.in/Volumes/89/01/0136.pdf>
- Tzec-Interián, J. A., Desgarenes, D., Carrión, G., Monribot-Villanueva, J. L., Guerrero-Analco, J. A., Ferrera-Rodríguez, O., Santos-Rodríguez, D. L., Liahut-Guin, N., Caballero-Reyes, G. E., & Ortiz-Castro, R. (2020). Characterization of plant growth-promoting bacteria associated with avocado trees (*Persea americana* Miller) and their potential use in the biocontrol of *Scirtothrips perseae* (avocado thrips). *PLOS ONE*, 15(4), Article e0231215. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231215>
- Uribe Gutiérrez, L. A., Cotes Prado, A. M., Zapata Narváez, J. A., Beltrán Acosta, C. R., Torres Torres, L. A., García Riaño, J. L., Santos Díaz, A. M., & Mejía Maldonado, C. N. (2021). *Colección de microorganismos con interés en control biológico - AGROSAVIA*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <https://doi.org/10.15472/mwppqlq>
- Verma, P., Nath Yadav, A., Kumar, V., Pratap Singh, D., & Kumar Saxena, A. (2017). Beneficial plant-microbes interactions: Biodiversity of microbes from diverse extreme environments and its impact for crop improvement. In D. Singh, H. Singh, & R. Prabha (Eds.), *Plant-microbe interactions in Agro-ecological Perspectives* (pp. 543–580). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_22
- Wan, T., Zhao, H., & Wang, W. (2018). Effects of the biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* SN16-1 on the rhizosphere bacterial community and growth of tomato. *Journal of Phytopathology*, 166(5), 324–332. <https://doi.org/10.1111/jph.12690>
- Xu, W., Wang, F., Zhang, M., Ou, T., Wang, R., Strobel, G., Xiang, Z., Zhou, Z., & Xie, J. (2019). Diversity of cultivable endophytic bacteria in mulberry and their potential for antimicrobial and plant growth-promoting activities. *Microbiological Research*, 229, Article 126328. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126328>