

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN SIMÓN
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y PECUARIAS
“Dr. MARTÍN CÁRDENAS”



AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE BACTERIAS TIPO *Bacillus* PARA LA INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A *Globodera* sp. EN DOS VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* sp.)

Autor: Ing. Bethy Nilda Ferrufino Meneces;

Tutor: M. Sc. Felipe Noel Ortuño Castro

Correo electronico: adlin.hat@gmail.com

Celular: 71437808

Año de defensa: Diciembre de 2019

Universidad : Universidad Mayor de San Simon

COCHABAMBA- BOLIVIA

2019

RESUMEN

Aislamiento y selección de bacterias tipo *Bacillus* para la inducción de tolerancia a *Globodera* sp. en dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* sp.). Es necesario disponer de nueva tecnología para el control de nematodos, siendo un mecanismo la inducción de tolerancia (rendir bien aun siendo parasitadas) al ataque de nematodos. Para eso se aislaron, de muestras de suelo, a cepas nativas de *Bacillus* spp., luego se seleccionaron en invernadero por inducir tolerancia al nematodo *Globodera* spp., en dos variedades de papa Waych`a y Desirée. Se extrajeron quistes de suelo infestado de la Provincia Titora Comunidad Laimé Toro, luego se infestaron con 20 quistes cada maceta y cada variedad inoculada con la bacteria, a la siembra. Se tuvieron 16 tratamientos y un testigo sin inocular. La aplicación de los bacillus promotores de crecimiento (PGPR) ayudaron a inducir tolerancia al ataque del nematodo *Globodera* spp. Las bacterias se agruparon en 2 para cada variedad, siendo el Grupo 2 con mayor incidencia del nematodo al mismo tiempo tuvieron los mayores rendimientos y el Grupo 1 con menor incidencia del nematodo y con rendimientos menores para la variedad Desirée. En la variedad Waych`a con el análisis Cluster el Grupo 1 presentó mayores rendimientos, al mismo tiempo con mayor población de quistes y el grupo 2 con menor incidencia de quistes, menores rendimientos.

Palabras claves: Microorganismos, promotores de crecimiento (PGPR), Tolerancia, *Globodera* sp. Bacterias, *Bacillus* sp.

SUMMARY

Isolation and selection of *Bacillus* bacteria for the induction of tolerance to *Globodera* sp. in two varieties of potatoes (*Solanum tuberosum* sp.). It is necessary to have new technology for the control of nematodes, being a mechanism the induction of tolerance (to perform well even being parasitized) to the attack of nematodes. For that, they were isolated, from soil samples, to native strains of *Bacillus* spp., Then they were selected in the greenhouse for inducing tolerance to the *Globodera* spp. Nematode, in two varieties of Waych`a and Desirée potatoes. Cysts were extracted from infested soil from the Titora Laimé Toro Community Province, then each pot was infested with 20 cysts and each variety inoculated with the bacteria, at planting. There were 16 treatments and one control without inoculation. The application of bacillus growth promoters (PGPR) helped induce tolerance to the attack of the nematode *Globodera* spp. The bacteria were grouped in 2 for each variety, with Group 2 with the highest incidence of the nematode at the same time had the highest yields and Group

1 with the lowest incidence of the nematode and with lower yields for the Desirée variety. In the Waych`a variety with the Cluster analysis, Group 1 presented higher yields, at the same time with a greater population of cysts and group 2 with a lower incidence of cysts, lower yields.

Keywords: Microorganisms, growth promoters (PGPR), Tolerance, *Globodera* spp. Bacteria, *Bacillus* spp.

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE BACTERIAS TIPO *Bacillus* PARA LA INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A *Globodera* sp. EN DOS VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* sp.)

I. INTRODUCCIÓN

La papa es uno de los cultivos alimenticios más importantes y difundidos a nivel mundial. En producción de proteína por unidad de tiempo y superficie y en la obtención de energía es superior al resto de los cultivos (Estrada 2000). En cuanto a la producción, la papa ocupa el cuarto lugar, después del arroz, trigo y maíz (FAO 2004). En Bolivia la papa es tradicionalmente cultivada en pequeñas superficies en la región andina ocupando una superficie de 126.942 has, principalmente en el Altiplano, valles interandinos y Meso térmicos (INE, Citado por Calderón *et al.* 2016).

Los rendimientos de Bolivia (5,7 t/ha) y Perú (16 t/ha) están por debajo del promedio mundial (17,6 t/ha) y muy lejos de los países líderes como Nueva Zelanda (45,7 t/ha), Bélgica (43,9 t/ha) o Países Bajos (43,2 t/ha). En Bolivia, el 93% de la producción primaria se hace en 3 de las eco-regiones (Puna con el 50 %, Puna Alta: 23% y Valles: 20%) y está repartida entre los departamentos de La Paz, Potosí, Cochabamba, Oruro y Tarija. La mayor parte se cultiva en época de siembra grande, siembra temprana o medio temprano, en condiciones de suelos pobres y alto riesgo climático (Franco y Gonzáles 2011).

El cultivo de papa es muy susceptible al ataque de nematodos fitoparásitos, los cuales en ocasiones causan considerables pérdidas económicas en especial los que forman quistes como *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis*. Estas dos especies de nematodo son importantes debido a su virulencia, por lo cual es considerada una plaga cuarentenaria. La cuarentena o la presencia de la plaga provocaron grandes pérdidas para los productores de semilla de papa (SFE 2005, Piedra y Avilés 2014).

Barker y Koenning (1998), establecen que a nivel mundial, las pérdidas por el efecto de los nematodos en los cultivos agrícolas están entre el 30 y el 60 % anual. Por su parte, Chitwood (2003), indica que las pérdidas económicas a nivel mundial por el efecto de estos organismos alcanzaron los US\$125000 millones. Cuando las especies de este nematodo se establecen en cultivos como la papa, el agricultor debe aprender a manejar a sus poblaciones y optimizar su producción en presencia del organismo y en muchos casos la rotación de cultivos es una buena estrategia para controlar sus poblaciones (TEC 2006, Piedra y Avilés 2014).

Por otro lado, el uso continuo de variedades susceptibles y la práctica del monocultivo han provocado un aumento de las poblaciones de *G. rostochiensis*, lo cual está reduciendo la producción nacional de papa (Cordero 2001, Anaya *et al.* 2005).

Por ser más fáciles de producir masivamente y por el gran potencial que como Agentes de Control Biológico (ACB) de fitonematodos se les ha identificado, las bacterias podrían tener ventajas sobre otros microorganismos. Dentro de las bacterias, el género *Bacillus*, ha sido por más de 90 años el principal ACB, de plagas y son varias las especies que han mostrado actividad regulatoria hacia nematodos (*B. thurigiensis*, *B. firmus*, *B. subtilis*, *B. nematocida*, *B. cereus*, *B. pumilus* y *B. lincheniformis*) (Rodríguez 2014).

Bacillus es uno de los géneros más comunes de bacterias de vida libre presentes en el suelo. En este habitat, se ubica desde las capas más superficiales hasta las más profundas y se encuentra colonizando la rizósfera de las plantas. Estas bacterias han demostrado tener una amplia distribución en todas las regiones geográficas del planeta, alcanzando alrededor de 24% del total de bacterias aisladas del suelo. Entre las ventajas que les proporciona a las plantas la presencia de *Bacillus* sp. En su hábitat se destacan el control biológico de microorganismos fitopatógenos, la participación en la nutrición mineral y la fijación biológica de nitrógeno (Paulitz 2001).

Según Molina *et al.* (2007), la resistencia sistémica inducida (ISR), se activa por determinadas cepas bacterianas del suelo (rizobacterias) que son capaces de colonizar las raíces de las plantas. Al igual que la resistencia sistémica adquirida (SAR), la ISR es una resistencia sistémica, de amplio espectro (puede conferir protección frente a bacterias, hongos y algunos virus), y duradera en condiciones de laboratorio y de campo.

Por lo cual se planteó estudiar el efecto de la resistencia sistémica inducida (ISR), al ataque de nematodo *Globodera* sp. en dos variedades de papa con cepas nativas de bacteria tipo *Bacillus* sp.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Aislar bacterias tipo *Bacillus* de muestras de suelo y seleccionar por su capacidad de inducir tolerancia a *Globodera* sp. en dos variedades de papa (*Solanum tuberosum*).

1.2.2. Objetivos específicos

- Aislar *Bacillus* spp. de muestras de suelo provenientes de las zonas Toro Toro, Pojo, Carrasco, Tiraque, Morochata y Colomi.
- Evaluar a *Bacillus* sp. como inductor de tolerancia a *Globodera* sp. en el desarrollo de las plantas de papa.
- Determinar el efecto de *Bacillus* sp. sobre el rendimiento del cultivo de papa afectada por *Globodera* sp.
- Identificar la especie de *Globodera* sp.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agrícolas Pecuarias y Forestales “Dr. Martín Cárdenas”, ubicada en la Av. Petrolera km 5, zona Tamborada en la provincia de Cercado, del Departamento de Cochabamba entre los 17°22' de latitud sur y 66°19' de longitud oeste, a una altitud de 2586 msnm, con una temperatura promedio anual de 16°C y una precipitación pluvial de 560 mm por año.

Los materiales que se utilizaron durante el trabajo de investigación, fueron los siguientes: Material biológico, se aislaron cepas nativas de *Bacillus* sp. de muestras de suelo de las diferentes comunidades del valle de Cochabamba: Añahuani, Qahuayllani, Sukusuma, Sehuencota, San Francisco, Huallahuasi, Palca, Laimé Toro, Lope Mendoza, Tiraque y cepas de *Bacillus* (BF-1, BF-2, BF-3) procedentes de la facultad de agronomía, Semilla de papa variedad Desirée y Waych'a.

2.1.1. Fase I: Selección *in vitro*

Se seleccionó cepas con las colonias que tengan similitud en cuanto a la forma de crecimiento y el tipo de coloración que presentan.

2.1.1.2. Siembra de las bacterias

El aislamiento de bacterias del género *Bacillus* spp. se llevó a cabo por medio de la resuspensión aséptica de 1 g de tierra en 9 ml de agua destilada estéril, con una agitación en vortex por 10 segundos aproximadamente, después de realizar diluciones seriadas hasta 10^{-3} y someterlas a un tratamiento térmico de 85 °C durante 15 minutos en baño María.

2.1.2. Fase II: bioensayos

Los quistes de *Globodera* spp. fueron extraídos y cuantificados por el método de flotación de muestras de suelo infestados, provenientes de la provincia de Totorá de la comunidad Laime toro.

2.1.2.1. Identificación del nematodo de quiste de la papa

La caracterización morfológica se realizó cortes perineales en los quistes del quiste, bajo un estereoscopio, con ayuda de un bisturí.

2.1.2.2. Tratamientos: La preparación del inóculo se realizó con diluciones seriadas para llevar a cabo a la misma población de todos los inóculos son las siguientes:

❖ T0	Testigo absoluto (sin nematodo ni bacteria)
❖ T1	BF-4 ($1,03 \cdot 10^7$)
❖ T2	BF-5 ($6,5 \cdot 10^6$)
❖ T3	BF-6 ($6,0 \cdot 10^6$)
❖ T4	BF-7 ($6,8 \cdot 10^6$)
❖ T5	BF-8 ($3,67 \cdot 10^7$)
❖ T6	BF-9 ($6,8 \cdot 10^6$)
❖ T7	BF-10 ($6,4 \cdot 10^6$)
❖ T8	BF-11 ($1 \cdot 10^5$)
❖ T9	BF-12 ($5,08 \cdot 10^7$)
❖ T10	BF-13 ($9,5 \cdot 10^6$)
❖ T11	BF-14 ($1,31 \cdot 10^7$)
❖ T12	BF-15 ($5,3 \cdot 10^6$)
❖ T13	BF-1 ($3,13 \cdot 10^7$)
❖ T14	BF-2 ($1,80 \cdot 10^7$)
❖ T15	BF-3 ($5,99 \cdot 10^7$)
❖ T16	Todas las cepas juntas.

2.1.2.3. Siembra: Establecidos los tratamientos se realizó la siembra en macetas de polietileno 40x40 cm con una capacidad de 7 kg, donde se colocó una semilla por maceta para cada variedad. Al mismo tiempo de la siembra se inocularon las bacterias como los 20 quistes de *Globodera* spp. por maceta.

Se evaluaron las siguientes variables de respuesta:

- Peso de follaje
- Peso de raíz
- Longitud de raíz
- Número de tubérculos
- Rendimiento
- Población final de quistes e identificación de la especie del nematodo

Labores culturales:

- Control de malezas
- Riego
- Aporque
- Control de plagas y enfermedades
- Cosecha

Los tratamientos fueron evaluados bajo un diseño completamente aleatorio (DCA) con 16 tratamientos más un testigo absoluto con 5 repeticiones. Cada unidad experimental estuvo constituida por una maceta que contiene una sola planta para cada variedad. Para seleccionar a los aislados con características similares, se utilizaron las medias de todas las variables de respuesta, los cuales fueron sometidas al análisis de CLUSTER de acuerdo al método de distancia máxima usando el PROC CLUSTER de SAS.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Variedad Desirée

3.1.1. Respuestas fisiológicas

3.1.1.1. Peso fresco del follaje

Debido al efecto de aplicación de cepas bacterianas sobre el peso fresco del follaje del cultivo tuvieron mayor crecimiento y acumulación de la biomasa foliar ($p=0,0285$), eso mejoró la capacidad fotosintética de la planta por los microorganismos promotores de crecimiento PGPR, ya que estos inducen el crecimiento de la planta a pesar de ser atacado por el nematodo quiste de la papa. Las mejores cepas aisladas fueron el T15 (BF-3) con 335,2

g/planta, seguido del T5 (BF-8) con 303,6 g/planta, por otro lado con el T7 (BF-10) se obtuvieron 194 g/planta siendo el tratamiento con menor peso de follaje, en comparación con el testigo absoluto (T0=Sin nematodo ni bacteria) con solo 279 g, es mayor la acumulación de biomasa foliar, (Figura 1).

Baker (2006), menciona que los microorganismos benéficos del suelo aumentan la disponibilidad de los nutrientes, jugando un rol esencial en el reciclado de los elementos de la naturaleza por lo que las plantas expresan un mayor crecimiento de la masa foliar y mejoran la base de los tallos.

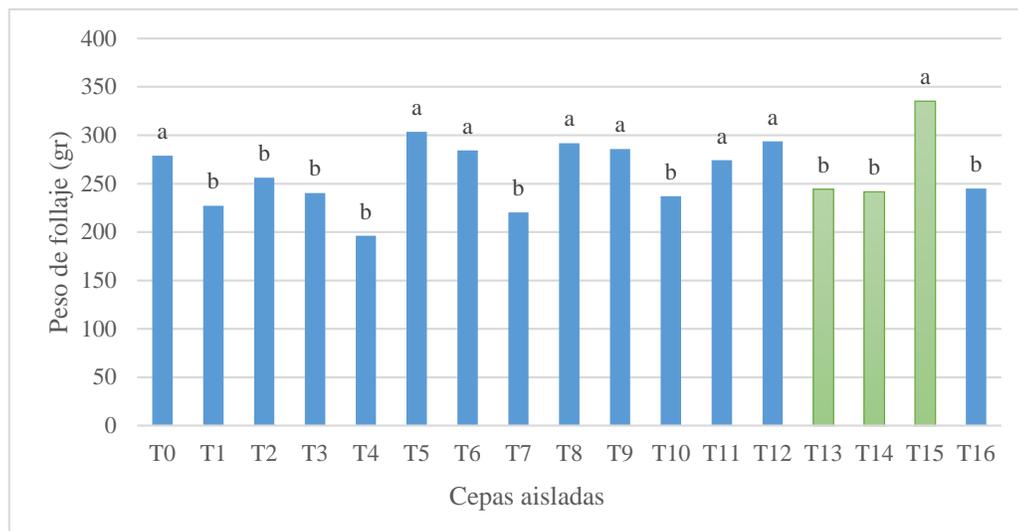


Figura 1. Efecto de los aislados bacterianos sobre el peso de follaje de las plantas de papa variedad Desirée.

3.1.1.2. Peso fresco de la raíz

El efecto sobre el peso de raíz con la aplicación de bacterias tipo *Bacillus* spp. se observa en la Figura 2 que el mejor aislado es el T5 (BF-8) con 77,6 g/planta seguido del T10 (BF-3) con 73,75 g/planta, por otro lado se observa que el T11 (BF-14) tuvo el menor peso de raíz solo con 40 g/planta, en comparación al testigo absoluto (T0= sin nematodo ni bacteria) con 71,2 g/planta. Yanni (2001), indica que con la aplicación de *Bacillus* a diferentes cultivos se manifiesta fundamentalmente por un mayor incremento en la longitud de la raíz altura de tallo, área foliar, contenido de clorofila, capacidad fotosintética, volumen radical y biomasa.

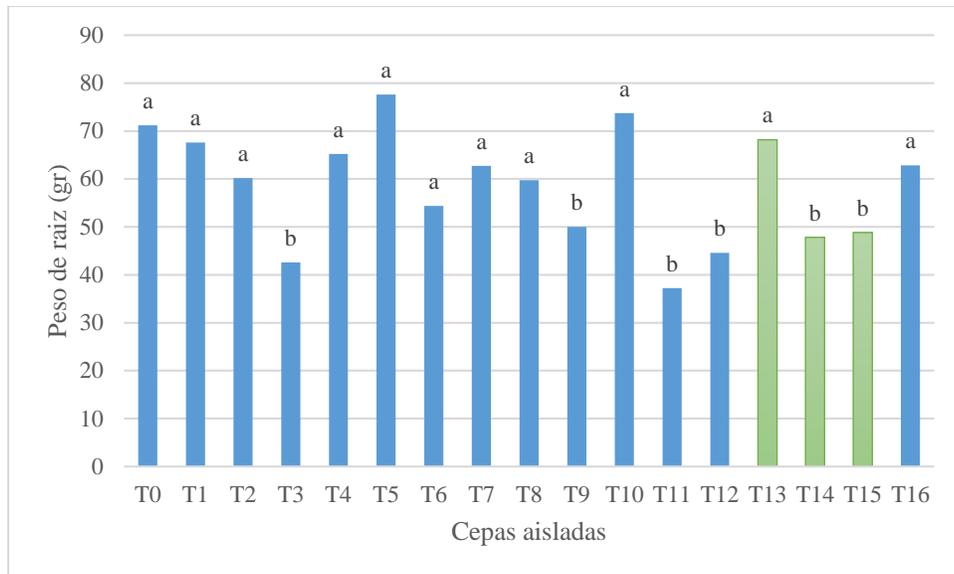


Figura 1. Efecto de los aislados bacterianos sobre el peso de la raíz de las plantas de papa variedad Désirée.

3.1.1.3. Longitud de la raíz

Para la variable longitud de la raíz, con la aplicación no se observaron diferencias significativas ($p=0,6686$), sin embargo los aislados T15 (BF-3) tuvo una longitud de 29,1 cm, T13 (BF-1) con 29 cm similares al testigo absoluto (T0= sin nematodo ni bacteria) con 29,2 cm (Figura 3). Investigaciones sobre el uso de *Bacillus licheniformes* han mostrado incrementos en el área superficial y en el largo radicular en pino, esto contribuye a hacer evidente el potencial de este microorganismo como alternativa de biofertilizante con otro tipo de tratamientos (Probanza *et al.* 2002).

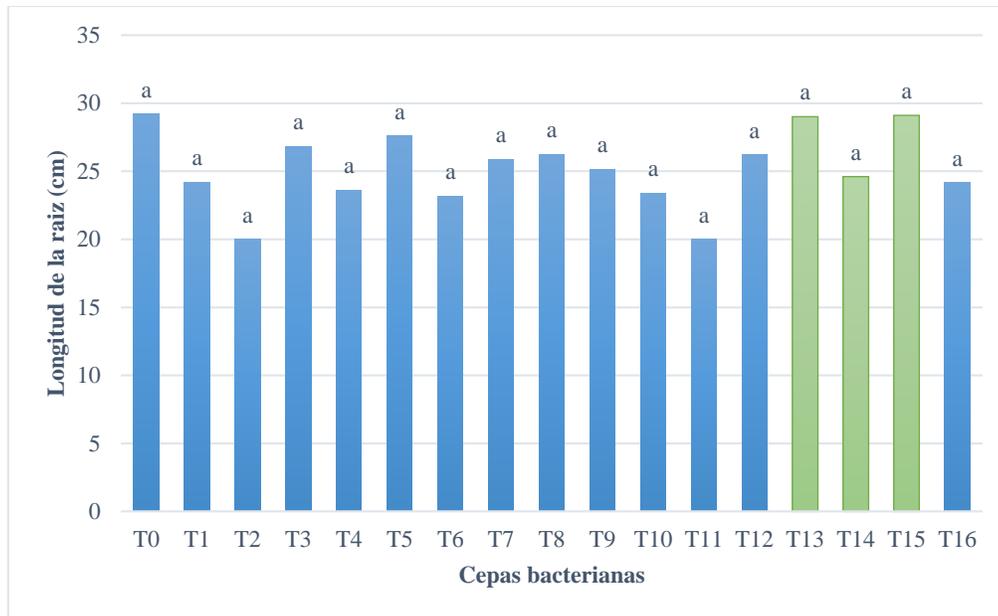


Figura 32. Efecto de las cepas bacterianas sobre la longitud de raíz del cultivo de papa variedad Desirée.

3.1.2. Respuestas Agronómicas

3.1.2.1. Número de tubérculos

Para el variable número de tubérculos no se observaron diferencias significativas ($p=0,3285$), entre los aislados bacterianos, por lo que el número de tubérculos desarrollados fue similar con la inoculación de las diferentes cepas (Figura 4).

Sin embargo, entre los aislados que relativamente favorecieron el desarrollo de número de tubérculos, fue el aislado T10 (BF-13) con 2,30 tubérculos similar al testigo absoluto T0 (sin nematodo ni bacteria), con 2,29 tubérculos. Por otro lado el aislado que favoreció menor desarrollo fue el T4 (BF-7) con solo 1,68 tubérculos/planta.

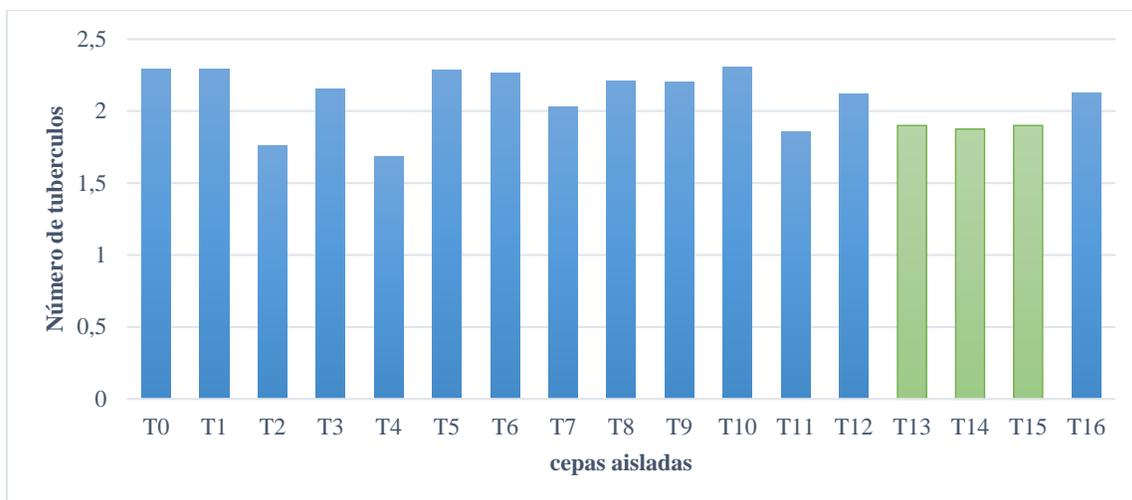


Figura 4. Efecto de los aislados bacterianos sobre el número de tubérculos de papa de la variedad Desirée.

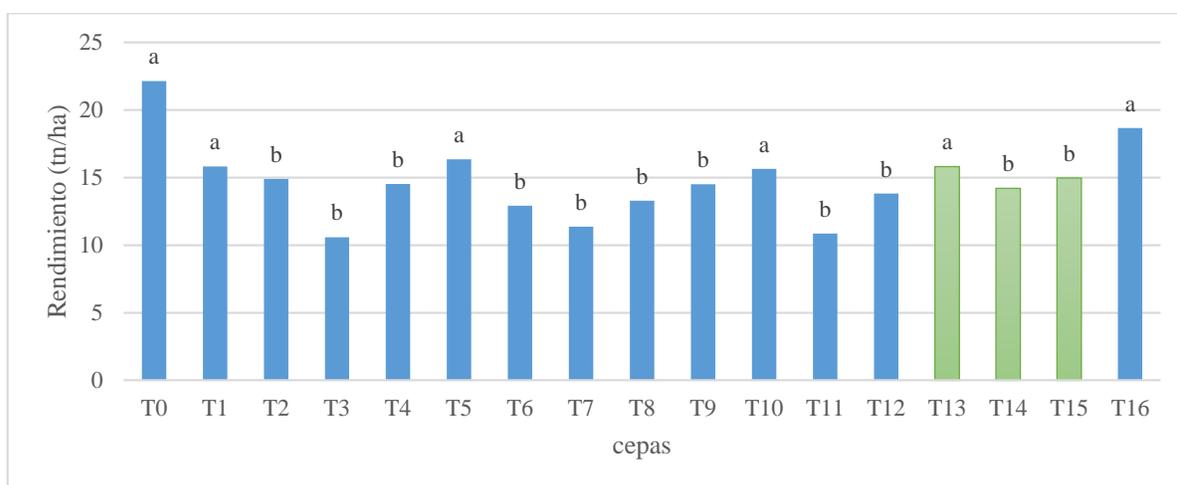
Rocha (2016), tuvo resultados similares en relación al número de tubérculos por planta no observó diferencias significativas sin embargo con el aislado 34 tuvo un promedio de 12,17 unidades, en relación a *Bacillus subtilis* (Bs) con 7,83 y el testigo sin inculo (T0) con 7,5 unidades. En comparación al aislado 20 que tuvo el menor desarrollo de tubérculos con 6,17 unidades.

También se reportan en otros estudios con fresa (Esitken *et al* 2010), frambuesa (Orhan *et al.* 2006) y en Chile (Datta *et al* 2011) en los cuales los tratamientos de *Bacillus* aumentaron el número de frutos esto puede deberse a la asociación que estos microorganismos tienen con los diferentes cultivares en los que son aplicados como cereales, hortalizas o tubérculos.

En otros estudios en yuca el rendimiento agrícola mostró incrementos entre 20-54%, lo que también se evidencia en sus indicadores más cercanos, como el número de tubérculos por planta (entre 11-43%) y el diámetro de estos (entre 15-19%). Comprobándose nuevamente el efecto beneficioso sobre el cultivo de papa. Así, en relación con la calidad de los tubérculos cosechados, se observaron diferencias significativas en todos los calibres muestreados con un incremento promedio entre 18-39% y 26-42% en el número y peso de frutos provenientes de plantas inoculadas, en comparación con plantas controles y la producción de frutos (Dibut *et al.* 2004; Gravel *et al.* 2007).

3.1.2.2. Rendimiento del tubérculo

Después del análisis de varianza se ha determinado diferencias significativas ($p=0,0481$), entre los tratamientos en el rendimiento de la variedad Desirée, observándose que los aislados T5 (BF-8) y T10 (BF-13) tuvieron rendimientos de 16,34 t/ha y 15,64 tn/ha, respectivamente. Por otro lado la interacción de todas las cepas aisladas T16 (interacción de todas las cepas), tuvo un rendimiento de 18,66 t/ha, en comparación con el testigo absoluto T0 (sin bacteria ni nematodo), con 22,14 t/ha, siendo los aislados T3 (BF-6) y T11 (BF-14) tuvieron los menores rendimientos con 10,59 t/ha y 10,85t/ha, respectivamente (Figura 5)



*Letras iguales son estadísticamente similares al 95% de probabilidad

Figura 5. Efecto de los aislados bacterianos sobre el rendimiento de la papa variedad Desirée

Resultados similares obtuvieron (Howie y Echandi citado por Srivastata y Handa 2005), en semillas de papa observando que los inóculos promovieron el crecimiento del peso seco de las raíces en 22% y el de los tubérculos en 80%, teniendo mayor rendimiento bajo condiciones de invernadero.

Posiblemente porque los microorganismos presentan la capacidad de producir auxinas, las cuales son sustancias con efecto regulador sobre el crecimiento de la planta, estando íntimamente relacionado con los procesos de fructificación de las mismas (Srivastava y Handa 2005).

Por lo tanto, la inoculación con los aislados bacterianos podría favorecer el desarrollo de tubérculos de papa y a la vez también el rendimiento.

3.1.3. Respuestas Nematológicas

3.1.3.1. Población final de quistes

En la Figura 6 de acuerdo al análisis de varianza se observa diferencias significativas ($p=0,0114$), para la reproducción de quistes, donde la cepa T2 (BF-5) tuvo menor población de nematodos con 0,33 quistes/planta. Sin embargo la mayor población fue con el aislado T12 (BF-15) con 6 quistes/planta.

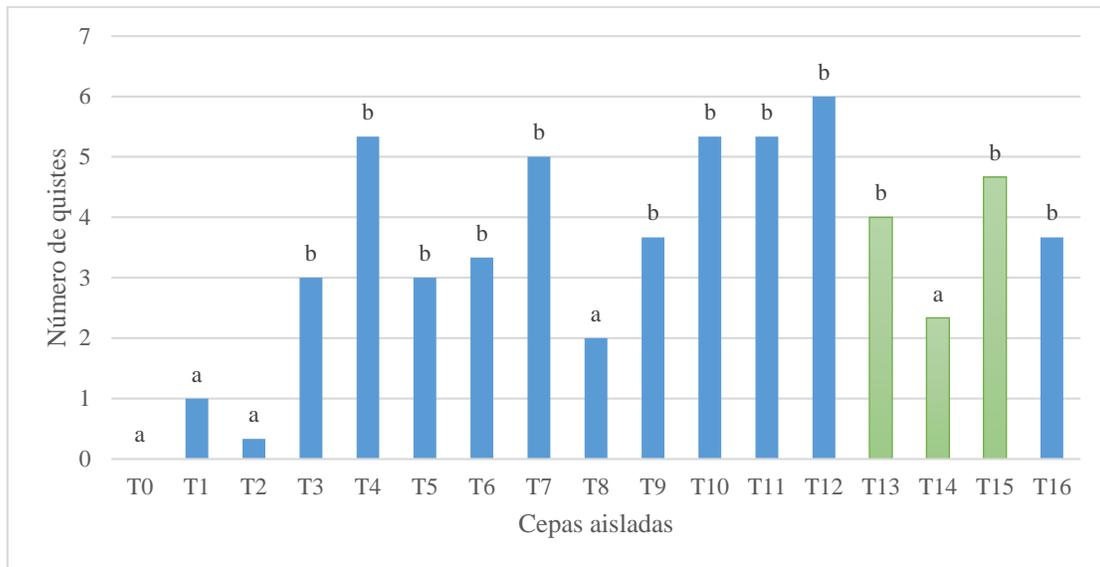


Figura 6. Efecto de los aislados sobre la población final de los nematodos *Globodera* spp.

En otros estudios se menciona que las PGPR poseen diversos mecanismos de acción a través de los cuales pueden disminuir considerablemente el daño provocado por nematodos en las plantas, dentro de los cuales se puede mencionar como mecanismos directos la producción de fitohormonas y sideróforos, fijación de Nitrógeno, solubilización de minerales y los mecanismos indirectos, que corresponden a la inducción de resistencia sistémica en la planta, producción de antibióticos, competencia por nutrientes, entre otros (Hernández *et al.* 2006), con lo cual, pueden afectar la movilidad de los nematodos y la eclosión de huevos (Kerry 2000).

3.1.4. Agrupación de las cepas bacterianas con las mejores características como PGPR

Se observa 2 grandes agrupamientos de las cepas bacterianas, (Figura 7) con características similares donde el Grupo 1 está constituido por las cepas BF-4 (T1), BF-6 (T3), BF-9 (T6), BF-10 (T7), BF-1 (T13), BF-5 (T2), BF-14 (T11), BF-7 (T4), estas cepas de *Bacillus* spp. no indujeron vigor a las plantas por que tuvieron valores menores a las cepas del G2, sin embargo

se observaron que las plantas atacadas por el nematodo tuvieron menor población de *Globodera* spp.. Por otro lado el Grupo 2 está constituido por las cepas: BF-8 (T5), BF-13 (T10), BF-2 (T14), BF-12 (T9), BF-15 (T12), Interacción de todas las cepas (T16), BF-11 (T8), y BF-3 (T15).

Se observaron a las plantas inoculadas con las cepas del G2 tuvieron mayor población de quistes de *Globodera* spp., al mismo tiempo, tuvieron los mayores valores en peso fresco de follaje, peso fresco de raíz, longitud de raíz, número de tubérculos y más rendimiento. Lo cual otorga a estas cepas que promueven la producción del cultivo de papa aun estando parasitadas por el nematodo.

Por otro lado, en el G1 las cepas de *Bacillus* spp. no indujeron vigor a las plantas por que tuvieron valores menores a las cepas del G2, sin embargo se observaron que las plantas atacadas por el nematodo tuvieron menor población de *Globodera* spp.

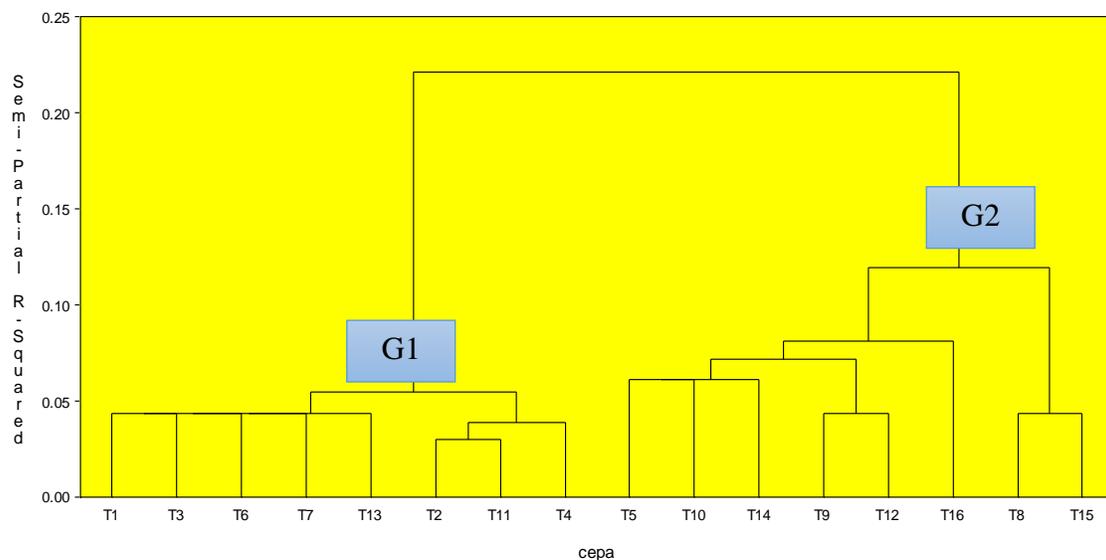


Figura 7. Agrupamiento de los aislados bacterianos: peso de follaje, peso de raíz, longitud de raíz, número de tubérculos, rendimiento, población final de los nematodos *Globodera* spp.

3.2. Variedad Waych'a

3.2.1. Respuestas Fisiológicas

3.2.1.1. Peso fresco del follaje

En la Figura 8 el análisis de varianza no se observaron diferencias significativas ($p=0,1462$) sin embargo, sobresalen las cepas T7 (BF-10) con 768,2 g/planta seguido del T13 (BF-1) con 610,4 g/planta. Por otro lado el T14 (BF.2) tuvo 419 g/planta, siendo el tratamiento con menor peso de follaje, respectivamente en comparación al testigo absoluto (T0=sin nematodo ni bacteria) con solo 540 g.

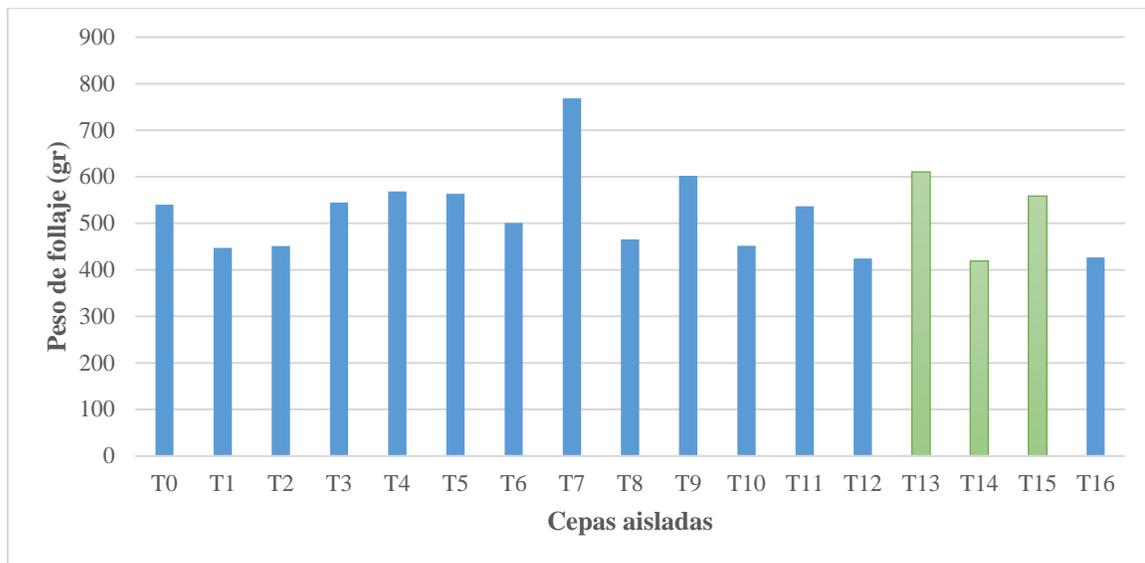
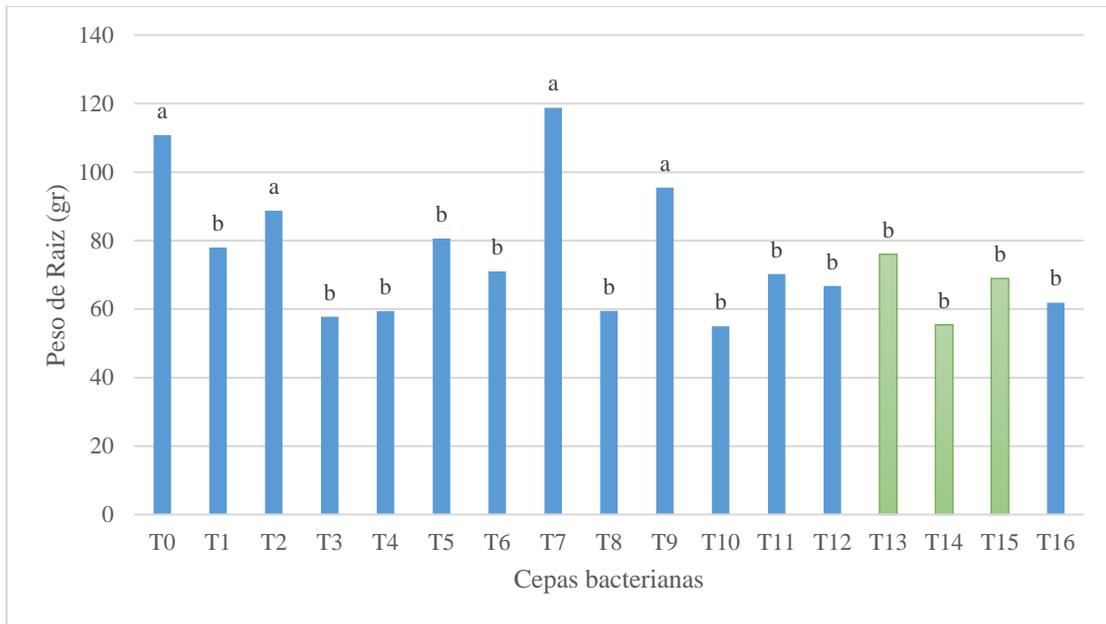


Figura 8. Efecto de las bacterias tipo *Bacillus* sobre el peso de follaje en la variedad Waych'a.

3.2.1.2. Peso fresco de la raíz

La aplicación de bacterias tipo *Bacillus* spp. para la variable peso de raíz, se observaron diferencias significativas ($P0,0257$), en la Figura 9 donde el mejor aislado es el T7 (BF-10) con 118,8 g/planta seguido del T9 (BF-12) con 95,5 g/planta, por otro lado, se observa a los aislados T10 (BF-13) y T14 (BF-2) tuvieron pesos similares con 55 y 55,4 g/planta, respectivamente teniendo los menores pesos de raíz en comparación al testigo absoluto (T0=sin nematodo ni bacteria) con 110,8 g/planta. Hallmann (2006), observó que la inoculación con bacterias endófitas aumenta la cantidad de raíces en las plantas. Esto favorece la capacidad de absorción de agua y nutrientes, permitiendo que las plantas sean más vigorosas, productivas y tolerantes a condiciones climáticas adversas.



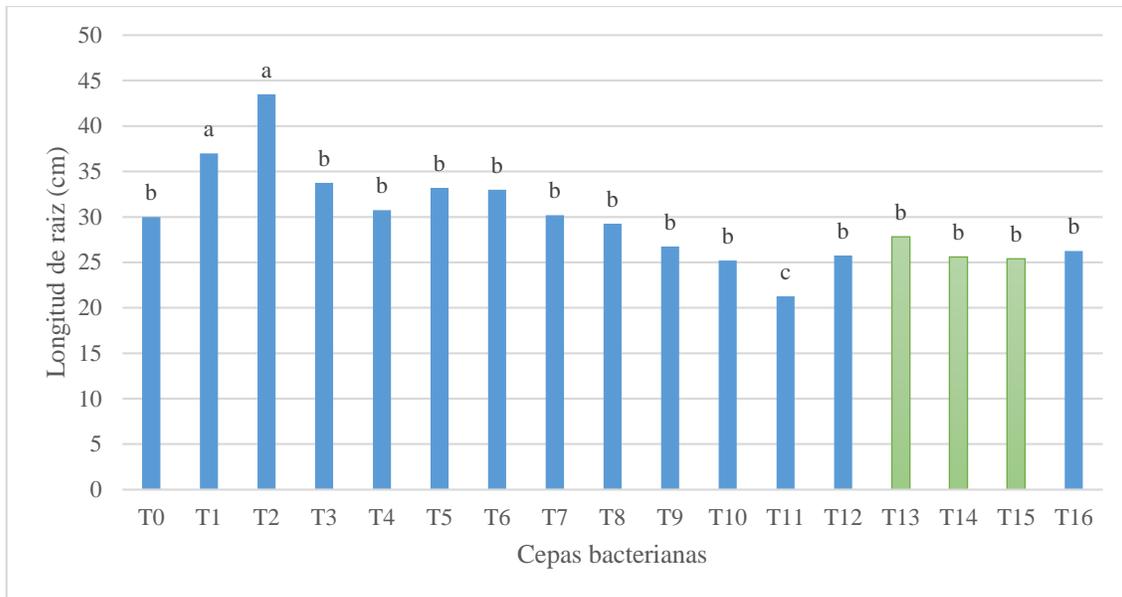
*Letras iguales son estadísticamente similares al 95% de probabilidad

Figura 9. Efecto de los aislados bacterianos tipo *Bacillus* spp sobre el peso de la raíz en la variedad Waych'a.

3.2.1.3. Longitud de la raíz

Para la variable longitud de la raíz (Figura 10), con el análisis de varianza se observaron diferencias significativas ($p=0,0015$), teniendo los mejores aislados el T2 (BF-5) con 43 cm, seguido del asilado T1 (BF-4) con 37cm en comparación al testigo absoluto (T0=Sin nematodo ni bacteria) con 30 cm de longitud de raíz. También se observa que el aislado T11 (BF-14) tuvo la menor longitud de raíz con 21,25 cm solamente.

Hernández y Escalona (2003), quienes mencionan la promoción del crecimiento en las plantas inoculadas con rizobacterias que ocurre por varios factores; uno de ellos es por la síntesis de ciertas sustancias reguladoras de crecimiento, como giberelinas, citocininas y auxinas, las cuales estimulan la densidad y longitud de los pelos radicales, aumentando así la cantidad de raíces en las plantas, lo que incrementa a su vez la capacidad de absorción de agua y nutrimentos y permite que las plantas sean más vigorosas, productivas y tolerantes a condiciones climáticas adversas como las heladas o las sequías.



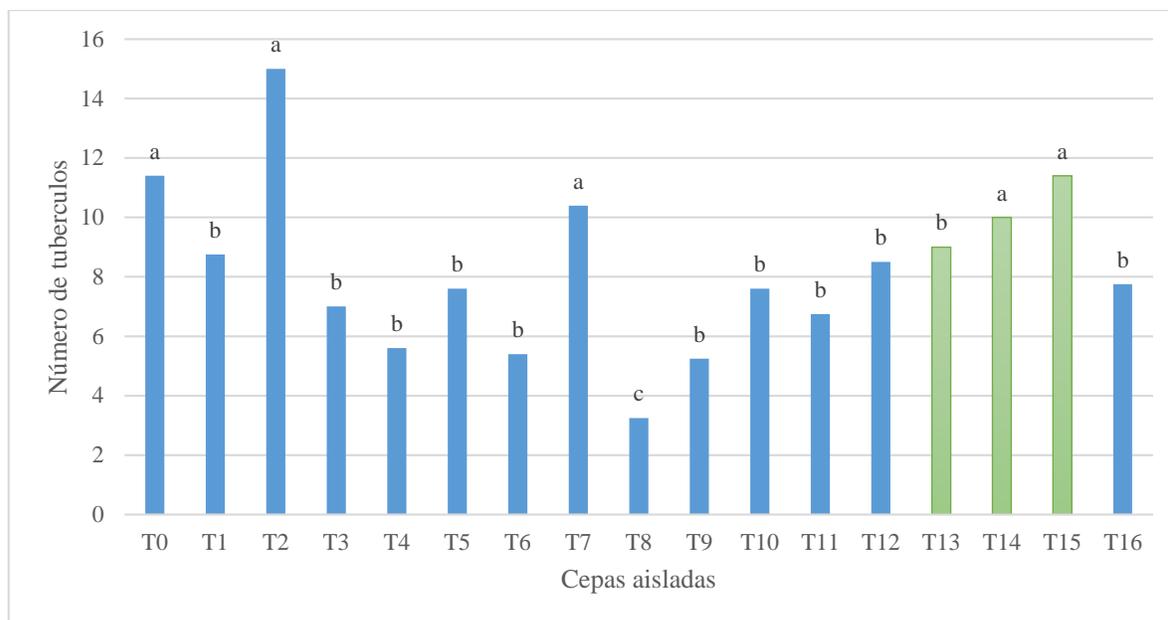
*Letras iguales son estadísticamente similares al 95% de probabilidad

Figura 10. Efecto de los aislados bacterianos sobre la longitud de raíz de papa de la variedad Waych'a.

3.2.2. Respuestas Agronómicas

3.2.2.1. Número de tubérculos

El número de tubérculos (Figura 11), en el análisis de varianza se observaron diferencias significativas ($p=0,0109$), entre los aislados bacterianos, donde el aislado T2 (BF-5) tuvo el mayor número de tubérculos desarrollados con 15 tubérculos/planta, seguido del aislado T7 (BF-10) con 10,4 tubérculos, en comparación al testigo absoluto T0 (sin nematodo ni bacteria) con 11,4 tubérculos. Por otro lado se observa al aislado T8 (BF-11) solo con 3,25 tubérculos, siendo el aislado con menor desarrollo de tubérculos.



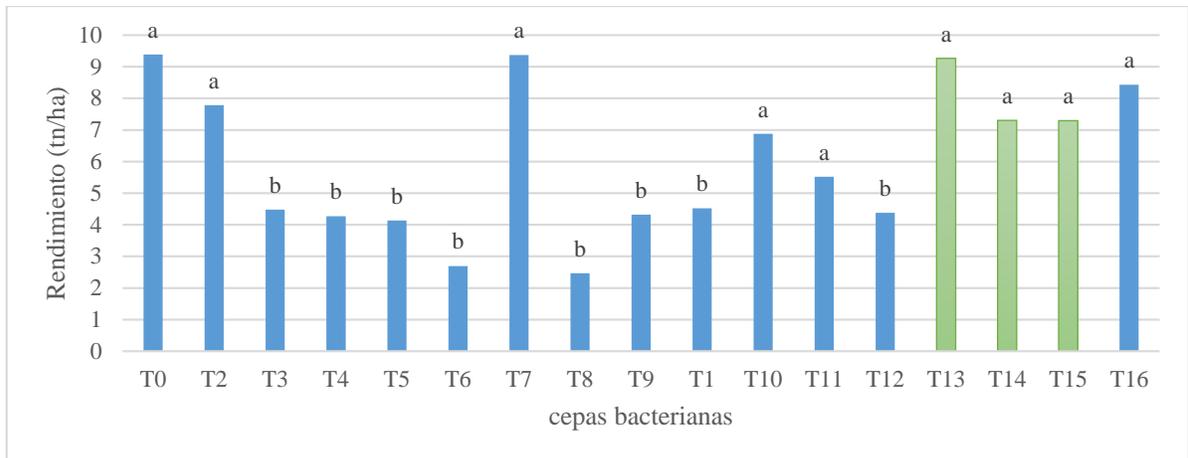
*Letras iguales son estadísticamente similares al 95% de probabilidad

Figura 11. Efecto de las bacterias tipo *Bacillus* spp. sobre el número de tubérculos de papa de la variedad Waych´a.

3.2.2.2. Rendimiento de tubérculo

Después del análisis de varianza se observó diferencias significativas entre los tratamientos ($Pr=0,0062$), para el rendimiento en la variedad Waych´a, observándose a los aislados T7 (BF-10) y T13 (BF-1) se tienen rendimientos de 9,37 t/ha y 9,26 t/ha respectivamente, teniendo similar comportamiento al testigo absoluto T0 (sin nematodo ni bacteria) con 9,39 t/ha. Por otro lado se observa al aislado T8 (BF-11) solo con 2,46 t/ha con menor rendimiento. También se observa que la interacción de todas las cepas bacterianas T16 se tiene un rendimiento de 8,46 t/ha. Siendo uno de los mejores rendimientos por lo que se determina que se puede tener buenos rendimientos cuando todas las bacterias aisladas están juntas (Figura 12).

Srivastata y Handa (2005) mencionan que los microorganismos presentan la capacidad para producir auxinas, las cuales son sustancias con un efecto regulador sobre el crecimiento de la planta, estando íntimamente relacionado con los procesos de fructificación de las mismas.



*Las letras iguales son estadísticamente similares al 95% de probabilidad

Figura 12. Efecto de los aislados bacterianos sobre el rendimiento de papa de la variedad Waych'a.

3.2.3. Respuestas Nematológicas

3.2.3.1. Población final del quiste *Globodera* spp.

De acuerdo al análisis de varianza se observó diferencias significativas ($P_r = 0,0001$), para la reproducción de quistes, donde el aislado T15 (BF-3) tuvo menor población solo con 0,33 quistes/planta. Siendo el aislado T13 (BF-1) que tuvo mayor población de quistes con 14,33 quistes por planta (Figura 13).

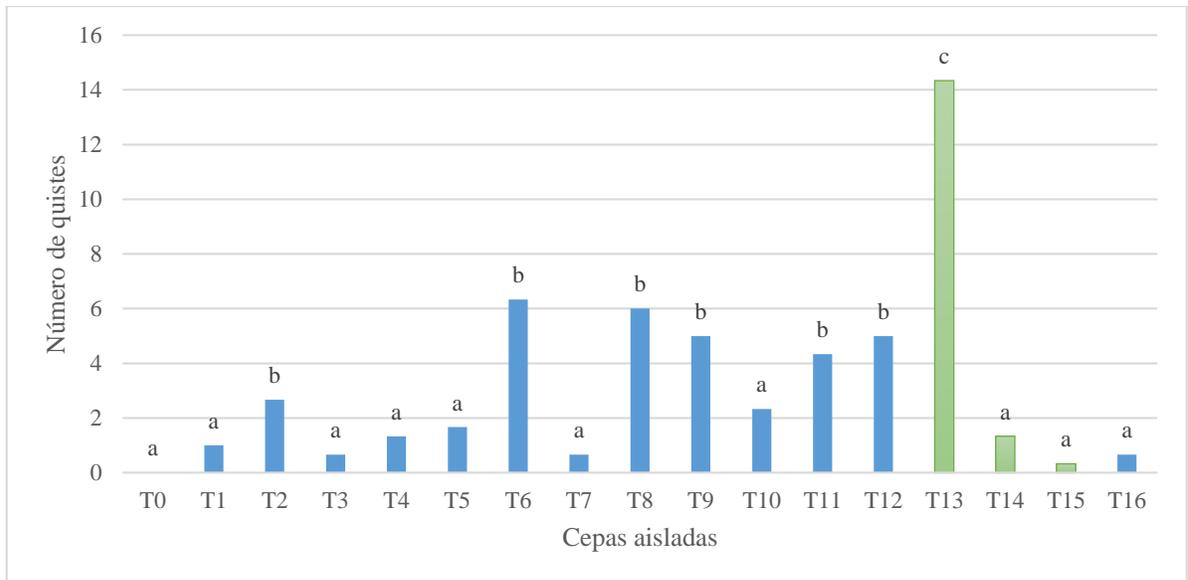


Figura 13. Efecto de los aislados bacterianos sobre la población de los nematodos del género *Globodera* spp.

3.2.4. Agrupación de las cepas bacterianas con las mejores características como PGPR

Se observa 2 grandes agrupamientos de las cepas bacterianas con características similares donde el Grupo 1 está constituido por los tratamientos BF-4 (T1), BF-5 (T2), BF-7 (T4), BF-9 (T6), BF-14 (T11), BF-1 (T13), BF-6 (T3), BF-10 (T7), las plantas inoculadas con las cepas del G1 tuvieron mayor población de quistes de *Globodera* spp., al mismo tiempo, tuvieron los mayores valores en peso fresco de follaje, peso fresco de raíz, longitud de raíz, número de tubérculos y más rendimiento. Lo cual otorga a estas cepas promuevan la producción del cultivo de papa aun estando parasitada por el nematodo. Por otro lado, el Grupo 2 está constituido por los siguientes tratamientos: BF-8 (T5), BF-13 (T10), BF-2 (T14), BF-12 (T9), BF-15 (T12), BF-11 (T8), BF-3 (T15), y Interacción de todas las cepas bacterianas (T16), con el G2 las cepas de *Bacillus* spp. no indujeron vigor a la planta porque tuvieron valores menores a las cepas del G1, sin embargo, se observó que las plantas atacadas por el nematodo, tuvieron menor población de *Globodera* spp. (Figura 14).

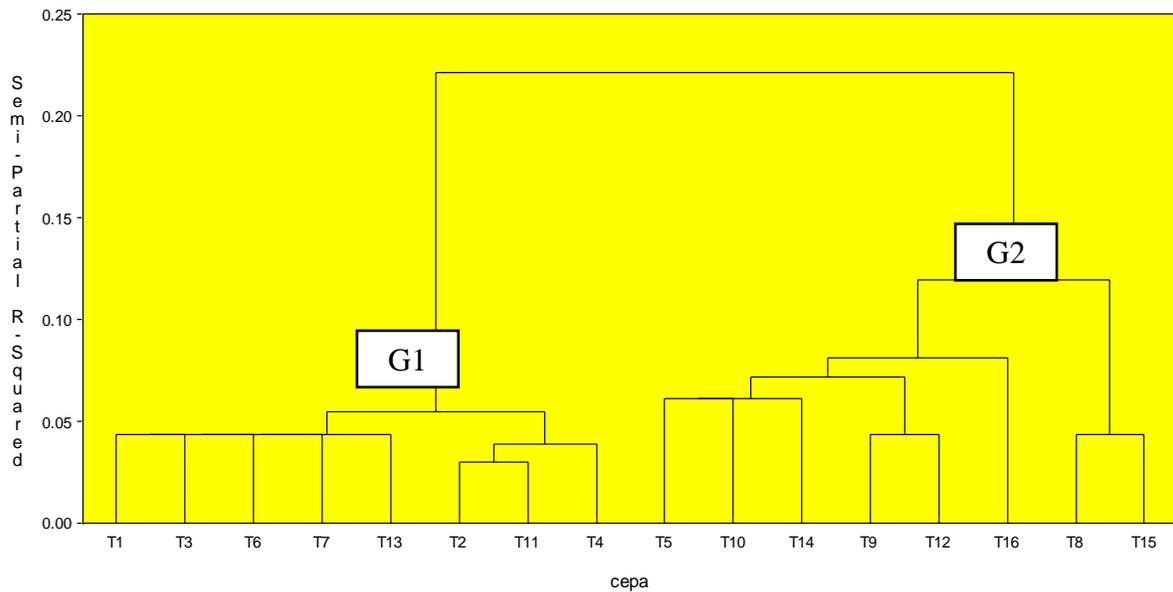


Figura 14. Agrupación de aislados de las cepas bacterianas: peso de follaje, peso de raíz, longitud de raíz, rendimiento, población final de los nematodos de genero *Globodera* spp.

3.3. Identificación de la especie del nematodo dorado de la papa *Globodera* spp.

De acuerdo a lo observado morfológicamente en el microscopio se determinó que la especie del nematodo de la papa fue *globodera pallida*. Esto coincide con (Cid 2015), quien determinó que morfológicamente *Globodera rostochiensis* se caracteriza porque las hembras inicialmente son de color blanco amarillento, posteriormente las hembras en proceso de enquistarse adquieren un color dorado, mientras que *Globodera pallida* mantiene un color cremoso. Los quistes tienen un fenestra circular, carecen de bulla, el número de líneas entre la vulva y ano es mayor en *G. rostochiensis* (17-20) mientras que en *G. pallida* van de (7-12), así como es mayor el radio de Granek (distancia del borde de la fenestra al ano, entre el diámetro de fenestra) 3.0-4.5 para *G. rostochiensis* vs. 1.2-2.5 en *G. pallida* respectivamente, el ano es conspicuo sin fenestra, en forma de V sobre la superficie cuticular; la forma de los nódulos basales en los J2 son redondeados en *G. rostochiensis* vs. ligeramente proyectados anteriormente en *G. pallida* (Subbotin *et al.* 2010).

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y los resultados obtenidos en la investigación se tienen las siguientes conclusiones:

- En la Fase I, de las 43 muestras de suelo analizadas de Pojo Totorá, Toro Toro, Tiraque, Morochata y Colomi, se aislaron 12 cepas bacterianas de *Bacillus* spp.
- En la fase II en condiciones de invernadero las cepas T5 (BF-8) y T7 (BF-10), indujeron y plantas más vigorosas y mayor rendimiento en la variedad Desiree, la cual estaba parasitada por *Globodera* spp. En cambio en la variedad Waych'a, las cepas T7 (BF-10) y T13 (BF-1), respecto al testigo, lograron los mayores rendimientos en plantas parasitadas por el nematodo. Esto demuestra que las plantas a pesar de ser atacadas por el nematodo, pueden rendir con la inoculación de cepas de *Bacillus* spp.
- Agrupando las cepas con el análisis Cluster, se observó que las cepas aisladas del G1 constituidas por BF-4 (T1), BF-6 (T3), BF-9 (T6), BF-10 (T7), BF-1 (T13), BF-5 (T2), BF-14 (T11), BF-7 (T4), promovieron mayor vigorosidad de plantas y mayor rendimiento en la variedad Desirée. Por otro lado, el mismo efecto se observó, en la variedad Waych'a, con el G2 se tiene las cepas BF-8 (T5), BF-13 (T10), BF-2 (T14), BF-12 (T9), BF-15 (T12), Interacción de todas las cepas (T16), BF-11 (T8), BF-3 (T15). Esto demuestra que distintas cepas, en las dos variedades, pueden inducir tolerancia en plantas de papa, aun siendo atacadas por el nematodo.
- El nematodo tuvo menor población en la variedad Desiree en presencia de la cepa BF-5 (T2) en cambio en la variedad Waych'a tuvo menor población con la cepa BF-3 (T15).
- También se estableció, a través de cortes perineales, que se trabajó con una población dominante de la especie *Globodera pallida*. En un 90% y *Globodera rostochiensis* con 10%.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anaya, GB; Jiménez-Pérez, N; Rodríguez, D; Crozzoli, R; Greco N. 2005. Respuesta de clones avanzados de papa al nematodo quiste, *Globodera rostochiensis*, y comportamiento en microparcels de un clon resistente al nematodo. *Nematropica* 35:145-154p.
- Barker, KR; Koenning, SR. 1998. Developin sustainable systems for nematode management. *Annual Review of Phytopathology* 36:165-205.

- Calderón, OJ; Aguilar, D; Soto, CR. 2016. Evaluacion de métodos de riego tecnificado en variedades industriales de papa en el Centro de Innovación INIAF, Municipio Zudañez, departamento Chuquisaca. Revista científica de investigación INFO-INIAF.31p.
- Cid, del PI. 2015. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria.FICHA TECNICA. Nematodo dorado *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) (Skarbilovich, 1959). 5-6p.
- Cordero, M. 2001. Identificación de poblaciones del nematodo quiste de la papa *Globodera* spp. (Nematoda, Heteroderidae) en el Estado Táchira, Venezuela. Memorias XII Congreso Venezolano de Fitopatología. Maracay, Venezuela. Resúmenes,71p.
- Chitwood, DJ. 2003. Research on plant-parasitic nematode conducted by the United States Depart of Agriculture-Agricultural Research service. Pest Managemnt Science 59: 748753.
- Estrada, RN. 2000. La Biodiversidad en el Mejoramiento Genético de la papa. Bill Hardy, Emma Martinez (eds.) La Paz, Bolivia. 372 p.
- FAO. 2004. (Faostat) Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases (FAO) (<http://faostat.fao.org>; 25/04/2.004).
- Howie, W y Echandi, E. 1983. Rhizobacteria: influence of cultivar and soil Type on plant growth and yield of potato Departament of plant pathology. North Carolina State University, Raleigh, Nc 27650. USA.
- Molina, A; Sánchez, A; Sánchez, C. 2007. Inmunidad innata en plantas y resistencia a patógenos: nuevos conceptos y potenciales aplicaciones en proteccion vegetal. [Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal](#), ISSN 1131-8988,43-46p.
- Piedra, NR; Avilés, C.J. 2014. Reduccion de poblaciones de *Globodera pallida* al cultivar avena después de papa. Alcances Tecnológicos. 10(1): 29 – 33. ISSN-1659-0538.
- Subbotin, SA; Mundo, OM; Baldwin,J.G. 2010. Systematics of cyst nematodes (Nematoda:Heteroderidae). Nematology monographs and perpectives Volume 8ª. Ed. Brill Leiden-Boston. 351p.
- Srivastata, A. y Handa, A. 2005. Hormonal regulation of tomato fruit Development: a molecular perspective. Journal of Plant Growth Regulation. 24: 6-82.

TEC (Tecnológico de Monterrey, MX). 2006. Biofumigación con *Brassica Oleracea* como control de nematodos en cultivos de jitomate en Jiutepec, Morelos, Campus Morelos.3 p.