



Universidad de Almería

Respuesta bioestimulante a la aplicación de extractos de origen natural en el trasplante de arándanos en cultivo sin suelo

Máster en Horticultura Mediterránea bajo Invernadero

Amelia Correa Bustos

Directora del trabajo fin de máster:

María del Carmen Salas Sanjuán

Septiembre de 2021/ Convocatoria Julio 2021

Respuesta bioestimulante a la aplicación de extractos de origen natural en el trasplante de arándanos en cultivo sin suelo

Amelia Correa Bustos

Resumen

Con el actual auge de producción de arándanos y las problemáticas asociadas a su cultivo, nace la necesidad de adaptarlo. Por ello, se ha revolucionado el mercado con las nuevas formas de cultivo sin suelo. El uso de fertilizantes químicos en la agricultura hace que esta sea cada vez menos eficiente con el medio ambiente. El intento de reducir residuos ha llevado a investigar con sustancias biológicas que sean más respetuosas con el medio y efectivas con las plantas. En este trabajo se busca evaluar la efectividad de dos productos bioestimulante en el estrés post trasplante de una muestra representativa de plantas. Concluyendo que el tratamiento experimental con bacterias es efectivo. En el caso de los extractos de microalgas, sería necesario evaluarlo nuevamente cambiando parámetros de aplicación.

Palabras clave: *Vaccinium*, bacterias promotoras del crecimiento vegetal, microalgas, cultivo en contenedor.

Abstract

With the current boom in blueberry production and the problems associated with it, the need to adapt it. Therefore, the market has been revolutionized with new forms of cultivation without soil. The use of chemicals fertilizers in agriculture makes agriculture less efficient with the environment. The attempt to reduce waste has led to research with biological substances that are more respectful of the environment and effective with plants. This paper seeks to evaluate the effectiveness of two biostimulant products in post-transplant stress of a representative sample of plants. Concluding that experimental treatment with bacteria is effective. In the case of microalgae extracts, it would be necessary to evaluate it again by changing application parameters.

Key words: *Vaccinium*, Plant Growth-Promoting Bacteria, Microalgal, Pot culture.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se consume una gran cantidad de frutas que han sido adaptadas para su cultivo de forma intensiva. Es el caso del arándano, este cultivo ha sufrido una revolución a lo largo de los años (Brazelton y Young 2017). Entre las especies de arándanos más cultivadas comercialmente destacan *Vaccinium corymbosum* L., e híbridos, *Vaccinium angustifolium* Aiton, y *Vaccinium Virgatum* Aiton (Hummer et al., 2019). De las cuales, la más utilizada es la especie *Vaccinium corymbosum* L. que se posiciona como la cuarta potencia económica de cultivo de *berries* en el mundo. Su consumo actual se corresponde al interés que provoca su alto contenido en antioxidantes y su beneficio en la salud humana. (Salgado et al., 2018).

Las nuevas tecnologías agrarias permiten el crecimiento y la supervivencia de casi cualquier planta en las condiciones que inicialmente no eran las más idóneas. El interés en ampliar las zonas de cultivo de arándano ha promovido la implementación de nuevas técnicas de producción, entre las que destaca el cultivo en contenedor. Esta modalidad de cultivo permite aumentar la producción y precocidad de la cosecha, una distribución eficiente y adecuada de los nutrientes, mejoras en el desarrollo de las plantas y un mejor control de enfermedades y plagas (Schuch y Peil, 2011).

Las plantas de arándanos pertenecen al grupo calcífugas, lo que significa que son plantas que están acondicionadas a crecer en condiciones de suelo ácido (5-5.8). Por lo que el pH es una

de las principales características que se debe tener en cuenta a la hora de cultivarlos (Retamales y Hancock 2018). El sistema radical del arándano se distingue por tener una masa de finas raíces con una sola capa de células corticales, entre 40-75 mm de diámetro. Las raíces no penetran más allá que 30-40 cm de profundidad. Carecen de epidermis y de pelos absorbentes, siendo las más jóvenes las encargadas de la absorción de los nutrientes (Buzeta, 1997). A menudo son colonizadas por hongos micorrícicos (Bañados, 2005; Bryla y Strik, 2007; Valenzuela-Estrada et al., 2008). Estas características hacen que sea un cultivo muy sensible a las propiedades físicas del suelo y a las variaciones del nivel hídrico. Lo que propicia que el crecimiento de las raíces esté limitado por la disponibilidad de los recursos (Esquivel, 2009).

En la actualidad hay diversas regulaciones que limitan el uso de productos agroquímicos de síntesis, siendo cada vez más frecuente el uso de productos biológicos para el control de enfermedades y plagas, y mejoradores de la nutrición. Estos inóculos tienen características muy específicas como promover el crecimiento vegetal y combatir las plagas en los cultivos, sin contaminar el medio ambiente, ni supongan un riesgo para la salud humana (Ortiz et al., 2018).

En este sentido, son numerosos los trabajos que buscan beneficios derivados del uso de la microbiota vegetal. Consiste en diversas comunidades que se encuentran asociada a las plantas. Estas incluyen a aquellas que residen dentro de los tejidos de la planta (Santoyo et al., 2016; Ortiz et al., 2018). Un ejemplo de microorganismos endófitos son las bacterias, que pueden habitar dentro de los tejidos vegetales sin provocarle ningún perjuicio. Las podemos encontrar en las raíces, tallos, hojas, flores o semillas (Hallman et al., 1997).

Existen alternativas a las bacterias endófitas que se está explotando actualmente como biofertilizantes, bioestimulante y/o biopesticida de las plantas. Son los extractos de algas, que junto con las cianobacterias destacan por su uso en agricultura por su valor como nutrientes esenciales y metabolitos con diferentes bioactividades. Estas actividades pueden ser varias desde la mejora de los suelos, la protección de los cultivos contra factores de estrés biótico y abiótico y la estimulación directa del crecimiento (fitohormonas) (Gonçalves, 2021).

El estrés biótico es aquella perturbación realizada por organismos vivos a una planta, por ejemplo, las bacterias fitopatógenas. En contra posición, el estrés abiótico es toda aquella perturbación que la genera el entorno como puede ser la temperatura, salinidad del suelo, etc (Soliveres, 2011).

Cuando se realiza un trasplante las plantas se ven sometidas a un estrés al cambiar los factores ambientales en el medio radical y en la parte aérea. Ya sean factores bióticos o abióticos, la planta se ve obligada a adaptarse y reiniciar el crecimiento radical en un medio nuevo. Algunas veces al trasplantar se produce una eliminación parcial del sistema radical, lo que los induce a estrés por la pérdida de raíces y desbalance hídrico entre la absorción de agua y la transpiración. Provocando daños mecánicos y disfuncionalidad entre el suelo y las raíces afectando los procesos vitales de la planta (Girard et al., 1997). Además, algunas veces las plantas son plantadas en sitios con limitaciones para su desarrollo, induciéndolas a estrés fisiológico por déficit de agua, falta de nutrientes o luz, reduciendo su crecimiento al afectar la fotosíntesis (Teskey y Hinckley, 1986). Provocando que sean más vulnerables a factores ambientales adversos. El estrés fisiológico, aunque ha sido detectado y estimado, en ocasiones puede ser difícil de contabilizar y puede ser evaluado de distintas maneras (Soliveres, 2011).

El objetivo del trabajo es evaluar el efecto de la aplicación por fertirriego a plantas de arándanos en contenedor de dos compuestos de origen natural (extracto de algas y bacterias -PGPB (bacterias promotoras del crecimiento de las plantas)) sobre el proceso enraizamiento posterior al trasplante, pudiendo determinar la posible respuesta bioestimulante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Características del cultivo y parcela de ensayo

El ensayo se realizó en un invernadero multitúnel en el campus de la Universidad de Almería, durante los meses de marzo-junio de 2021. La temperatura exterior según la estación meteorológica “Almería-Aeropuerto”, que se encuentra en la zona de Costacabana, la temperatura exterior media durante el cultivo fueron 15.7°C mínima y 24.1 °C máxima.

Composición del Experimento 1 y 2

Las plantas que se usaron para el cultivo son *Vaccinium corymbosum* L., cuya variedad comercial es STAR FALLCREEK (E0A16038TK-59-73) y fueron trasplantadas el 17/03/2021. La muestra representativa constaba de 80 plantas, las cuales se diferencian en dos estados fenológicos distintos. Se distribuyeron en el invernadero y las plantas fueron tratadas de forma independiente según su estado fenológico. Cada experimento consta de un total de 4 tratamientos con 10 plantas cada uno de ellos.

Experimento 1. Estado fenológico 1, recibidas del vivero en febrero de 2021 en contenedor de 1L y trasplantadas inmediatamente a contenedor de 10L, contenedor intermedio antes de pasar a definitivo.

Experimento 2. Estado fenológico 2, aquellas plantas adultas y desarrolladas que se encontraban en contenedores de 10L y han sido trasplantadas a contenedor de 30L (volumen en el que las plantas permanecen en cultivo). Recibidas del vivero en febrero de 2020 en contenedor de 1L, e inmediatamente trasplantadas a contenedor de 10L que posteriormente serían trasplantadas en febrero de 2021.

Para permitir adaptación y arraigo en ambos experimentos se le realizaron cortes a la maceta para obligarla a salir del cepellón de raíces del antiguo sustrato. En el trasplante se usó una mezcla de sustratos de 85% fibra de coco y 15% de perlita.

Los experimentos constan de 4 tratamientos, dos productos de origen biológico y 2 controles (auxinas y sin aplicación) aplicados para superar el estrés en el trasplante plantas en el momento diferenciadas según el estado fenológico (experimento 1 y 2):

- T0: Testigo sin tratamiento.
- T1: Producto ensayado de bacterias PGBP (BA 3), dosis 2mL/1L de solución de riego. Este producto su función es de biofertilizante ya que puede producir sideróforos solubilizadores de hierro y a su vez puede reducir el nitrógeno atmosférico suponiendo un ahorro de fertilización del N (bacteria diazotrófica). Otra función que puede realizar este producto es de biopesticida, con más exactitud puede ser antagonista del verticillus del olivo. Este producto fue aportado por la empresa “Biorizon Biotech” en fase experimental, por lo que se desconoce más información adicional.
- T2: Producto ensayado de extracto de microalgas (Extracto A), dosis 2mL/1L de solución de riego. Este extracto está compuesto por la cepa 1 se corresponde con una cianobacteria del orden Oscillatoria, y la cepa 2 procedente de una microalga verde de la clase Chlorophyceae. Este producto fue aportado por la empresa “Biorizon Biotech” en fase experimental, por lo que se desconoce más información adicional.
- T3: Auxinas. A una concentración de 10^{-5} M de ácido indolbutírico (fórmula molecular $C_{12}H_{13}NO_2$ (4 g L^{-1}) y masa molar: $203.24 \text{ g mol}^{-1}$), dosis de 5 mL/1L de solución de riego.

La aplicación de los productos se realizó directamente al sustrato según la dosis recomendado por el fabricante para cada tratamiento. Se han realizado 3 aplicaciones con un espacio de 20 días entre ellas. Las dosis fueron aplicadas directamente al sustrato después de que hubieran pasado dos horas del primer riego de la mañana y no se regó hasta al menos 24 horas después. La dosis de la solución final con la concentración adecuada por planta fue

50mL contenedor⁻¹ (planta). En la primera dosis de aplicación de bacterias (T1) se duplicó la dosis recomendada para asegurarse así la implantación de las bacterias al sustrato.

Las aplicaciones se han realizado siguiendo el cronograma:

- 1ª Aplicación: 25/03/2021, (0-0-0) Días desde cada aplicación (1ª-2ª-3ª)
- 2ª Aplicación: 14/04/2021, (20-0-0) Días desde cada aplicación (1ª-2ª-3ª)
- 3ª Aplicación: 06/05/2021 (42-22-0) Días desde cada aplicación (1ª-2ª-3ª)

Parámetros evaluados

Se evalúa la acción de los tratamientos sobre el crecimiento de la parte aérea y radical, y sobre el estado nutricional las plantas (experimento 2). Los datos fueron tratados estadísticamente con el programa Statgraphics 18. Realizando el test de ANOVA simple y prueba de múltiples rangos cuando había significancia. En cada uno de los experimentos (estado fenológico 1 y 2) se han realizado varios muestreos (Tabla 1):

- Muestreos visuales de parte aérea y radical con el uso de imágenes obtenidas con Canon EOS 1100 y tratadas con el programa “ImagenJ” siguiendo de forma adaptada a nuestro caso el protocolo del departamento de “Plant Science” de PennState (Abràmoff et al., 2004; Patompong et al., 2021).
- Muestreo intermedio semidestructivo del material de poda, y muestreo final del experimento con la destrucción de un número representativo de plantas .

Tabla 1. Parámetros de muestreo.

Visual:	Área parte aérea (SPA) (cm ²).
	Área parte radical (SPR) (cm ²).
	Índice de crecimiento (cm ² día ⁻¹).
Destructivo y poda:	Peso fresco parte aérea (PFA) (g planta ⁻¹)
	Peso seco parte aérea (PSA) (g planta ⁻¹).
	Peso fresco parte raíz (PFR) (g planta ⁻¹)
	Peso seco parte raíz (PSR) (g planta ⁻¹).
	PSA/Área de la parte aérea (SPA) (g cm ⁻² planta ⁻¹).
	Root/Shoot (PSR/PSA).

Una vez obtenidos y tratados los datos se desarrollaron distintos índices decisivos para ver el comportamiento de los tratamientos en las plantas:

- La relación entre el peso seco parte radical/ peso seco parte aérea (root/shoot). Obtener un alto valor en esta relación es síntoma de poseer una planta resistente a estrés con un mayor porcentaje de absorción de nutrientes y biomasa. Por lo que es garantía de que el cultivo es más estable y con un mayor rendimiento (Bláha, 2019).
- El crecimiento, que se puede entender como un incremento irreversible en las dimensiones de la planta (Benedetto y Tognetti, 2016). Para determinarlo pueden medirse distintos índices o parámetros relacionados con los cambios en volumen, pero debido a las dificultades prácticas que genera al realizar este tipo de mediciones, suelen determinarse variables relacionadas. Estas pueden ser algunas como la acumulación de peso, las variaciones en altura o diámetro, o índice de crecimiento relativo (g·cm⁻²·día⁻¹). Este índice es el concepto central del análisis de crecimiento, y ampliamente empleado (Ghanem et al., 2011; Zhang et al., 2015). Durante los primeros estadios, el crecimiento suele tener una dinámica de acumulación de biomasa exponencial y suele reflejar diferencias significativas entre especies y dentro de estas frente a variaciones abióticas o bióticas. El cálculo del índice de crecimiento de una planta y órgano para cada instante (t) se define como

el incremento de material vegetal por unidad de material vegetal existente y por unidad de tiempo (Benedetto y Tognetti,2016).

- Peso seco de la parte aérea (PSA)/Área de la parte aérea (SPA) ($\text{g cm}^{-2} \text{ planta}^{-1}$) (B), esta relación se ha obtenido al dividir el peso seco de la parte aérea con el área total aérea. Con este índice podemos ver el peso seco de la planta por cm^2 . Esto nos dará una idea de la cantidad de biomasa que tiene la planta.

2. RESULTADOS

Experimento 1. Estado fenológico 1

El área de la parte aérea (SPA) y radical (SPR) calculada mediante imágenes (Tabla 2) presenta diferencias estadísticamente significativas entre todos los tratamientos y los días de muestreo. En el día 43 posterior a la primera aplicación, se encuentran diferencias significativas estadísticas entre los tratamientos, siendo las plantas tratadas con bacterias (T1) las que poseen el área foliar mayor, seguido del resto de los tratamientos alga (T2) y auxina (T3), el menor valor corresponde al control (T0). A los 74 días después de la primera aplicación y 32 días desde la última, vuelve haber diferencias significativas estadísticas, el tratamiento control (T0) tiene la mayor área foliar al compararla con el resto de los tratamientos. Por último, el día 118 desde la primera aplicación vuelve a mostrar diferencias significativa estadísticamente, el control (T0) y auxinas (T3) tienen una mayor área. Mientras en la misma fecha el área de la raíz también presenta diferencias significativas estadísticas entre grupos, con el mayor valor en el tratamiento con bacteria (T1).

Tabla 2. Área de la parte aérea (cm^2) (SPA) y parte radical (SPR) calculada mediante imágenes, peso fresco y seco (g planta^{-1}) de la parte aérea (PFA: Peso fresco parte aérea, PSA: Peso seco parte aérea), y peso fresco y seco (g planta^{-1}) de la parte radical (PFR: Peso fresco parte raíz y PSR: Peso seco parte raíz). En función de los tratamientos aplicados T0: Control, T1: Bacteria, T2: Extracto de algas y T3: Auxinas..

	(43-23-0)			(74-54-32)	(118-98-76)					
	SPA	PFA	PSA	SPA	SPA	SPR	PFA	PFA	PFR	PSR
T0	208.8 c	26.3 b	9.6 a	531.4 a	1729.4 a	22.9 ab	212.1 c	82.1 c	265.3 c	43.8
T1	399.4 a	14.2 c	5.2 b	468.7 b	1605.1 b	35.1 a	300.5 a	111.1 a	363.0 a	59.9
T2	340.8 b	35.2 a	12.8 a	447.3 b	1406.8 c	21.2 b	238.3 b	89.4 b	303.4 b	47.9
T3	258.1 b	29.5 ab	11.8 a	451.6 b	1724.8 a	29.8 ab	232.2 bc	85.8 b	317.5 b	50.1

¹Días transcurridos desde cada aplicación siendo el primer número el día desde la primera aplicación, segundo desde la segunda y el tercero desde la tercera y última. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test de LSD ($P \leq 0.05$).

El peso fresco (Tabla 2) de la parte aérea (PFA) al día 43 desde la primera aplicación muestra valores significativos estadísticamente, en el caso de las plantas tratadas con el extracto de algas (T2) tiene un valor mayor respecto al resto de los tratamientos. Destaca en ese periodo con el menor valor en peso fresco (Tabla 3) de la parte aérea (PFA) el tratamiento con bacterias (T1). Sin embargo, en este mismo periodo el peso seco de la parte aérea (PSA) que también tiene diferencias significativas, demuestra que el menor valor lo posee el tratamiento con bacterias (T1) En el último muestreo a los 118 días, el peso seco y fresco de la parte aérea (PFA y PSA) el menor valor con diferencias significativas lo presenta el tratamiento control (T0), y el mayor el tratamiento con bacterias (T1). En el mismo muestreo (fotografía 1), solo el peso fresco de la raíz (PFR) tuvo diferencias significativas estadísticas, con el valor más alto en el tratamiento de bacteria (T1) y el más bajo el control (T0).



Fotografía 1 – Imágenes de las raíces en los distintos tratamientos en el estado felonogico 1, repetición 1 y 2 a los 118 días desde la primera aplicación..

La relación entre el peso seco de la raíz y la parte aérea (root/ shoot) en el estado fenológico 1 (Figura 1) presenta diferencias estadísticamente significativas con el valor mayor en el tratamiento con auxina (T3), son plantas con un mayor desarrollo radical en comparación a la parte aérea. Lo que indica según Bláha (2019) que se dispone de una planta más equilibrada y con mayor resistencia a estrés cuando se aplican auxinas (T3) al compararla con el resto de los tratamientos.

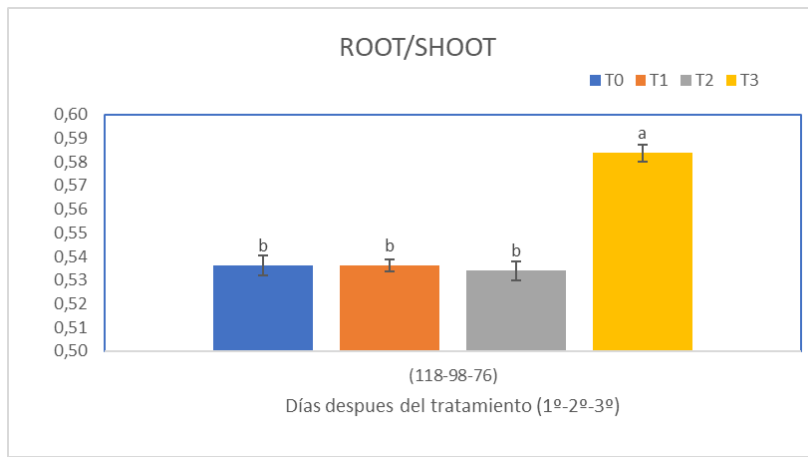


Figura 1– Relación entre el peso seco de la raíz y la parte aérea (Root/Shoot) en plantas de arándanos trasplantadas a contenedores de 10L. Días transcurridos desde cada aplicación siendo el primer número el día desde la primera aplicación, segundo desde la segunda y el tercero desde la tercera y última. T0: Control, T1: Bacteria, T2: Extracto de algas y T3: Auxinas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test de LSD ($P \leq 0.05$).

El índice de crecimiento (cm^2 por día) (Figura 2A) presenta diferencias significativas entre el tratamiento control y el resto de los tratamientos. Las plantas que no han sido tratadas (control T0) tiene un valor significativamente mayor que el resto de los tratamientos. Las plantas que no

han sido tratadas (T0) son las que mayor crecimiento de la parte aérea han mostrado. A los 43 días, la relación entre el peso seco (PSA)/el área de la parte aérea (SPA) ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{planta}^{-1}$) (Figura 2B.) con diferencias estadísticas significativas, destaca el tratamiento con bacteria (T1) con el menor valor y el tratamiento con algas (T2) con el mayor. En cambio, a los 118 días desde la primera aplicación la bacteria (T1), donde también hay diferencias significativas, responde con un mayor valor respecto al resto de tratamientos siendo el control (T0) el peor. Se puede apreciar que el extracto de algas es efectivo en el mismo momento de la aplicación promoviendo el crecimiento aéreo, pero en el momento que se deja de aplicar también desaparece su efecto. En contra posición a la bacteria muestra un efecto a largo plazo en el tiempo. Los productos a base de bacterias y de extractos de algas manifiestan una forma de actuación diferente, que debe considerarse al establecer la dosis y frecuencia de aplicación.

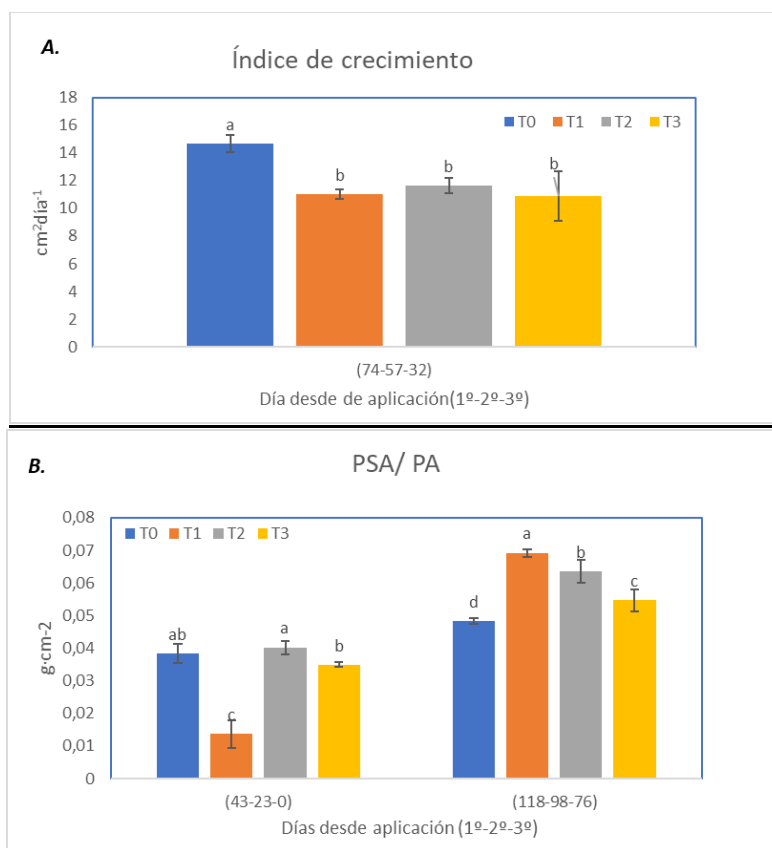


Figura 2- Índice de crecimiento ($\text{cm}^2\cdot\text{día}^{-1}$) (A) y Peso seco de la parte aérea (PSA)/Área de la parte aérea (SPA) ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{planta}^{-1}$) en plantas de arándanos trasplantadas a contenedores de 10 L. (B) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test de LSD ($P \leq 0.05$). Días transcurridos desde cada aplicación siendo el primer número el día desde la primera aplicación, segundo desde la segunda y el tercero desde la tercera y última. T0: Control, T1: Bacteria, T2: Extracto de algas y T3: Auxinas.

Experimento 2. Estado fenológico 2

El área de la raíz (SPR) (Tabla 3), calculada mediante las imágenes fotográficas tomadas durante el ensayo, en distintos momentos respecto a cada aplicación de producto, (28-8-0), (35-15-0), (74-54-32) y (95-75-53), muestra diferentes resultados (Fotografía 2). A día 28 después de la primera aplicación, SPR muestra diferencias estadísticamente significativas, la bacteria (T1) sobresale sobre los demás tratamientos. En el segundo muestreo, realizado 35 días de la primera aplicación, no se encuentran diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos. En el tercer muestreo realizado (74 días después de la primera aplicación) y posterior a la poda, no se vuelven a ver diferencias. En contra posición, en el último muestreo a los 95 días desde la primera aplicación, tuvo diferencias significativas estadísticas, el tratamiento con algas (T2) tuvo valores superiores frente al resto de tratamientos y el tratamiento con auxinas (T3) en contraposición fue el tratamiento con valores más bajos del área radical.

Tabla 3. Área sistema radical (SPR) (cm² raíz) calculada mediante imágenes de una planta

T0: Control, T1: Bacteria, T2: Extracto de algas y T3: Auxinas..

	(28-8-0)	(35-15-0)	(74-54-32)	(95-75-53)
T0	4.29b	6.19	9.96	20.18b
T1	7.95a	10.45	16.71	19.24b
T2	2.62b	5.43	9.96	22.84a
T3	4.30b	6.11	10.06	11.47c

¹ Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test de LSD ($P \leq 0.05$). Los intervalos de tiempo indican los días pasados entre la primera, segunda y tercera aplicación.

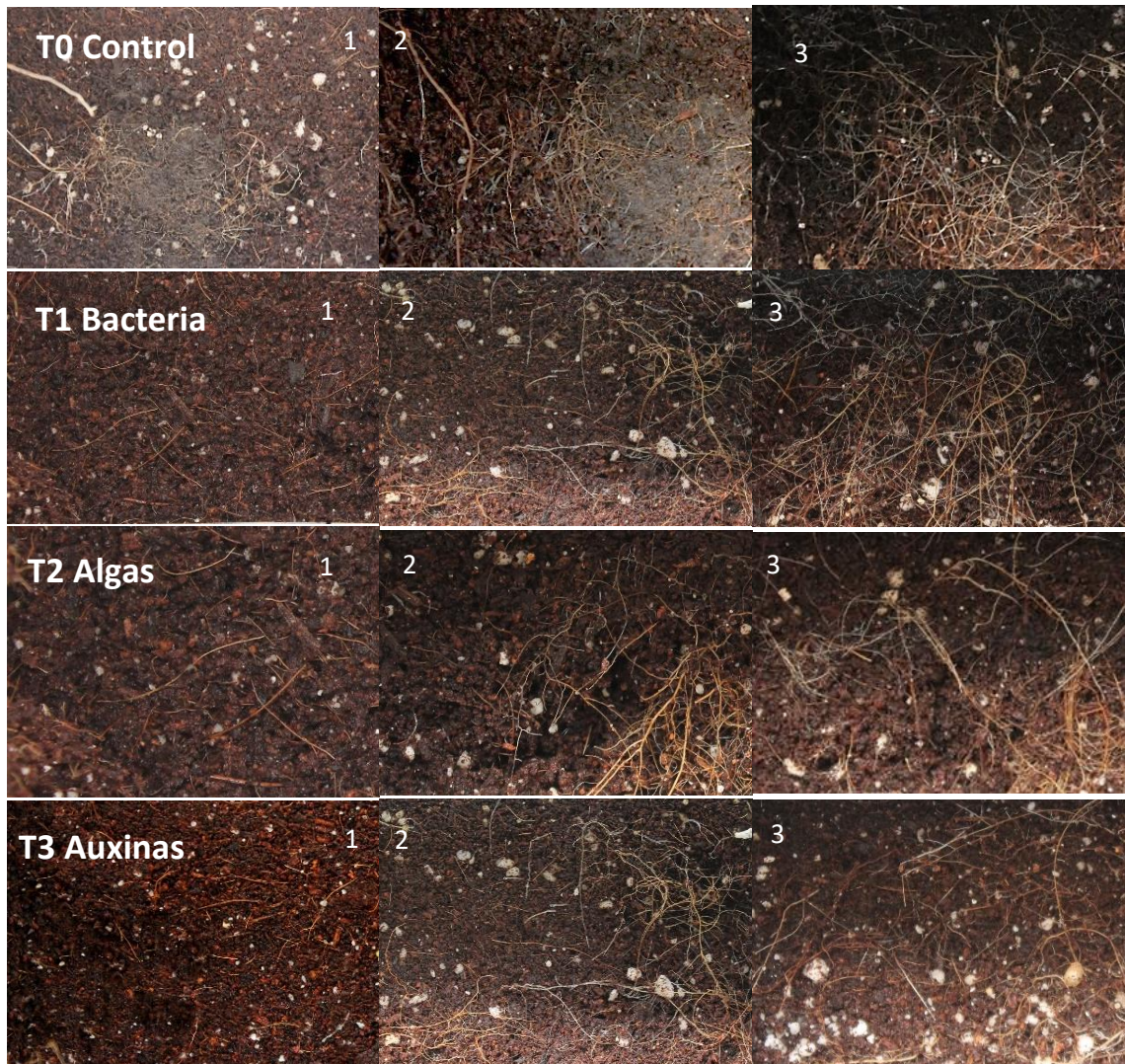
El área de la parte aérea de la planta (SPA)(Tabla 3), también analizada a partir de las imágenes fotográficas en fechas distintas, muestra a los 35 días de la primera aplicación que no hay diferencias significativas estadísticas entre los tratamientos y el control. En el segundo muestreo realizado a los 43 días de la primera aplicación, si hubo diferencias estadísticas, el tratamiento con alga (T2) con el mayor valor respecto al resto. Mientras que el tratamiento con auxina (T3) tiene el más bajo. En el tercer muestreo a los 74 días de la primera aplicación, no se encuentran diferencias significativas. Por último, a los 95 días desde el primer tratamiento, el tratamiento con auxinas (T3) posee el valor más alto y el tratamiento con algas (T2) vuelve a ser los más bajos con diferencias significativas entre ellos.

Tabla 4. Área de la parte aérea (cm²) (SPA) y parte radical (SPR) calculada mediante imágenes, peso fresco y seco (g planta⁻¹) de la parte aérea (PFA: Peso fresco parte aérea, PSA: Peso seco parte aérea), y peso fresco y seco (g planta⁻¹) de la parte radical (PFR: Peso fresco parte raíz y PSR: Peso seco parte raíz). En función de los tratamientos aplicados T0: Control, T1: Bacteria, T2: Extracto de algas y T3: Auxinas

	(35-15-0)	(43-23-0)	(74-54-32)	(95-75-53)	(43-23-0)		(95-75-53)			
	SPA				PFA	PSA	PFA	PSA	PFR	PSR
T0	691.2	693.4b	667.5	812.73 bc	126.8	49.6	164.1 b	70.1	383.6 b	77.8
T1	655.3	676.6bc	619.1	873.17 ab	91.8	33.9	233.9 a	89.5	645.3 a	122.6
T2	662.5	974.2a	482.1	741.75 c	78.2	32.1	177.8 b	71.9	394.2 b	72.1
T3	594.3	563.8c	628.1	927.19 a	97.4	35.7	179.5 b	71.7	589.5 a	104.3

¹ Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test de LSD ($P \leq 0.05$). Los intervalos de tiempo indican los días pasados entre la primera, segunda y tercera aplicación.

En el peso fresco y peso seco de la parte aérea (Tabla 4) del muestreo destructivo realizado 44 días después de la primera aplicación, no muestran diferencias significativas entre tratamientos. En el muestreo destructivo realizado 95 días después de la primera aplicación, si hubo datos con diferencias significativas estadísticamente. El mayor valor los presentó las plantas con el tratamiento con bacteria (T1), que poseía una mayor biomasa que el resto. Sin embargo, en peso seco no se muestran diferencias significativas entre los tratamientos. El peso fresco en raíz (Tabla 5) del muestreo destructivo presenta diferencias significativas, en el tratamiento con bacteria (T1), tiene el mayor peso fresco. Las plantas tratadas con bacteria (T1) presentan el mayor peso seco en raíz (Tabla 5) aunque sin diferencias significativas estadísticas.



Fotografía 2– Imágenes de la evolución de las raíces de los tratamientos en el Estado 2.

¹ Periodo de las fotografías: 1: 22/04/2021- (28-8-0) 2: 07/06/2021-(74-54-32) 3: 28/06/2021- (95-75-53)

La relación root/shoot en el estado fenológico 2 (Figura 3), destaca con el valor mayor con diferencias significativas el tratamiento con auxina (T3). T3 tiene más proporción de raíz que el tratamiento del alga (T2) que es el que menos tiene. Lo que indicaría según Bláha (2019) que la planta es más equilibrada y con mayor resistencia a estrés cuando se aplican auxinas (T3) con respecto a la aplicación de tratamiento con alga (T2).

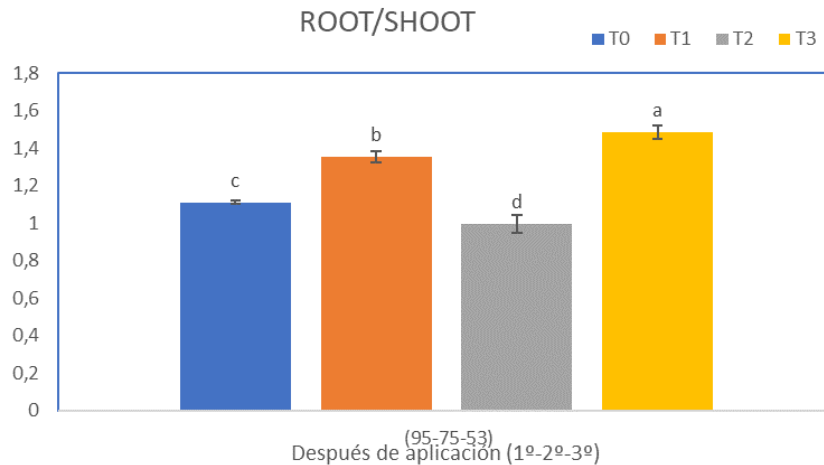


Figura 3 – Relación Root/Shoot. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test de LSD ($P \leq 0.05$). Los intervalos de tiempo indican los días pasados entre la primera, segunda y tercera aplicación. T0: Control, T1: Bacteria, T2: Extracto de algas y T3: Auxinas.

En el Índice de crecimiento calculado para la parte aérea ($\text{cm}^2/\text{día}$) (Figura 4 A.) a los 74 días desde la primera aplicación, los tratamientos control (T0) y con auxina (T3) son los que destacaron con valores significativamente mayores. En el último muestreo a los 95 días desde primera aplicación con diferencias significativas destaca un incremento del índice de crecimiento de todos los tratamientos con respecto al control.

La relación entre el peso seco (PSA)/el área de la parte aérea (SPA) ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{planta}^{-1}$) en el primer muestreo, 44 días de la primera aplicación, siendo el control (T0) seguido del tratamiento con auxinas los que presentan los mayores valores con diferencias significativas (Figura 4 B.). En el último muestreo, 95 días desde la primera aplicación, el tratamiento con bacteria (T1) tiene mayor valor, seguido del tratamiento con auxina (T3), y los menores valores significativos los tiene el control (T0) y el tratamiento con algas (T2) (Figura 4 B).

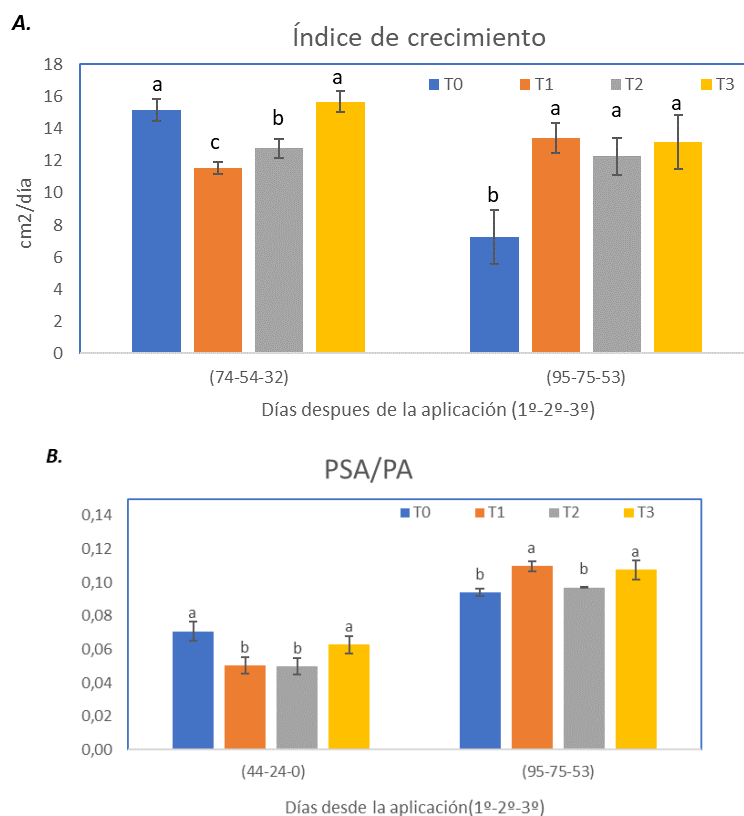


Figura 4 – Índice de crecimiento ($\text{cm}^2 \cdot \text{día}^{-1}$) (A) y PA: Peso seco de la parte aérea (PSA)/Área de la parte aérea (SPA) ($\text{g cm}^{-2} \text{ planta}^{-1}$) (B) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, según el test de LSD ($P \leq 0.05$). Días transcurridos desde cada aplicación siendo el primer número el día desde la primera aplicación, segundo desde la segunda y el tercero desde la tercera y última. T0: Control, T1: Bacteria, T2: Extracto de algas y T3: Auxinas.

3. DISCUSIÓN

Diversos autores han promovido la importancia de usar sustancias biológicas para suplir el uso de fertilizantes y productos químicos (Ronga et al.,2019; Cozzolino et al.,2021; Gonçalves,2021; Orozco et al., 2021). A través de sus estudios han dejado patente como estos compuestos ya sean extractos de algas, cianobacterias o bacterias han tenido buena repercusión en sus plantas. Por ejemplo, Ronga et al., 2019 sostuvo que los extractos de las microalgas poseen una serie de beneficios como el aumento de la absorción de nutrientes, aumenta la tolerancia a estrés abiótico y además puede mejorar la calidad y rendimiento de los cultivos. Sin embargo, hay varios puntos que todavía es necesario abordar para comprender mejor cómo y cuándo se pueden utilizar los extractos de microalgas en las producciones de cultivos para mejorar la sostenibilidad agrícola.

Para poder entender mejor estos beneficios de los productos biológicos se les puede categorizar según su actividad(Gonçalves,2021):

- Biofertilizantes actúan en el suelo y mejoran la nutrición
- Bioestimulantes: actúan en las plantas y mejoran el cultivo y su producción
- Biopesticidas: actúan en el organismo patógeno y mejoran la protección del cultivo.

En los experimentos 1 y 2 se usan como bioestimulante, para la mejora de la planta tras el trasplante. En él, se demuestra que la aplicación de los extractos de algas tiene que ser constante y en periodos más breves a diferencia de la bacteria. Esto se debe a que las algas son un extracto, no un organismo vivo por lo que no perdura su uso en el tiempo (bioestimulante) a diferencia de las bacterias que tienen la capacidad de seguir en el medio (biofertilizante) (Ronga et al.,2019)

En el caso del experimento 1, una vez implantada la bacteria en el sustrato ha propiciado que se desarrolle ampliamente la raíz destinando más nutrientes a esta parte de la planta que a la parte aérea, ya que actúa como biofertilizante (Ronga et al.,2019). Sin embargo, a los inicios se desarrolló mejor la parte aérea que el resto, posiblemente por la mejor disposición de los nutrientes. Esta mejora se debe a la biofertilización que realizan las bacterias promotoras del crecimiento, movilizándolo y aportando nutrientes. Además, que se muestre su efecto a largo plazo es un indicio positivo de que las condiciones en las que se realiza el cultivo son idóneas para estas bacterias (Orozco et al.,2021).

En el caso del extracto de algas, inicialmente tuvieron un buen inicio y estimulo el crecimiento vegetativo (días 43-23-0). Conforme fueron pasando los días post tratamiento ese desarrollo inicial se ve mermado e incluso llega a tener menos área foliar a los 118 tras la primera aplicación, pero solo obtiene puntualmente algún parámetro inferior al control. En el caso del experimento 1, solo tiene peores resultados en el área parte aérea (SPA) al final y como ya se ha comentado sería por la falta de continuidad a la hora de aplicar el producto. Mientras que el control (T0) tiene hasta 6 parámetros inferiores al resto.

Sin embargo, en el experimento 2, el control no sobresale por tener los valores más bajos, pero tampoco los más altos. Si sobre sale en algunos fue en los primera mitad del periodo post trasplante. Al igual que el experimento 1, el tratamiento con algas (T2) tiene el resultado más bajo en el área parte aérea al final del tratamiento.

En el caso de la auxina hay diferencias en el experimento 1 que indique que sobresale al tratamiento de bacteria (T1) y control (T0) pero tampoco es peor que el control (T0) o el tratamiento con alga (T2).

En el experimento 2 a los 95 días desde la primera aplicación demuestra sobresalir superando a todos los tratamientos en el área parte aérea.

Como ya se ha explicado con anterioridad, la planta se ha visto obligada a adaptarse y arraigar de nuevo tras la eliminación parcial del sistema radical, lo que los induce a estrés por la pérdida de raíces y desbalance hídrico entre la absorción de agua y la transpiración. Provocando daños mecánicos y disfuncionalidad entre el suelo y las raíces afectando los procesos vitales de la planta (Soliveres,2011). Con todos estos parámetros de crecimiento podemos evaluar como las plantas han crecido las plantas tras ser trasplantadas y como han sufrido el estrés tras cambiar sus condiciones iniciales.

La proporción root/shoot es un índice importante para la evaluación del crecimiento vegetativo de las plantas. Este índice da garantía de que el cultivo es más estable y con un mayor rendimiento cuanto más altos sean sus parámetros y estén comprendidos entre 1%-2% (Bláha,2019). En el caso del estado fenológico 1, demuestra lo afirmado con anterioridad, el tratamiento con auxina tiene mayor valor lo que demuestra que tiene mejor estabilidad para enfrentar estrés abiótico o alguna perturbación en el ciclo de riego y fertilización frente al resto de tratamientos.

Sin embargo, en el experimento 2, hay más heterogeneidad en los tratamientos. Puede ser causados por el estrés que habían sufrido previamente las plantas durante los periodos previos al experimento. Ha dado lugar plantas con un índice root/shoot más variado entre los tratamientos. Pero a pesar de eso tiene mejor desarrollo que las plantas del experimento 1 donde su porcentaje no superaba el 1% (Bláha,2019). Pero aun así la bacteria una vez implantada y con el paso del tiempo siguió siendo la que mejor cantidad de raíces y peso fresco al final del tratamiento (Ortiz et al.,2018). El extracto de algas, al igual que paso en el experimento 1 no sobresalió. Las causas no se saben con certeza, pero puede ser debida a que no se ha acertado con

el periodo de aplicación y cantidad. Como ya han dicho algunos autores (Ronga et al.,2019) todavía hay que adaptar los microorganismos o extractos a los cultivos y a los factores ambientales. Por lo que se concluye tras analizar ambos datos que es necesario seguir investigando en esta línea y como adaptar las dosis y los tiempos al arándano. En el caso de las auxinas se ve mejor respuesta que en el experimento 1. Obtiene un buen desarrollo de raíz al final del experimento, siendo igual de bueno el peso fresco de la raíz que la bacteria. Por lo que se puede decir que el tratamiento con bacteria es bueno e igual de fiable que el tratamiento químico.

Con el índice de crecimiento podemos ver si la planta ha superado el estrés post trasplante al igual que con el índice root/shoot. Ambos al fin y al cabo miden el desarrollo de la planta en un periodo de tiempo (Benedetto y Tognetti,2016). Con ella podemos ver la tendencia del crecimiento y como le afecta los factores abióticos y bióticos.

En el experimento 1 a los 74 días mostro que el control daba el valor más alto. En cambio, en el experimento 2 a los 118 días desde la aplicación, da como resultado de la prueba de rangos múltiples en el mayor valor a los tratamientos de bacteria (T1), con algas (T2) y auxinas (T3).

Por último, en el peso seco parte aérea /área parte aérea se realizó en dos periodos:

Antes de la poda :

- Experimento 1 – 43 días desde la primera aplicación -sobresale el tratamiento con alga (T2).
- Experimento 2- – 43 días desde la primera aplicación -sobresale el tratamiento control (T0) y auxinas (T3)

Al final del tratamiento:

- Experimento 1- 118 días desde la primera aplicación- sobresale el tratamiento con bacterias (T1)
- Experimento 2-95 días desde la primera aplicación- sobresale el tratamiento con bacterias (T1) y auxinas (T3).

Las plantas del experimento 1 (estado fenológico 1 y menor volumen de contenedor) tratadas con bacterias (PGPB) (T1) después de la tercera aplicación muestran una mejora significativa estadísticamente en la mayoría de los parámetros evaluados tanto en la raíz como en la parte aérea., así como las relaciones (PSA/SPA - $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ planta⁻¹). Sin embargo, el efecto no es tan claro en los primeros muestreos evidenciando la necesidad de que las PGPB se instalen en el medio radical. A diferencia de las plantas tratadas con extracto de algas (T2), las cuales mejoraron significativamente los parámetros evaluados con dos aplicaciones, cuando el muestreo es más cercano a la aplicación del producto. El manejo de los extractos de algas es similar a los productos fitosanitarios tradicionales. Con respecto a las plantas del tratamiento control (T0), al cual no se le aplica ningún producto, los parámetros evaluados en la parte aérea y radical mejoran significativamente con la aplicación de PGPB y extracto de algas.

Al analizar los parámetros evaluados en las plantas en el experimento 2 (estado fenológico 2 y mayor volumen de contenedor), los efectos no son tan claros estadísticamente. Sin embargo, se manifiesta la misma tendencia que la descrita en las plantas mas jóvenes del experimento 1, el tratamiento con bacterias mejora la mayoría de los parámetros evaluados en la parte aérea y radical con respecto al resto de los tratamientos. Los extractos de algas no muestran efectos significativos en las plantas tratadas con ellos.

En ambos experimentos con diferentes estados de desarrollo, la aplicación de PGPB han promovido un valor significativamente mayor para la relación entre la superficie foliar y su peso seco (PSA/SPA - $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ planta⁻¹).

4. **CONCLUSIONES**

Las conclusiones según el análisis de los resultados de los dos experimentos realizados en plantas de arándanos en dos estados fenológicos diferenciados.

- Las plantas del tratamiento con bacterias-PGPB (T1) presentan mejoras significativas en los parámetros valorados en el sistema aéreo y radical. Con diferencias estadísticamente significativas con respecto al resto de tratamientos en el sistema radical. Según los resultados el efecto de la aplicación de PGPB sobre las plantas no es inmediato y requiere de varias aplicaciones.
- La respuesta de las plantas al tratamiento con extractos de algas (T2) mejora significativamente los parámetros relacionados con la parte aérea en los primeros estadios del ensayo, mostrando una respuesta inmediata después de la aplicación.
En el experimento 2, las plantas de mayor tamaño que fueron trasplantadas a contenedor definitivo de cultivo (30L), las auxinas (T3) tuvieron un buen resultado y en menor medida las bacterias (T1). En el caso de las auxinas (T3) destacó en los parámetros de índice de crecimiento (cm² por día) y root/shoot.

En ambos experimentos se obtiene una respuesta positiva en el crecimiento de las plantas tanto en la parte aérea como radical con el tratamiento con bacterias (T1), mientras que el tratamiento con extracto de algas (T2) solo responde al inicio de las aplicaciones. Considerando las dosis y los intervalos de tiempo correctas, el tratamiento con algas (T2) junto con el de bacteria (T1) y el tratamiento de auxinas (T3) responden al estrés post trasplante positivamente con un mejor crecimiento de las plantas.

Recomendación:

Valorar la actividad microbiana en los tratamientos en el que se emplean bacterias para asegurar su actividad en el tiempo. En los tratamientos con extractos de algas, sería recomendable valorar el efecto de la aplicación durante gran parte del cultivo, ya que sus efectos dejan de verse transcurrido un tiempo de su aplicación.

Agradecimientos.

Quiero agradecer a mi tutora y a mis compañeros el esfuerzo y dedicación. Han sido un apoyo y me han enseñado los conocimientos que desconocía. A mi familia por aportarme la fuerza necesaria para seguir afrontando nuevos retos.

Bibliografía

- Abràmoff, M. D., Magalhães, P. J., & Ram, S. J. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics international*, 11(7), 36-42.
- Bláha, L. (2019) Importance of Root-Shoot Ratio for Crops Production. *Journal of Agronomy & Agricultural Science*, 2, 12. <https://doi.org/10.24966/AAS-8292/100012>
- Bryla, D. R., & Strik, B. C. (2007). Effects of cultivar and plant spacing on the seasonal water requirements of highbush blueberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(2), 270-277.
- Brazelton, C., Young, K., 2017. World Blueberry Statistics and Global Market Analysis. <https://static1.squarespace.com/static/581373dbe4fcb5675436dbf7/t/58dd0a421b10e38a0a19447f/1490881114392/Cort+Brazelton+GBC2017.pdf>
- Esquivel Manterola, J. (2009). Caracterización nutricional de arándanos de arbusto alto del sur "southern highbush" (híbridos inter-específicos de *Vaccinium corymbosum*)
- Buzeta, A. 1997. En: A. Buzeta (Ed). Chile: Berries para el 2000. Arándano. pp. 52-89. Departamento Agroindustrial. Fundación Chile. Santiago, Chile.
- Di Benedetto, Adalberto & Tognetti, Jorge. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: Su aplicación a cultivos intensivos. RIA: Revista Investigaciones Agropecuarias. 42. 258-282.
- Frías-Ortega, Carlos Enrique; Alejo-Santiago, Gelacio; Bugarín-Montoya, Rubén; Aburto-González, Circe Aidín; Juárez-Rosete, Cecilia Rocío; Urbina-Sánchez, Elizabeth y Sánchez-Hernández, Esperanza (2020). Nutrient solution

concentration and its relationship with blueberry production and quality. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3). <http://revistacta.agrosavia.co/html/1296/index.htm>

Ghanem, M.E.; Albacete, A.; Smigocki, A.C.; Frebort, I.; Pospisilova, H.; Martinez-Andujar, C.; Acosta, M.; Sanchez-Bravo, J.; Lutts, S.; Dodd, I.C.; Perez-Alfocea, F. 2011. Root-synthesized cytokinins improve shoot growth and fruit yield in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Journal of Experimental Botany* 62 (1), 125-140.

Girard, S.; Clement, A.; Cochard, H.; Boulet-Gercourt, B.; Guehl, J. 1997. Effects of desiccation on postplanting stress in bare-root corsican pine seedlings. *Tree Physiology* 17: 429-435.

Gonçalves, A. L. (2021). The use of microalgae and cyanobacteria in the improvement of agricultural practices: a review on their biofertilising, biostimulating and biopesticide roles. *Applied Sciences*, 11(2), 871.

Hallman, J., A., Mahaffee, W.F. y Kloepper, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43:895-914.

Hummer, K. E., Williams, K. A., y Bushakra, J. M. (2019). North American crop wild relatives of temperate berries (*Fragaria* L., *Ribes* L., *Rubus* L., and *Vaccinium* L.). In *North American Crop Wild Relatives*, Volume 2 (pp. 283-327). Springer, Cham.

Orozco-Mosqueda, M., Flores, A., Rojas-Sánchez, B., Urtis-Flores, C. A., Morales-Cedeño, L. R., Valencia-Marin, M. F., ... & Santoyo, G. (2021). Plant Growth-Promoting Bacteria as Bioinoculants: Attributes and Challenges for Sustainable Crop Improvement. *Agronomy*, 11(6), 1167.

Ortiz-Galeana, M. A., Hernández-Salmerón, J. E., Valenzuela-Aragón, B., losSantos-Villalobos, S., Rocha-Granados, M., & Santoyo, G. (2018). Diversidad de bacterias endófitas cultivables asociadas a plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi con actividades promotoras del crecimiento vegetal. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 34(2), 140-151.

Patompong Saengwilai, Christopher Strock, Harini Rangarajan, Joseph Chimungu, Jirawat Salungyu, Jonathan P Lynch, Root hair phenotypes influence nitrogen acquisition in maize, *Annals of Botany*, 2021,; mcab104, <https://doi.org/10.1093/aob/mcab104>

Retamales, J. B., y Hancock, J. F. (2018). *Blueberries* (Vol. 27). Cabi.

Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*, 9(4), 192.

Santoyo, G., G. Moreno-Hagelsieb, M.C. Orozco-Mosqueda, and B.R. Glick. 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research* 183:92-99.

Salgado Vargas, C., Sánchez-García, P., Volke-Haller, V. H., & Colinas León, M. T. (2018). Respuesta agronómica de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) al estrés osmótico. *Agrociencia*, 52(2), 231-239.

Soliveres, S. (2011). Efectos del estrés abiótico y factores bióticos en las interacciones planta-planta: implicaciones para el funcionamiento y la restauración de los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas*, 20(2-3).

Schuch, M. W., & Peil, R. M. N. (2011, June). Soilless cultivation systems: A new approach in fruit plants propagation in southern Brazil. In International Symposium on Advanced Technologies and *Management Towards Sustainable Greenhouse Ecosystems: Greensys2011* 952 (pp. 877-883).

Teskey, R. O.; Hickley, T. M. 1986. Moisture: effects of water stress on trees, pp 9-33. In: *Stress Physiology and Forest Productivity*.

Zhang, D.; Zhang, Z.; Li, J.; Chang, Y.; Du, Q.; Pan, T. 2015. Regulation of vapor pressure deficit by greenhouse micro-fog systems improved growth and productivity of tomato via enhancing photosynthesis during summer season. *Plos One*, 10(7), e0133919

Páginas Web

<https://plantscience.psu.edu/research/labs/roots/methods/methods-info/root-hairs/root-hair-imaging-protocol/imaging-and-analyzing-root-hair-length-and-density>