

**Estudios sobre la factibilidad del uso de *Azospirillum*  
para mejorar la capacidad germinativa y el  
establecimiento de *Lactuca sativa*  
y *Daucus carota* bajo estrés salino**

**Gilles Ayrault**

Tesis presentada como requisito para optar al grado de

**MAGISTER SCIENTIAE**

**Programa de Post-Grado en Producción Vegetal**  
Unidad Integrada Facultad de Ciencias Agrarias (UNMdP)  
y Estación Experimental Agropecuaria Balcarce (INTA)

Balcarce, 2002

**Estudios sobre la factibilidad del uso de *Azospirillum*  
para mejorar la capacidad germinativa y el  
establecimiento de *Lactuca sativa*  
y *Daucus carota* bajo estrés salino**

**Gilles Ayrault**

**Director: Dr. Carlos Alberto Barassi (FCA-UNMdP)**

**Co-director: Ing. M.Sc. María Teresa Sobrero (FAyA-UNSE)**

## RESUMEN

La producción hortícola en la provincia de Santiago del Estero, Argentina, tiene una importancia económica manifiesta. Sin embargo, está confinada principalmente a las zonas de riego y amenazada en este sentido, por lo que se vislumbra como salinización progresiva de los suelos.

Tanto la lechuga como la zanahoria son consideradas especies poco tolerantes a ambientes salinos, con una mayor sensibilidad de la segunda a estas condiciones. En ambos casos, la problemática es mayor en la germinación y el crecimiento de plántulas, por lo que el conocimiento de los efectos del estrés salino en estos estadios fenológicos y su eventual mitigación por métodos de mejoramiento tradicionales o biotecnológicos, constituyen metas de importancia regional y nacional.

El uso de microorganismos del suelo en asociaciones con plantas constituye un vasto campo de la Biotecnología, donde bacterias rizosféricas como *Azospirillum* spp. se han empleado para promover el crecimiento e incrementar el rendimiento. La posibilidad adicional que estas bacterias puedan proteger a los vegetales ante situaciones de estrés abiótico, es una variante reciente de esta línea de pensamiento. La información disponible en relación con los eventuales efectos mitigantes del estrés por NaCl que pueda ejercer *Azospirillum* spp. en la germinación y el crecimiento temprano de lechuga y zanahoria es sumamente escasa, por lo que los estudios encaminados en esta dirección constituyen la meta general de la presente tesis.

Semillas de *Lactuca sativa* L., cv. Mantecosa y de *Daucus carota* L., cv. Beatriz INTA, fueron inoculadas con *A. brasilense* BR 11005 durante la imbibición, comprobándose la factibilidad de introducir la bacteria en las semillas por esta vía. Es más, pudieron secarse y almacenarse en lugar oscuro y seco hasta 30 días, y aún así conservar un número viable de células capaces de ejercer efectos promotores del crecimiento en ambas hortalizas.

Semillas de las dos especies hortícolas inoculadas con la bacteria y sin inocular (controles), se pusieron a germinar en soluciones de NaCl de 0, 30, 50 y 80 mEq/L. Asimismo, se efectuaron experimentos similares con semillas de ambos tipos secadas y

almacenadas, determinándose en todos los casos la Energía Germinativa (EG) y el Poder Germinativo (PG).

En lechuga se halló un efecto significativo de *A. brasilense* BR 11005, en incrementar el PG con respecto a las semillas controles, a cualquiera de los niveles de NaCl ensayados. El efecto fue mucho más notorio a la mayor concentración de sal: mientras el PG cayó en un 77,5 % en las semillas controles, sólo lo hizo en un 13,8 % en las inoculadas. Lo cual significaría según este parámetro, un 63,7 % de reversión de los efectos negativos que aparejaría germinar esta hortaliza a 80 mEq/L de NaCl. El efecto mitigante del estrés por NaCl sobre el PG de la lechuga se mantuvo en semillas inoculadas aún cuando las mismas hubiesen sido secadas y almacenadas durante 30 días, especialmente al mayor nivel de salinidad ensayado.

En zanahoria y para todos los niveles de salinidad, se evidenció un efecto significativo de *A. brasilense* BR 11005 en promover mayores EG y PG que los controles. En semillas secadas y posteriormente almacenadas hasta 30 días, se observó una diferencia leve pero significativa en PG a favor de las inoculadas, a cualquier nivel de NaCl ensayado.

A fin de estudiar el efecto de la inoculación de lechuga y zanahoria con *Azospirillum* en etapas posteriores a las correspondientes a sus respectivos PGs, semillas inoculadas y sin inocular fueron sembradas luego de este estadio, en “plugs” de 72 alvéolos y regadas con soluciones 0, 30, 50 y 80 mEq/L de NaCl, manteniéndose constante la conductividad eléctrica. Se efectuaron cinco evaluaciones consecutivas, en las que se realizaron muestreos de plantas completas luego de transcurridos 14, 20, 29, 45 y 60 días desde la siembra (dds) para lechuga, y 21, 28, 37, 52 y 75 dds para zanahoria, respectivamente. A fin de no restringir el crecimiento radical en los alvéolos, las plántulas de ambas especies hortícolas se transplantaron en las fechas correspondientes a los segundos muestreos, a macetas de polietileno de 750 y 1000 cc, respectivamente. Plantas enteras de lechuga y zanahoria se usaron para determinar los pesos frescos totales (PFT), turgentes totales (PTT) y secos totales (PST).

Muestras equivalentes tomadas en los mismos momentos, fueron disecadas en sus respectivas porciones aérea y radical, destinándolas a las determinaciones de pesos y contenidos de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>. Los pesos frescos, turgentes y secos se midieron solamente en las

porciones aéreas de la lechuga y en las raíces de la zanahoria. Con los datos de los pesos, se calcularon:

Tasa de Crecimiento Relativo (TCR).

Partición de Biomasa.

Contenido de Agua (CA).

Contenido Relativo de Agua (CRA).

La inoculación de lechuga con *A. brasilense* incrementó significativamente los **pesos** totales y los de las porciones aéreas individuales a todas las concentraciones de NaCl ensayadas, excepto a 50 mEq/L en lo que hace a PFT, PFA y PTA.

En zanahoria, la bacteria tuvo un efecto significativo en promover mayores pesos de planta entera y de raíz a todos los niveles de sal presentes en la solución nutritiva, salvo a 50 mEq/L de NaCl.

Las **TCRs** calculadas para las plantas de lechuga indicaron a los 30 dds, una mejor capacidad de implante bajo condiciones de salinidad en las inoculadas con *A. brasilense*, que en las controles sin inocular. Este mismo efecto se evidenció en zanahoria, a los 37 dds.

En lechuga, la **partición de la biomasa** en las plantas desarrolladas a 0, 50 y 80 mEq/L de NaCl fue significativamente mayor en plantas inoculadas con *A. brasilense* BR 11005 que en las controles. Es más, aún cuando en ambos casos este parámetro experimentó una caída significativa a 50 y 80mEq/L de NaCl, el valor alcanzado en las inoculadas no difirió significativamente ( $P < 0,05$ ) de los controles a salinidad 0. Los datos de partición de la biomasa obtenidos para zanahoria fueron inconcluyentes.

En plantas de lechuga sin inocular, la presencia de 80 mEq/L de NaCl en el medio disminuyó el **CA** en forma significativa. En las plantas inoculadas, esta caída también se evidenció a 30 mEq/L de NaCl. Es más, salvo a 0 mEq/l de NaCl, los valores de CA en cada nivel de salinidad fueron significativamente menores en las plantas inoculadas, que en sus respectivos controles sin inocular.

En plantas de zanahoria el CA, comparado con el control sin inocular y a salinidad 0, disminuyó significativamente sólo a 80 mEq/L de NaCl en el medio, aunque el descenso fue mayor para las plantas inoculadas. Estas últimas y también a 80 mEq/L de NaCl, tuvieron valores de CA menores que los correspondientes a su par no inoculado a igual concentración de sal. Sin embargo, a la concentración de 50 mEq/L de NaCl las plantas

inoculadas evidenciaron un CA mayor que su correspondiente testigo a igual nivel de salinidad, sin que este valor difiriese significativamente del control a 0 mEq/L de NaCl.

El **CRA** experimentó un leve pero significativo descenso en las plantas de lechuga sin inocular, cuando las plantas se expusieron a 30 y 50 mEq/L de NaCl, manteniéndose constante luego a la máxima concentración de sal en el medio. La inoculación con *Azospirillum* provocó una caída significativa del CRA con respecto a los valores obtenidos para las plantas sin inocular, salvo a 30 mEq/L de NaCl en que no difirió del control a salinidad 0.

En las plantas de zanahoria sin inocular, la sal *per se* causó a 50 mEq/L de NaCl, una caída en el CRA igual a la operante a 80 mEq/L de Na Cl. En las plantas inoculadas, la caída tuvo lugar solamente a 80 mEq/L de NaCl, no diferenciándose de la evidenciada en su respectivo control. Es más, a 30 y 50 mEq/L de NaCl la inoculación promovió un mayor CRA que en sus respectivos controles, superando significativamente los valores obtenidos a salinidad 0.

En las condiciones experimentales descritas, la sal produjo incrementos significativos de la **relación  $\text{Na}^+/\text{K}^+$**  en la porción aérea de la lechuga y en la raíz de zanahoria, no siendo evidenciable ningún efecto debido a la presencia de *A. brasilense*.