

Hongos rizosféricos de *Echinopsis pachanoi* "San Pedro hembra" y su potencial como promotores de crecimiento en *Zea mays* L. bajo estrés salino***Echinopsis pachanoi* "San Pedro female" rhizospheric mushrooms and their potential as growth promoters in *Zea mays* L. under saline stress**UYPAN FARRO, Carlos Jair¹; GARCÍA GUERRERO, Marco Anthony²;
CARREÑO FARFÁN, Carmen Rosa³; ARELLANO SÁNCHEZ, César Wilson⁴;
ZÚÑIGA VALDERA, Gabriel Esteban⁵

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo

RESUMEN

Objetivo: Determinar el potencial de los hongos rizosféricos de *Echinopsis pachanoi* "San Pedro hembra", como promotores de crecimiento en *Zea mays* L. "maíz" bajo estrés salino. **Materiales y métodos:** Estudio transversal descriptivo. Los hongos se aislaron en agar papa dextrosa (PDA) y se identificaron fenotípicamente. Se investigó la actividad de la enzima 1- aminociclopropano carboxilato (ACC) desaminasa, la producción de indoles, solubilización de fosfato tricálcico y el efecto en el desarrollo de maíz, en un suelo salino (CE= 8,213 dSm⁻¹), bajo condiciones de invernadero. **Resultados:** Se identificaron diez géneros de hongos filamentosos predominando *Aspergillus* spp. (35,92 %), *Trichoderma* spp. (17,96 %) y *Penicillium* spp. (16,16 %). Los cuatro hongos de los géneros *Trichoderma* y *Penicillium* seleccionados, presentaron actividad ACC desaminasa, produjeron indoles, solubilizaron fosfato e incrementaron los valores de los parámetros del desarrollo de maíz, alcanzando 100,98 % en la altura; 23,0 % en el número de hojas; 47,33 % en la longitud de las raíces y 106,67 % en el peso de las raíces. **Conclusiones:** Se demostró el potencial benéfico de *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. en maíz bajo salinidad.

Palabras clave: *Echinopsis pachanoi*, hongos, ACC desaminasa, maíz.

ABSTRACT

Objectives: To determine the potential of *Echinopsis pachanoi* curly fungi "San Pedro Female", as growth promoters in *Zea mays* L. "corn" under saline stress. **Materials and methods:** Descriptive cross-sectional study. The fungi were isolated in dextrose potato agar (PDA) and phenotypically identified. The activity of the enzyme 1-aminocyclopropane carboxylate (ACC) deaminase, the production of natures, solubilization of tricalcium phosphate was investigated and the effect on the development of maize, on a saline soil (CE-8,213 dSm⁻¹), under greenhouse conditions. **Results:** Ten genera of filamentous fungi were identified predominantly *Aspergillus* spp. (35.92%), *Trichoderma* spp. (17.96%) and *Penicillium* spp. (16.16%). The four fungi of the selected genera *Trichoderma* and *Penicillium* produced natures, soubilized phosphate and increased the values of maize development parameters, reaching 100.98% in the height; 23.0% in the number of leaves; 47.33% on root length and 106.67% on root weight. **Conclusions:** The beneficial potential of *Trichoderma* spp was demonstrated. and *Penicillium* spp. in corn under salinity.

Keywords: *Echinopsis pachanoi*, fungi, ACC deaminase, maíz.


© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista UCV HACER Campus Chiclayo. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.


Recibido: 14 de diciembre de 2020


Aceptado: 30 de marzo de 2021


Publicado: 10 de abril de 2021

¹Licenciado en Biología, Microbiología y Parasitología, e-mail: cuypan@unprg.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0002-4417-9941>

²Licenciado en Biología, Microbiología y Parasitología, e-mail: mgarciagu@unprg.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0002-1624-0856>

³Licenciado en Biología, Microbiología y Parasitología, Doctora en Ciencias Ambientales, e-mail: ccarreno@unprg.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0003-0238-2666>

⁴Licenciado en Biología, Microbiología y Parasitología, Maestro en Ciencias con mención en Ingeniería Ambiental, e-mail: carellano@unprg.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0003-3815-9677>

⁵Licenciado en Biología, Microbiología y Parasitología, e-mail: gzunigav@unprg.edu.pe,  <https://orcid.org/0000-0002-0224-0329>

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de *Zea mays* L. “maíz” disminuye por diversos factores limitantes como la baja fertilidad del suelo, requiriéndose la aplicación de fertilizantes químicos, una de las prácticas más comunes en la agricultura convencional (Sisalema, 2019). La salinidad o elevada concentración de sales en el suelo también afecta el cultivo de maíz, retiene el agua, afecta su disponibilidad y como consecuencia disminuye la germinación y el desarrollo vegetal (Layne et al., 2008). En la costa norte del Perú el 40 % de la superficie cultivable del suelo está afectado por salinidad, principalmente en Tumbes, Piura y Lambayeque (Soca et al., 2016).

Las cactáceas como *Echinopsis pachanoi* (Brilton & Rose) H. Friedrich & G. Rowley denominado cactus “San Pedro hembra” (Laguna et al., 2013), se desarrollan en lugares donde las lluvias son escasas y la fertilidad del suelo es mínima (Chávez et al., 2016), gracias a sus mecanismos de adaptación y defensa, pero también a las bacterias y hongos rizosféricos. Estos microorganismos favorecen la disponibilidad de nutrientes (Zhang et al., 2019) e incluso disminuyen el estrés causado por la salinidad (Viterbo et al., 2010) y otras condiciones desfavorables (Arzanesh et al., 2011; Saravanakumar et al., 2018); sin embargo, la investigación de los hongos rizosféricos del cactus San Pedro hembra es escasa en la región Lambayeque y se desconoce su potencial como promotores de crecimiento en el cultivo de maíz (Zhang et al., 2019)

En este contexto, se planteó la siguiente investigación cuyo problema fue: ¿Cuál es el potencial de los hongos rizosféricos del cactus “San Pedro hembra” como promotores de crecimiento en el cultivo de maíz bajo estrés salino? La hipótesis planteada: Los hongos aislados de la rizósfera del San Pedro hembra presentan actividad de la enzima 1 – aminociclopropano carboxilato (ACC) desaminasa, producen índoles, solubilizan fosfatos y promueven el crecimiento del cultivo de maíz bajo estrés salino. Los objetivos específicos fueron: Identificar fenotípicamente el género de los hongos aislados de la rizósfera de *San Pedro* en Lambayeque, seleccionar y caracterizar los hongos con actividad ACC

desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio y determinar el efecto de cuatro hongos rizosféricos en la emergencia y desarrollo vegetativo de *Z. mays* L. “maíz” en un suelo salino, bajo condiciones de invernadero.

METODOLOGÍA

Tipo y diseño de investigación

Estudio transversal descriptivo.

Población y muestra

Se trabajó con 54 muestras de raíces con suelo rizosférico de San Pedro (Alvitres, 2000), del distrito de Oyotún en la región Lambayeque, colectadas en septiembre de 2019. Se excluyeron las plantas con una altura menor de 1m y un diámetro de tallo menor a 0,26 m.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Aislamiento e identificación fenotípica de hongos rizosféricos

Las muestras de raíces y suelo rizosférico se deshidrataron bajo sombra durante 72 horas y las raíces se golpearon suavemente contra la mano para desprender el suelo rizosférico y colectarlo en un papel Kraft (Vardharajula et al., 2011). Se pesó 1 g del suelo rizosférico, se depositó en 9 mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,85 %, p/v) y se agitó manualmente por 10 minutos. Después, se tomó una alícuota y se sembró en placas de Petri con agar papa dextrosa (PDA) más 5 % de NaCl y antibiótico Cloranfenicol, incubándose a 30°C hasta por 7 días (Contreras & Carreño, 2018). Las colonias de los hongos rizosféricos se agruparon según sus características macroscópicas, se seleccionó una colonia representante de cada morfotipo y se cultivaron en placas con PDA más 5 % de NaCl por 5 días, obteniendo los cultivos puros de hongos filamentosos.

La identificación de los hongos se realizó en cultivos monospóricos. Un fragmento de 0,1 cm² del micelio del hongo cultivado, se depositó en un tubo con 5 mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,85 % p/v) y se homogenizó por 1 minuto, luego se tomó 0,1 mL de la suspensión de conidios, se procedió de la misma forma, se sembró una alícuota en placas con PDA más 5 % de NaCl y antibiótico Cloranfenicol y se incubó

hasta completar el desarrollo de la colonia. La identificación del género se realizó en microcultivos (Arias y Piñeros, 2008). Con ayuda de las claves taxonómicas. Se diferenciaron las características macroscópicas de las colonias: aspecto, color y producción de pigmento de los hongos en PDA (Corrales et al., 2012).

Selección de hongos con actividad ACC desaminasa y tolerancia de cloruro de sodio

La actividad ACC desaminasa en los hongos se determinó de forma cualitativa por la utilización del ACC como fuente de nitrógeno en el medio mínimo Dworkin & Foster (DF). Se agregó como fuente de nitrógeno una solución 0,5 M de ACC esterilizada, en cantidad suficiente para alcanzar 3,0mM ACC (Penrose & Glick, 2003; Siddikee et al., 2011). Los hongos fueron cultivados por duplicado, en 5 mL del medio DF con 3 mM ACC, como medio selectivo y 5 mL del medio DF con 5 gL⁻¹ de sulfato de amonio como control positivo. Luego se incubaron 7 días a 30°C, con agitación de 5 minutos/ día y la biomasa retenida en el papel filtro se deshidrató en estufa a 45°C (Contreras y Carreño, 2018).

Los hongos presentaron actividad ACC desaminasa cuando el peso de la biomasa obtenida en el medio con ACC fue igual o superior al del medio con sulfato de amonio. A los hongos con actividad ACC se les determinó la tolerancia 5; 7,5 y 10 % de NaCl y la presencia de micelio evidenció la tolerancia al NaCl (Qin et al., 2014).

Caracterización de los hongos rizosféricos con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio

La caracterización de hongos consistió en determinar la producción de indoles y solubilización de fosfatos en medios líquido y sólido (Zhou et al., 2017).

La producción de indoles *in vitro* se realizó mediante la técnica colorimétrica de Salkowski (García et al., 2010). El inóculo 5 %: 0,25 mL de cada cultivo fúngico fue sembrado por triplicado en 5 mL de caldo tripticasa soya suplementado con triptófano, luego se incubaron a 30 °C por 5 días en agitación constante (150 rpm), se centrifugaron a 3000 rpm, durante 5 minutos, se mezclaron 0,4 mL del sobrenadante con 1,6 mL de reactivo de Salkowski modificado y se dejaron 30 minutos en oscuridad. La producción de

indoles fue positiva cuando se observó una coloración grosella y se determinó la absorbancia en el espectrofotómetro de luz visible (Modelo Tenso Med NV-203) a 530nm. Las concentraciones de indoles se calcularon con la ecuación de la curva de calibración obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100 ppm de ácido indol acético.

La cuantificación de fosfato solubilizado *in vitro* por los hongos se realizó mediante la técnica colorimétrica del molibdato (Escobar et al., 2011). El inóculo 5 %: 0,25 mL de cada cultivo fúngico se sembró por triplicado en 5 mL de caldo National Botanical Research Institute's phosphate (NBRIP), luego se incubaron a 30°C con agitación (150rpm) por 5 días, se centrifugaron a 3000 rpm por 5 minutos y en el sobrenadante se cuantificó el fósforo soluble (Rodier et al., 2010). La solubilización del fosfato fue positiva cuando se observó una coloración azul. La absorbancia se determinó en el espectrofotómetro de luz visible (Modelo Tenso Med NV- 203) a 690 nm y la concentración de fósforo soluble se calculó con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 10 ppm de fósforo.

En la determinación del índice de solubilización de fosfato en medio sólido (Lara et al., 2011) se observaron los halos o zonas claras alrededor de las colonias. Los hongos fueron cultivados en agar papa dextrosa (PDA) durante 96 horas, se sembraron por duplicado mediante la técnica de puntura superficial en agar NBRIP con 1 gL^{-1P} fósforo inorgánico y se incubaron a 30°C por 96 horas. El índice de solubilización de fosfato se calculó con el diámetro de la colonia fungal y el diámetro de la colonia más el halo de solubilización (Álvarez & García, 2012).

Efecto comparativo de cuatro hongos rizosféricos en la emergencia y desarrollo de maíz en suelos salino

El efecto de cuatro hongos en la emergencia y desarrollo de maíz se determinó bajo un diseño completamente aleatorio con cuatro tratamientos con hongos (T2 a T5) y un testigo sin hongos (T1). El suelo experimental estuvo constituido por 45 kg, distribuidos en macetas de arcilla (4 kg de capacidad). En cada maceta se colocaron 0,5 kg de grava y 3 kg del suelo experimental.

El análisis fisicoquímico de los suelos se realizó

en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). El suelo salino presentó una conductividad eléctrica (CE) igual a $8,213 \text{ dSm}^{-1}$. Se depositaron 24 semillas de maíz por tratamiento en cinco bolsas de polietileno, luego se inocularon por inmersión en 10,0 mL del inóculo fúngico, se dejaron reposar 10 horas a temperatura ambiente y se sembraron en el suelo experimental, a razón de cuatro semillas por maceta (60 para cada tipo de suelo) a 1 cm de distancia. Después de 10 días de la siembra se determinó el porcentaje de emergencia, se seleccionaron las ocho plantas más vigorosas y se regó según los requerimientos de las plantas.

El ensayo fue realizado el 12 de enero al 12 de marzo de 2020, registrándose las temperaturas máximas ($35 - 38^{\circ}\text{C}$), mínimas ($15 - 18^{\circ}\text{C}$) y medias ($18 - 22^{\circ}\text{C}$), información obtenida por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo "El Cienago" de Lambayeque. Durante 60 días, con intervalos de 15 días se midió la altura de las plantas, desde la base del tallo hasta el extremo final de la hoja bandera. Se registró la floración masculina y femenina y a los 67 días se extrajeron las plantas para determinar el número de hojas, la longitud de las raíces y el peso de la biomasa radicular y aérea. Con estos valores se calcularon (García et al., 2010) los índices de efectividad de la inoculación (IEI) en porcentaje.

Análisis estadístico de los datos

Los valores correspondientes a la altura, número de hojas, longitud radicular y biomasa aérea y radicular se analizaron con las pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett). Posteriormente se realizó el análisis de varianza (diferencias entre los tratamientos) y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (significancia entre tratamientos: $p < 0,05$), utilizando los programas Microsoft Office Word y Excel versión 2016.

RESULTADOS

Hongos identificados fenotípicamente en la rizósfera de San Pedro hembra en Lambayeque

En las 54 muestras de suelo rizosférico de *San Pedro* se aislaron 167 hongos filamentosos y se obtuvieron uno a tres morfotipos por muestra. Entre los hongos aislados se identificaron fenotípicamente diez géneros predominando *Aspergillus* spp. (35,92 %), seguido de *Trichoderma* spp. (17,96 %) y *Penicillium* spp. (16,16%). Con menor frecuencia se identificaron *Rhizoctonia* spp. (8,98 %), *Cunninghamella* spp. (5,98 %), *Geotrichum* spp. (5,40 %), *Gliocladium* spp. (4,80 %), *Monilia* spp. (3,0 %), *Mucor* spp. (1,20 %) y *Verticillium* sp. (0,60 %). No se aislaron hongos levaduriformes.

Hongos rizosféricos del *San Pedro* con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio

El 52,10 % de los hongos rizosféricos de *San Pedro* presentó crecimiento micelial en los caldos Dworkin & Foster con ACC y sulfato de amonio como fuentes de carbono. Entre estos hongos el 60,92 % desarrolló en el caldo Dworkin & Foster con ACC y alcanzó igual (10 hongos) o mayor biomasa (43 hongos) que la del caldo con sulfato de amonio, por lo que fueron considerados con actividad de la enzima ACC desaminasa (Tabla 1). Por el contrario, el 39,08 % de los hongos desarrolló menor biomasa en el caldo con ACC, en comparación con el caldo con sulfato de amonio, por lo que se agruparon como hongos sin actividad ACC desaminasa.

Tabla 1

Número de hongos rizosféricos de San Pedro según el rango de la biomasa (g) formada en caldo Dworkin & Foster con ACC y sulfato de amonio como fuentes de nitrógeno, Lambayeque 2019.

Hongos filamentosos		Rango de biomasa (g)	
N°	%	ACC	Sulfato de amonio
43	49,426	0,54 – 0,69	0,51 – 0,68
34	39,080	0,49 – 0,66	0,54 – 0,70
10	11,494	0,52 – 0,59	0,52 – 0,59
87	100,000	0,52 – 0,69	0,51 – 0,70

Entre los hongos con actividad ACC desaminasa se seleccionaron aquellos que alcanzaron el mayor peso de biomasa en el medio Dworkin & Foster con ACC y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno: cuatro cultivos de *Trichoderma* spp. y tres de *Penicillium* spp. (Tabla 2). Todos estos hongos seleccionados desarrollaron en medio mínimo con 5; 7,5 y 10 % de NaCl siendo considerados tolerantes al cloruro de sodio.

Tabla 2

Biomasa de hongos rizosféricos de San Pedro, con actividad ACC desaminasa seleccionados, Lambayeque 2019.

Hongos	Biomasa (g)	
	ACC desaminasa	Sulfato de amonio
Penicillium sp. 44	0,69	0,68
Trichoderma sp. 33	0,68	0,67
Trichoderma sp. 2	0,68	0,61
Trichoderma sp. 35	0,69	0,66
Trichoderma sp. 25	0,69	0,66
Penicillium sp. 4	0,68	0,63
Penicillium sp 49	0,68	0,63

Fuente. Elaboración propia.

Efecto de cuatro hongos rizosféricos en la emergencia y desarrollo de maíz en suelos salinos

El porcentaje de emergencia de las plantas de maíz después de 10 días de inoculación con *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. en un suelo salino ($CE_c=8,23 \text{ dSm}^{-1}$) fue desde 50,0 % hasta 91,67 %, en comparación con el testigo que fue 41,67 %. La altura de las plantas de maíz se incrementó con la inoculación de *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. respecto al testigo (Tabla 3, figura 1) y se alcanzaron índices de efectividad de 50,62 % a los 15 días (*Trichoderma* sp. 2); 106,86 % a los 30 días (*Penicillium* sp.44); 47,57 % a los 45 días (*Trichoderma* sp.2) y 85,78 % a los 60 días (*Penicillium* sp. 4).

Tabla 3

Altura de plantas de maíz inoculadas con *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. en suelo salino.

Tratamientos	Altura (cm/días)*			
	15	30	45	60
Testigo	6,75 ±2,06	17,00±1,22	48,00±1,58	77,60±1,34
Trichoderma sp. 2	10,17±1,17	26,33±2,80	70,83±2,64	125,33±1,63
Trichoderma sp. 33	8,67±0,82	33,00±1,41	55,67±1,63	122,83±2,23
Penicillium sp. 44	8,83±1,47	35,17±1,17	56,33±2,34	134,33±2,58
Penicillium sp. 4	9,17±1,72	34,17±1,94	55,67±1,86	144,17±0,75

*Promedio de tres repeticiones.

Fuente. Elaboración propia.

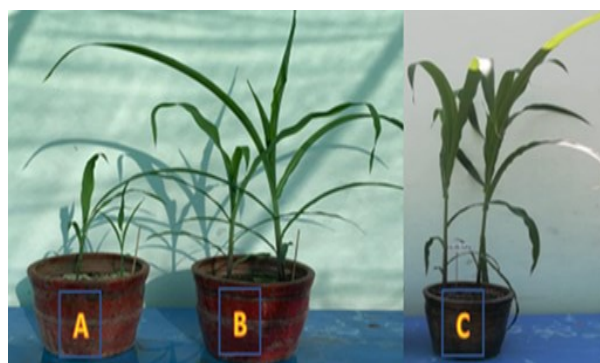


Figura 1. Plantas de maíz en suelo salino, 45 días después de la inoculación con (B) *Penicillium* sp, (C) *Trichoderma* sp y (A) testigo.

El número de hojas, peso de la biomasa aérea, longitud y peso de raíces (Figura 2) de las plantas de maíz se incrementó con la inoculación de *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. respecto al testigo, registrándose índices de efectividad de 35,29 % con *Penicillium* sp. 4 (número de hojas), 65,21 % con *Trichoderma* sp. 2 (biomasa aérea), 36,02 % con *Trichoderma* spp. 2, 33 (longitud de raíces) y 89,13 % con *Penicillium* sp. 44 (peso de raíces) .



Figura 2. Raíces de plantas de maíz en suelo salino, 60 días después de la inoculación con (a) testigo y (b) *Trichoderma* sp. 2.

El análisis de varianza de los valores promedio evidenció alta significancia en la altura (15, 30, 45 y 60 días), número de hojas, peso de la biomasa aérea, longitud y peso de raíces. La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores en la altura correspondieron a *Trichoderma* spp. 2 y 33 y *Penicillium* spp. 44 y 4 (15 días); *Penicillium* spp. 4 y 44 y *Trichoderma* sp. 33 (30 días); *Trichoderma* spp. 2 y 33 y *Penicillium* spp. 4 y 44 (45 y 60 días) con diferencias significativas frente al testigo (Tabla 4). En cuanto al número de hojas, biomasa aérea, longitud y peso radicular, los mayores valores se alcanzaron en los tratamientos con hongos y se observaron diferencias estadísticas frente al testigo (Tabla 5).

Tabla 4

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedios de altura de maíz a los 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación de *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. en un suelo salino.

Tratamientos	Nº de hojas	Sign.	Biomasa aérea	Sign.	Longitud radicular	Sign.	Peso radicular	Sign.
Testigo	14,33	b	105,33	b	29,33	b	47,33	b
<i>Trichoderma</i> sp. 2	21,83	a	208,33	a	47,67	a	88,67	a
<i>Trichoderma</i> sp. 33	20,00	a b	201,00	a	47,67	a b	82,33	a b
<i>Penicillium</i> sp. 44	20,66	a b	187,33	a	38,67	a b	107,00	a
<i>Penicillium</i> sp. 4	23,00	a	184,33	a	38,00	a b	78,00	a b

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 5

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedios del número de hojas, biomasa aérea, longitud y peso de raíces de maíz a los 67 días después de la inoculación de *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. en un suelo salino.

Tratamientos	Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)	
	15 días	Sign.	30 días	Sign.	45 días	Sign.	60 días	Sign.
Testigo	5,00	b	14,67	c	40,33	b	65,00	b
<i>Trichoderma</i> sp. 2	10,33	a	26,67	b	71,33	a	125,67	a
<i>Trichoderma</i> sp. 33	9,00	a b	33,33	a b	56,00	a b	123,00	a
<i>Penicillium</i> sp. 44	9,00	a b	35,33	a b	56,33	a b	134,67	a b
<i>Penicillium</i> sp. 4	9,33	a	34,33	a b	56,00	a b	144,33	a

Fuente. Elaboración propia.

DISCUSIÓN

El aislamiento de hongos filamentosos en una cactácea coincide con Bezerra et al. (2012), quienes obtuvieron estos microorganismos de tejidos de *O. ficus-indica* e identificaron *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. entre otros. Estos dos géneros de mohos, así como *Trichoderma*, predominaron en la rizosfera de *E. pachanoi* y fueron reportados previamente en la rizosfera de distintas plantas (Kumar et al., 2017; Radhakrishnan et al., 2014) o en los tejidos vegetales (Khan et al., 2011).

La biomasa micelial formada en el medio de cultivo con ACC como fuente de nitrógeno, evidenció su utilización por hongos de los géneros *Penicillium* y *Trichoderma* y por tanto se les consideró con actividad ACC desaminasa. Los resultados coinciden con los reportes de Zhang et al. (2019) en *T. longibrachiatum* y *T. asperellum*, así como también con Molina et al. (2015) con

Penicillium chrysogenum, *P. brevicompactum* y *P. citrinum*.

El etileno es una fitohormona que interviene naturalmente en el desarrollo vegetal; no obstante, su síntesis se incrementa bajo condiciones desfavorables como la salinidad. En este contexto, el etileno es un regulador con efecto negativo en las plantas, al inducir epinastia, inhibición del crecimiento radicular y senescencia prematura (Zapata et al., 2004).

Los microorganismos con actividad de la enzima ACC desaminasa hidrolizan el ACC o precursor del etileno hasta 2 alfa cetobutirato y amonio. De esta forma, disminuyen el nivel de etileno en las plantas y por tanto el estrés causado por la salinidad (Esquivel et al., 2013).

El aumento en el porcentaje y tasa de germinación de las semillas por efecto de microorganismos con actividad ACC desaminasa ha sido reportado en bacterias por Zhou et al. (2017). Al respecto, Kumar et al. (2017) investigaron la germinación de semillas de maíz inoculadas con *Trichoderma* sp. bajo diferentes niveles de salinidad (1,67; 6,25; 11,25; 17,2 y 22,9 dSm⁻¹) y determinaron 15,0-22,5 % de reducción en el porcentaje de germinación de las semillas con *Trichoderma* sp.,

en comparación con 32,1 % en el testigo. Por su parte, Khan et al. (2011) registraron 100 % de germinación en semillas de soya 6 días después de la inoculación de *P. funiculosum* y 60 % en el testigo no inoculado.

El crecimiento micelial y esporulación de *Trichoderma* sp. bajo salinidad fue demostrado por Kashyap et al. (2020) y Yasmeen & Siddiqui, (2017). El crecimiento de *Trichoderma* spp. en 10 % NaCl es un criterio pertinente para seleccionar estos microorganismos, con la perspectiva de utilizarlos como inoculantes en suelos salinos (Kumar et al., 2017).

La producción de índoles y solubilización de fosfato tricálcico además de la actividad ACC desaminasa son características que evidencian in vitro promoción del crecimiento vegetal, observando en plantas de maíz inoculadas con *T. harzianum* (AIA=36,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$) alcanzaron la mayor longitud radicular (17,8 cm), en comparación con las plantas inoculadas con *T. asperellum* (AIA=5,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$) en las que se registró 15 cm de promedio (Kumar et al., 2017; Shahzad et al., 2013).

La salinidad es el factor abiótico que más restringe el crecimiento y rendimiento de los cultivos agrícolas (Kumar et al., 2017). Las poáceas como el maíz son moderadamente sensibles a la salinidad (Yasmeen & Siddiqui, 2017). Bajo estas condiciones se observa acumulación de sodio y disminución del calcio y potasio en hojas y raíces y del contenido de pigmentos fotosintéticos, incremento del nivel de las especies reactivas de oxígeno, ROS o peróxido de hidrógeno, anión superóxido (O_2^-), sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) e incremento de osmolitos como la prolina y azúcares solubles (Fu et al., 2017; Yasmeen & Siddiqui, 2017).

En la presente investigación las plantas de maíz desarrolladas bajo salinidad alcanzaron menor altura, longitud radicular y biomasa, coincidiendo con los reportes de Fu et al. (2017) y Yasmeen & Siddiqui (2017). El impacto de la salinidad también ha sido descrito por Poveda, (2020) con *Brassica napus*; Kashyap et al. (2020) en tomate; Radhakrishnan et al. (2014) en *Solanum indicum* L. y Khan et al. (2011) con soya.

La salinidad afectó el desarrollo de las plantas de

maíz; no obstante, la inoculación de *Trichoderma* sp. y *Penicillium* sp. disminuyó el efecto negativo, resultado similar al reportado por Fu et al. (2017) y Yasmeen & Siddiqui, (2017). En plantas de maíz inoculadas con *T. harzianum* bajo condiciones de salinidad (20-150 mM NaCl) se observó incremento en la longitud radicular y altura de las plantas, en comparación con los testigos no inoculados.

Fu et al. (2017) demostraron incremento en la síntesis y acumulación de osmolitos en plántulas de maíz desarrolladas en medio salino-alcálico (pH=9,3), por efecto de la inoculación de *T. asperellum*. Los osmolitos mejoran la capacidad de absorción de agua por las células vegetales, aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes y menor acumulación de ROS, con la consecuente disminución del daño en las membranas celulares. El nivel de ROS se reduce por la actividad de las enzimas superóxido dismutasa, SOD (Yasmeen & Siddiqui, 2017) (Zhang et al., 2019), catalasa, CAT, peroxidasa (POD), polifenol oxidasa (PDO), fenilalanina amonio liasa (PAL), ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión reductasa, GR (Zhang et al., 2019).

Khan et al. (2011) investigaron el rol del hongo endofítico *P. funiculosum* en soya y registraron un incremento en la germinación de semillas inoculadas en comparación con el control. Bajo condiciones de salinidad las plantas con *P. funiculosum* alcanzaron 19,6 % (70mM NaCl) y 28,55 % (140mM NaCl) de incremento en la altura y en el suelo no salino se registró 11,81 % de aumento, concluyendo que *P. funiculosum* disminuyó el efecto adverso inducido en las plantas por el estrés abiótico de la salinidad.

En plantas de maíz inoculadas con *T. harzianum* bajo condiciones de salinidad (50-150 mM NaCl) se observó incremento en la altura y longitud radicular, en comparación con los testigos no inoculados (Yasmeen & Siddiqui, 2017). Asimismo, en plantas de maíz inoculadas con *T. asperellum*, *T. koningiopsis* y *T. harzianum* bajo diferentes niveles de salinidad (1,67-52,0 dSm^{-1}) se determinó incremento en la altura, longitud radicular, número de raíces secundarias, peso de los tallos y hojas frescas y biomasa total en comparación con los controles no inoculados (Kumar et al., 2017).

Los microorganismos con actividad ACC

desaminasa hidrolizan el ACC o precursor del etileno y por tanto disminuyen el nivel de etileno en las plantas estresadas (Esquivel et al., 2013). Al respecto Zhang et al., (2019) demostraron que *T. harzianum* disminuyó en 22,6 % el contenido de etileno en plantas de *Cucumis sativus* L. regadas con una solución de 200 mM NaCl; no obstante, estos investigadores concluyeron que son diversos los mecanismos involucrados en la disminución del estrés salino en las plantas y entre ellos destacan la regulación de las enzimas antioxidantes peroxidasa (POD), polifenol oxidasa (PPO), fenilalanina amonio liasa (PAL), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión reductasa (GR); el incremento de los niveles de prolina, azúcares y proteínas solubles, ácido ascórbico y clorofila y la disminución del sodio y el nivel de etileno.

Fu et al. (2017) determinaron incremento en la síntesis y acumulación de osmolitos en plántulas de maíz inoculadas con *T. asperellum*, en un suelo salino-alcálico (pH=9,3). Estos investigadores también demostraron aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes y menor acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS). El nivel de ROS se reduce como consecuencia de la actividad de las enzimas SOD (Yasmeen & Siddiqui, 2017) CAT, POD, PPO, PAL, APX y GR (Zhang et al., 2019).

Radhakrishnan et al. (2014) observaron que la inoculación de *Penicillium* sp. aumentó la altura y peso de la biomasa fresca y seca de las plantas, demostrando la producción de aminoácidos (arginina y lisina, etc), sugiriendo que estos compuestos intervienen en la regulación del crecimiento vegetal, con incremento del rendimiento obtenido. Por su parte, Khan et al. (2011) investigaron el efecto del hongo endofítico *P. funiculosum* en soya bajo salinidad (70 y 140 mM NaCl) y determinaron incremento significativo de la altura, peso de la biomasa fresca y seca, área foliar, contenido de clorofila y tasa de fotosíntesis. El aumento en la altura de las plantas fue de 11,84 % en el suelo no salino; 19,60 % en el suelo con 70 mM NaCl y 28,55 % en suelo con 140 mM NaCl y estos resultados evidenciaron mayor efectividad del hongo en las plantas con estrés por salinidad.

En la presente investigación se demostró que *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp disminuyeron

en forma significativa el efecto negativo de la salinidad en las plantas de maíz, de manera semejante a lo observado con *T. asperellum* en maíz (Fu et al., 2017), *T. harzianum* en maíz y arroz (Yasmeen & Siddiqui, 2017), *Trichoderma* sp. en tomate (Kashyap et al., 2019) y *T. harzianum* en *Vicia faba* (Abd & Mostafa, 2014). Los resultados demostraron el potencial de *Trichoderma* spp. y *Penicillium* como promotores de crecimiento de maíz en suelo salino.

CONCLUSIONES

En la rizósfera de *E. pachanoi* se aislaron hongos filamentosos, con predominio de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Trichoderma*. Los hongos *Penicillium* spp. 4 y 44 y *Trichoderma* spp. 2 y 33, seleccionados por presentar actividad ACC desaminasa, producir índoles y solubilizar fosfatos, incrementaron la altura, número de hojas, longitud y peso de las raíces de plantas de maíz en un suelo salino, demostrándose su potencial como promotores de crecimiento en plantas bajo salinidad.

REFERENCIAS

- Abd, G., & Mostafa, D. (2014). The potentiality of *Trichoderma harzianum* in alleviation the adverse effects of salinity in faba bean plants. *Acta Biologica Hungarica*, 65(4), 451–468. <https://doi.org/10.1556/ABiol.65.2014.4.9>
- Álvarez, P., y García, S. (2012). *Selección y evaluación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en suelos calcáreos del Valle del Mantaro*. https://scholar.google.es/citations?user=UVUt3uoAAAAJ&hl=es&oi=sra#d=gs_md_cita-d&u=%2F citations%3Fview_op%3Dview_citation%26hl%3Des%26user%3DUVUt3uoAAAAJ%26citation_for_view%3DUVUt3uoAAAAJ%3AZph67rFs4hoC%26tzm%3D300
- Alvites, V. (2000). Método científico. *Planificación de la Investigación* (2da. ed.): Chiclayo-Perú: Ciencia.
- Arias, E., y Piñeros P. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de*

- muestra de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8233>
- Arzanesh, M., Alikhani, H., Khavazi, K., Rahimian, H., & Miransari, M. (2011). Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. *Microbiology and Biotechnology*, 27(2), 197–205. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0444-1>
- Bezerra, J. D. P., Santos, M. G. S., Svedese, V. M., Lima, D. M. M., Fernandes, M. J. S., Paiva, L. M., & Souza-Motta, C. M. (2012). Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. *Microbiology and Biotechnology*, 28(5), 1989–1995. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-1001-2>
- Chávez, L., Hernández, A., Cabrera, J., Luna, L., y Pacheco, J. (2016). Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* sp. (Cactaceae). *Revista Argentina de Microbiología*, 48(4), 333–341. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.09.001>
- Contreras, H., y Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27–33. <https://doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269>
- Corrales, L., Sánchez, L., Cuervo, J., Joya, J., y Márquez, K. (2012). Efecto Biocontrolador de "*Bacillus*" spp., Frente a "*Fusarium*" sp., Bajo Condiciones de Invernadero en Plantas de Tomillo ("*Thymus Vulgaris* L."). *Nova*, 10(17), 64–82. <https://doi.org/10.22490/24629448.518>
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., y Mendoza, M. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* sp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2, 39–49. <https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633697005.pdf>
- Esquivel, R., Gavilanes, M., Cruz, R., y Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Fitotecnia Mexicana*, 36(3), 251–258. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000300010
- Fu, J., Liu, Z., Li, Z., Wang, Y., & Yang, K. (2017). Alleviation of the effects of saline-alkaline stress on maize seedlings by regulation of active oxygen metabolism by *Trichoderma asperellum*. *Plos One*, 12(6), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179617>
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., y Mendoza, G. (2010). Characterization of native strains of *Azospirillum* spp. and its effect on growth of *Oryza sativa* L. "rice" in Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1(2), 107–116. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2010.02.01>
- Kashyap, P., Solanki, M., Kushwaha, P., Kumar, S., & Srivastava, A. (2020). Biocontrol Potential of Salt-Tolerant *Trichoderma* and *Hypocrea* Isolates for the Management of Tomato Root Rot Under Saline Environment. *Soil Science and Plant Nutrition*, 20(1), 160–176. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00114-y>
- Khan, A. m., Hamayun, M., Kim, Y., Kang, S., & Lee, I. (2011). Ameliorative symbiosis of endophyte (*Penicillium funiculosum* LHL06) under salt stress elevated plant growth of *Glycine max* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(8), 852–861. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.03.005>
- Kumar, K., Manigundan, K., & Amaresan, N. (2017). Influence of salt tolerant *Trichoderma* spp. on growth of maize (*Zea mays*) under different salinity conditions. *Basic Microbiology*, 57(2), 141–150. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600369>
- Laguna, E., Ferrer, P., Deltoro, V., Ferrando, I., & Guillot, D. (2013). *Echinopsis pachanoi* (Britton & Rose) H. Friedrich & G.D. Rowley (Cactaceae) primera cita como alóctona en España. *Bouteloua*, 16, 34–35. https://www.researchgate.net/profile/Emilio-Laguna/publication/259267561_Echinopsis_pachanoi_Britton_Rose_H_Friedrich_GD_Ro

- wley_Cactaceae_primera_cita_como_alo
ctona_en_Espana/
links/02e7e52aa4c1bd9a25000000/
Echinopsis-pachanoi-Britton-Rose-H-
Firedrich-GD-R
- Lara, C., Esquivel, L., y Peñata, N. (2011). Bacterias nativas solubilizadoras de fosfatos para incrementar los cultivos en el departamento de Córdoba- Colombia. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(2), 114–120. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v9n2/v9n2a13.pdf>
- Layne, J., Méndez, J., y Mayz, J. (2008). Efecto del potencial osmótico y del tamaño de la semilla sobre la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays L.*) bajo condiciones de laboratorio. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 11(1), 26–34. www.medigraphic.org.mx
- Molina, D., Bustillos, M., Rodríguez, O., Morales, Y., Santiago, Y., Castañeda, M., y Muñoz, J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17(2), 24–34. https://www.researchgate.net/publication/293086504_Mecanismos_de_fitoestimulacion_por_rizobacterias_aislamientos_en_America_y_potencial_biotecnologico
- Penrose, M., & Glick, R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1), 10–15. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>
- Poveda, J. (2020). *Trichoderma parareesei* Favors the Tolerance of Rapeseed (*Brassica napus L.*) to Salinity and Drought Due to a *Chorismate Mutase*. *Agronomy*, 10(1), 104–118. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010118>
- Qin, S., Zhang, Y., Yuan, B., Yuan, P., Xing, K., Wang, J., & Jiang, J. (2014). Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with *halophyte Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress on JSTOR. *Plant and Soil*, 374, 753–766. <https://www.jstor.org/stable/42953280?seq=1>
- Radhakrishnan, R., Kang, S., Baek, I., & Lee, I. (2014). Characterization of plant growth-promoting traits of *Penicillium* species against the effects of high soil salinity and root disease. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 754–762. <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.930524>
- Rodier, J., Legube, B., y Merlet, N. (2010). *Análisis del Agua* (9na. Ed.) Barcelona, España: Omega
- Saravanakumar, K., MubarakAli, D., Kathiresan, K., & Myeong-Hyeon, W. (2018). An evidence of fungal derived 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase promoting the growth of mangroves. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(4), 446–451. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.03.013>
- Shahzad, S., Arif, M., Riaz, M., Iqbal, Z., & Ashraf, M. (2013). PGPR with varied ACC-deaminase activity induced different growth and yield response in maize (*Zea mays L.*) under fertilized conditions. *European Journal of Soil Biology*, 57, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.04.002>
- Siddikee, Md., Glick, R., Chauhan, S., Yim, W., & Sa, T. (2011). Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annum L.*) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49 (4), 427–434. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.015>
- Sisalema, K. (2019). "Efectos de población y fertilización en dos híbridos de maíz (*Zea mays L.*) sembrados en la zona de Babahoyo, Provincia de Los Ríos." (Tesis de pregrado) <https://www.mendeley.com/reference-manager/reader/9137aece-66c0-3831-9038-a910f2142c09/28b87be7-0058-8dd5-4634-863fc082dade>
- Soca, R., Willems, B., Ocola, C., Fernández, R., y Pérez, J. (2016). Identificación de las tierras degradadas por la salinidad del suelo en los cultivos de caña de azúcar mediante imágenes de satélite. *Revista de Investigación de Física*, 19, 1–9. https://www.researchgate.net/publication/306060607_Identificacion_de

- las tierras degradadas por la salinidad del suelo en los cultivos de caña de azucar mediante imagenes de satelite
- Vardharajula, S., Zulfikar Ali, S., Grover, M., Reddy, G., & Bandi, V. (2011). Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Plant Interactions*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.535178>
- Viterbo, A., Landau, U., Kim, S., Chernin, L., & Chet, I. (2010). Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. *Microbiology Letters*, 305(1), 42–48. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.01910.x>
- Yasmeen, R., & Siddiqui, Z. S. (2017). Physiological responses of crop plants against *Trichoderma harzianum* in saline environment. *Acta Botanica Croatica*, 76(2), 154–162. <https://doi.org/10.1515/botcro-2016-0054>
- Zapata, J., Serrano, M., Pretel, M., Amorós, A., & Botella, M. (2004). Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. *Plant Science*, 167(4), 781–788. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.05.014>
- Zhang, S., Gan, Y., & Xu, B. (2019). Mechanisms of the IAA and ACC-deaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC Plant Biology*, 19(22), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1618-5>
- Zhou, N., Zhao, S., & Tian, C. (2017). Effect of halotolerant rhizobacteria isolated from halophytes on the growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under salt stress. *Microbiology Letters*, 364(11), 2–8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx091>