

**La germinación de semilla de *Hibiscus sabdariffa* L. es inhibida específica y contundentemente por una cepa de *Pseudomonas fluorescense* (PGPR)**

CARRILLO-CASTAÑEDA, Guillermo

G. Carrillo

Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Recursos Genéticos y Productividad-Genética. Km. 36.5 Carr. Fed. México-  
Texcoco. Montecillo, Municipio de Texcoco, Méx. 56230. México  
carrillo@colpos.mx

F. Pérez, E. Figueroa, R. García, L. Godínez (eds.) Ciencias de la Biología, Agronomía y Economía. Handbook T-I.-  
©ECORFAN, Texcoco de Mora, México, 2017.

## Abstract

Fluorescent *Pseudomonas* (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), are interesting microorganisms by the multiple compounds they synthesized associated with plant roots. As they promote the development of plants, they have been widely used to increase agricultural production. A group of 19 fluorescent *Pseudomonas* strains was studied. Cultures of E14, Sm and T16 strains promoted 6% seed germination of *S. lycopersicum*, and the rest of them showed slight variations. The strain A9 promoted 23% seed germination of *C. annuum* but the strains Avm and Pf slightly inhibited it (14 %). The strain T16; however, was the strain tested, which specifically inhibited seed germination of *H. sabdariffa* up to 72 %. In this paper, we demonstrate clearly and forcefully that microorganisms PGPR also interfere essential functions of plants, such as impairment of seed germination.

## 3 Introducción

México es uno de los principales productores del cultivo de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae), conocida popularmente como Jamaica, que se ha adaptado principalmente a las zonas tropicales y subtropicales del mundo. El cultivo de Jamaica es ampliamente conocido ya que es utilizada para preparar una bebida refrescante pero, en la actualidad la industria de alimentos, por la utilidad que tienen sus ácidos y pigmentos ya la usan para la elaboración de otras bebidas como el té, vinos, en la preparación de jaleas, jarabes, dulces, mermeladas, postres, salsas etc. además de servir para la coloración de embutidos y como aditivo natural para mejorar el aspecto y sabor de estos. *H. sabdariffa* es cultivada en México en una superficie aproximada de más de 18 000 ha, siendo los estados de Guerrero, Oaxaca, Nayarit, Michoacán, Campeche, Colima, Jalisco y Sinaloa los principales productores (INEGI, 2004).

Ciertos microorganismos del suelo llevan a cabo transformaciones importantes de los componentes inorgánicos y orgánicos que pueden impactar en la nutrición de los cultivos y, algunos de ellos se asocian a las raíces de la planta. El estudio de estas interacciones planta-microorganismo es de mucho interés, desde el punto de vista ecológico (Chanway, Turkington, Holl, 1991, p. 121) y por los beneficios prácticos que pueden acarrear tanto a nivel del desarrollo de la planta como en la calidad del producto de la Jamaica. Las células bacterianas, para establecer una asociación con la raíz de la planta pueden tener alta o poca especificidad para llevar a cabo esta asociación, ya que se ha demostrado que, en ciertos casos, la composición de los consorcios microbianos asociados a las plantas son altamente específicos y que las interacciones que ocurren son el resultado de un reconocimiento recíproco entre todos los componentes, a nivel de la rizosfera de las plantas. La primera fase de reconocimiento o acoplamiento entre el microbio y la planta es una unión débil, reversible e inespecífica en la que, ciertas lectinas de la planta así como proteínas bacterianas asociadas con  $\text{Ca}^{+2}$  (rhicadhesina) y polisacáridos superficiales bacterianos entran en juego. En la segunda etapa del acoplamiento, es requerida la síntesis bacteriana de fibrillas de celulosa para construir una sólida e irreversible asociación con la raíz de la planta (Rodríguez-Navarro, Dardanelli, Ruíz-Saíenz, 2007, p.127). Algo semejante debe ocurrir durante el establecimiento de la interacción entre *Pseudomonas* fluorescentes-*H. sabdariffa* y, en alguna de estas etapas debe establecerse la especificidad de dicha interacción.

Las *Pseudomonas* fluorescentes son un grupo muy interesante de microorganismos, porque sintetizan múltiples compuestos y, posiblemente otros que en la actualidad no han sido descubiertos. Estos microorganismos han sido ampliamente utilizados para incrementar la producción agrícola, por las múltiples funciones de despliegan las células bacterianas asociadas a las raíces de las plantas. El objetivo fundamental es mejorar las condiciones de los cultivos en el campo, para incrementar los rendimientos de los mismos.

Han sido descritas maneras diversas mediante las cuales este tipo de microorganismos promotores del desarrollo vegetal pueden directamente facilitar a la planta su desarrollo (Glick, 2010, p. 367), las que incluyen: La producción de reguladores del desarrollo vegetal (García de Salamone, Hynes, Nelson, 2005, p.173), particularmente el ácido indolacético (AIA) que según Glick (1995, p. 109) es el compuesto más importante de las auxinas. El ácido indolacético sintetizado por las bacterias estimula la formación de muchas raíces adventicias y hace que las raíces primarias se alarguen (Patten, Glick, 2002, p. 3795). El ácido indolacético es sintetizado por las bacterias a partir del aminoácido L-triptófano, el cual se encuentra en los exudados de las raíces dependiendo del genotipo de la planta huésped (Kamilova, Kravchenko, Shaposhnikov, Azarova, Makarova, Lugtenberg, 2006, p.250) El ácido indolacético bacteriano estimula la formación de muchas raíces adventicias y hace que las raíces primarias se alarguen (Patten, Glick, 2002, p. 3795). La producción de ciertos antibióticos como el 2,4-diacetilfloroglucinol (PHL), pioluteorina (PLT), pirrolnitrina, y fenazina-1-carboxilato interfieren el desarrollo de microorganismos (Thomashow, Weller, 1996, p. 187). En ciertas condiciones, los antibióticos fortalecen las habilidades y aptitudes ecológicas de estos microorganismos en la rizosfera, lo que permite la eficacia de los sistemas de control biológico de estos microorganismos por períodos de tiempo prolongados (Mazzola, Cook, Thomashow, Weller, Pierson, 1992, p. 2616). La capacidad de síntesis de sideróforos que secuestran el hierro del suelo, particularmente cuando este es escaso en el medio, y lo transfieren a la planta mediante el complejo ferro-sideróforo (Hernández, Rives, Caballero, Hernández, Heydrich, 2004, p. 6). La reducción del hierro de la rizosfera mediante los sideróforos, entre ellos el ácido salicílico, la piochelina, y la pioverdine, al tener la habilidad de formar complejos con el hierro y otros metales, también contribuyen en la protección de la planta frente a microorganismos patógenos, retirando el hierro y otros minerales del medio (Hofte, Boelens, Verstraete, 1992, p. 2253; Loper, Henkels, 1997, p. 99). Los sideróforos y los antibióticos también participan en las respuestas de la planta ante condiciones de estrés, induciendo la resistencia sistémica y local en la planta (Leeman, Den Ouden, Van Pelt, Dirx, Steijl, Bakker, Schippers, 1996, p. 149). La inducción de la resistencia sistémica inducida mediante la acción del ácido salicílico. La producción de enzimas capaces de lisar la pared celular de ciertos hongos (Ramyasmruthi, Pallavi, Pallavi, Tilak, Srividya, 2012, p. 16). La competencia por los sitios de asociación de las células bacterianas con la raíz (Glick, 1995, p. 109; Glick, Todorovic, Czarny, Cheng, Duan, McConkey, 2007b, p. 227). La capacidad de solubilizar elementos y hacerlos útiles para la planta, ya que algunas solubilizan el fosfato inorgánico transformándolo a ortofosfato, que es una forma asimilable para las plantas. Muchas bacterias solubilizan rocas y minerales esenciales para el crecimiento de la planta vía producción de numerosos ácidos orgánicos (Babana, Antoun, 2007, p. 51). La capacidad de síntesis de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminasa, que baja los niveles de etileno en la planta (Glick, Cheng, Czarny, Duan, 2007a, p. 329; Glick, Todorovic, Czarny, Cheng, Duan, McConkey 2007b, p. 227). La capacidad de fijar el nitrógeno que puede ser utilizado por la planta aunque, esta función, juega un papel poco importante.

En dichos microorganismos del suelo, como ya se ha dicho, han sido identificadas esa serie de expresiones importantes mediante las cuales pueden afectar indirectamente y directamente el desarrollo de cultivos, comúnmente mediante la interacción de expresiones de varias de ellas que, además, pueden impactar a la planta en etapas fenológicas distintas de (Glick, 2010, p. 367), desde la etapa previa a la germinación de la semilla (en ausencia de la raíz) y de la germinación en adelante, pues el consorcio de microorganismos va a permanecer asociado a la raíz mientras tenga el soporte de los nutrientes con lo que contribuye la planta. Cuando la semilla es de óptima calidad y los cultivos son desarrollados en condiciones favorables (tanto ambientales, de nutrición así como fitosanitarias) y, por lo tanto, no experimentan condiciones de estrés, las expresiones de estos microorganismos no causan los efectos positivos significativos en la planta.

Es muy posible que otras expresiones importantes de estos microorganismos estén por descubrirse en la medida en que las condiciones ambientales actúen como señales para inducirlos (Almeida da Silva, Amazonas de Almeida, 2006, p. 411; King, Campbell, Eagles, 1948, p.514), y como ejemplo, los organismos deben actuar en relación con los efectos del calentamiento global que se están manifestando, según los especialistas, más rápido de lo que se esperaba. El fenómeno del calentamiento global es uno de los temas principales consignados en el informe de la reunión “Previsión Medioambiental Global” (GEO-6), presentado por el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) en Nairobi, Kenia, en Mayo de 2016 cuando fue celebrada la Asamblea Medioambiental.

El estudio de estas interacciones planta-microorganismo entre *H. sabdariffa* y ciertas cepas microbianas de *Pseudomonas* fluorescentes son de mucho interés, por los beneficios que pueden acarrear ahora y en el futuro, a nivel del desarrollo de la planta pero, más aún, en la calidad del producto del cultivo de la Jamaica. Por lo tanto, el objetivo del trabajo presente es determinar la capacidad que tienen este tipo de células bacterianas de promover o de inhibir el proceso de la germinación de la semilla, cuando la raíz prácticamente está ausente o en estado inicial de su desarrollo (que puede ser una manera de estudiar la especificidad de las células bacterianas para interactuar con la semilla posiblemente antes de colonizar las raíces) y en el desarrollo temprano de las plántulas de Jamaica.

### 3.1 Materiales y Métodos

**Materiales.** Semilla de *H. sabdariffa* cv Criolla, colectada en los municipios de Tecoaapa y Ayutla en el estado de Guerrero, de la cosecha del año 2011 y semilla de la cruce de *H. sabdariffa* roja x *H. sabdariffa* morada colectada en Tzicatlán, Puebla en el año 2014. Semilla de *Solanum lycopersicum* var. Rio grande (jitomate) y de *Capsicum annum* (chile Habanero). Aislamientos bacterianos de *Pseudomonas* fluorescentes: A7, A9, A9m, Avm, E2, E5, E14, T1, T12, T16, T20, T47, Sv, Pf, Pp, Sm y U

**Métodos.** Preparación de los cultivos bacterianos. En cajas Petri de vidrio con medio sólido B de King (BK), células de cada uno de los aislamientos fueron estriadas para incubarlas durante 48 h a la temperatura de entre 26 y 28 °C.

**Preparación de las suspensiones bacterianas.** De cada uno de los cultivos, una muestra de células fue transferida con un asa bacteriológica a tubos de vidrio estériles de 12 cm de longitud por 1.5 cm de diámetro con 6 mL de agua destilada estéril. Las suspensiones bacterianas generadas así se ajustaron a una turbidez de 0.4 de absorbencia a 660 nm. De estas suspensiones bacterianas 100 µL fueron usados para inocular 15 mL de medio de cultivo preparados en matraces de 50 mL de capacidad. Los cultivos fueron incubados a la temperatura de entre 26 y 28 °C de 24 a 96 h, según sea indicado. Al término del período de incubación, la turbidez de cada uno de los cultivos fue ajustada a 0.9 a 660 nm para inocular las semillas en estudio.

**Inoculación de la semilla.** Lotes de 100 semillas (tres por cada condición experimental) de *S. lycopersicum*, de 25 semillas de *H. sabdariffa* cv Criolla o de la cruce de *H. sabdariffa* roja x *H. sabdariffa* y de 25 semillas de *Capsicum annum* fueron colocadas en cajas Petri de vidrio de 50 mm de diámetro para ser mezcladas con 3.5 mL de suspensión bacteriana y así permanecieron durante 60 min. Posteriormente, la semilla sin el caldo bacteriano fue transferida a cajas Petri de plástico colocadas sobre dos hojas de papel toalla (toalla interdoblada blanca, GP–Georgia Pacific), en cajas Petri de plástico de 90 mm de diámetro y 9 mm de alto y humedecida con 3.5 mL de agua destilada estéril.

Incubación de la semilla. La semilla fue conservada en una cámara de germinación en la oscuridad a la temperatura de  $28\pm 2$  °C por el tiempo indicado en cada caso.

Determinación de la germinación. La germinación fue determinada diariamente o a los tiempos indicados en cada caso y, la semilla se consideró germinada cuando la punta de la raíz fue visible.

Determinación del vigor. Plántulas fueron seleccionadas de cada caja Petri, de 10 días a partir del tiempo 0. El tallo fue separado la raíz y las muestras fueron secadas a temperatura ambiente durante 48 horas y luego en una estufa ajustada a 70 °C donde permanecieron durante 72 horas para posteriormente determinar el peso de cada muestra en una balanza de precisión Mettler.

Los resultados de germinación se expresan como promedio y los del peso de las raíces y parte aérea de las plántulas se expresan como promedio de peso (mg).

### 3.2 Resultados y discusión

Estrategias, características de resistencia y mecanismos de defensa que exhiben los cultivos son estudiados fundamentalmente en las plantas adultas y, no se presta importancia al estudio de éstos a nivel del proceso de la germinación de la semilla (Rajjou, Belghazi, Huguet, Robin, Moreau, Job, Job, 2006, p. 910), lo cual puede deberse a que el proceso de germinación es una etapa muy temprana en el ciclo de vida de la planta y, aún no se establecen las relaciones entre la planta y sus órganos con los agentes causales de beneficios y de agresiones. A pesar de esto, es importante determinar en esta etapa temprana, las funciones esenciales de la semilla, como la germinación, que puedan alterarse por las condiciones del ambiente que, determinan las expresiones y funciones de la semilla que culminan en la germinación o, en la incapacidad para llevarla a cabo. Se afirma entonces que en el ciclo de vida de las plantas, la manera en que la semilla lleve a cabo sus funciones, condicionan hasta el rendimiento de los cultivos (Bewley, Black, 1994, p. 445; Finch-Savage, Bassel, 2016, p. 567). Este postulado se basa en que, en la medida en que la germinación de la semilla como el establecimiento del cultivo en el campo se lleve a cabo de manera rápida, porque ambos son factores críticos para la producción agrícola, particularmente cuando estos se desarrollan en condiciones de estrés como la salinidad (Ashraf, Foolad, 2005, p. 223). En relación con las interacciones planta-microbio, esta etapa es muy importante en el proceso de reconocimiento, infección y establecimiento de la colonización de las raíces de las plántulas por los microorganismos, donde entra en juego también su capacidad, entendida también como especificidad de las células microbianas para llevar a cabo la infección de la semilla directamente o de las radículas, al momento de la germinación. De esto dependerá la estructura y el tipo de desempeño que tendrá el consorcio microbiano que se establezca en la rizosfera, para beneficio o perjuicio de la planta. El acoplamiento o enganche de los microbios del suelo a la raíz (especificidad, compatibilidad o coexistencia) está definida anticipadamente por la especie de planta, su genotipo y cultivar. El enganche de los microbios, previo al establecimiento de la colonización propiamente dicha, pudiera ocurrir directamente en la superficie de la semilla para culminar con la infección del sistema radical. Cuando la semilla es inoculada de manera artificial con un único tipo de células “compatibles” y la semilla inoculada es llevada al campo, es factible que dichas células bacterianas tengan ventaja para establecer la colonización de las raíces, en relación con las poblaciones bacterianas nativas.

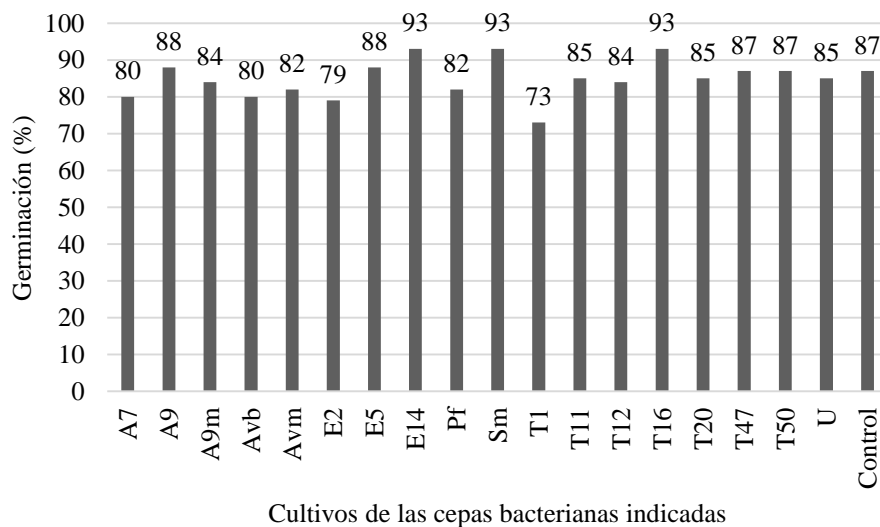
El caso de la semilla de Jamaica es importante, desde el punto de vista de su rápida germinación que, en menos de 24 h comienza la germinación y ya para las 48-72 h toda la semilla viable ha germinada. Otras semillas, como la de *C. annuum*, requieren unas 3 semanas para germinar o la semilla de *S. lycopersicum* que inicia la germinación a los 2 ó 3 días.

En otras palabras, el contacto de las células microbianas con la semilla es muy corto antes de la germinación, para ejercer alguna acción. Una vez que la raíz emerge, debe llevarse a cabo el reconocimiento planta bacteria que puede culminar en la colonización de las raíces por las células microbianas. No podemos definir hasta ahora, que funciones en el proceso de la germinación pudieran ser interferidos por el sobrenadante de medio gastado o por las células que se encuentran en contacto con la superficie de la semilla. Sabemos que el ácido absísico, producido por la planta, es un regulador del desarrollo vegetal y actúa preferentemente como un potente inhibidor de la germinación. Los sideróforos, producidos por las bacterias, forman complejo con el ion férrico “retirando” este precioso elemento de la circulación, impidiendo que otros microorganismos lo puedan adquirir y por tanto su desarrollo se ve interferido, pues el hierro es requerido por prácticamente todos los organismos, al participar en funciones importantes de las células a veces asociado a enzimas que catalizan reacciones importantes.

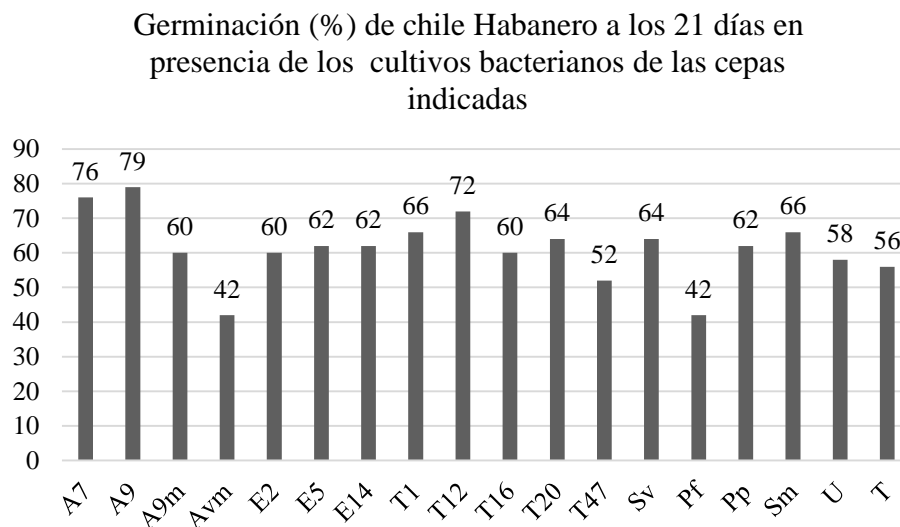
La capacidad de germinación de la semilla de *S. lycopersicum* var. Rio grande al llevarse a cabo en presencia de los cultivos bacterianos de las cepas indicadas, presentó ligeras variaciones como puede verse en el Gráfico 3, siendo el promedio general de 85. Los cultivos E14, Sm y T16 la promovieron 6 %, mientras que T1 y E2 la redujeron ligeramente, 8 y 14 % respectivamente, en relación con la semilla sin inocular (control).

Las *Pseudomonas* fluorescentes son, por excelencia, promotoras del desarrollo vegetal y pueden interaccionar con la semilla de varias maneras posiblemente desde la etapa pre-germinativa, facilitando o retirando el hierro disponible mediante la acción de los sideróforos que, de acuerdo a las condiciones ambientales, pueden ser generados y acumulados por estos microorganismos, y esto puede impactar directamente en el proceso de la germinación. Al repetir este experimento pero con semilla de *C. annum*, la capacidad de germinación, como puede verse en el Gráfico 3.1, también presentó ligeras variaciones siendo el promedio general de 61. Las células del cultivo A9 promovieron 23 % la germinación pero, Avm y Pf la redujeron únicamente 14 % en relación con la semilla que no fue inoculada (control).

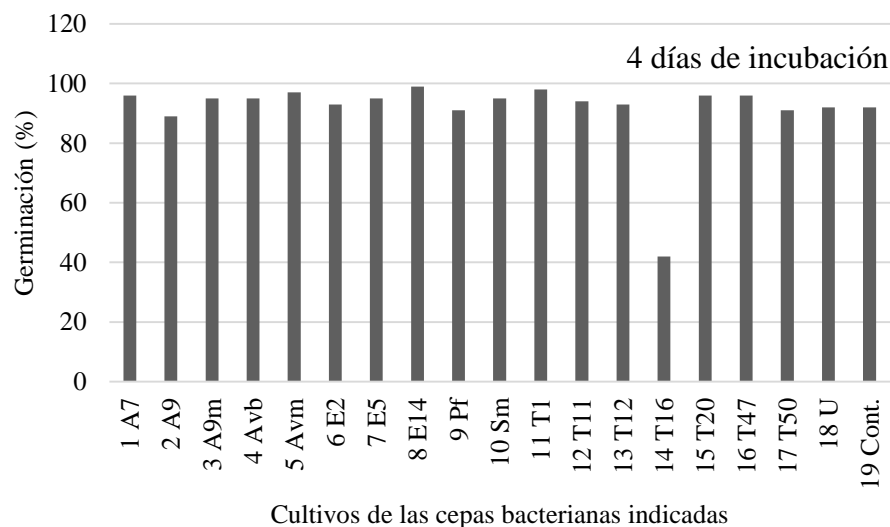
**Gráfico 3** Germinación de semilla de *S. lycopersicum* var. Rio grande en presencia de los cultivos celulares de las cepas indicadas. Los cultivos bacterianos de 24 h de incubación fueron desarrollados en el medio líquido BK



**Gráfico 3.1** Germinación de semilla de *C. annuum* (chile Habanero) en presencia de los cultivos celulares de las cepas indicadas. La germinación fue registrada a los 21 días y los cultivos bacterianos fueron desarrollados durante 24 h en el medio líquido BK



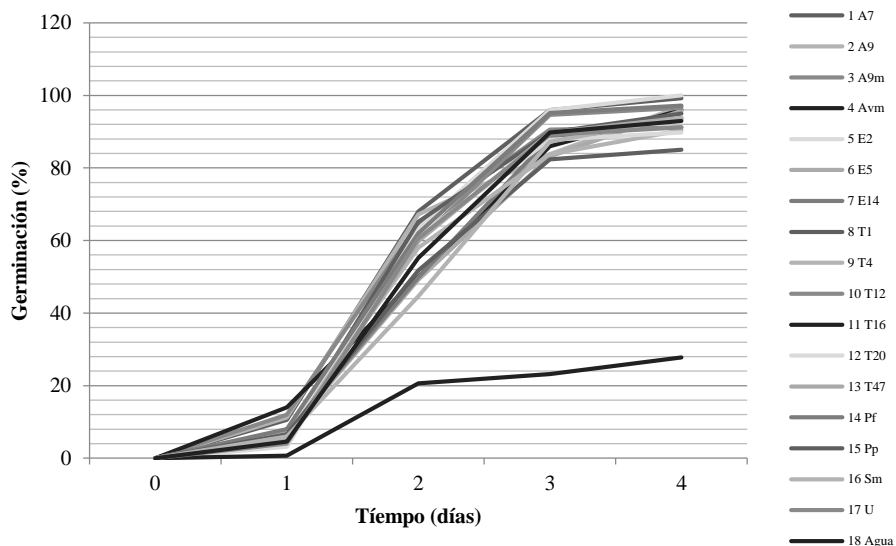
**Gráfico 3.2** Germinación de semilla de *H. sabdariffa* cv Criolla en presencia de los cultivos celulares de las cepas de *Pseudomonas* fluorescentes indicadas, registrada a los 4 días de incubación



La germinación de la semilla de *H. sabdariffa* cv Criolla en presencia de los cultivos celulares de las cepas de *Pseudomonas* fluorescentes indicadas, que son por excelencia promotoras del desarrollo vegetal, arrojó un resultado sorprendente: El cultivo de la cepa T16 inhibió, al menos, 51 % la germinación, en relación con la germinación exhibida por la semilla control, registrada a los 4 días, resultado que se muestra en el Gráfico 3.2. Este experimento se ha realizado de la forma descrita al menos dos veces y los resultados son altamente reproducibles, como se muestra en el Gráfico 3.3, donde se aprecia que la semilla inoculada con el cultivo T16 únicamente germinó 28 %, la semilla inoculada con el cultivo Pp 85 % y, el resto de las semillas inoculadas, germinaron de 93 a 100 %.

La germinación de la semilla de *H. sabdariffa* de la cruce de *H. sabdariffa* roja x *H. sabdariffa* morada, en presencia de los cultivos de las cepas de *Pseudomonas* fluorescentes A7, T16 y Avm, en experimento llevado a cabo de acuerdo a los experimentos realizados con la semilla de *H. sabdariffa* cv Criolla, fue de 76, 32 y 65 % respectivamente, resultados que confirman plena y contundentemente que el cultivo T16 es capaz de inhibir la germinación de la semilla de *H. sabdariffa* cv Criolla y de la semilla de *H. sabdariffa* de la cruce de *H. sabdariffa* roja x *H. sabdariffa* morada. Estos resultados, que son muy interesantes a la vez que importantes, confirman plenamente el comportamiento específico del cultivo T16: De manera selectiva promueve significativamente la germinación de la semilla de *S. lycopersicum* var. Rio grande (Gráfico 3) y de la semilla de *C. annuum* (Gráfico 3.1) pero inhibió alrededor de 51 % la germinación de la semilla de *H. sabdariffa* cv Criolla en un experimento (Gráfico 3.2) y en otro 72 % (Gráfico 3.3). También es importante indicar que los llamados “microorganismos promotores del desarrollo vegetal” también son capaces de interferir funciones importantes, como la germinación y, debido a esto, es recomendable, demostrar que al inocular algún tipo de semilla con células bacterianas, las bacterias promueven sus funciones esenciales.

**Gráfico 3.3** Germinación de la semilla de *H. sabdariffa* cv Criolla en presencia de los cultivos de las cepas de *Pseudomonas* fluorescentes indicadas

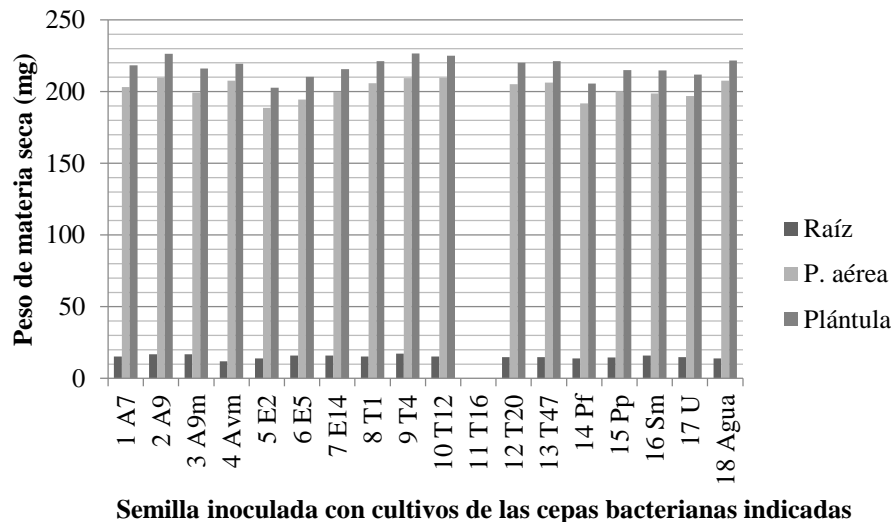


En el vigor que presentaron las plántulas de *H. sabdariffa*, determinado por el peso de materia seca de la raíz, la parte aérea y la plántula completa, como se muestra en el Gráfico 3.4, nuevamente no muestra grandes diferencias. El peso de las plántulas secas en la mayoría de los casos fue muy cercano a los 225 mg y únicamente la semilla inoculada con los cultivos E2 y Pf tuvieron menor peso pero ligeramente superior a los 200 mg. En el caso de la semilla inoculada con el cultivo de la cepa T16, los resultados no se muestran porque las plántulas, cuando ya existían eran tan pequeñas, que no fue posible determinar el peso de las muestras. El peso de materia seca a esta etapa, es utilizado para determinar el vigor de la semilla. La información que se presenta representa en esta parte del trabajo, en gran medida, está indicando el potencial de la semilla para soportar el desarrollo temprano de la plántula y no, el aporte que pueden proporcionar las células bacterianas en este estado del desarrollo de las plántulas. Por esta razón, no se pueden esperar grandes diferencias del peso de la biomasa seca.



En este trabajo se quiere llamar la atención, fundamentalmente, en el descubrimiento de la capacidad inhibidora del cultivo de la cepa T16, que es específica para la especie *H. sabdariffa*, afectando por igual a dos variedades: a la semilla del cv Criolla como a la semilla de la cruce de *H. sabdariffa* roja x *H. sabdariffa* morada. Esta capacidad se presenta de manera clara y contundente por la magnitud de la inhibición que ejerce el cultivo de este microorganismo así como por la reproducibilidad del fenómeno. Al momento no se puede explicar qué mecanismo está en juego. Finch-Savage y Bassel (2016) consideran que es el vigor de la semilla responsable de que esta germine así como del establecimiento de las plántulas rápida, uniforme y robustamente en condiciones ambientales adversas. Sin entrar en detalles, entonces, el cultivo bacteriano T16 debe afectar directa y específicamente la condición de vigor de la semilla de *H. sabdariffa*. Para investigar este aspecto tan interesante, la investigación está avanzando de acuerdo al diseño de una serie de experimentos para tratar de aclarar el mecanismo involucrado, haciendo las consideraciones siguientes. La germinación de la semilla de *H. sabdariffa* en presencia del cultivo bacteriano T16 en el medio de imbibición, es inhibida de manera considerable considerablemente.

**Gráfico 3.4** Determinación del vigor que presentaron las plántulas de *H. sabdariffa*, determinado por el peso de materia seca de la raíz, la parte aérea y de la plántula completa



En la raíz de la planta, específicamente en la rizosfera, se establece un consorcio de microorganismos, donde se acumulan ciertos compuestos químicos que son generados tanto por la planta como por los microorganismos y las características de dichos compuestos también dependen del microambiente. En ese lugar se llevan a cabo procesos importantes de transformación de compuestos químicos (degradación y modificación) y, por tanto, se generan compuestos que actividad biológica. También se considera que, este fenómeno de inhibición de la germinación se presenta antes de la emergencia de la raíz. Consideramos entonces, que debe tratarse de una sustancia de peso molecular relativamente bajo excretada por el microorganismo, capaz de internarse en la semilla y con capacidad para modificar alguna proteína o inhibir la función de alguna enzima que trae como resultado la incapacidad de germinación de la semilla. El compuesto o el proceso en cuestión no debe ser muy general debido a que la inhibición se presentó únicamente en la semilla de *H. sabdariffa* pero no en la semilla de *S. lycopersicum* var. Rio grande ni en la semilla de *C. annum*.

Así como existen mecanismos para “incentivar” las potencialidades heredadas de la semilla, relacionadas en particular, con la velocidad de germinación como con el porcentaje de germinación, también es factible confrontar o desafiar a la semilla, sometiéndola a condiciones desfavorables durante la etapa de germinación y de la misma forma, determinar en esas condiciones la capacidad como la velocidad de germinación como criterios para explicar los mecanismos y estrategias que la semilla pone en juego para hacer frente a tales condiciones adversas. Como ya se ha indicado, las estrategias y mecanismos de defensa de los cultivos son estudiados fundamentalmente en las plantas adultas y muy poca información existe acerca del comportamiento y de los mecanismos de defensa al nivel de la etapa de la germinación de la semilla (Rajjou, Belghazi, Huguet, Robin, Moreau, Job, Job, 2006, p. 910) y, por tanto, este tipo de enfoques debe ser promovido.

### 3.3 Conclusiones

Existe como pronunciamiento que, las expresiones que los microorganismos promotores del desarrollo vegetal, (PGPR) llevan a cabo, están “encaminadas” a proteger y facilitar a la planta los requerimientos para su desarrollo.

Si bien las especies o cepas denominadas PGPR, siempre se les cita como se explica en el párrafo anterior, el descubrimiento principal de este trabajo revela de manera clara y contundente que, un aislamiento bacteriano tipo PGPR (cepa T16) de manera específica inhibe por igual y en gran magnitud la germinación de las semillas de dos cultivares de *H. sabdariffa*.

### 3.4 Referencias

- Almeida da Silva, G. y Amazonas de Almeida, E. (2006). Production of yellow-green fluorescent pigment by *Pseudomonas fluorescens*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(3): 411-419.
- Ashraf, M. y Foolad, M. R. (2005). Pre-sowing seed treatment—A shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Advances in Agronomy*, 88: 223-271.
- Babana, A. H. y Antoun, H. (2007). Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field-grown wheat (*Triticum aestivum* L.) in Mali. En: E. Velázquez y Rodríguez-Barrueco, C. (eds.). *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*. (pp. 51-58) Springer.
- Bewley J. D. y Black, M. (1994). *Seeds. Physiology of development and germination*. (pp. 445) Plenum Press, New York.
- Chanway, C. P., Turkington, R. y Holl, F. B. (1991). Ecological Implications of Specificity between Plants and Rhizosphere Micro-organisms. *Advances in Ecological Research*, 21: 121–169.
- Finch-Savage W. E. y Bassel, G. W. (2016). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67 (3): 567-91.doi: 10.1093/jxb/erv490First published online: November 19, 2015.
- Garcia de Salamone I. E., Hynes, R. K. y Nelson, L. M. (2005). *Biocontrol and Biofertilization*. Z. A. Siddiqui (ed.) (pp 173-195). The Netherlands. Springer.

- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2): 109-117, 10.1139/m95-015
- Glick, B. R. (2010). Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 28: 367–374
- Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J. y Duan, J. (2007a). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119: 329-339.
- Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J. Cheng, Z. Duan, J. y McConkey, B. (2007b). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26 (5-6): 227-242, DOI: 10.1080/07352680701572966
- Hernández, A., Rives, N., Caballero, A., Hernández A. N. y Heydrich, M. (2004). Caracterización de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz en la producción de metabolitos del tipo AIA, sideróforos y ácido salicílico. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6: 6-13.
- Hofte, M., Boelens J. y Verstraete, W. (1992). Survival and root colonization of mutants of plant growth-promoting pseudomonads affected in siderophore biosynthesis or regulation of siderophore production. *Journal of Plant Nutrition*, 15: 2253–2262.
- INEGI. 2004. Anuario Estadístico de Producción agrícola en los Estados Unidos Mexicanos. Biblioteca Digital. <http://www.inegi.gob.mx>
- Kamilova, F, Kravchenko, L. V., Shaposhnikov, A. I., Azarova, T., Makarova, N. y Lugtenberg, B. (2006). Organic acids, sugars and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stone wool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 9: 250-256.
- King, J. V., Campbell J. R. y Eagles, B A. (1948). The mineral requirements for fluorescein production. *Canadian Journal Research*, 26: 514-519.
- Leeman, M., Den Ouden, F. M., Van Pelt, J. A., Dirx, F. P. M., Steijl, H., Bakker P. A. H. M. y Schippers, B. (1996). Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish in commercial greenhouse trials by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* WCS374. *Phytopathology*, 85:149–155.
- Loper, J. E. y Henkels, M. D. (1997). Availability of iron to *Pseudomonas fluorescens* in rhizosphere and bulk soil evaluated with an ice nucleation reporter gene. *Applied Environmental Microbiology*, 63: 99–105.
- Mazzola, M., Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M. y Pierson, L. S. (1992). Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. *Applied Environmental Microbiology*, 58: 2616–2624.
- Patten, C. H. y Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indolacetic acid in development of the host plant root system. *Applied Environmental Microbiology*, 68 (8): 3795-3801.

Rajjou, L., Belghazi, M., Huguet, R., Robin, C., Moreau, A., Job, C. y Job, D. (2006). Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on *Arabidopsis* seed germination and establishment of early defense mechanisms. *Plant Physiology*, 141: 910–923.

Ramyasmruthi, S., Pallavi, O., Pallavi, S., Tilak, K. y Srividya S. (2012). Chitinolytic and secondary metabolite producing *Pseudomonas fluorescens* isolated from *S. Solanaceae* rhizosphere effective against broad spectrum fungal phytopathogens. *Pelagia Research Library. Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(1): 16-24.

Rodríguez-Navarro, D. N., Dardanelli, M. S. y Ruíz-Saínz, J. E. (2007). Attachment of bacteria to the roots of higher plants. *FEMS Microbiology Letters*, 272: 127–136.

Thomashow, L. S. y Weller, D. M. (1996). Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: mechanisms and antifungal metabolites, En G. Stacey y Keen, N. T. (ed.), *Plant-microbe interactions*, vol. 1. (pp. 187–235). New York. Chapman and Hall.