

# EFFECTIVIDAD DEL BIOPREPARADO *DIMABAC*, EN LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES, LA ESTIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL Y EL RENDIMIENTO EN CULTIVOS HORTÍCOLAS

Grisel Tejeda González<sup>1</sup>, Janet Rodríguez Sánchez<sup>1</sup>, Rosa García Gómez<sup>1</sup>, Alberto Martínez<sup>1</sup>, Carlos Lamela<sup>2</sup>, Bernardo Dibut Álvarez<sup>1</sup>, Rafael Martínez Viera<sup>1</sup>, Ulises Soca Estrada<sup>1</sup>, Ma. Elena Simanca Morales<sup>1</sup>, Marisel Ortega García<sup>1</sup>, Rubén Fernández Melendi<sup>1</sup>, Yoania Ríos Rocafull<sup>1</sup>, Renier Pérez<sup>3</sup> y Luis Fey Govín<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT).*

<sup>2</sup>*Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA)*

<sup>3</sup>*IPA Villena-Revolución*

## RESUMEN

El desarrollo de la biotecnología agrícola en Cuba está dando paso a la utilización de bioproductos que logren diferentes efectos beneficiosos para cultivos de importancia económica, respondiendo así a la necesidad de encontrar alternativas más económicas y que a su vez reporten importantes impactos sociales. Las fermentaciones mixtas utilizando bacterias aisladas del suelo, pueden utilizarse con estos fines, según sus posibilidades en cuanto a compatibilidad, velocidades de crecimiento y competencia nutricional. El biopreparado DIMABAC, obtenido de este proceso fermentativo mostró actividad fungicida "in vitro" frente a *Alternaria solani* y *Alternaria porri*; redujo en condiciones "in vivo" la infección provocada por *Xanthomonas vesicatoria* en el cultivo de tomate en tratamientos curativo y preventivo; corroboró su actividad fungicida en condiciones de parcelas experimentales y Organopónicos, controlando enfermedades provocadas por la infección de *Phytophthora* en el cultivo de ají chay. Este biopreparado logró efectos significativos en la estimulación del crecimiento vegetal, lo que se demostró en el cultivo de tomate, habichuela y ají chay. En condiciones de organopónico la dosis de 0.5 mL/m<sup>2</sup> del DIMABAC en el cultivo de zanahoria mostró un efecto estimulador en los parámetros del rendimiento, incrementó en un 20% la altura de la planta, en un 31 % el número de hojas, en un 37 % el diámetro de los frutos y en un 140 % el peso de los frutos.

**Palabras claves:** *Bacillus subtilis*, *Azotobacter chroococcum*, *cocultivo*.

## INTRODUCCIÓN

La inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal han cobrado gran importancia, ya que proveen beneficios a las plantas tales como la resistencia a patógenos y la estimulación del crecimiento (Dibut, 2000). En el mundo se ha estudiado y demostrado el efecto positivo de la coinoculación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal, al evaluar la respuesta a la inoculación con dos microorganismos fijadores de nitrógeno: *Azospirillum brasilense* y *Bradyrhizobium sp* en plantas de Habichuelas (Planes y col, 2002). Además otros autores también ha corroborado la efectividad de diferentes coinoculaciones microbianas (Subba Rao, 1996; Rice y col, 1995 y Lino y col., 2004).

La obtención de bioproductos microbianos con más de un microorganismo, a través de fermentaciones mixtas es una temática que ha sido poco estudiada, sobre todo en función de la obtención de bioproductos de uso agrícola.

En Cuba se han desarrollado productos mixtos a base de rizobacterias promotoras del crecimiento (Dibut, 2000; Planes y col, 2002 y Martínez, 2006), todos los cuales han demostrado una alta efectividad y se están aplicando en condiciones de producción, pero cada bacteria debe producirse separadamente, lo cual encarece la fabricación del bioproducto mixto. También se han desarrollado se han realizado trabajos que han

demostrado la potencialidad de la bacteria *Bacillus subtilis* por su actividad antagonista (Castellanos, 1995 y López y col., 1995) y consecuentemente se ha trabajado en la obtención de la tecnología de fermentación para obtener un biopreparado a partir de la cepa INIFAT-101 de *B. subtilis* para el control de hongos y bacterias fitopatógenas (Tejeda, 2004). Otros trabajos han validado la efectividad de cepas de *Azotobacter chroococcum*, aisladas de suelos cubanos con actividad nitro fijadora y estimuladora del crecimiento vegetal. Tejeda y col. (2002) han desarrollado estudios para obtener un biopreparado a partir de la fermentación mixta de *Bacillus subtilis* y *Azotobacter chroococcum*, demostrando que se puede perfeccionar la tecnología fermentativa para el cocultivo de ambas bacterias, dando como resultado un nuevo producto de uso agrícola con efecto multipropósito.

El presente trabajo tiene como objetivo validar el efecto agrobiológico del DIMABAC, como bioproducto con actividad preventiva frente a microorganismos fitopatógenos y estimuladora del crecimiento y desarrollo de diferentes cultivos hortícolas.

### **MATERIALES Y MÉTODOS:**

Se realizó la fermentación mixta de las bacterias *Azotobacter chroococcum* (cepa INIFAT-12) y *Bacillus subtilis* (cepa Bs INIFAT-101) y se obtuvo un producto al que se dio el nombre de DIMABAC. Este producto también se comparó con los productos puros de cada bacteria en cuanto a su efectividad en condiciones controladas.

La actividad estimuladora se evaluó en plántulas de tomate en bandejas, en cada una de las cuales se colocaron 25 semillas; se utilizaron 3 bandejas por variante en cada uno de 3 experimentos. Las mediciones de las plántulas se hicieron a los 21 días después de la siembra. En el momento de la siembra se agregó a cada bandeja 25 mL del inoculante líquido.

La actividad bactericida del producto, se evaluó en macetas bajo condiciones controladas el valorando el efecto preventivo del biopreparado frente a la infección artificial de *Xanthomonas vesicatoria*.

En condiciones de producción, se realizaron aplicaciones en los años 2003, 2005 y 2006 en los organopónicos de Calabazar y Van troi, pertenecientes al Municipio Boyeros, Ciudad de La Habana, en canteros de 48 m<sup>2</sup>, divididos en parcelas de 16 m<sup>2</sup> cada una, que contaban con un nivel alto de materia orgánica y riego adecuado, siguiendo un diseño de parcelas divididas a las que se aplicó un producto por cantero y una dosis por parcela. Las labores y cuidados al cultivo fueron las recomendadas para las siembras en organopónicos. Las dosis de aplicación fueron de 5 L/ha, a los 5 días después de la germinación por aspersión al suelo y foliar. En el caso de la zanahoria se evaluaron tres dosis: 2, 5 y 10 L/ha.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN:**

El producto DIMABAC logra el desarrollo y la estabilidad de dos microorganismos desde el proceso fermentativo, que a su vez demuestran efectividad como biopreparado multipropósito. Al evaluar el efecto "in vivo" del producto DIMABAC obtenido del cultivo mixto de ambas bacterias (Tabla 1) se observó que este mostró buena eficiencia como biocontrol cuando se aplicó 24 horas antes de la inoculación del patógeno. Este tratamiento biológico manifestó gran reducción de la severidad de la enfermedad (RSE) que representa el 70 % con respecto a la aplicación del tratamiento químico. Además su efectividad se compara con el tratamiento puro de *Bacillus subtilis*, por lo cual es válido el cocultivo, por lo cual se considera que la aplicación del producto biológico DIMABAC constituye una fuente de control promisorio frente al agente causal de la mancha bacteriana del tomate y el pimiento.

Tabla 1. Acción preventiva\* del DIMABAC como controlador de la mancha bacteriana en el cultivo de tomate provocada por *Xanthomonas vesicatoria*.

Variantes	li (%)	RSE (%)
<i>Bacillus subtilis</i>	2.0 b	72.72 b
<i>Azotobacter chroococcum</i>	22.66 a	0
DIMABAC	2.6 b	63.63 c
Oxicloruro de cobre	0.66 c	90.90 a
Control	24.66	-
CV(%)	86.7	
DsX	9.31	
EsX	0.64	

\* 24 horas antes de la inoculación del patógeno.

li: Índice de infección; RSE: Reducción de la severidad de enfermedad

Los resultados que se muestran en la tabla 2 ratifican una importante función de las rizobacterias al interactuar con una variedad de microorganismos del suelo que están normalmente presentes en la rizosfera, en algunos casos actúan como agentes biocontrol contra bacterias fitopatógenas (Pinton y col., 2001). Zhang y col. en 1993, estudiaron que las cepas pertenecientes a la especie *Bacillus subtilis* controlaban con mayor eficiencia estas enfermedades, además de influir en la germinación de las semillas, de forma positiva, lo cual también se ratifica por los resultados obtenidos en la tabla 2.

Tabla 2. Actividad bioestimuladora del DIMABAC sobre el crecimiento de plántulas de tomate.

Variantes	Plantas Germinadas	Largo Raíz (cm)	Largo Tallo (cm)	Altura de la planta (cm)
<i>Bacillus subtilis</i>	10	3.67 d	10.66 b	16.62 b
DIMABAC	15	8.82 abc	15.15 a	22.34 a
<i>Azotobacter</i>	17	11.13 a	16.52 a	23.51 a
Testigo	11	10.99 a	10.61 b	16.36 b

En el cultivo de ají chay este producto resultó preventivo frente a enfermedades (figura 1) y además mostró su efectividad como estimulador del crecimiento vegetal (figura 2), donde incrementó entre un 5 y 22 % el diámetro de la planta, entre un 7 y 31 % la altura de la misma, y entre un 9 y 45 % el peso de los frutos, al evaluar dosis entre 10 y 20 L /ha. Efectos positivos en la coinoculación, también fueron reportados por González y col. (2004) en el cultivo del pepino con la aplicación de FOSFORINA y *Azotobacter chroococcum*.

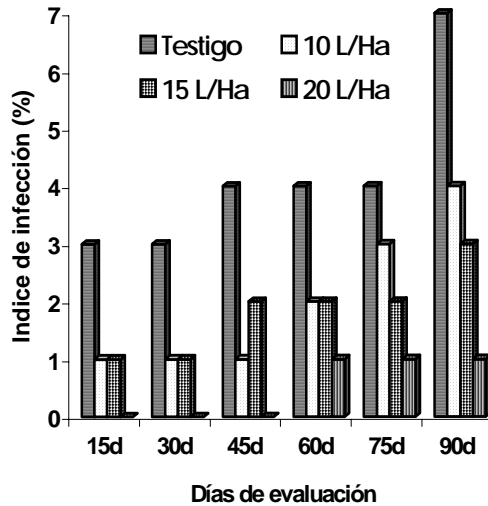


Figura1: Efecto de la aplicación del DIMABAC sobre la infección de *Phytophthora* en el cultivo de ají chay.

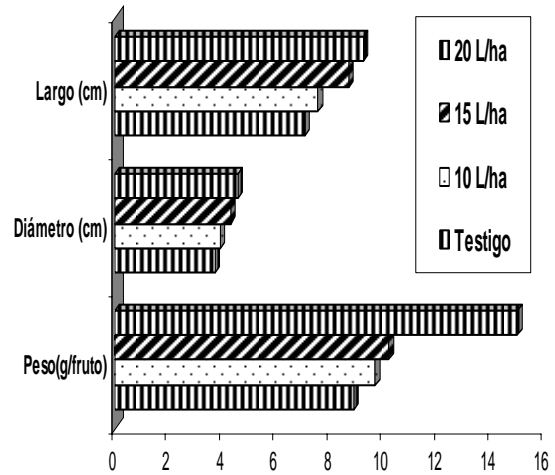


Figura 2: Efecto de la aplicación de DIMABAC sobre los componentes del rendimiento en el cultivo de ají chay.

En la tabla 3 se expresa el efecto beneficioso de la aplicación del biopreparado en el cultivo de habichuela, al incrementar en un 17% la altura de la planta, en un 57% el número de vainas y en un 46% el largo de las vainas, lo cual demostró su acción estimuladora del crecimiento y desarrollo de las plantas, lo cual debe conducir, a un incremento del rendimiento. Otros biopreparados obtenidos a partir de microorganismos del suelo han sido aplicados con efectividad en condiciones de Organopónicos, Lorente y col. (2003) evaluaron la aplicación del bioproducto RIZBEL, sobre semillas de pepino en el momento de la siembra y se obtuvieron resultados positivos al evaluar el número de flores y el número de frutos.

Tabla 3. Efecto de la aplicación de DIMABAC sobre el desarrollo de la habichuela. Organopónico de Calabazar (Año 2003).

Variante	Altura de la planta (cm)	Número de flores	Número de vainas	Largo de las vainas
Testigo	42.41 b	16.6 b	11.40 b	9.28 b
DIMABAC	49.52 a	24.6 a	17.85 a	13.55 a
Esx	1.24	2.36	0.65	1.39
C.V. (%)	11.15	15.42	13.24	13.60

Nota: Letras iguales no difieren significativamente entre sí para  $p \leq 0.05$

En el cultivo de la zanahoria, como se observa en la tabla 4, al aplicar DIMABAC, se pudo demostrar que la dosis aplicada del bioproducto define su efectividad, pues dosis altas pueden inhibir el desarrollo de la planta. En este caso en muchos de los parámetros no se observó diferencia entre las dosis de 0.2 y 0.5 mL/m<sup>2</sup>. Sin embargo, la dosis de 0.5 mL/m<sup>2</sup> (5L/ha) mostró un efecto estimulador del DIMABAC en parámetros importantes del rendimiento, ya que incrementó en un 20% la altura de la planta, en un 31 % el número de hojas, en un 37 % el diámetro de los frutos y en un 140 % el peso de los frutos. Dibut y Martínez en el 2003, resaltaron la efectividad de diferentes biofertilizantes microbianos en condiciones de agricultura orgánica, y reconocieron la influencia de las dosis de estos bioproductos en su efectividad.

Tabla 4: Efecto del DIMABAC y las dosis aplicadas sobre los parámetros del rendimiento de la zanahoria en condiciones de Organopónico (Campañas del 2005 y 2006).

Producto	Dosis (mL/m <sup>2</sup> )	A P (cm)	Nº hojas	D F (cm)	L F (cm)	P F (g)	PPA (g)
Testigo		43.22 ab	9.1 b	25.19 b	13.62 bc	32.05 c	21.74 c
DIMABAC	0.2	37.90 b	18.0 a	32.93 a	17.53 a	77.21a	41.67 a
	0.5	51.90 a	12.0 b	34.63 a	16.77 a	80.1 a	45.76 a
	1.0	47.90 a	9.0 b	28.5 ab	12.87 bc	46.83 b	28.65 c
Es x		3.52	1.19	3.75	1.367	13.44	6.949
C V (%)		16.16	32.31	29.36	21.31	36.66	19.68

Nota: Letras iguales no difieren significativamente entre sí para  $p \leq 0.05$

AP: Altura de la planta; DF: Diámetro de los frutos; LF: Largo de los frutos; PF: peso de los frutos; PPA: Peso de la parte aérea.

### CONCLUSIONES:

- El DIMABAC mostró actividad bactericida preventiva frente a *Xanthomonas vesicatoria*, controlando la mancha bacteriana del tomate en condiciones “*in vivo*”.
- El cultivo de ají chay en condiciones de parcela se vio favorecido con la aplicación del DIMABAC en la protección contra *Phytophthora*, reduciendo el índice de infección a menos de 1% hasta los 90 días del cultivo con una sola aplicación de 20L/ha.
- La acción del DIMABAC como estimulador del crecimiento y el desarrollo de las plantas se demostró en el cultivo de habichuela, donde incrementó en un 17% la altura de la planta, en un 57% el número de vainas y en un 46% el largo de las vainas.
- En el ají chay incrementó entre un 5 y 22 % el diámetro de la planta, entre un 7 y 31 % la altura de la misma y entre un 9 y 45 % el peso de los frutos, al evaluar dosis entre 10 y 20 L /ha.
- En condiciones de organopónico la dosis de 0.5 mL/m<sup>2</sup> del DIMABAC en el cultivo de zanahoria mostró un efecto estimulador en los parámetros del rendimiento, incrementó en un 20% la altura de la planta, en un 31 % el número de hojas, en un 37 % el diámetro de los frutos y en un 140 % el peso de los frutos.

### BIBLIOGRAFÍA:

- Castellanos, J.J.; Oliva P.; Izquierdo, E. y Morales, N. 1995 “Evaluación de *Bacillus subtilis* como biocontrol del patógeno *Alternaria porri* (Ell). Cif en cebolla”.X Forum de Ciencia y Técnica. NIFAT. MINAGRI.
- Dibut, B. A. 2000. “Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento vegetal para el beneficio de la cebolla (*Allium cepa* L.)”. Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas, Ministerio de la Agricultura, La Habana, 104 pp.
- Dibut, B. y R. Martínez Viera 2003: Biofertilizantes y bioestimuladores: Métodos de inoculación. En Manual de Agricultura Orgánica Sostenible, FAO Ed., La Habana, pp 17-22.
- González, M.; Guevara, A.; Hartman, T.; Peña, E.; Bardanca, y Ferrer, S. 2004. “Inoculación de productos microbianos para la producción de hortalizas en Casas de Cultivos”. XIV Congreso Científico.
- Lino, A., Arozarena, N., Dibut, B., Ríos, Y., Croche, G., Ortega, M. y, Fey, L. 2004. “Evaluación de la aplicación conjunta de biofertilizantes en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)”. XIV Congreso Científico del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. República de Cuba.
- Lorente, E.; Vázquez, R.; Quintana, E. and Boado, I., 2003. “RIZBEL, biopreparado en la producción de hortalizas en Organopónicos”. V Encuentro de Agricultura Orgánica.
- López, M; Pérez, M. A.; Martínez, R y Morales, N. 1995. “Efecto Antagonista de *Bacillus subtilis* sobre diferentes aislamientos de *Xanthomonas* spp”. VIII Jornada Científica del

- Hernández, G.. 1995 "Los biofertilizantes en la agricultura cubana". En: Resúmenes II Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. ICA. – La Habana. Cuba.
- Martínez, V. R. (2006). Los biofertilizantes y bioestimuladores bacterianos como pilares básicos de la agroecología. Convenio de Cooperación Cuba–Venezuela. Fundación CIARA. ISBN: 980-215-026-6, 35 pp.
  - Pinton, R.; Varanini, Z.; Nannipieri, P. 2001. "The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil competitors, plants and microorganisms In the rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances in the Soil - Plant Interface". New York. 1 - 17.
  - Planes, M.; Utria, E. Destrades M. y Hernández O. 2002 "Respuesta de la Habichuela (*Vigna unguiculata l. walp. sub-sp sesquipedalis*) var. Lina a dos técnicas de inoculación con *Bradyrhizobium sp.* y *Azospirillum brasilense* en las condiciones agroclimáticas de Sabaneta. En: Congreso Científico del INCA (13: 2002, nov. 12-15, La Habana.) Inst. Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-22-9.
  - Subba Rao, N.S.(1996):Interaction of nitrogen-fixing microorganisms with other soil microorganisms. En: Biological Nitrogen Fixation. Ed. Marcel Dekker, N. York, pp 37-63.
  - Tejeda, G.; García R.; Martínez, R.; Rodríguez, W. ; Ruíz M., ;Ríos, Y ; Rodríguez, J.,; Simanca, M.E. y Croche, G. 2002. "Cultivo mixto de bacterias con efecto antagonista y estimulador del crecimiento vegetal". En: Congreso Científico del INCA (13:2002, nov 12-15, La Habana.) Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISBN 959-7023-22-9.
  - Tejeda, G.; Rodríguez, J.; Martínez, R.; García, R.; Castellanos, JJ.; Gutiérrez, L.; Rodríguez, W.; Plana, L.; País J., Ríos, Y.; Simanca, M.E., Ortega, M.; González E. y Croche, G. 2004. "Producción y efectividad de un biopreparado a partir de *Bacillus subtilis* con actividad antagonista y estimuladora del crecimiento vegetal". Convención Intern. TROPICO´2004. II Congreso de Agricultura Tropical. ISBN-959-7167-02-6.
  - Rice, W.A; Olsen, P.E and Leggett, M.E.1995. Co-culture of *Rhizobium meliloti* and phosphorus-solubilizing fungus (*Penicillium bilaii*) in sterile peat. Soil Biol. Biochem. 27:4-5, 703-705.
  - Zhang X.J.; Miao W.G.; Zhu GN; Wang J.S. 1993. "Screening of bacterial antagonists against several important crop disease pathogens". Chinese-Journal-Biological-Control. 9, 126-129.