

NUEVA VARIANTE DE REPRODUCCIÓN DE *MESORHIZOBIUM* SP. PARA LA BIOFERTILIZACIÓN DEL CULTIVO DEL GARBANZO (*CICER ARIETINUM* .L)

Marisel Ortega García¹, Tomás Shagarodsky Scull¹, Yoania Ríos Rocafull¹, Bernardo Dibut Álvarez¹ y Danél Cordobés Torres Gómez de Cádiz².

RESUMEN

En la búsqueda de alternativas que permitan mejorar el paquete tecnológico establecido en la biofertilización del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Cuba, se diseñó una nueva tecnología de fermentación en estático. Para este fin se utilizaron dos cepas de *Mesorhizobium* sp., pertenecientes a la Colección de Bacterias Beneficiosas del INIFAT. Ambas fueron crecidas en estado sólido sobre medio de cultivo YMA agarizado, en placas Petri de 15 cm, las que se incubaron a una temperatura de 32°C. Bajo estas condiciones se obtuvo un volumen de biomasa de 98,67 mg/cm² donde el microorganismo presenta una concentración de 10¹³ UFC x mL⁻¹. En una segunda cosecha fue posible cuantificar 65,30 mg/cm². Estos resultados demuestran la posibilidad de aplicar un producto concentrado que incrementa los rendimientos del cultivo con respecto a las plantas sin inocular y a su vez se obtienen mejores resultados que con la variante líquida, validada durante varios años. Esta nueva estrategia de producción artesanal resulta promisoria para cubrir las campañas de este cultivo a nivel de país, debido a su factibilidad en la transportación y a su vez viabiliza todo el proceso de manipulación y conservación en un año en condiciones de refrigeración. La misma permite y reporta un beneficio económico de 0.48 CUC/ha tratada con el biopreparado y una relación C/B de 73:1 por lo que se considera una tecnología factible para el mercado.

Palabras clave: alternativas, fermentación, estrategia.

New variant of reproduction of *Mesorhizobium* sp. for the biofertilización of chickpea (*Cicer arietinum*, L.)

ABSTRACT

In the search of alternative to improve the technological package settled down in the biofertilización of the cultivation of the chickpea (*Cicer arietinum*. L) in Cuba, it was desing new

Ing. Marisel Ortega García, Especialista del Grupo de Agrobiotecnología del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), MINAG, Cuba. e-mail: biofersuelos@inifat.co.cu. ²Dpto. Economía Agropecuaria, Universidad Agraria de La Habana” Fructuoso Rodríguez Pérez”, Mayabeque, Cuba.

technology to static fermentation. Were use two strains of *Mesorhizobium* sp., belonging to the Bacteria's Beneficies Collection of the INIFAT. They were grown in solid state on YMA medium, over Petri box of 15 cm, incubated 32°C temperature. Under this conditions was obtained a volume biomass to 98,67 mg/cm² where we reach a microbial concentration of 10¹³ UFC x mL-1. The second collect was 65,30 mg/cm². The results showed the possibility to apply a concentrated product that increases the yields of the crop with regard to the plants without inoculating, with similar results to the liquid variant validated during several years. This new production strategy is promissory to cover the campaigns in the country, due to its feasibility in the transportation and to its easy manipulation and conservation the one conditions to refrigeration its on economic benefit to 0.48 CUC/Ha treatise on the biopreparator and one relation C/B de 73:1 to the are technology consideration factible for the market.

Key words: alternative, fermentation, strategy.

INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum*. L) se encuentra entre las leguminosas con mayor incidencia en el mercado alimentario nacional en los últimos años. Esto ha traído consigo la búsqueda de variedades comerciales mejor adaptadas, unidos a todo un paquete tecnológico que incluye el desarrollo de alternativas de nutrición con el objetivo de obtener mejores resultados en la base productiva. Para este empeño fue necesario el perfeccionamiento de la tecnología de reproducción de bacterias del género *Mesorhizobium*, existente hasta el momento, obtenida a base de fermentaciones en estado sumergido, lo que también contribuiría a disminuir los volúmenes de aplicación, abaratar los costos de producción y de transportación. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar una nueva variante de producción

de biomasa de *Mesorhizobium*, para lograr satisfacer la demanda en cuanto a la biofertilización del cultivo del garbanzo en todas las campañas a nivel de país. Para implementar esta u otras tecnologías relacionadas con la biofertilización se necesita dominar en primer lugar la biología de los microorganismos del suelo. Estudiar a profundidad respuestas fisiológicas y conocer la planta a nivel básico, lo que permite lograr una interacción eficiente de acuerdo a los componentes genéticos de los mismos e incrementar los beneficios de los inoculantes microbianos (Albretch *et al.*, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el laboratorio de Agrobiotecnología del INIFAT. En el mismo se inocularon dos cepas de *Mesorhizobium*. sp; R-1, proveniente de la

provincia Artemisa y R-2 de las Tunas, ambas conservadas en la Colección de Bacterias Beneficiosas de dicho centro. Para obtener el producto líquido se utilizó una zaranda rotatoria a 200 r.p.m de agitación, durante un período de tiempo de 72 horas y una temperatura de 32°C, crecidas sobre medio de cultivo YMA (Dibut *et al.*, 2005). En el caso de la fermentación en estado sólido se utilizó el mismo medio de cultivo pero agarizado, en un proceso de fermentación estático, sobre placas Petri de 15 cm de diámetro. En ambos casos las condiciones de temperatura fueron de 32°C y se alcanzaron concentraciones microbianas entre 10^{10} y 10^{13} UFC x mL⁻¹ respectivamente.

Para el diseño experimental se utilizó Bloques al Azar empleando la variedad Nacional-29 de la que se montaron parcelas de 4 surcos con 2 m de largo a 0.45 m entre hileras y 0.20 m entre plantas, sembradas sobre un suelo Ferralítico Rojo (Instituto de Suelos, 2000). Todas las labores culturales y atenciones fitosanitarias se realizaron según el Instructivo Técnico para el cultivo del garbanzo bajo las condiciones de Cuba (Shagarodsky *et al.*, 2005).

Para el estudio de crecimiento y desarrollo del cultivo se evaluaron las variables altura de las plantas (cm), número de vainas, diámetro y peso total de las plantas (g), no siendo así para la valoración del

rendimiento potencial donde se tuvo en cuenta el peso de las vainas (g), número de granos y peso de los granos (g), por representar a los indicadores que revelan el estimado sobre el rendimiento potencial del cultivo.

El procesamiento estadístico se realizó a partir de un ANOVA al 5% de significación utilizando el programa STAT-ICTF 4.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación a la reproducción y conservación, evaluar la concentración del microorganismo constituye un criterio esencial. Para su almacenamiento se evaluaron ambas variantes (líquido y sólido) en condiciones de refrigeración durante un año. Se evidencia que en el medio líquido puede conservarse hasta seis meses sin ninguna afectación grave para su uso a temperaturas entre 4-8° C. Ya a los nueve meses se observa la disminución en dos órdenes de su población microbiana, lo que lo descarta para ser utilizado como biofertilizante por su concentración (Martínez *et al.*, 2007). En el caso del producto en forma de crema se muestra que la durabilidad de los mismos supera el año de almacenamiento, ya que al transcurrir esta etapa mantiene concentraciones altas lo que permite continuar su conservación y de esta forma prolonga su utilización para estos fines (Tabla 1).

Tabla 1. Estudio de estabilidad de (UFC/mL⁻¹) conservado en cámara fría en diferentes períodos de almacenamiento.

Productos	Conservación (meses)				
	0	3 ^{ero}	6 ^{to}	9 ^{no}	12 ^{no}
Líquido	5.3x 0 ¹⁰	3.8x10 ¹⁰	3x10 ⁹	2.4x10 ⁷	-
Crema	5.3x 0 ¹³	5.3x 0 ¹³	5.3x 0 ¹³	5.3x 0 ¹²	5.3x 0 ¹¹

Conjuntamente con estos resultados se muestran los rendimientos en forma de biomasa (base húmeda) donde se logran alcanzar con esta modalidad artesanal las que son de 12 a 15 mg/cm² lo que permite la cosecha de esta biomasa presente una productividad bastante alta.

En la Tabla 2 se observa una respuesta favorable en cuanto a altura de la planta y número de vainas fundamentalmente, estos indicadores tienen una repercusión directa en los rendimientos.

Sin embargo se pudo observar a simple vista, plantas más pequeñas con un aumento en el número de vainas y mayor diámetro del tallo, lo que confiere una mayor resistencia al peso de los granos, ya que influye en la afectación que las mismas sufren producto de la fuerza de los vientos, y una alta repercusión en la permanencia de las flores (Hatice *et al.*, 2010).

En el caso específico de la respuesta a la nodulación, se observó aparición de los nódulos a los 90 días.

Tabla 2. Evaluación de los parámetros fisiológicos de crecimiento y desarrollo del cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) con la variedad Nacional-29, en la localidad de Santiago de Las Vegas, en la campaña 2010-2011.

Variante	Altura Planta (cm)	Número Vainas	Peso Total Planta (g)	Diámetro Planta (cm)
Crema	61.76 b	127.14 a	130.49 a	0.77 a
Líquido	70.89 a	103.92 b	110.11 a	0.71 a
Testigo	52.77 c	66.24 c	39.83 b	0.43 b
Desv. Est.	8.36977	26.7897	44.4377	0.168068
EsX	1.35358	3.70359	7.87907	0.0297004
CV (%)	2.18	26.97	47.54	26.22

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0.05$.

Estos se manifestaron en forma de racimos distribuidos en la raíz principal y otros sueltos en las raíces secundarias, con presencia de pigmentos rosados al realizar los cortes, lo que indica alto contenido de leghemoglobina, que no es más que la proteína captadora de oxígeno de los nódulos radicales. Su presencia permite estimar la efectividad de la fijación biológica del nitrógeno (FBN) mediante la actividad de los nódulos en las raíces de las plantas (Graham, 2007).

En cuanto a las plantas testigo hubo aparición de nódulos lo que se corresponde con inoculaciones realizadas con anterioridad a este suelo, aunque los mismos presentan coloración blanca lo que indica su inefectividad y el establecimiento de una interacción negativa entre la planta y su hospedero (Sprent, 2007). La expresión nodular y la eficiencia de la FBN,

dependen de las características genéticas de la planta por lo que resulta fundamental el estudio de variedades que nos permitan incrementar la eficacia de este proceso (Olivares, 2008).

En la Tabla 3 se evaluaron indicadores como el peso y número de vainas, así como el peso de los granos, lo que permite estimar el rendimiento del cultivo en condiciones de producción, y demostrar que la utilización de la biomasa en forma de crema semisólida constituye una alternativa viable para la nutrición de este cultivo (Dibut *et al.*, 2007). La misma puede ser utilizada al igual que la formulación líquida resultado de 20 años de trabajo, la que ha dado contribuido a la mejora de las producciones de este cultivar, conjuntamente con la introducción de variedades promisorias como es el caso de la Nacional-29.

Tabla 3. Respuesta a la inoculación de distintos tratamientos en cuanto a la producción obtenida en el cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) con la variedad Nacional 29.

Variante	Peso Vainas (g)	Número Granos	Peso Granos (g)
Crema	82.18 a	123.22 a	66.91 a
Líquido	70.11 b	126.75 a	61.70 a
Testigo	39.43 c	66.28 b	29.68 b
Desv. Est.	18.7151	29.3067	17.2367
EsX	1.86979	3.5931	1.92191
CV (%)	28.80	27.36	3.57

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0.05$.

Por esta razón se propone extender la nueva tecnología de *Mesorhizobium* sp con la variedad Nacional-29, para cubrir la fertilización en todo el país de un cultivo resistente a enfermedades y adaptado a nuestras condiciones agrometeorológicas.

El costo de aplicación de una hectárea es de 47.62 pesos con el producto líquido utilizado hasta la actualidad, en tanto con el empleo de la crema semisólida es de tan solo 5.84 pesos, lo que representa una disminución del 72% del costo. Tal efecto está dado fundamentalmente por la concentración final del producto en forma de crema la que es superior ya que alcanza 10^{13} con respecto al producto líquido que solamente logra 10^{10} UFC X mL⁻¹.

CONCLUSIONES

- La obtención de biomasa de *Mesorhizobium* sp constituye una variante factible para la biofertilización del cultivo del garbanzo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albretch, J.; Fontanetto, H.; Sillón, M. (2011): Informe sobre el cultivo del garbanzo. Red de Agricultura de Precisión, Fitopatología. Departamento de Producción Vegetal. FCA UNL INTA EEA. Manfredi, Córdoba.
- Berg, G. (2009): Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Environmental Biotechnology*, Graz University of Technology, 8010 Graz, Austria *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 84:11-8.
- Dibut, B., M. Ortega, T. Shagarodsky, Y. Rios y L. Fey (2007): Respuesta de cultivares y líneas de garbanzo a la inoculación con la cepa INIFAT-GR1 de *Mesorhizobium cicerii*. *Agrotecnia de Cuba*, 27: 59-65.
- Graham, P. (2007): Ecology of the root nodule bacteria of legumes. IN MJ Dilworth, EK James, JI Sprent, WE Newton (eds.). *Leguminous Nitrogen-Fixing Symbioses*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Grube, M. (2009): Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. *Institute of Plant Sciences, Karl Franzens University of Graz, Graz, Austria ISME J* 3:1105-15.
- Hatice, O.; Caner, K.; Erdal, E. (2010): Effects of rhizobium strain isolated from wild chickpeas on the growth and symbiotic performance of chickpeas (*Cicer arietinum* L) under salt stress. *Turk. J. Agric. For.*, 34: 361-371.
- Instituto de Suelos (2000): Nueva clasificación genética de los suelos de Cuba. AGRINFOR, Ministerio de la Agricultura, La Habana, 96pp.

Olivares, P. J. (2008): Fijación biológica de Nitrógeno. Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada.

Shagardsky, T.; M. L. Chiang; M. Cabrera; O. Chaveco, M. R. López; B. Dibut; M. Dueñas; M. Vega y N. Permuy. (2005): Manual de instrucciones técnicas para el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*

L.) en las condiciones de Cuba. INIFAT-MINAG, Holguín, 20 pp.

Sprent, J.I. (2007): Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation. *New. Phytol.* 174, 11-25.

Fecha recibido: 12 de noviembre de 2014.

Fecha aceptado: 13 de febrero de 2015.