

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOFERTILIZANTES COMO ALTERNATIVA VIABLE PARA LA PRODUCCION DE MARGULLOS EN ESPECIES FRUTALES Y ORNAMENTALES.

Marisel Ortega García, Ignacio Caraballo Barreto, Yoania Rios Rocafull, Bernardo Dibut Álvarez, Ulises Socas Estrada y Grisel Tejeda González.

RESUMEN

En el trabajo se muestran por primera vez los resultados obtenidos para la producción de margullos con el uso de un biofertilizante bacteriano a base de *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megatherium*, lo cual es similar a la aplicación del BAIFOLAM Forte, producto importado que se utiliza como estimulador y enraizador de plantas. Para el crecimiento de los microorganismos se utilizó una zaranda rotatoria a 200 r.p.m agitación y a 32^o C de temperatura, en medio de cultivo DIMARGON-M, mediante fermentación sumergida la que alcanzó una concentración final de 10¹³. UFC.ml⁻¹. El objetivo del presente trabajo fue demostrar la incidencia que ejerce la aplicación del biofertilizante en margullos de cultivos frutales tales como limón criollo (*Citrus aurantifolia* Swingle var. *mexicana*), naranja agria (*Citrus aurantium*) y guayaba (*Psidium guajaba*, Lin). y de plantas ornamentales como *Phicus golden King* y *Schefflera actinophilla*. El biofertilizante utilizado produce cambios vía xilema que son metabolizados por el floema, por lo que los microorganismos pueden expresar un marcado efecto estimulador en el desarrollo de las raíces. El trabajo tiene efecto económico ya que permite sustituir el BAIFOLAM Forte que tiene un costo 4,73 veces mayor que con la utilización de este biofertilizante de producción nacional. También permite realizar modificaciones factibles a la tecnología de margullos con mayor enfoque ecológico.

Palabras clave: concentración, efecto, ecológico.

Effect of the application de biofertilizantes like feasible alternative in the production de margulies in fruit-bearing and ornamental species.

ABSTRACT

In the work the results are shown obtained for the first time with the use of the bacterial biofertilizante with the help of *Azotobacter chroococcum* and *Bacillus megatherium*, compared with the application of the BAIFOLAM Forte cared product that it is used as stimulated and enraizer of plants. For the growth of the microorganisms a rotational shaker was used 200 r.p.m agitation and 32^o C of temperature, amid cultivation DIMARGON-M, by means of submerged fermentation the one that reached a final concentration of 10¹³. UFC.ml⁻¹. The objective of the present work was to demonstrate the incidence that exercises the application of the biofertilizante in Margulies of such fruit-bearing cultivations as creole lemon (*Citrus aurantifolia* Swingle var. Mexican), sour orange (*Citrus aurantium*) and guava (*Psidium guajaba*, Lin). and of ornamental plants *Phicus golden King* and *Schefflera actinophilla*. The used biofertilizante produces changes via xilem that are metabolized by the floem, for what the microorganisms cause they can express a marked stimulated effect in the development of the roots. The work has economic effect since it allows to substitute the BAIFOLAM Forte that has a cost 4.73

Ing. Marisel Ortega García, especialista del Departamento de Recursos microbianos del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). Calle 188 #38754 e/ 397 y Linderos, Boyeros. La Habana. Cuba. E-mail: biofersuelos@inifat.co.cu.

times adult that with the use of this production biofertilizante national. Always allows carrying out feasible modifications to the Margulies technology with more ecological focus.

Key words: concentration, effect, ecological.

INTRODUCCIÓN

La reproducción por margullo es una técnica antigua practicada por los agricultores, la misma tiene bajo costo de producción y es de fácil aplicación. En el presente trabajo se retoma esta alternativa, orientada fundamentalmente a agilizar el tiempo de multiplicación de las plantas y a su vez, evaluar la repuesta de los cultivos como vía directa para mejorar su nutrición. Este sistema permite duplicar plantas de una manera tradicional, sin restar importancia a otros tipos más avanzados como los métodos biotecnológicos “*in vitro*” (Sasson, 2000).

El margullo es un artificio que se utiliza para “plantar” una rama, generar en ella raíces, y sin ser separada de la planta soporte, le permite mantenerse viva y alimentada por el tiempo que sea necesario hasta la emisión de nuevas raíces. Esto conlleva a que se produzca cambios en la estimulación vía xilema y que se metabolizan por el floema, lo que se conoce en esta rama como zona de cambios (Cañizares, 1996).

En la actualidad existe una creciente demanda en la agricultura sobre métodos de propagación de plantas por vía agámica, particularmente utilizando técnicas como el margullo, ya que la misma propicia la emisión de raíces adventicias y la formación de callos, los que inciden positivamente en la sustento de las plantas.

Otras referencias de trabajos de este tipo demuestran la potencialidad de utilizar biofertilizantes mixtos a base de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo como estimuladoras del crecimiento y

enraizamiento de plantas ornamentales (Ortega, 2009) y para la obtención de callos con características embriogénicas (Hidrobo, 2009). En este caso con bacterias pertenecientes al género *Azotobacter*, ya que las mismas entre sus características principales poseen que son estimuladoras del crecimiento por producir auxinas las que posibilitan el desarrollo de la planta (Martínez y Dibut, 2012), razón por la cual el objetivo de este trabajo fue demostrar la incidencia que ejerce la aplicación del biofertilizante a base de *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megatherium* mediante la técnica del margullo en cultivos de frutales y plantas ornamentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó durante el período comprendido entre los años 2010-2012, en áreas de la finca “Coraje de América” ubicada en Calabazar en el municipio Boyeros, perteneciente a la provincia La Habana. En la misma se desarrollaron experimentos mediante diseño de bloques al azar, con 10 plantas por tratamiento. Se utilizaron especies frutales como limón criollo (*Citrus aurantifolia*, Swingle var. *Mexicana*), naranja agria (*Citrus aurantium*) y guayaba (*Psidium guajaba*, Lin.) y plantas ornamentales como *Phicus golden King* y *Schefflera actinophilla*, todos pertenecientes a dicha finca.

Se seleccionaron tres tratamientos los que se describen en la Tabla 1, en todos los casos con una base de poliespuma mezclada con 2 Kg materia orgánica para propiciar el crecimiento de los microorganismos y la aplicación del BAYFOLAN Forte. En el trabajo se realizaron evaluaciones basadas fundamentalmente en el

sistema radical de las plantas, sin dejar de enfatizar en el papel que juegan en la nutrición estos productos para la mejora de los cultivos. Para ello, se evaluó la capacidad de enraizamiento de los margullos en los diferentes sustratos en frutales y plantas ornamentales a los 30, 60 y 90 días, definiendo la emisión de raíces cualitativamente como abundante, poca y ninguna.

El producto se obtuvo por el crecimiento de los microorganismos (*Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megatherium*) en condiciones de zaranda rotatoria a 200 r.p.m. de agitación y a 32⁰ C de temperatura, durante un tiempo de fermentación sumergida de 48 horas. Se utilizó para el mismo medio de cultivo DIMARGON-M (Dibut *et al.*, 2003) donde se alcanzaron concentraciones microbianas del orden 10¹³ UFC.mL⁻¹ como producto final.

Tabla 1. Tratamientos utilizados para el estudio.

A	Testigo (sin inocular).
B	Biofertilizante mixto a base de <i>Azotobacter chroococcum</i> y <i>Bacillus megatherium</i> (5ml.kg ⁻¹ de sustrato)
C	Bayfolan Forte (5ml.Kg ⁻¹ de sustrato), fertilizante químico foliar quelatado, estimulador del crecimiento y el enraizamiento de importación.

Para conocer la presencia de algunos grupos de microorganismos en el sustrato de los diferentes margullos se cuantificaron los fijadores de nitrógeno atmosférico, solubilizadores de fósforo, hongos y microorganismos totales. Se utilizó para esto el método de Diluciones Seriadas según (Madigan *et al.*, 2012). Para este fin se colectaron 10 g de sustrato los que se suspendieron en 100 ml de agua destilada estéril. La solución que se obtuvo se inoculó sobre placas Petri de 9 cm con los medios Agar Nutriente (BIOCEN, 2011), Pikovskaya y Asbhy (Martínez *et al.*, 2007), las que se incubaron a 32° C de temperatura, durante 48 horas para realizar el conteo de las colonias típicas dado en Unidades Formadoras de Colonias por gramo de suelo (UFC.g⁻¹) según el medio de cultivo utilizado.

El procesamiento estadístico se realizó mediante prueba Duncan a partir de un ANOVA al 5% de significación, con el empleo del programa STAT-ICTF 4.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se observa el efecto que ejerce sobre los margullos de frutales y plantas ornamentales los tratamientos con la utilización del biofertilizante y el Baifolam Forte. En todos los cultivos se observa que presentan una respuesta favorable a los 60 días, cuando son aplicados con el biofertilizante, tendencia que se mantiene a los 90 días de estudio tanto para el mismo tratamiento como para el que contiene BAYFOLAM Forte, solamente difiere en todos los casos en el tratamiento utilizado como testigo absoluto, ya que solamente presenta una muy escasa producción de raíces a los 90 días de estudio.

La coinoculación realizada al sustrato con el biofertilizantes origina incrementos principalmente en la dimensión del sistema radicular, dados en mayor medida por el efecto del solubilizador de fósforo.

Tabla 2. Capacidad de enraizamiento de los margullos en los diferentes sustratos en frutales y plantas ornamentales.

		Edad del margullo								
		35 días			60 días			90 días		
	Tratamientos	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Cultivos	Limón criollo <i>Citrus aurantifolia</i> , Swingle var. <i>mexicana</i>	N	N	N	N	A	P	P	A	A
	Naranja agria <i>Citrus aurantium</i>	N	N	N	N	A	P	P	A	A
	Guayaba <i>Psidium guajaba</i> , Lin.	N	N	N	N	A	N	P	A	A
	<i>Phicus golden King</i>	N	N	N	N	A	P	P	A	A
	<i>Schefflera actinophilla</i>	N	N	N	N	A	P	P	A	A

Legenda: A. Abundante P. Poca N. Ninguna

El solubilizador es el encargado de potenciar el desarrollo de raíces, efecto que puede estar dado por la producción de sustancias fisiológicamente activas como el ácido indol acético (AIA) y a su vez por otros mecanismos biológicos que intervienen en este proceso (Nakagawa, 2011).

Entre los diferentes tipos de microorganismos algunos de ellos son los encargados de proveer de fuentes de energía a las raíces y proporcionar nutrientes minerales procedentes tanto del suelo como de metabolitos que se generan gracias a su propia actividad. Es así el caso de las fitohormonas que son secretadas por algunos microorganismos rizosféricos transformándolas en exudados radicales de bajo peso molecular.

Las bacterias del tipo rizosféricas también pueden contribuir con el aporte de nutrientes como el fósforo, potasio y nitrógeno a las plantas. Por otra parte los microorganismos asociados a las plantas le confieren mayor resistencia a la sequía y permiten mayor superficie de absorción de agua y minerales (Hayashi et al., 2012).

De igual manera la enzima fosfatasa juega un importante papel, ya que es la encargada

descomponer los fosfatos orgánicos, lo que se puede utilizar como estrategia para la mejora de la nutrición y estimulación de diferentes cultivos (Biu, et al., 2009). La capacidad de solubilizar de P se atribuye a la liberación de ácidos orgánicos, donde los más comunes son el ácido cítrico, oxálico y glucónico. Estos productos disminuirían el pH del medio, lo cual se traduciría en aumentos en la cantidad de P solubilizado. Sin embargo, también existen bacterias que no producen ácidos orgánicos y que tienen la capacidad de solubilizar P, por lo tanto, en estos casos la producción de ácidos orgánicos no es el único factor responsable de la solubilización. Sí bien, se reconoce la importancia de estos mecanismos, existe poca información, de su impacto en la solubilización propia del P en el suelo, aunque, indirectamente hay estudios que muestran respuestas positivas de cultivos en cuanto a su rendimiento y nutrición fosforada cuando han sido inoculados con bacterias del suelo (Malusa et al., 2007).

Dentro de la gran diversidad y complejidad de los microorganismos microbianos del suelo, existen múltiples campos de investigación, en especial en la zona rizosférica y los microorganismos que en ella interaccionan, con consecuencias favorables o

desfavorables para el desarrollo de los cultivos. Las investigaciones en este campo pretenden mejorar el desarrollo y crecimiento vegetal, lo que conllevaría a incrementos en la productividad agrícola a partir de aquellos microorganismos que presentan los mecanismos y capacidades requeridas para este fin (Wagg *et al.*, 2011).

El sistema de raíces permite a las plantas absorber los nutrientes y anclarse al sustrato, sin embargo estas capacidades dependen en gran medida de su arquitectura. Es conocido que las auxinas y el etileno son reguladores que modulan el crecimiento de la raíz y modifican su diseño, incluyendo el desarrollo de la raíz primaria y la formación y elongación de los pelos radicales. Otros avances de la ciencia permiten a la biotecnología esclarecer las funciones fitorreguladoras que tienen varios compuestos (como lipoquitos-oligosacáridos), y el papel que juegan en la movilización de nutrientes (Smith, 2011).

La promoción del crecimiento vegetal que se conoce aporta ciertos microorganismos asociados a las raíces de las plantas, se ha relacionado a la producción de sustancias que modifican la morfogénesis de la raíz, también denominados "fitoestimuladores". Otros autores refieren haber encontrado correlaciones positivas entre la producción de auxinas y la capacidad de las BPCV para impactar el crecimiento de las plantas. Aunque existe mayor consenso en que la producción de auxinas es el factor con mayor efecto en la estimulación del desarrollo radicular y el crecimiento vegetal en general, causado por el efecto de los microorganismos (Garbeva *et al.*, 2008).

En la Figura 1 se observa al igual que en el efecto provocado al enraizamiento de las plantas estudiadas, existe una correspondencia con el diámetro del tallo lo que le confiere a las plantas mayor fortaleza para sostener flores y frutos y se traduce en incrementos en sus rendimientos.

Resulta importante destacar que todas las especies estudiadas tuvieron el mismo comportamiento, lo que indica la efectividad del biofertilizante utilizado. Estos resultados se corresponden con los referidos por Ortega, 2009, ya que como se pudo observar en la Tabla 2 existe una excelente respuesta de los cultivos al tratamiento con el biofertilizante, provocando emisión de raíces a los 60 días lo que permite acortar el ciclo y desarrollo del cultivo, y garantizar la viabilidad del margullo.

Resulta importante destacar que todas las especies estudiadas tuvieron el mismo comportamiento, lo que indica la efectividad del biofertilizante utilizado. Estos resultados se corresponden con los referidos por Ortega, 2009, ya que como se pudo observar en la Tabla 2 existe una excelente respuesta de los cultivos al tratamiento con el biofertilizante, provocando emisión de raíces a los 60 días lo que permite acortar el ciclo y desarrollo del cultivo, y garantizar la viabilidad del margullo.

Para corroborar que el efecto se encuentra en correspondencia con los resultados obtenidos, se realizó un conteo de diferentes grupos microbianos presentes en el sustrato, para cuantificar la existencia de los mismos en estas condiciones. En la Figura 2 se presentan los resultados comparativos de los tres tratamientos utilizados.

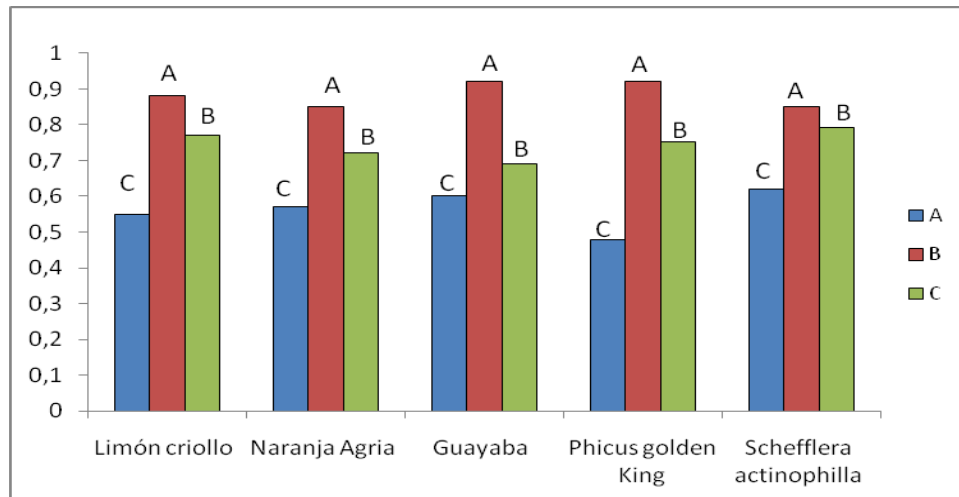


Figura 1. Variaciones en el diámetro del tallo por el efecto de los tratamientos en las cinco especies estudiadas. (**Leyenda:** A Testigo (sin inocular), B Biofertilizante mixto *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megatherium* y C Bayfolan Forte).

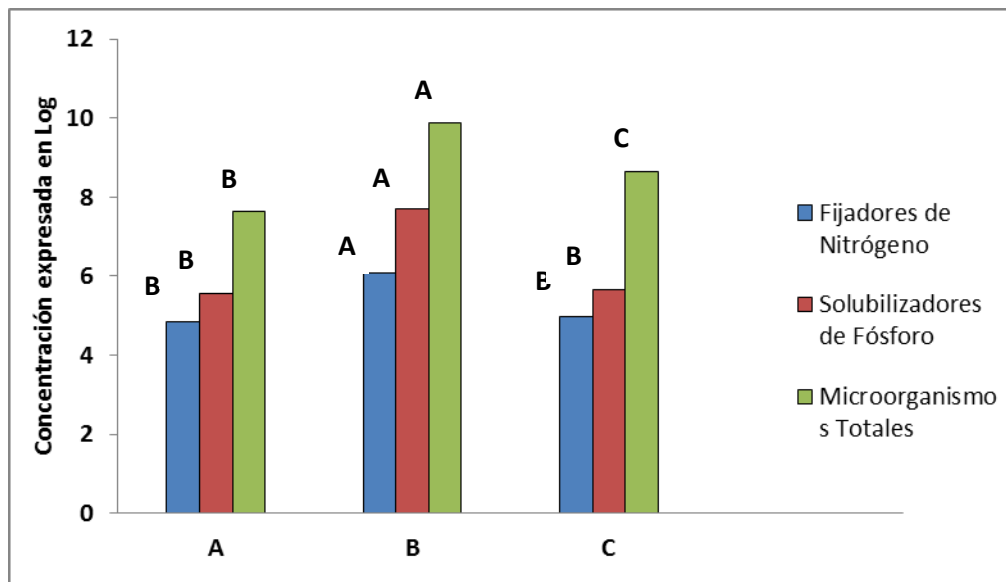


Figura 2. Concentración de grupos expresada en Log.UFC⁻¹ por gramo de suelo. (**Leyenda:** A Testigo (sin inocular), B Biofertilizante mixto *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megatherium* y C Bayfolan Forte).

Como principal resultado se observó que existe un predominio de los principales grupos estudiados en el tratamiento inoculado con el biofertilizante. Para los tratamientos testigo y aplicado con Bayfolan Forte, los microorganismos en todos los casos muestran valores inferiores al inoculado, lo

que indica que el efecto se debe en primera instancia a la acción del producto estimulador. En tratamiento B que se corresponde con el biofertilizante este estudio revela sin dudas que la acción específica de los microorganismos es la encargada de la abundante emisión de raíces.

El resultado de este tipo de asimilación de nutrientes, se adquiere por la planta a través de la translocación que se produce vía xilema o floema, lo que permite su movilidad para cualquier parte que lo esté demandando. La acción fisiológica puede ejercerla en el sitio donde se origine la síntesis o lejos de la misma y a su vez puede ser utilizada como biorregulador ya que se puede dirigir la aplicación al objetivo específico deseado (Inaba *et al.*, 2012).

Los microorganismos contribuyen produciendo alteraciones químicas a los materiales constitutivos del suelo, por lo que la reducción del componente biótico edáfico minimiza la capacidad del suelo de proveerse de nutrientes a partir de sus propios depósitos (Rinaudi y Giordano, 2010.).

Se observa en todos los casos inoculados con el biofertilizante, que además del efecto como enraizador, favorable a las plantas después de montado el margullo, también se observa mayor perpetuidad en la floración e intensidad en el color de flores y hojas en las plantas con margullos inoculados.

CONCLUSIONES

- La reproducción por margullo con la incorporación del biofertilizante a base de *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megatherium*, resulta muy efectiva, ya que garantiza el enraizamiento adecuado para realizar el proceso de trasplante a los 60 días para todos los cultivos estudiados.
- Se obtiene mayor vigorosidad de las plantas y perpetuidad de la etapa de floración.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BIOCEN. Manual de Medios de Cultivo. La Habana. Centro Nacional de Biopreparados. BIOCEN, 2011.

Biu, H; Hsiung, E.H, Kwok, T.H and Ting, W, H Microorganisms, microbial phosphate fertilizers

and methods for preparing such microbial phosphate fertilizers. Patente No WO2009070966 (A1), 2009.

Cañizares Zayas J La propagación de las plantas por vía agámica, Segunda Edición Revisada en la Habana. 129 pp, 1996.

Dibut, B., Martínez. R., Ríos. Y y Ortega, M. DIMARGON-M, nueva variante nutritiva para la producción de biofertilizantes y bioestimuladores a base de *Azotobacter*. En: Resúmenes del V Encuentro de Agricultura Orgánica, La Habana, 36pp, 2003.

Dominic M. E y Benítez B Uso de biopreparados como promotores de enraizamiento en margullos ficus (*Ficus benjamina*). Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal Scientific Information System. Cultivos Tropicales. Volumen 25, número 3, 48 49 pp, 2004.

Hayashi M, Saeki Y, Haga M, Harada K, Kouchi H, Umehara Y. *R j(r)* gene involved in nitrogen-fixing root nodule formation in soybean. *Breed. Sci.* **61**:544–553. 2012,

Hidrobo Luna J.R. Utilización del *Azotobacter* en la callogénesis del Maíz (*Zea mayz* L.). En Memorias de de XXIV Reunión Latinoamericana de Rhizobiología (XXIV RELAR) y I Conferencia Iberoamericana de Interacciones Beneficiosas Microorganismos Planta Ambiente (I IBEMPA) La Habana, 158pp, 2009.

Garbeva, P, van Elsas. J.D and J.A van Veen. Rhizosphere microbial community and response to plant species and Soil History. *Plant Soil* **302**: 19-32, 2008.

Inaba S, Ikenishi F, Itakura M, Kikuchi M, Eda S, Chiba N, Katsumata C, Suwa Y, Mitsui H, Minamisawa K. N₂O emission from degraded soybean nodules depends on denitrification by *Bradyrhizobium japonicum* and other microbes in the rhizosphere. *Microbes Environ.* **27**:470–476, 2012.

- Madigan, M., J. Martinco., D. Stahl y Clarck, D. Brock Biology of Microorganisms. Thirteenth Edition. ISBN 13: 978-8-321-64963-8. 1155 pp, 2012.
- Malusa, E.; Sas-Paszt, I.; Popinska, W.; Zurawicz, E. The Effect of a Substrate Containing ArbuscularMycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms (*Trichoderma*, *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Streptomyces*) and foliar fertilization on growth response and rhizosphere pH of three strawberry cultivars. Internal J. Fruit Sci. 6(4):25-41, 2007.
- Martínez, R., López. M., Dibut, B., Parra, C y Rodríguez, J. La fijación biológica de nitrógeno atmosférico en condiciones tropicales. Venezuela. MPPAT. 172 pp, 2007.
- Martínez, R y Dibut, B. Biofertilizantes Bacterianos. Editorial Científico-Técnica. Instituto Cubano del Libro. ISBN 978-959-05-0659-8. 279 pp. Universidad Agraria de la Habana. La Habana, Cuba, 2012.
- Nakagawa T. From defense to symbiosis: Limited alterations in the kinase domain of LysM receptor-like kinases are crucial for evolution of legume–Rhizobiumsymbiosis. Plant J 65(2):169–180, 2011.
- Ortega García. M. Efecto del biopreparado Multipropósito AZOMEG en el cultivo de la rosa. En Memorias de XXIV Reunión Latinoamericana de Rhizobiología (XXIV RELAR) y I Conferencia Iberoamericana de Interacciones Beneficiosas Microorganismos Planta Ambiente (I IBEMPA) La Habana, 222pp, 2009.
- Rinaudi, L. V., and Giordano, W. Anintegratedview of biofilm formationin rhizobia. FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol. Lett.304:1-11, 2010.
- Sasson, A. La contribución de las biotecnologías a la alimentación. Biotecnología Aplicada. Vol. 17, No. 1: 2-6, 2000.
- Smith SE, Smith FA. Roles of in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. Annu Rev Plant Biol 62: 227–250, 2011.
- Wagg C, Jansa J, Stadler M, Schmid B, van der Heijden MGA. Mycorrhizal fungal identity and diversity relaxes plant-plant competition. Ecology 92: 1303–1313, 2011.

Fecha de recepción: 12 de junio 2017

Fecha de aprobación: 6 octubre 2017

Agrotecnia de Cuba
ISSN impresa: 0568-3114
ISSN digital: 2414- 4673
<http://www.ausuc.co.cu>

