

EFECTO DE LA APLICACIÓN COMBINADA DE *MESORHIZOBIUM* SP. Y *BACILLUS MEGATHERIUM* EN EL CULTIVO DEL GARBANZO (*CICER ARIETINUM* .L)

Marisel Ortega García¹, Tomás Shagarodsky Scull¹, Bernardo Dibut Álvarez¹ Yoania Ríos Rocafull¹, Ulises Socas Estrada¹ y Danél Cordobés Torres Gómez de Cádiz²

RESUMEN

En el presente trabajo se evalúa la posibilidad de perfeccionar el paquete tecnológico existente hasta hoy para el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). A su vez se realizan nuevos aportes en materia de biofertilización que evidencien la posibilidad de combinar microorganismos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo. Se exponen los resultados obtenidos utilizando una nueva alternativa de nutrición, mediante la inoculación combinada con cepas de *Mesorhizobium* spp. y *Bacillus megatherium*, pertenecientes a la Colección de Bacterias del INIFAT. Las mismas fueron crecidas en una zaranda rotatoria a 200 r.p.m. de agitación y a 32°C de temperatura. Se utilizó un proceso de fermentación sumergida sobre los medios de cultivo YMA y Caldo de Nutriente respectivamente. La concentración final fue de 10¹⁰ y 10¹¹ UFC.mL⁻¹, para cada uno de ellos. El empleo de ambos microorganismos provocó un efecto estimulador sobre el rendimiento de la variedad Nacional-29, superior al 42 %, con relación a las plantas no tratadas y de 15 % si se compara con el producto a base solo de la bacteria fijadora de nitrógeno.

Palabras claves: alternativa de nutrición, biofertilización, microorganismos

Effect in chickpea (*Cicer arietinum* L.) of *Mesorhizobium* sp and *Bacillus megatherium* combine application

ABSTRACT

This work evaluates the possibility to perfect the actual technology package of chickpea (*Cicer arietinum* L.). At the same time its make a new contribution in biofertilizer topic that shows the possibility to combine nitrogen fixing microorganism and also bacteria with potential for phosphorus solubilization. It was exposed the result obtain using a new nutrition alternative by combine inoculation with *Mesorhizobium* sp and *Bacillus megatherium* strains belong to INIFAT Bacteria Collection. They were growth in rotator shaker with 200 r.p.m of agitation and 32 °C of temperature. Was used the submerged fermentation process over YMA and Nutrient

Ing. Marisel Ortega García, Especialista del Grupo de Agrobiotecnología del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” INIFAT

²Universidad Agraria de La Habana” Fructuoso Rodríguez Pérez” Dpto. Economía Agropecuaria

✉ biofersuelos@inifat.co.cu

Broth medium. The final concentration was 10^{10} and 10^{11} UFC.mL⁻¹ for each one of microorganism. The application of both of them provokes a stimulator effect over Nacional-29 variety. The yield was higher than 42 % respect to no inoculated plants and it was higher than 15 % if was compared to nitrogen fixing bioproduct.

Key words: nutrition alternatives, biofertilization, microorganism

INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum*. L) se encuentra entre una de las leguminosas más cultivadas y consumidas a nivel mundial. En Cuba se ha incrementado significativamente la explotación de este cultivar, desde que se iniciaron investigaciones en la década de los años 90, ya que existían escasos estudios sobre inoculaciones mixtas a base de microorganismos. Mayoritariamente los resultados hasta ese momento eran en condiciones de screening y muy poco en producción (Albretch *et al.*, 2011). No obstante, ya se mostraba por algunos investigadores como Subba Rao (1996) los beneficios de estas asociaciones, fundamentalmente entre bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras del fósforo del suelo.

El incremento del rendimiento de las leguminosas viene dado fundamentalmente por la necesidad de fósforo para lograr una fijación eficiente de nitrógeno, por lo que estas combinaciones muestran aumentos superiores a los alcanzados con inoculantes de solo un propósito (Olivares, 2008). Continuar avanzando en los estudios de selección de cepas de *Mesorhizobium spp.* fijadoras de nitrógeno y la incorporación de microorganismos solubilizadores de fósforo del suelo fusionando ambos efectos, lograría perfeccionar el paquete tecnológico establecido hasta el momento en cuanto a biofertilización, con vistas a mejorar los rendimientos y la calidad de la semilla obtenida (Shagarodsky *et al.*, 2005).

El beneficio que se ejerce sobre la rizosfera, zona de suelo que rodea el sistema radical de las plantas, con microorganismos permite reemplazar en gran medida la aplicación de fertilizantes sintéticos. A este fenómeno se le conoce como biofertilización, unida a sus usos para el saneamiento del ambiente o protección de las plantas en sentido general. De hecho hay microorganismos capaces de favorecer la nutrición de las plantas nunca al cien por ciento de la fertilización

habitual, por lo establecer un uso adecuado de ambos métodos propiciara que se logre llegar a alcanzar los máximos rendimientos con el consumo mínimo fertilizante mineral.

En este trabajo se propone como alternativa la coinoculación de *Mesorhizobium spp* y *Bacillus megatherium var posphaticum* en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*. L), ya que existen estudios que demuestran la posibilidad de aplicar rizobios con otros microorganismos con potencial biofertilizante y exponen los beneficios que aportan las inoculaciones combinadas como por ejemplo *Azospirillum sp*, *Azotobacter chroococcum*, *Mesorhizobium ciceri*, *Bacillus megatherium var phosphaticum*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* que incrementan la nodulación, la acumulación de materia seca en las raíces, el rendimiento en grano y la biomasa del cultivo (Kantar *et al.*, 2007). Para este fin se utilizó la variedad Nacional-29 por su alto poder de adaptabilidad a la inestabilidad de nuestras condiciones edafoclimáticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó durante el período comprendido entre los años 2009-2011, en áreas de la Empresa Agropecuaria Ministerio del Interior “Granja Pulido”, ubicada en el municipio Alquizar, perteneciente a la provincia Artemisa. La misma presenta un suelo Ferralítico Rojo (Instituto de Suelos, 2000). Los experimentos de campo se montaron sobre un diseño de Bloques al Azar con un tamaño de parcela de 25 m², cinco surcos y cuatro replicas. Para los ensayos se empleó la variedad comercial Nacional-29, procedente del Banco de Germoplasma del INIFAT (Shagarodsky *et al.*, 2005).

El producto aplicado se obtuvo a partir de la reproducción de las cepas R-3 de *Mesorhizobium spp* y B-3 de *Bacillus megatherium var phosphaticum* conservados

en medio agarizado de 4-6°C de temperatura en la Colección de Bacterias Beneficiosas del INIFAT. Las condiciones de fermentación se establecieron en zaranda rotatoria a 200 r.p.m. de agitación y a 32°C de temperatura, durante un tiempo de fermentación sumergida de 48 horas. Se utilizaron los medios YMA y Caldo Nutriente (Martínez *et al.*, 2006), donde se alcanzaron concentraciones microbianas del orden de 10^{10} y 10^{11} UFC.mL⁻¹, respectivamente.

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

Mesorhizobium spp.

Bacillus megatherium.

Mesorhizobium spp + *Bacillus megatherium* + Materia Orgánica.

Mesorhizobium spp + *Bacillus megatherium* + Fertilizante.

Mesorhizobium spp + *Bacillus megatherium* + Materia Orgánica + Fertilizante.

Para el estudio de crecimiento y desarrollo del cultivo se evaluaron las variables altura de las plantas (cm), número de ramas primarias y secundarias, peso de las

plantas (g) y peso de los nódulos (g). En el caso de la evaluación del rendimiento potencial se tuvo en cuenta el rendimiento de vainas/planta (g), rendimiento/planta (g) y el rendimiento expresado en Kg/ha.

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

Todas las labores culturales utilizadas fueron las recomendadas para este cultivo en las condiciones del país y de fertilizante NPK a una dosis de 30 kg N.ha⁻¹, según pauta el Instructivo Técnico (Shagardsky *et al.*, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La coinoculación de *Mesorhizobium* spp y *Bacillus megatherium* var *posphaticum* resultó efectiva, ya que sólo presentan nodulación aquellos tratamientos donde se incorporó el primer microorganismo (Tabla 1). La carencia de nódulos en las plantas sin tratar puede deberse a la especificidad de esta especie varietal con su microsimbionte (Graham, 2007).

Tabla 1. Respuesta del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*. L) var. Nacional- 29 a diferentes tratamientos de biofertilización

Tratamientos	Peso Nódulos (g)	Altura planta (cm)	Número de Ramas		Peso de las plantas (g)
			Primarias	Secundarias	
Testigo	0	57 ab	1,72 e	8,42 f	89,4 f
<i>Mesorhizobium</i> spp	9,7 c	55 c	2,54 c	15,7 d	123,8 d
<i>B. megatherium</i>	0	56,2 bc	2,23 d	13,6 e	99,84 e
<i>Mesorhizobium</i> spp + <i>B. Megatherium</i> + M, orgánica	11,8 a	55,9 bc	2,67 bc	17,2 c	136,9 c
<i>Mesorhizobium</i> spp + <i>B. megatherium</i> + Fertil	10,2 b	57,2 ab	2,73 ab	18,8 b	138,9 b
<i>Mesorhizobium</i> spp + <i>B. Megatherium</i> M,O + Fertil	12,2 a	57,4 a	2,84 a	19,4 a	142,8 a
Esx	0,09	0,379	0,04	0,17	0,436
Cv	0,85	0,67	1,72	1,09	0,36

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0,05$

La coinoculación en estos casos está descrito que produce incrementos en el volumen del cultivo. El efecto puede estar dado fundamentalmente por la enzima fosfatasa, ya que la misma es la encargada de la descomposición de los fosfatos orgánicos, por lo que su consecuencia en condiciones agrícolas aumenta considerablemente las producciones y los indicadores fundamentales para cuantificar crecimiento y desarrollo. Este resultado se debe al papel que ejercen tanto las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico como las solubilizadoras del fósforo insoluble, presentes en el suelo y que sin dudas influyen considerablemente en la nutrición de los cultivos (Biu *et al.*, 2009). Entre las potencialidades de los microorganismos se encuentran que excretan diferentes tipos de ácidos orgánicos y carboxílicos, los que influyen en el pH de la zona rizosférica y de esta manera contribuyen a su desarrollo de una forma mucho más beneficiosa (Ahlawat, 2007).

Kundu y Gaur (1984) demostraron en la India importantes incrementos del rendimiento en viandas y gramíneas con inoculaciones mixtas de *Azotobacter chroococcum* y diferentes bacterias solubilizadoras del fósforo; estos incrementos fueron superiores en comparación a los logrados con la inoculación separada de las mismas (Aftab, 2008). De ahí la necesidad de siempre que las condiciones lo permitan buscar biofertilizantes mixtos con un mayor espectro de acción sobre los cultivos y que incluyan microorganismos

con simbiosis con leguminosas. Dichas plantas tienen un efecto en la fertilización del suelo, ya que son capaces de beneficiar la siguiente cosecha. Existen estimaciones recientes que indican que contribuyen a la mitad del nitrógeno fijado por sistemas biológicos y sus aportes anuales superan a los fertilizantes químicos (Biu *et al.*, 2009).

En cuanto a los indicadores evaluados, en el diámetro del tallo se observa una tendencia al aumento en las plantas tratadas (Tabla 2). Las mismas poseen mayor fortaleza en su grosor, igualmente sucede con el número de ramas y peso en general. Esta variedad presenta un grano de mayor tamaño por lo se considera promisoría para su comercialización, sobre otras variedades utilizadas actualmente en producción. También mantiene buena aceptación por parte de los productores, razón por la cual se encuentra, en estos momentos, mucho más extendida en nuestro país, dada su adaptabilidad a nuestras condiciones edafoclimáticas y su superioridad en el potencial agrícola (Shagarodsky *et al.*, 2005).

Es una variedad capaz de expresar su potencial de manera satisfactoria, conjuntamente con la utilización de la biofertilización combinada con tratamientos orgánicos y una adecuada reducción de la fertilización mineral (Shagarodsky *et al.*, 2005), según se observa en los rendimientos alcanzados.

Tabla 2. Rendimientos obtenidos en garbanzo (*Cicer arietinum*. L) variedad Nacional-29 frente a diferentes tratamientos de biofertilización

Tratamientos	Rendimiento vainas / planta (g)	Rendimiento/ planta (g)	Rendimiento (Kg/ha)
Testigo	74,6e	31,48f	1749e
<i>Mesorhizobium</i> spp	115,8c	42d	1990d
<i>B. megatherium</i>	77,5d	38e	1799d
<i>Mesorhizobium</i> spp + <i>B. megatherium</i> + M,O	122,5b	45,8c	2265c
<i>Mesorhizobium</i> spp + <i>B. megatherium</i> + Fertilizante	124,0b	46,9b	2389b
<i>Mesorhizobium</i> spp + <i>B. megatherium</i> + M,O + Fertilizante	126,8a	48,3a	2532 ^a
Esx	0,552	0,233	10,085
Cv	0,52	0,56	0,48

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0,05$

En el caso de las vainas por planta, existe un incremento notable al ser inoculadas las plantas, aunque no presentan diferencias significativas los tratamientos en que se combina la biofertilización con las fertilizaciones orgánica y mineral. Es importante señalar la necesidad de no eliminar totalmente la fertilización mineral en este cultivo, ya que el mismo tiene marcados requerimientos nutricionales (Hatice *et al.*, 2010), sobre todo en la etapa del llenado de vainas, fundamental para la obtención satisfactoria de resultados productivos (Aftab, 2008). De existir una disminución en el manejo adecuado del cultivo, afecta directamente la calidad de la semilla original y básica a obtener (Grube, 2009). Resulta imprescindible adecuar la fertilización mineral a las carencias del suelo donde se pretenda sembrar, para tampoco incurrir en excesos que puedan ser perjudiciales para el cultivo y que resulten innecesarios para su evolución (Biu *et al.*, 2009).

CONCLUSIONES

La inoculación combinada de *Mesorhizobium* spp y *Bacillus megatherium* var *posphaticum*, constituyen una variante factible a utilizar en la biofertilización del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*. L).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aftab A and Bano (2008): Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*), International Journal of Agriculture and Biology. 10: 85-88.
- Ahluwat, I.P.S, B. Gangaiah and A. Zahid (2007): Nutrition Management in Chickpea Chapter 10 In: S. S. Yadav, R.J. Redden, W. Chen and B.Sharma (eds.). Chickpea Breeding and Management. CAB International 2007. p: 213-222.
- 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, 15 p.
- Biu, H; Hsiung, E.H, Kwok, T.H and Ting, W, H (2009): Microorganisms, microbial phosphate fertilizers and methods for preparing such microbial phosphate fertilizers. Patente No WO2009070966 (A1).
- Graham P (2007): Ecology of the root nodule bacteria of legumes. En: Leguminous Nitrogen-Fixing Symbioses (MJ Dilworth, EK James, JI Sprent, WE Newton, eds). 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 versión de la Clasificación Genética de los suelos de Cuba, AGROINFOR, Ed., La Habana, 64 p.
- Kantar F, F. Y. Hafez, B.G. Shivakumar, S. P. Sundaram, N. A. Tejera, A. Aslam, A. Bano and P. Raja. (2007): Chickpea Rhizobium management and Rhizobium fixation Chapter 8 In: S. S. Yadav (ed.) Chickpea Breeding and Management. CAB International p: 179-206.
- Martínez V, R., B. Dibut, G. Tejeda, R. García, J. Rodríguez (2006): Conocimiento general sobre biofertilizantes y bioestimuladores microbianos. Ministerio de Agricultura y Tierras, Caracas, CD.
- 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. Ortega, 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.

Recibido: 12 de noviembre de 2013

Aceptado: 19 de abril de 2014