

Efecto de *Azospirillum brasilense* sobre la cosecha y el desarrollo radical de plantas de caña de azúcar variedad C86-456 obtenidas por cultivo *in vitro*, en condiciones normales y bajo sobrehumedecimiento del suelo

Sergio Rodríguez Rodríguez *¹, Robin Triana ², Jorge Romero Ferrer ³, Wilfredo Olivera Muñiz ⁴, Jorge Pérez Pérez ¹, Irene Expósito Elizagaray ¹, Addegunde González Rivas ¹, Yaritza Pérez Reyes⁵, Gabriel López Matos⁶, Sandra López Álvares ¹, Zoila Loddo Vega ⁶, Adriano Cabrera R. ⁷, Abilio Castillo García ¹ * Autor para correspondencia.

¹ Universidad de Granma. Carretera vía Manzanillo, km 17. Bayamo CP 85 100. Granma. Cuba. srrguez@udg.co.cu

² Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Cuba

³ Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias (CORPOICA). Colombia

⁴ Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Cuba

⁵ Grupo de Extensión y Servicios Agrícolas. MINAZ. Ciego de Ávila. Cuba.

⁶ Grupo de Extensión y Servicios Agrícolas. MINAZ. Granma.

⁷ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. INCA. Cuba.

RESUMEN

Para conocer la influencia que ejerce la bacteria *Azospirillum brasilense* sobre plantas caña de azúcar, variedad C86-456 obtenidas por cultivo *in vitro* en un Vertisol del Valle del Cauto, en condiciones normales y bajo sobrehumedecimiento, se realizó un experimento con un diseño de bloques al azar. Para esto se tomaron las principales variables de cosecha (pol en caña, t. caña.ha⁻¹ y t. pol.ha⁻¹) y el desarrollo alcanzado por el sistema radical en su área más activa en ciclo de caña planta a los doce meses de cultivo. Los mejores resultados de las variables de cosecha y desarrollo del sistema radical, se obtuvieron en los tratamientos donde la bacteria estuvo presente, aunque no significativos en ambas condiciones, evidenciando que el estrés por exceso de agua en el suelo provoca disminuciones del normal desarrollo de la caña de azúcar en general y modifica las bondades que aporta el microorganismo rizosférico.

Palabras clave: biofertilizante, rendimiento, *Saccharum*, sistema radical

ABSTRACT

In order to know the influence of the bacteria *Azospirillum brasilense* on plants of sugar cane, cultivar C86-456, from tissue culture under normal conditions and flooded soil in a Vertisol from El Valle del Cauto, an experiment was carried out using an at random blocks design. The main crop variables (pol in cane, t. caña.ha⁻¹ and t. pol.ha⁻¹) at the twelve months of age were taken, as stump of spring of the year and the development reached by the radical system in its more active area to achieve this experiment. The best results in the crop variables and development of the radical system were obtained it the treatments where the bacteria was present, although non significant under both conditions, evidencing that the stress due to excess of water in the soil affects the normal development of the sugar cane in general by modifying the kindness that the rhizospheric microorganism provides.

Key words: biofertilizer, radical system, *Saccharum*, yield

INTRODUCCIÓN

En la rizosfera de las plantas, se localizan varios tipos de microorganismos, con los cuales las plantas se benefician con dicha asociación, estos son los llamados microorganismos rizosféricos promotores del crecimiento vegetal de las plantas, los que incluyen tanto microorganismos simbióticos como saprófitos de vida libre (Álvarez y Ferrera – Cerrato, 1994).

Los biofertilizantes, son una alternativa para los productores de bajos ingresos, éstos son microorganismos que viven en el suelo y son capaces de incrementar la producción agrícola. Los microorganismos de vida libre fijadores de nitrógeno, se encuentran en suelos con alto contenido de materia orgánica, fijan nitrógeno en menor proporción que los simbióticos, no por ello dejan de ser de interés para la ciencia agrícola (Gutiérrez, 2001).

La micropropagación de plantas es sin dudas la más usada de las aplicaciones del cultivo *in vitro*, su premisa consiste en que las plantas resultantes del proceso sean fenotípica y genotípicamente idénticas a la planta donante. En la caña de azúcar el uso de la micropropagación cobra especial importancia debido a los problemas sanitarios que se presentan durante la producción de semilla mediante los métodos tradicionales; además de los bajos coeficientes de multiplicación de la especie, que impide una rápida propagación de plantas libres de enfermedades (INICA, 2002).

La calidad de las plantas *in vitro* de caña de azúcar es variable, lo que afecta las poblaciones en la fase de aclimatización y en el campo, además de las que se eliminan por selección negativa. Esta problemática puede atenuarse con el empleo de biofertilizantes, lo cual redundaría en un aumento de la precocidad, vigor y rendimiento del cultivo.

El empleo agronómico de la bacteria *Azospirillum* sp., constituye una práctica sustentable que permite mejorar los parámetros de calidad de los plantines en hortalizas y aumenta la precocidad de los mismos (Hadas y Okon, 1987; Correa *et al.*, 2002). Este microorganismo es una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal asociada a plantas que no nodulan y presenta gran potencial como biopreparado, lo que permite reducir entre el 40 y 50% de los fertilizantes químicos, al ser descrito en varios trabajos que la inoculación con esta bacteria en gramíneas de interés alimenticio donde provoca un incremento en sus rendimientos agrícolas (Bashan y Holguín, 1997 citados por Pazos *et al.*, 2002).

Las investigaciones sobre los efectos que provoca el estrés por sobrehumedecimiento en los cultivos agrícolas se acrecienta ya que por un lado plantas como la caña de azúcar muestran tolerancia del tipo varietal y por otro un área considerable de estas plantaciones se desarrolla en suelos proclives a este negativo fenómeno, donde tienen lugar complejos procesos de interacción planta – suelo – microorganismos edáficos. Dado lo anterior el objetivo de este trabajo se relacionó con evaluar el efecto que provoca la bacteria *Azospirillum brasilense* sobre las principales variables de cosecha y el desarrollo radical de plantas de caña de azúcar, variedad C86-456 obtenidas por cultivo *in vitro*, en condiciones normales y bajo sobrehumedecimiento del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido) de la variedad C86-456, obtenidas por cultivo *in vitro* con sus partes aéreas y radicales suficientemente desarrolladas, fueron sumergidas en una suspensión con la presencia de la bacteria *Azospirillum brasilense* (aprox. 1×10^8 ufc.ml⁻¹) y posteriormente fueron plantadas en cajas de polietileno de 120

orificios, cuyo sustrato era una mezcla de suelo y cachaza (50:50). Se atendieron fitotécnicamente hasta su total fortalecimiento para ser llevadas a condiciones de campo después de 45 días.

Sobre un Vertisols se desarrolló el experimento de campo, en áreas del antiguo bloque experimental, de la Empresa Azucarera “Grito de Yara”, de la provincia de Granma, en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas de 48 m² cada una y se incluyeron cuatro tratamientos:

- a) Suelo sin exceso de agua y plantas sin *Azospirillum* (Tratamiento I)
- b) Suelo sin exceso de agua y plantas con *Azospirillum* (Tratamiento II)
- c) Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas sin *Azospirillum* (Tratamiento III)
- d) Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas con *Azospirillum* (Tratamiento IV)

Los tratamientos bajo estrés por sobrehumedecimiento se manejaron después de los noventa días de plantadas, una vez terminado el ahijamiento. Cada diez días se le aplicaba una lámina de agua por gravedad que mantuviera sobrehumedecido el suelo por un período no mayor de tres días, estas parcelas estaban protegidas por un dique para mantener esta condición. La conducción del agua se efectuó por tuberías de un sistema San Cristóbal y se aplicó por gravedad a cada parcela. Este estrés se suspendió tres meses antes de la cosecha, para facilitar esta labor.

Para ambas condiciones durante los primeros noventa días se aplicó riego por gravedad para garantizar la adaptación y supervivencia de las plantas a las condiciones de campo, cada vez que estas lo requerían. A los doce meses de plantadas y como caña planta, se evaluaron el porcentaje de pol en caña por estimación en el Polarímetro, las toneladas de caña por hectárea por pesaje directo en el campo y se estimaron las toneladas de pol por hectárea, por la fórmula:

$$t_{pol}ha^{-1} = \frac{t_{caña} \cdot ha^{-1} \times pol}{100}$$

El muestreo y estudio del sistema radical se realizó unos días antes de la cosecha, tomando en consideración la técnica del monolito, descrita por Kolensnikov (1971). Se consideraron las profundidades de muestreo recomendadas para caña de azúcar por Krautman (1959). Sólo se graficó la profundidad alcanzada por el 70% del sistema radical, considerada la zona más activa.

Estadísticamente los datos se sometieron a las pruebas de normalidad así como se aplicaron las pruebas de Kolmogorov – Smirnov y de Bartlett para la homogeneidad de las varianzas, como premisas

para el empleo del análisis de varianza, no encontrando significación para las variables estudiadas. Se usó un análisis de varianza de clasificación doble y efectos fijos. Como prueba de comparación múltiple de medias se empleó Tukey, con una probabilidad del 0.05%. Con las tres variables de cosecha se hizo uso del Análisis de Conglomerados para conocer la existencia de algún tipo de agrupamiento entre los cuatro tratamientos.

Para para esto se empleó el encadenamiento promedio, de acuerdo con Sokal y Sneath (1993). Se determinó el coeficiente de correlación cofenética y los valores de Distancias Euclídeas promedios entre los tratamientos en una tabla de doble entrada. El umbral de corte en el dendograma se efectuó al 50% de la máxima distancia. Para el procesamiento estadístico de los datos se empleó el Paquete Estadístico MINITAB versión 13.20 del 2000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la concentración de sacarosa (pol) la presencia del microorganismo no tuvo influencia significativa en esta variedad (C86-456), ni en condiciones normales ni en las que el suelo fue sometido a sobrehumedecimiento. Lo mismo pudiera plantearse en relación con las toneladas de caña.ha⁻¹ y las toneladas.pol.ha⁻¹ (Tabla 1). Aunque debe hacerse la salvedad que los mayores valores siempre fueron alcanzados por los tratamientos con la presencia de la bacteria, se resalta además el efecto negativo en aquellos tratamientos donde la presencia del oxígeno era un factor limitante, incluso donde el microorganismo se encontraba presente, lo que hace indicar que aquellos suelos con bajos niveles de oxígeno, son limitantes también para el normal desarrollo de *Azospirillum brasilense*. Sobre el asunto algunos autores han encontrado que este microorganismo puede enriquecer el contenido de nitrógeno de la planta por fijación cuando los niveles

de nitrógeno combinado son bajos y los de oxígeno son óptimos en el suelo (Bothe *et al.*, 1981).

Las diferencias que se observaron, aunque no significativas en relación con la presencia – ausencia de *Azospirillum brasilense*, pueden ser una consecuencia del mayor desarrollo del sistema radical que provoca la presencia de esta bacteria en la rizosfera de las plantas de caña de azúcar, variedad C86-456, reflejado en la figura 1. Este efecto rizosférico de mejora del desarrollo radical de la planta, aumenta por consiguiente la absorción de agua y nutrientes, aminorando los costos de producción por el ahorro de fertilizantes minerales (Saad *et al.*, 1996 y Pazos *et al.*, 1998). Abundando más Tien *et al.* (1979) encontraron que la inoculación en *Pennisetum americanum*, incrementó gradualmente la proliferación de pelos radicales y produjo un significativo incremento en el peso de las raíces sin expresión alguna de la nitrogenasa. Estos autores argumentaron que esta bacteria es capaz de producir giberelina y citoquinina, mientras que Vlassak y Reyders (1977) apuntan que las cepas de *Azospirillum* producen auxinas cuando se les suministra triptófano. Vose (1983) precisa que el mayor efecto de la inoculación es una estimulación hormonal del crecimiento de la raíz, lo que conlleva a una mayor explotación del suelo por las plantas.

El dendograma del análisis de conglomerados (Fig. 2), solamente logró agrupar los tratamientos en relación con la presencia – ausencia de la condición estresante. Un grupo lo integran los tratamientos I y II, donde prevalecieron las condiciones normales y el otro lo componen los tratamientos III y IV, donde predominó el exceso de agua, lo que indica que la disponibilidad de oxígeno en el suelo determina la influencia del microorganismo, ya que no se logró ningún agrupamiento con respecto a la presencia o no de *Azospirillum brasilense*. Con relación a los valores de distancias euclídeas promedios los más distantes fueron los tratamientos II y III, mientras que los más cercanos correspondieron a I y II.

Tabla 1. Efecto de la aplicación de *A. brasilense* sobre las principales variables a la cosecha en plantas de caña de azúcar var. C86-456, obtenidas por cultivo *in vitro*, en dos condiciones de siembra.

Tratamientos	Pol en caña (%)	t.caña.ha ⁻¹	t.pol.ha ⁻¹
I	16.78	50.20 ab	8.40 ab
II	16.68	54.90 a	9.18 a
III	15.65	44.13 b	6.93 c
IV	16.33	44.55 b	7.28 bc
Media ± EE	16.36 ± 0.4512	48.44 ± 1.6090	7.94 ± 0.3245
CV (%)	5.52	6.64	8.17

Medias con letras no comunes en una columna difieren para p<0.05 según la prueba de Tukey.

Tratamiento I: Suelo sin exceso de agua y plantas sin *Azospirillum brasilense*

Tratamiento II: Suelo sin exceso de agua y plantas con *Azospirillum brasilense*

Tratamiento III: Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas sin *Azospirillum brasilense*

Tratamiento IV: Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas con *Azospirillum brasilense*

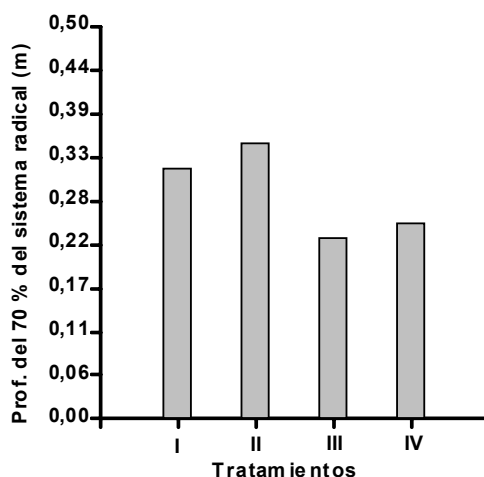


Figura 1: Profundidad alcanzada por el 70% del sistema radical de las plantas en los tratamientos evaluados.

- I: Suelo sin exceso de agua y plantas sin *Azospirillum*,
 II: Suelo sin exceso de agua y plantas con *Azospirillum*,
 III: Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas sin *Azospirillum*,
 IV: Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas con *Azospirillum*.

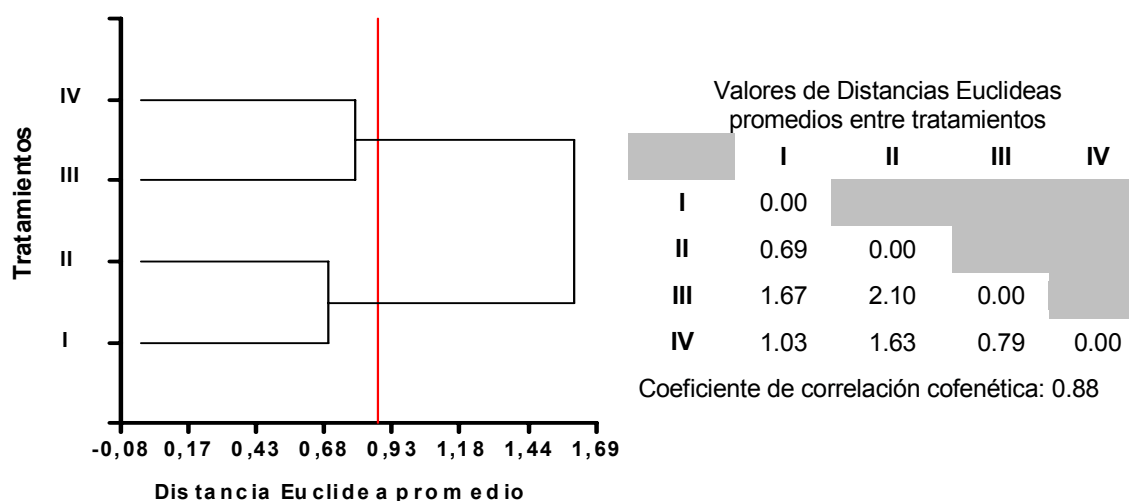


Figura 2: Dendrograma del análisis de conglomerados de los tratamientos por distancia euclidiana promedio, con sus respectivos valores.

- Tratamiento I: Suelo sin exceso de agua y plantas sin *Azospirillum*
 Tratamiento II: Suelo sin exceso de agua y plantas con *Azospirillum*
 Tratamiento III: Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas sin *Azospirillum*
 Tratamiento IV: Suelo bajo estrés por sobrehumedecimiento y plantas con *Azospirillum*

CONCLUSIONES

Aunque los mayores valores con relación a las variables pol, t.caña.ha⁻¹ y t. pol.ha⁻¹, fueron alcanzados en presencia de la bacteria *Azospirillum brasilense* en el suelo, estos no fueron significativos tanto en condiciones normales como bajo estrés por sobrehumedecimiento.

La zona más activa del sistema radical logra mayor profundidad con la presencia de *Azospirillum brasilense* en la rizosfera de plantas de caña de azúcar var. C86-456, cuando el oxígeno no fue una condición limitante.

El estrés por exceso de agua en el suelo afecta el normal desarrollo de la caña de azúcar en general, alterando el efecto benéfico que proporciona el microorganismo rizosférico.

REFERENCIAS

Álvarez, SJD y Ferrera RC (1994) Los microorganismos del suelo en la estructura y función de los agroecosistemas. Instituto de Recursos Naturales. Programa de Edafología. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo. Estado de México

Bothe, N, Tennigkeit J, Eisbrenmer G (1981) Transformation of inorganic nitrogen by *Azospirillum* spp. Arch. Microbiol. 130:96-100

- Correa, O, Moccia S y Romero AM (2002) Producción de plantines de tomate: Condiciones de aplicación de *Azospirillum* sp. Proyecto UBACYT01/G009. Cátedra de Microbiología. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina
- Gutiérrez, AOB (2001) Producción de biofertilizantes a partir de rizobacterias aisladas de plantas agroforestales. Inédito
- Hadas, R y Okon V (1987) Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. *Biology and Fertility of Soils* 5(3): 241-247
- Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (2002) Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar en Cuba. Boletín No. 1. Cuba y Caña
- Kolensnikov, V (1971) The root system of fruit plant. MIR. Moscow
- Krautman, S (1959) Observacoes do sistema radicular da Cana IANE-C46117 en solo de Baixada (Varzea). Bol. Tec. Inst. Agron. N. E. (6): 25-31
- MINITAB Release 13.20 (2000) Statistical Software. USA
- Pazos, M, Hernández A, Cuevas F (1998) Selección de cepas nativas de *Azospirillum brasilense* en el cultivo del arroz. Resúmenes. Informe parcial de subproyecto de investigaciones. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas
- Pazos, M, Hernández D y Acosta M (2002) Estudio del efecto que ejerce la aplicación del biopreparado Azofert para gramíneas sobre las poblaciones de bacterias del género *Azospirillum*. Informe de Balance del Trabajo Científico Técnico del Año 2002 del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. s/p.
- Saad, MS, Ali-Sabuddin AS, Yunus AG, Shamsuddin Z (1996) Performance of sweetpotato variety OP MSS 5 inoculated with *Azospirillum* on sandy ten tilling soil. Box 933. Manila. Selected research papers, July 1995 – June 1996. Sweetpotato 2: 107-119
- Sokal, RP, Sneath PHA (1993) Principles of numerical taxonomy. San Francisco
- Tiend, TM, Gaskins MH, Hubell DH (1979) Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Appl. Environ. Microbiol.* 87: 1016-1024
- Vlassak, K, Reyaders L (1977) Associative dinitrogen fixation in temperature regions. In isotipcs in biological dinitrogen fixation. (Proceedings of the Advisory Group. Viena, November. International Atomic Energy
- Vose, BP (1983) Developments in nonlegume N₂-fixing systems. *Can. J. Microbiol.* 29: 837-849