Efecto de *Azotobacter* spp. en la estimulación de la germinación y el desarrollo de posturas de *Coffea arabica* L.

Yraida Delgado (1), Rene Cupull (1), Carlos Pérez (2), Alberto Sánchez (1) y Modesto Vilchez (1)

(1) Estación de Investigaciones de Café, Jibacoa, Villa Clara
(2) Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas

RESUMEN. El ensayo se realizó en el vivero de la Estación de Investigaciones de Café, Jibacoa, provincia de Villa Clara, en el perodo comprendido entre noviembre de 1999 y junio de 2000, a una altura de 340 msnm, con el objetivo de determinar el efecto del *Azotobacter spp*. en la estimulación de la germinación y desarrollo de posturas de *Coffea arabica* L. var. Caturra rojo en una mezcla suelo + humus de lombriz 5:1 (v:v). Se utilizó un diseño de bloques al azar con tres réplicas y ocho tratamientos, se evaluaron los principales índices morfológicos: altura, diámetro del tallo, número de pares de hojas, área foliar y masa seca foliar. Los datos se sometieron a un análisis de varianza de clasificación doble para $p<0,05$ previa transformación de los datos y las medias comparadas por la prueba de rangos múltiples de Duncan para la misma probabilidad, obteniéndose a los 50 días con las cepas 28 y 19 un 61,7 y 55 % de germinación, respectivamente, mostrando diferencias altamente significativas en todos los índices morfológicos evaluados en relación con los demás tratamientos.

Palabras clave*: Azotobacter, Coffea arabica L*.

ABSTRACT. The experiment was carried out in the nursey at the Coffea Research Station at Jibacoa, in the province of Villa Clara, in the period fron Nobember 1999 to June 2000, at 340 meters above sea level, with the objetive to determine the effect of Azotobacter spp., isolated localities two in de simulation of the germination and the development of the posture of Coffea arabica L. variety Red Caturra in a mixture of earth – warm humus and soil in a proportion 5:1 (V: V). we used a design of randomised blocks with three replication and eight treat- ments. After seven manths planting, 24 plants were evaluated for each treatment, with the main morphological indexes; plant´s height, stem diameter, number of leaves pairs, folial area and folia dry weight. The data were submissive to doble calification of variances analysis, to $p< 0,05$ to a previous trasformation of datas and a half were compared by multiples Dunkan´s rank´s, to the same probability, obtaining after 40 days with the stumps 28 and 19 a 61,3 % and 55,0 % of germination respectivily, showing highly significative differences in all of the morphological indexes, evaluated, in relation with the rest of treatments.

Key words: *Azotobacter, Coffea arabica* L.

INTRODUCCION

Las alternativas nutricionales de aplicación práctica no procedentes de la industria química datan del siglo XVII (Soto *et al.*, 1998), de las cuales se destaca la producción de bio-fertilizantes. En la actualidad se ha retornado esta práctica como única posibilidad de lograr producciones sanas y económicas. En Cuba, a partir de 1990, las investigaciones han estado dirigidas a tomar en cuenta estas producciones y se han obtenido resultados positivos en cultivos económicos con la aplicación de *Azotobacter*.

En nuestro país esta práctica está ampliamente difundida, obteniéndose buenos resultados con su empleo en hortalizas, frijoles y ñame (Salazar y González, 1994; Anderson *et al.*, 1994; Martínez, 1989 y Martínez, 1992).

La utilización de estos biofertilizantes en el cultivo del café se inició en los años 1990 con el empleo de las cepas de *Azotobacter*, provenientes del INIFA. Estudios realizados por Rodríguez y Blanco (1994) y Sánchez *et al.* (1998) utilizando el *Azotobacter* en la producción de posturas de café, alcanzaron una mayor uniformidad y vigor en las posturas.

Según Dibut, *et al.* (1994) con la aplicación de esta bacteria se obtiene una mayor calidad y economía en la fabricación y aplicación de biopreparados. Una de las principales críticas de la agricultura orgánica a la convencional, es que el uso excesivo de fertilizantes químicos y técnicas incorrectas de preparación y cultivos, han reducido drásticamente la vida de los suelos, su estructura y como consecuencia su fertilidad (García, 1995 y Joly, 1991).

Diversos autores han informado que en determinadas condiciones ambientales, el efecto beneficioso de las bacterias nitrificantes se debe a la presencia de sustancias fisiológicamente activas que ellas son capaces de sintetizar (Ferrer y Herrera, 1991; Abbass y Okón, 1993; Dibut, Martínez y García, 1994; Acosta *et al.*, 1995 y González *et al.*, 1995). Al respecto Ferrer y Herrera (1991) y Acosta *et al*, (1995) señalaron que el *Azotobacter chroococcum* sintetiza tiamina (vitamina B-1), ácido nicotínico, ácido pantoténico y otras vitaminas capaces de estimular la germinación de las semillas y el crecimiento y desarrollo de algunas especies vegetales, siempre que sea adecuada la concentración de las bacterias en la zona de la rizosfera de las plantas.

Este trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de cepas nativas de *Azotobacter* aisladas en el Escambray villaclareño, en la estimulación de la germinación y en el desarrollo de las posturas de *Coffea arabica* L. y seleccionar las mejores cepas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en el vivero de la Estación de investigaciones de café, Jibacoa, a 340 msnm, en el período comprendido desde noviembre de 1999 hasta junio de 2000.

Se realizó la siembra en bolsas de polietileno (14 x 22 cm) a razón de dos semillas de *Coffea arabica* L. var. Caturra rojo, para dejar una después de la germinación, utilizando un suelo ferralítico rojo lixiviado (Cuba, Instituto de suelo, 1999), que fue mezclado con humus de lombriz en la proporción 5:1 (v: v) y cuyas características agroquímicas y microbiológicas aparecen en la tabla 1.

Se utilizó un diseño de bloques al azar con ocho tratamientos y tres réplicas, las cuales se describen a continuación:

Tratamientos:

1- Testigo
2- Cepa 11
3- Cepa 15
4- Cepa 18
5- Cepa 28
6- Cepa 19
7- Cepa 21
8- Cepa 24

Para la obtención de los aislados, se tomaron muestras de suelo de dos localidades de cafetal y bosque, a las profundidades de 0-10, 10-20, 20-30 cm por análisis microbiológico de suelo, utilizando el método de dilución seriada propuesto por Vinogradsky (1949) y citado por Mayea *et al.* (1982).

La multiplicación de las bacterias se realizó en el medio de cultivo (MLC) descrito por Cupull y Pérez (1992). Después de realizada la siembra, se inocularon estos microorganismos a razón de 10 mL por bolsas con una dilución de 1/10 y un título de 10^9 ufc/mL. A los cuatros meses de realizada la siembra se efectuó una segunda aplicación, con la misma dosis, dilución y título, con el mismo objetivo de mantener elevados los niveles de población bacteriana en la rizosfera de las plantas. Se evaluaron los porcentaje de germinación a los 60 y 70 días. A los siete meses se tomaron 24 plantas por tratamiento para evaluar los índices: altura, diámetro del tallo, pares de hojas, masa seca y área foliar por el método de Soto (1980). Los datos se procesaron mediante un análisis de varianza de clasificación doble para $p< 0,05$ y comparación de medias por el rango múltiple de Duncan previa transformación de los datos por la expresión arc sen Öx, referido por Lerch (1997).

Al vivero se le realizaron las actividades agrotécnicas según las instrucciones técnicas para el cultivo del café (Cuba MINAG, 1999).

RESULTADO Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se analizan las características agroquímicas y el contenido de *Azotobacter* del suelo y el sustrato utilizado en el presente experimento. Se pudo apreciar que con la aplicación de la materia orgánica mejoró considerablemente tanto el PH del suelo como el contenido de cada uno de los componentes químicos del mismo y

las poblaciones de *Azotobacter* así como una alta capacidad para fijar microelementos.

Tabla 1: Algunas características agroquímicas de los sustratos empleados y conteo de *Azotobacter* antes de la inoculación

Sustrato	Ph (Kcl)	P_2O_5 g/100g	K_2O g/100g	Ca meq/100g	Mg meq/100g	M.O %	Conteo de *Azotobacter*
Suelo	4,62	4,20	5,77	2,43	1,20	2,40	$4,5x10^2$ ufc/g suelo
5/1	5,10	46,20	19,33	5,20	2,90	3,10	$1,9x10^4$ ufc/g suelo

En el conteo realizado en las dos localidades (Tabla 2), se observó que predominaron en Can Can *Azotobacter paspali* y *Beijirinkia indica* y en Tres Palmas *Dexia gummosa*, presentando altos títulos en su inmensa mayoría, ya que generalmente son bajos (10^2 ufc/g de suelo), en *A. paspali* entre 9,5 x 10^3 y 4 x 10^4 ufc/g de suelo, *B. indica* desde 1,1 x 10^4 y 3,4 x 10^4 ufc/g de suelo y *D. gummosa* 2,5 x 10^3 ufc/g de suelo.

Tabla 2: Aislamiento de *Azotobacter* spp. en dos localidades

Localidad	Tipo de suelo	No. de la cepa	Profund. (cm)	Sitio donde se realizó el muestreo		Géneros de bacterias		
				Cafetal	Bosque	*Dexia gummosa*	*Beijirinkia indica*	*A. paspali*
Tres Palmas	Ferralítico rojo lixiviado	11	10-20	X		$2,5x10^3$ ufc/g suelo		
Can Can	Ferralítico roio lixiviado	15	20-30	X			$3,4x10^4$ ufc/g suelo	
		18	10-20	X				$9,5x10^3$ ufc/g suelo
		28	20-30	X				$4x10^4$ ufc/ g suelo
		19	0-10		X			$1,1x10^4$ ufc/ g suelo
		21	20-30		X		$2,9x10^4$ ufc/g suelo	
		24	20-30		X		$1,1x10^4$ ufc/g suelo	

Al analizar el comportamiento de la germi-nación (Tabla 3), se aprecian los mayores porcentajes en las cepas 28 y 19, presentando a los 50 días un 61,7 y un 55 % mostrando diferencia altamente significativa respecto a los demás tratamientos; a los 60 días estas cepas presentaron un 93,3 y 88,3 % siendo superior a los demás tratamientos. Estos resultados son similares a los obtenidos por Martínez y Hernández (1995) y Sánchez *et al*. (1999) quienes informaron que el *Azotobacter* estimula la germinación de la semilla debido a que segrega un grupo de sustancias fisiológicamente activas que favorecen la misma.

Al analizar la efectividad de las cepas aisladas en plántulas de café, se apreció que todas estimularon el desarrollo en mayor o menor cuantía (Tabla 4) mostrando las cepas 28 y 19 (*A. paspali* y *B. indica*) diferencia altamente significativa en relación con los demás tratamientos. Este resultado coincide con los obtenidos

por Dibut *et al.* (1994); Puertas y Gonzáles (1999) en el cultivo del tomate pero con otras cepas que no incluyen las aquí evaluadas, lo que es un complemento de la hipótesis de estos y otros autores (Rodríguez y Blanco, 1994; Salazar y González, 1994; Acosta *et al.*, 1995 y González, 1995), de que tal comportamiento parece ser una característica afín de las cepas presentes en los suelos de Cuba. En este sentido, Abbass y Okón (1993) encontraron similares resultados pero con diferentes cepas de *Azotobacter paspali* y señalaron que la diversidad de origen no tiene que estar siempre asociada a la diversidad genética.

Tabla 3: Efecto del *Azotobacter* spp. en la estimulación de la germinación (%).

Tratamientos	50 días	60 días
1 testigo	13,3 c	30,0 d
2 cepa 11	36,7 b	68,3 b c
3 cepa 15	35,0 b	76,7 a b c
4 cepa 18	30,0 b	75,0 a b c
5 cepa 28	61,7 a	93,3 a
6 cepa 19	55,0 a	88,3 a b
7 cepa 21	35,0 b	66,7 c
8 cepa 24	33,3 b	66,7 c
E.S ±	0,120 ***	0,194 **
C.V %	15,908	16,311

(a,b,c,d,e)Medias con letras no comunes en una misma columna difieren para Duncan (p< 0,5).

Tabla 4. Desarrollo de las posturas de cafetos con la aplicación de *Azotobacter* spp.

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro tallo (cm)	No. pares de hojas	Peso seco foliar (g)	Area foliar (cm^2)
1 testigo	19,7 d	0,260 c	5,7 c	1,9 d	276,7 c
2 cepa 11	23,1 b	0,330 b	6,3 b	2,6 c	326,1 b
3 cepa 15	22,1 c	0,320 b	6,4 b	2,8 c	335,7 b
4 cepa 18	23,3 b	0,330 b	6,5 b	2,7 c	331,7 b
5 cepa 28	27,0 a	0,370 a	7,3 a	3,8 a	446,4 b
6 cepa 19	26,6 a	0,380 a	7,4 a	3,9 a	436,6 a
7 cepa21	22,6 b c	0,310 b	6,6 b	2,9 b c	352,2 b
8 cepa 24	22,8 b c	0,330 b	6,6 b	3,0 b	316,8 b
E.S ±	0,287 ***	0,007 ***	0,103 ***	0,085 ***	6,731 ***
C.V %	2,128	3,560	2,689	4,872	3,337

(a,b,c,d,e) medias con letras no comunes en una misma columna difieren para Duncan (p< 0,05).

CONCLUSIONES

1. Las cepas 28 (*A. paspali*) y 19 (*B. indica*) procedentes de Can Can aceleraron el porcentaje de germinación entre el 61,7 y el 55 % en los primeros 50 días.

2. Los mayores valores morfológicos se alcanzaron con las cepas 28 y 19 al presentar diferencias altamente significativas respecto a los demás tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

Abbass, Z. y Y. Okón (1993): "Plant growth promotion by *Azotobacter paspali* in the rhizosphere". *Soil Biology and Biochemistry* 25 (8): 1075-1083.

Acosta, M. *et al*. (1995): "Uso de bioestimulantes en la fase de adapación de vitroplantas de papa, banano y caña de azúcar". *Centro Agrícola* 2: 54-67.

Ana Puerta y L. M. González: (1999): "Aislamiento de cepas nativas de *A. chroococcum* en la provincia Granma y evaluación de su actividad estimuladora en plántulas de tomates". *Cultivos Tropicales* INCA 20 (2).

Anderson, A. G; R. Rodríguez y E. Guedes (1994): Efecto de la inoculación con *Azotobacter* y hongos M.V.A en vitroplantas de ñame. En: Programa y Resumen del seminario científico del INCA, La Habana, MES, 66 pp.

Cuba, Instituto de suelo (1999): Nueva clasificación genética de los suelos de Cuba. La Habana, Ministerio de la Agricultura, 86 pp.

Cuba, Ministerio de la Agricultura (1999): Indicaciones técnicas generales para el cultivo del café. Estación Central de Investigaciones de Café y Cacao, Santiago de Cuba.

Cupull, R. y C. Pérez (1992): Medio de cultivo y metodología para la producción de *Azotobacter*. XII Forum de Ciencia y Técnica, 6 pp.

Dibut, B. *et al*. (1994): "Dimargon nuevo medio de cultivos para la producción industrial de biopreparados a base de *Azotobacter chroococcum*". *Cultivos Tropicales* 15 (1): 12-14.

Dibut, B.; R. Martínez y R. González (1994): "Evaluación de cepas de *Azotobacter chroococcum* aislada de suelos de Cuba. Actividad estimuladora del crecimiento de plántulas de tomate". *Ciencias de la Agricultura* 40: 11- 16.

Dibut, B.; R. Martínez; R. González; E. Delgado y B. Martín (1994): Tecnología para la producción industrial de biopreparados a base de *Azotobacter* en Res. I. Jornada Científica, INIFAT, La Habana, p. 2

Ferrer, R. y H. Herrera (1991): "Breve reseña de los biofertilizantes". La Habana, 1Es-acc, 4 pp.

García, J. J. (1995): Simposio Centroamericano sobre la Agricultura orgánica. *Agricultura Orgánica* 1(1): 22.

González, R. *et al*. (1995): "Efectividad de ocho cepas de *Azotobacter* spp. en la adaptación de vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Cv Cayena Lisa". *Centro Agrícola* 3: 68-75.

Joli, C.(1991): Bilogical nitrogen fixation withion. F.A.O. agricultural production programmines in the cotext of sustentable development. F. A.O. Rome.

Lerch, G. (1977) *La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas*, Ed. Ciencia y Técnica, La Habana, 462 pp.

Martínez V., R. (1986): *Ciclo biológico del Nitrógeno del suelo*. Editorial Científico–Técnica, La Habana, 71 pp.

Martínez, R. (1989): "Acción estimulante del *Azotobacter chroococcum* sobre los cultivos del tomate y cebolla". *Información Express.* 13 (2): 71.

Martínez, R. *et al*. (1992): Utilización de biopreparados de *Azotobacter chroococcum* en la agricultura cubana. Taller internacional sobre biofertilización en los trópicos. INCA, La Habana, 44 pp.

Martínez, R y G. Hernández (1995): Los biofertilizantes en la agricultura cubana, en: II Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica, La Habana, 84 pp.

Mayea, S.; R. Movo y A. Valiño (1982): *Introducción a la microbiología del suelo*. Pueblo y Educación, La Habana, 197 pp.

Rodríguez, V. y A. Blanco (1994): "Eficiencia del *Azotobacter chroococcum* en la producción de posturas de *Coffea arabica* L". *Cultivos Tropicales* 15(3): 58-66.

Salazar, O. y F. González (1994): "Influencia de la aplicación de *Azotobacter* en la producción de dos variedades de cebolla en épocas temprana". *Cultivos Tropicales* 15 (3): 66 .

Sánchez, C.; R. Rivera; C. González y R. Cupull (1998): Efectos de las aplicaciones de *Azotobacter* sobre la germinación y el desarrollo de

las posturas de café. en Programas y Reuniones XI Sem. Científico, INCA, La Habana, MES, 182 pp.

Sánchez, C. *et al*. (1999): "Efecto de la aplicación de *Azotobacter* sobre la germinación y desa-rrollo de las posturas de café". *Centro Agrícola* 26 (1): 41-44.

Soto, F. (1980): "Estimulación del área foliar en *C. arabica* L. A partir de las medidas lineales de las hojas". *Cultivos Tropicales* 2 (3): 115-128.

Soto, F.; A. Leiva; M. Bertoli; Ellien Terry y F. Hernández. (1998): Alternativas nutricionales eficaces en agrosistemas de producción sostenible. en Programa y Resúmenes XI Sem. Científico de INCA, La Habana, 59 pp.

En el Centro de Documentación e Información Científico-Técnica (CDICT) de la Univerversidad Central «Martas Abreu» de Las Villas

CHASQUI
AUTOMATIZACION Y MULTIMEDIA

dedicado a la elaboración de Productos Informáticos, Multimedia y Proyectos de Automatización