



# 4TO ENCUENTRO TÉCNICO

## ATAM - ATAC

### **Título:** LEBAME: Un bioproducto para el enfrentamiento al cambio climático

**Autores:** María Elena Díaz de Villegas\*, Grizel Delgado\*, Georgina Michelena\*, Antonio Bell\*, Carmen A Guevara\*, Caridad Suárez\*, Silvano Legrá\*, Miguel A. Peña\*, Aidín Martínez\*, Gisela González\*, Silvia Armenteros\*, José Vela\*, Emilia Carrera\*, Martha Salermo\*, Grisel Ortega\*, Jaime Noruega Crespo\*\*, Eduardo Fumero Duran\*\*, Elein Terry\*\*\*; Josefa Ruiz\*\*\*; Yudine Carrillo\*\*\*, Victor Manuel Álvarez Villar \*\*\*\*, Leudiyanes Ramos Hernández \*\*\*\*, Romelio Rodríguez Sánchez \*\*\*\*, Dainery Calzadilla Campos\*\*\*\*. Aydiloide Bernal Villega \*\*\*\*\*, Rafael Gomez Kosky\*\*\*\*\*, Luis Antonio Pérez Fernández\*\*\*\*\*

\* Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

\*\* Instituto de Investigaciones Avícolas (IIA)

\*\*\* Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)

\*\*\*\* Facultad Agroforestal. Universidad de Guantánamo

\*\*\*\*\* ETICA-centro, VillaClara. Instituto Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA)

\*\*\*\*\*UP3. LABIOFAM

**La Habana**

**Cuba**

**Abril 2018**

## INTRODUCCION

En la búsqueda de la seguridad alimentaria con sostenibilidad se han acelerado las investigaciones que conduzcan hacia bioproductos agrícolas más eficientes y selectivos y que a su vez sean toxicológica y ambientalmente seguros.

Este resultado describe el uso de microorganismos eficientes (EM), lo cual ofrece numerosas posibilidades para mejorar la productividad de los ecosistemas, y contribuir al desarrollo de una agricultura sostenible, a la cría de animales y al control de los malos olores que se generan, y para la conservación de frutas y vegetales postcosecha.

Los microorganismos eficientes (EM) son la base de los estudios llevados a cabo por el Dr. Teruo Higa, de Japón, basada en un cultivo mixto de microorganismos aislados del medio ambiente los cuales pueden aplicarse como inoculantes con el fin de incrementar la calidad de los suelos así como el rendimiento y calidad de las cosechas. Adicionalmente la aplicación de estos productos en la avicultura mediante el suministro de los mismos tanto a las camas para disminuir los malos olores como al agua de beber de las aves, resulta de gran interés con el fin de lograr el incremento de la ganancia en peso de los pollos de engorde y de huevos por parte de las gallinas ponedoras. Por otra parte, puede constituir una solución a los principales problemas ambientales generados en la producción avícola, vinculado a la emisión de gases nocivos, siendo el amoniaco uno de los más perjudiciales y más abundante, que a su vez es el precursor de los malos olores.

En Cuba se ha extendido la aplicación de los microorganismos eficientes, con productos producidos por vía artesanal cuyos satisfactorios resultados lo avalan como soluciones locales ya que su composición microbiana no está identificada, pero para su producción a nivel industrial se requiere la reproducibilidad y el control de calidad que solo es posible mediante el empleo de microorganismos conocidos.

En este trabajo se presenta a modo de resumen las etapas que culminaron con el desarrollo de la tecnología del LEBAME y su efecto en diferentes cultivos de interés económico para el país.

Los estudios realizados han permitido definir un procedimiento fermentativo de producción de LEBAME. Los principales resultados se resumen a continuación:

**a. Evaluación de microorganismos de la Colección de Cultivos del ICIDCA a nivel de laboratorio, para la producción del inóculo LB-1 y del producto LEBAME constituido por microorganismos eficientes.**

Se estudiaron 36 cepas del banco de Colección de Cultivos del ICIDCA alcanzando titulaciones entre  $10^6$  y  $10^7$ , superior a lo reportado para productos comerciales constituidos por microorganismos eficientes donde las bacterias ácido lácticas están en una concentración de  $1 \times 10^4$  y las levaduras en  $1 \times 10^3$ . El LEBAME resultó ser un bioestimulante para la agricultura constituido por los siguientes microorganismos de la colección de cultivos del ICIDCA:

- *Bacillus subtilis* B/23-45-10 Nato ( $1 \times 10^7$  UFC/mL)
- *Lactobacillus bulgaricum* B/103-4-1 ( $1 \times 10^7$  UFC/mL)
- *Saccharomyces cerevisiae* L-25-7-12 ( $1.8 \times 10^6$  UFC/mL)

**a. RESULTADOS DEL LEBAME EN CULTIVOS HORTÍCOLAS DE INTERÉS ECONÓMICO**

Teniendo en cuenta la necesidad de producir hortalizas bajo un sistema libre de contaminantes químicos, se impone la necesidad de estudiar bioproductos que permitan la obtención de cosechas de calidad con la mínima afectación de los rendimientos agrícolas.

En este sentido, la presente investigación persiguió como objetivo, estudiar diferentes dosis del bioproducto LEBAME en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos hortícolas de pimiento (*Capsicum annuum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), lechuga (*Lactuca sativa*), habichuela (*Phaseolus vulgaris*), acelga (*Beta vulgaris*), cebolla (*Allium cepa*) y col (*Brassica oleracea*).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para estudiar la respuesta de los cultivos pimiento, tomate, lechuga, habichuela, acelga, cebolla y col a la aplicación de diferentes dosis de LEBAME, se condujo el experimento bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos estuvieron conformados por el estudio de las dosis de 5 y 10 ml<sup>-1</sup> comparados con un tratamiento control en agua. Los semilleros fueron de manera tradicional con aplicación de estiércol vacuno a dosis de 1 kg m<sup>-2</sup>. Los trasplantes se realizaron según la metodología descrita en el Manual para organopónicos y huertos intensivos (2007). Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA de clasificación simple y se realizó la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan con una significación de un 95 %. Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics (versión 19).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Resultados en tomate**

No hubo diferencias significativas entre los tres niveles de tiempo de imbibición, lo que evidencia que, con solo 15 minutos, es suficiente para estimular las variables estudiadas.

Al analizar independientemente cada factor, la variable porcentaje de germinación manifestó resultados muy similares, no difiriendo estadísticamente entre los tratamientos. Se evidenció valores cercanos al 100% lo cual se considera un poder germinativo alto.

### **Resultados en pimiento**

La altura de las plantas fue significativamente superior en el tratamiento donde solo se aplicó el LEBAME aunque no difirió de su combinación con el EcoMic, los tratamientos con los bioproductos fueron superiores al testigo. Para el diámetro del tallo todos los tratamientos fueron similares entre sí, y el número de hojas fue superior en la aplicación de solo el LEBAME, en este caso los restantes tratamientos fueron similares al testigo.

El análisis de alguno de los componentes del rendimiento mantuvo un comportamiento similar al descrito en el análisis del crecimiento de las plantas, siendo la aplicación del LEBAME, el que provoca un estímulo en el desarrollo de las plantas a partir de una mayor altura, así como de flores y frutos por planta.

La evaluación de alguno de los componentes del rendimiento mostró un comportamiento para las tres variables, con una diferencia altamente significativa para el tratamiento donde solo se aplicó el LEBAME, lo cual lo convierte en un producto efectivo para incrementar el rendimiento del cultivo.

### **Resultados en acelga**

Como se observa se obtuvo diferencias significativas para las tres variables evaluadas, donde la aplicación del LEBAME a la dosis de 10 ml l<sup>-1</sup> fue significativamente superior al control, lo cual significó un 25, 21 y 72 % de incremento.

### **Resultados en lechuga**

Se obtuvo diferencias significativas para las tres variables evaluadas, donde la aplicación del LEBAME a la dosis de 10 ml l<sup>-1</sup> fue significativamente superior al control, lo cual significó un 25, 16 y 68 % de incremento.

### **Resultados en col**

Se obtuvo diferencias significativas para el peso del fruto y el diámetro ecuatorial, donde la aplicación del LEBAME a la dosis de 10 ml l<sup>-1</sup> fue significativamente superior al control, lo cual significó un 16 y 6% de incremento.

### **CONCLUSIONES**

Se demuestra el efecto positivo del producto LEBAME a la dosis de 10 ml L<sup>-1</sup> aplicado a los 10 y 20 días después del trasplante en los cultivos estudiados, con estímulo en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas.

### **b. EFECTO DEL LEBAME EN EL CRECIMIENTO DEL PLATANO GRAN ENANO**

En el desarrollo de semillas de alta calidad por vías biotecnológicas, se trabaja de manera cooperada (IBP, el INIVIT y varias biofábricas del país) con prioridad para el plátano vianda, cuya semilla resultó muy afectada por la Sigatoca negra, razón que obliga a una reposición más acelerada, al no poder disponer de plantaciones por más de un año, debido a que el propágulo (hijo) nace afectado por la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue utilizar estos microorganismos eficientes en la propagación del banano Gran Enano que produce la biofábrica de la Empresa en la fase de vivero.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

En vivero las plantas son trasplantadas individualmente luego de la fase de aclimatación a bolsas de plástico negras de 7,0 cm de ancho por 5,0 cm de alto. Estas bolsas son cubiertas de sustrato constituido por suelo pardo carbonatado y pulpa de café descompuesta (1:1 v/v); ambos tamizados antes de hacer la mezcla. Se emplearon 5 tratamientos para un total de 125 plantas de bananos variedad Gran Enano, divididos en cinco (5) grupos de 25 plantas cada uno empleando un diseño completamente aleatorizado. Se ejecutaron en el experimento tres mediciones, una en el momento del montaje (inicial), antes de la aplicación del Lebame, otra al mes de aplicado, donde posterior a la medición se volvió a inocular el producto en las diluciones antes mencionadas y una tercera medición al finalizar la etapa de vivero (75 días) cuando ya las plantas estaban listas para ser trasplantadas al campo. En cada medición se empleó un pie de rey y fueron evaluadas 5 variables relacionadas con el crecimiento de la planta, siendo estas: longitud y ancho de la planta (cm), longitud y ancho del tallo (cm) y número de hojas por planta.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el caso del ancho del tallo se produce un significativo incremento en la dilución de 10 mL L<sup>-1</sup> en el momento final de la evaluación (3,50 cm) con respecto a los demás tratamientos donde se empleó el Lebame. Este incremento fue muy marcado con respecto a las plantas control (1,0 cm) el cual fue superado en tres unidades. No obstante un incremento de la concentración del producto no influyó positivamente en estas variables (15 y 20 mL L<sup>-1</sup>), aunque superaron significativamente a las plantas control. Similar comportamiento mostró la evaluación realizada a la variable largo del tallo aunque con diferencia significativas con respecto a las plantas de 5 mL L<sup>-1</sup> pero con valores cercanos a 25 cm de largo. Nuevamente los valores alcanzados por las plantas del tratamiento 10 mL L<sup>-1</sup> duplican a las plantas control y difiere significativamente de los demás tratamientos experimentales. Lo cual pudiera corresponderse con una influencia positiva del producto en el crecimiento de las plantas en esta etapa de vivero. Es conocido que entre muchas otras características del producto Lebame el mismo contiene una concentración de 1,75 g L<sup>-1</sup> lo que puede influir positivamente en el mayor crecimiento de estas variables a la dilución de 10 mL L<sup>-1</sup>. El efecto en el ancho y largo de las hojas se aprecian diferencias estadísticas entre los tratamientos experimentales.

## **CONCLUSIONES.**

- La aplicación de Lebame demostró una gran efectividad agrobiológica del producto a partir del estímulo provocado en el crecimiento de las plantas, pues los resultados de todas las diluciones del producto, fueron superiores al menos un 6% a los del grupo control.
- Se evidencia el incremento del crecimiento de las posturas tratadas con Lebame, destacándose la dosis de 10 mL L<sup>-1</sup> como la más efectiva, lo cual hace más económico su uso, al no tener que utilizar altas concentraciones.

### **a. INCREMENTO DE LA SUPERVIVENCIA Y EL CRECIMIENTO EN LA FASE DE ACLIMATIZACIÓN DE LA CAÑA DE AZÚCAR (Umbráculo) .**

## **INTRODUCCIÓN**

En la fase de aclimatación de la biofábrica de micropropagación de cultivares de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) ubicada en la Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de azúcar Centro-Villa Clara, se aplican diferentes productos con el fin de estimular la supervivencia y el crecimiento y desarrollo de los cultivares en su aclimatación *ex vitro* para acelerar su desarrollo y aumentar la capacidad del umbráculo al disminuir el tiempo de aclimatación de las plantas *in vitro*.

En la literatura científica consultada no se ha encontrado hasta el presente, información sobre la utilización de este producto en la micropropagación de la caña de azúcar, por lo que el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del LEBAME sobre las plantas *in vitro* del cultivar C87-51, en la fase de aclimatación *ex vitro* con la finalidad de obtener plantas con la calidad requerida por los productores en el menor tiempo posible.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron brotes *in vitro* del cultivar de caña de azúcar C87-51 con 15 días de cultivo procedentes de la fase de enraizamiento los que fueron trasplantados a bandejas plásticas de 60 alveolos con capacidad cada uno para 143 cm<sup>3</sup> de sustrato compuesto por compost a partir de cachaza de restos de la caña de azúcar, al que se le añadió zeolita en proporción de 3:1 (v/v).

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro tratamientos, tres diluciones de LEBAME (8.0, 10 .0 12. mL L<sup>-1</sup>) y un control (0 mL L<sup>-1</sup>), con tres réplicas por tratamiento, en cada bandeja se plantaron 60 plantas *in vitro*, las que permanecieron en condiciones de umbráculo, cubierto con una malla sombra de color negro (Sarán) que permitió la reducción al 50% de la intensidad luminosa y una frecuencia de riego con microaspersores de 2 veces al día durante 5 minutos. El bioproducto se asperjó con una mochila con capacidad para 16 litros a los 7, 14 y 21 días del trasplante a las bandejas.

Las plantas *in vitro* todo el tiempo que duró el experimento se atendieron según el manual de procedimientos establecido (5). A los 15 días del trasplante se realizó una evaluación de supervivencia y a los 45 días de cultivo se seleccionaron 15 plantas por tratamiento y se evaluaron: la formación del cepellón de forma visual, la altura (cm) de la planta desde la base del tallo hasta la base de la hoja +1, diámetro del tallo (mm), número de raíces, masa fresca de la planta (g), masa fresca de la raíz (g), masa fresca de la hoja (g), número de hojas, longitud de la hoja +1(cm) y unidades SPAD medidas con el detector de verdor Minolta SPAD-501, equivalentes a la cantidad de clorofila y nitrógeno total determinados por métodos tradicionales(6)

Análisis estadístico

## **RESULTADOS y DISCUSIÓN**

La altura, la masa fresca de las plantas y la masa fresca de las raíces alcanzaron valores significativamente superiores al control con las tres diluciones utilizadas de LEBAME y entre ellas no hubo diferencias estadísticas.

El número de raíces también fue significativamente superior con las tres dosificaciones de este vioproducto. La longitud de la hoja +1 y el diámetro del tallo no presentaron diferencias estadísticas entre ninguno de los tratamientos. La formación del cepellón no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ni entre estos y el control. Los resultados obtenidos con la aplicación de LEBAME al cultivar de caña de azúcar C87-51 en la fase de aclimatización ex vitro muestran la conveniencia de su aplicación en este cultivar al lograr plantas con los parámetros de calidad requeridos y acortar el tiempo de aclimatización ex vitro. Con las tres dosificaciones de LEBAME se lograron parámetros de calidad superiores en las plantas ex vitro en comparación con el control. Terry et al. (2017) reportaron resultados satisfactorios con la aplicación 10 mL L-1 de bioestimulante en diferentes cultivos hortícolas. Resultados similares reportaron Carrillo et al. (2017) con las diluciones de (2,5; 5; 10; 15 mL L-1) del bioestimulante en la germinación de semillas de tomate. En este estudio con 8 mL L-1 LEBAME se lograron resultados satisfactorios para todas las variables estudiadas en el cultivar de caña de azúcar C87-51.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El efecto del LEBAME sobre el cultivar C87-51 en la aclimatización ex vitro del mismo fue satisfactorio al lograrse plantas in vitro con la calidad requerida para su comercialización.

### CONSIDERACIONES ECONÓMICAS Y DE EXTENSIÓN

Las consideraciones económicas de aplicación del producto indicaron que el balance costo-beneficio es altamente beneficioso pues indica un costo de producción de 0,69 pesos y 0,21 pesos en divisas contra 2,9 - 4 pesos/L que se oferta por CENPALAB quien vende el producto a las empresas que vierten a la Bahía de la Habana. Los efectos económicos de aplicación del producto vienen dado por tres conceptos principales:

- i. Venta del inóculo LB-1 a la empresa LABIOFAM S. A. 50 pesos el Litro Subtotal: 10000 pesos año
- ii. Venta de la tecnología, en estos momentos a LABIOFAM S. A. Subtotal: 50000 pesos
- iii. Recibo del beneficio de las regalías o royalties contemplado en el contrato de venta de tecnología (5%) 50000 pesos al año
- iv. Venta del producto directamente a clientes. Se estima un precio de venta de 5 pesos el litro de producto. El ICIDCA en sus instalaciones con una inversión mínima pudiera hacer 100 000 L al año.

### BLIOGRAFÍA

1. Antoun, H., y D. Prevost. 2006. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. En: Z.A. Siddiqui (Ed.). *Biocontrol and Biofertilization*, Springer, Dordrecht, pp. 1–38.
2. Arias A. Microorganismos Eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente. *Journal de ciencia e Ingeniería*.2010 Vol. 02, No.02, pp. 42-45.
3. Jorge H, Jorge I, Gómez J, Mesa JM, Bernal A. Normas y Procedimientos del Programa de Fitomejoramiento de la Caña de Azúcar. Actualización 2011. PUBLINICA, La Habana, Cuba. 2011 291:310 pp.
4. Ortiz Vega, Luis Alberto; et al. El cultivo de banano. San José, Costa Rica: Euned, 2001. 186 p. ISBN 9968-3-048-4
5. Reeves DW, Mask PL, Wood CW, y Delaney DP. Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: influence of management practices. *Journal of plant Nutrition* 1963. 16: 781-796.
6. Turner, D.W. 1998. Ecophysiology of bananas: the generation and functioning of the leaf canopy. *Acta Horticulturae (ISHS)* 490: 211-222.1998