

EVALUACIÓN DE BIOFERTILIZANTES EN EL PROCESO DE MULTIPLICACIÓN MASIVA DE PLÁNTULAS IN VITRO DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM L.) MEDIANTE UN SISTEMA AUTOTRÓFICO

Junior Hernández, Mingrelia España, Juan Matehus y Jhonny Demey

Fundación Instituto de Estudios Avanzados, IDEA, Carretera Hoyo de la Puerta, Valle de Sarteneja, Baruta, Edo Miranda. Apartado 17606

RESUMEN

La disponibilidad de semilla de calidad representa uno de los principales problemas del cultivo de papa en Venezuela, lo cual conlleva necesariamente a la búsqueda de alternativas viables para la obtención de semilla prebásica. El objetivo de este trabajo fue evaluar biofertilizantes bacterianos en un sistema autotrófico para la multiplicación masiva de plántulas de papa, para lo cual se utilizaron microesquejes de plántulas *in vitro* de dos variedades (IDIAP 92 y ATLANTIC), los mismos fueron sembrados en turba esterilizada, colocados en invernadero durante 5 semanas, los tratamientos aplicados fueron: sin fertilización (control negativo); con fertilización inorgánica (control positivo); bacterias fijadoras de nitrógeno (FN); bacterias solubilizadoras de fósforo (SP) y la mezcla FN + SP. Los resultados mostraron que los tratamientos inoculados con bacterias tuvieron un efecto positivo en las plántulas, donde las tratadas con FN presentaron los mejores índices de desarrollo y crecimiento, así como una mayor tasa de multiplicación.

Palabras claves: semilla prebásica, propagación, sistema autotrófico, bacterias benéficas

INTRODUCCIÓN

La producción comercial de papa en Venezuela depende en alto grado de la importación de semilla-tubérculo, por tal motivo existe la necesidad de producir semillas que garanticen el suministro de cultivares de alta calidad y rendimiento (Romero, 2005), adaptados a las diferentes zonas agrícolas del país y que permita superar la vulnerabilidad actual de la agricultura nacional. La implementación de métodos de propagación masiva representa la mejor opción para tal fin; entre ellos, se encuentra el sistema autotrófico hidropónico (SAH), propuesto por el INTA en Argentina (Rigato et al, 2001) que combina técnicas de micro propagación y de multiplicación autotrófica basado en la capacidad autotrófica de los esquejes y el rol fundamental del microambiente.

Por otro lado, se ha demostrado que la utilización de microorganismos con beneficios de biofertilizantes y/o bioestimulante aumentan la adaptación de las plántulas producidas “*in Vitro*”; debido a que estos juegan un importante papel en reducir el estrés asociado con la nutrición y humedad, debido a esto se plantea aquí la incorporación de inoculantes

bacterianos benéficos, no solo en la fase de aclimatación, sino su evaluación en sistemas autotrófico, los cuales se espera mejoren la disponibilidad de nutrientes, dejando como efecto positivo la activación del crecimiento y el sostenimiento de óptimas tasas de multiplicación de las plantas en la etapa inicial, los que a su vez quedarían como rizobiontes cuando son trasplantadas a sustrato en invernadero en la próxima etapa de producción de tubérculo-semilla para la producción de material de siembra prebásica. La metodología planteada permite una reducción sustancial de la dependencia con formulaciones minerales inorgánicas, que en general son importadas, permitiendo una mayor autonomía por el uso de insumos nacionales aptos para el desarrollo de una agricultura sustentable de bajo costo financiero y ambiental. El objetivo de este trabajo fue evaluar biofertilizantes bacterianos en un sistema autotrófico para la multiplicación masiva de plántulas de papa.

MATERIALES Y METODOS

Para el desarrollo de esta investigación se emplearon técnicas de micropropagación semejantes a las utilizadas en el sistema autotrófico hidropónico (SAH), desarrollado en Argentina; con modificaciones realizadas en el laboratorio de raíces y tubérculos del IDEA. Para lo cual se obtuvieron microesquejes de plántulas *in Vitro*, de dos variedades de papa (IDIAP 92 y ATLANTIC), pertenecientes al Banco de Germoplasma del Laboratorio de Raíces y Tubérculos del IDEA, los microesquejes fueron cortados y sumergidos por un lapso de 10 minutos. en capsulas de petri conteniendo las soluciones a inocular de acuerdo al tratamiento respectivo (Cuadro 1), posteriormente se sembraron en bandejas de polipropileno, las cuales contenían turba estilizada, se establecieron 12 microesquejes por bandejas y se procedió a llevarlas al invernadero a una temperatura diurna promedio de 28 °C y con una humedad relativa de 54%, las cuales se mantuvieron por 5 semanas, durante ese tiempo se mantuvo la humedad de la turba con aplicaciones de agua desionizada.

Las mediciones se realizaron semanalmente, las variables evaluadas fueron: altura de la planta, numero de hojas y de microesquejes potenciales formados; una vez transcurridas las cinco semanas se procedió a la extracción de las plantas de las bandejas, esto con el mayor cuidado posible para no maltratar el sistema radical de la misma, se lavaron las plantas para retirar la turba restante, se pesaron y fueron llevadas a una estufa a 80°C por dos días para determinar peso seco de cada una de las plantas.

El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con 5 tratamientos, 2 variedades, 3 repeticiones y 12 unidades experimentales por repetición, a los datos se les aplicó un análisis de varianza, se realizaron pruebas de comparación de medias y un análisis de conglomerados, utilizando el software Infostat.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos evaluados

N°	Identificación	Descripción
1	<i>Control Negativo (CN)</i>	Sin fertilización inorgánica, sin biofertilizantes (50 ml agua desionizada por bandeja)
2	<i>Control Positivo (CP)</i>	Fertilización inorgánica con solución nutritiva (murashige, 50 ml por bandeja)
3	<i>FN</i>	Bacteria fijadora de nitrógeno (50ml por bandeja)
4	<i>SP</i>	Bacteria solubilizadora de fósforo (50ml por bandeja)
5	<i>SP+ FN</i>	Bacteria fijadora de nitrógeno + bacteria solubilizadora de Fósforo (25ml SP + 25 ml FN, por bandeja)

RESULTADOS Y DISCUSION

Los tratamientos con bacterias tuvieron un efecto positivo en la altura de las variedades evaluadas (Figura 1), IDIAP92 respondió más rápido a la aplicación de los biofertilizantes en comparación de la variedad ATLANTIC, sin embargo a la quinta semana de desarrollo las dos variedades presentaron un crecimiento similar, sin diferencia significativa. Así mismo, se apreció que las diferencias entre los tratamientos inoculados con las bacterias y el control negativo, se hacían más notorias después de la tercera semana para IDIAP92 y a la quinta semana para ATLANTIC, el crecimiento lento en las primeras semanas puede estar asociado a que en los primeros estadíos los microesqueje aun no han desarrollado completamente su sistema radical, el cual es clave para el establecimiento de las interacciones planta- microorganismos, tomando en cuenta que las bacterias utilizadas son consideradas rizosféricas, las cuales son activadas principalmente por la presencia de exudados radicales (Holguin, 2008); Por otra parte, estos resultados sugieren que existe una diferencia propia de las variedades evaluadas en cuanto al enraizamiento, lo cual indicaría que probablemente el sistema radicular en la variedad IDAIP92 se estaría desarrollando mas temprano que en ATLANTIC; a este respecto Rigato et al. (2001), han encontrado que los porcentajes de enraizamiento de las variedades de papa por ellos evaluados variaron de acuerdo a los sustrato evaluados, en algunos casos el 99 % de los micro esquejes habían enraizado a los 14 días, mientras que en otros solo el 8 % de los esquejes lo hizo en el mismo periodo de tiempo.

En cuanto a la variable numero de hojas, ésta presentó una tendencia similar a la observada en la altura para las dos variables evaluadas. La variedad IDIAP92 fue la que logró mayor peso seco en todos sus tratamientos, comparados con la variedad ATLANTIC (datos no mostrados).

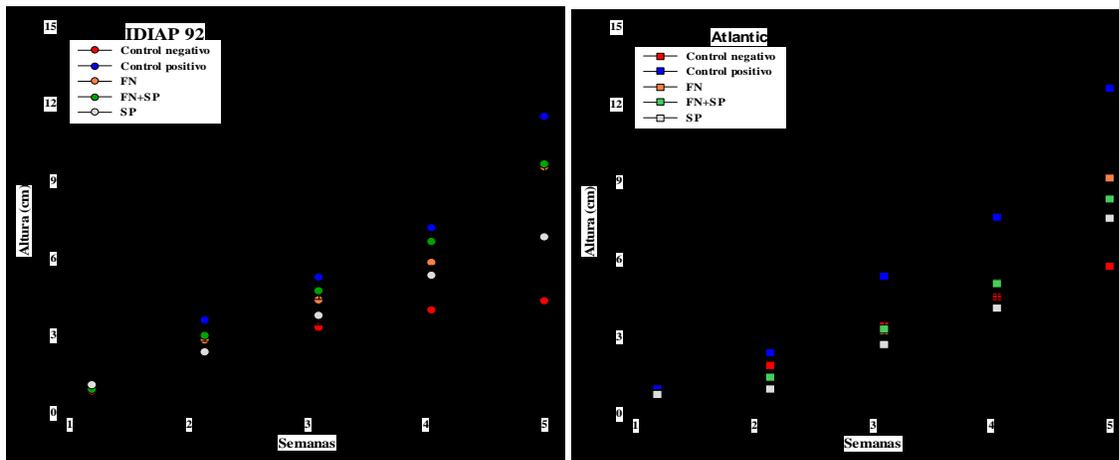


Figura 1 *Altura de las plántulas de papa evaluadas durante 5 semanas. (A), IDIAP92 y (B). ATLANTIC. Las barras corresponden a los errores estándar*

En la Figura 2 se presenta la tasa de multiplicación, medida como el número de microesquejes potenciales formados por las variedades sometidas a los diferentes tratamientos. En términos generales, las variedades mostraron diferencias significativas en la producción de microesquejes, la variedad IDIAP92 logro producir aproximadamente un promedio de 6, mientras que ATLANTIC solo 5 microesquejes. Con respecto a los tratamientos evaluados se puede decir que las mejores respuestas fueron encontradas con CP y FN; en el caso de la variedad IDIAP92 con una tasa promedio de 6.9 y 6.7 microesquejes por planta respectivamente de los tratamientos mencionados, sin diferencias significativas entre ellos, seguido por los tratamientos FN+SP y SP. Aunque la velocidad de la respuesta de los tratamientos con bacterias dependió de la variedad evaluada, en ambos casos se observo una diferencia significativa con respecto al control negativo, indicando que estas bacterias pudieron hacer disponible (desde la turba) nutrientes requeridos por las plantas; Para el caso de las bacterias fijadores de nitrógeno, estos resultados sugieren que las mismas estarían proporcionando no solo nitrógeno (actuando como biofertilizantes), sino que estarían contribuyendo en la disponibilidad de otros nutrientes que necesita la plántula para su desarrollo, mientras que en el control positivo dichos nutrientes son suministrados de forma inorgánica a través de una solución nutritiva contentiva de macro y micro nutrientes. Así mismo, las bacterias han demostrado su capacidad no solo de fijar N, solubilizar fósforo y potasio sino también de producir fitohormonas (actuando como bioestimulantes), entre otras propiedades (Holguin, 2008; Reyes et al., 2008), lo cual adicionalmente pudieran estar ocurriendo en este caso.

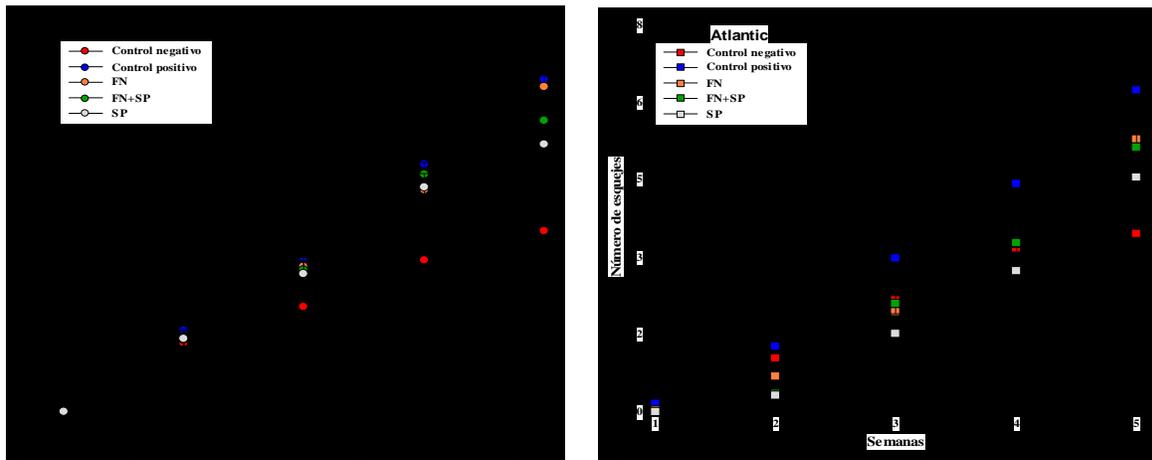


Figura 2. Esquejes potenciales formados por las variedades de papa evaluadas durante 5 semanas. (A), IDIAP92 y (B). ATLANTIC. Las barras corresponden a los errores estándar

La Figura 3 representa el dendrograma del análisis de conglomerados, donde se forman claramente 3 grupos. El primero de ellos, los tratamientos que se destacaron por un mejor desarrollo (IDIAP92: CP, FN, FN+SP y ATLANTIC: CP). En el segundo grupo los pertenecientes a un mediano desarrollo (IDIAP92: SP y todos los tratamientos con bacterias de la variedad ATLANTIC), y un último grupo que correspondió a los controles negativos de ambas variedades, como los tratamiento con menor desarrollo. Esto confirma que la variedad IDIAP en presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno, tuvo respuestas comparativas a los tratamientos con fertilización inorgánica

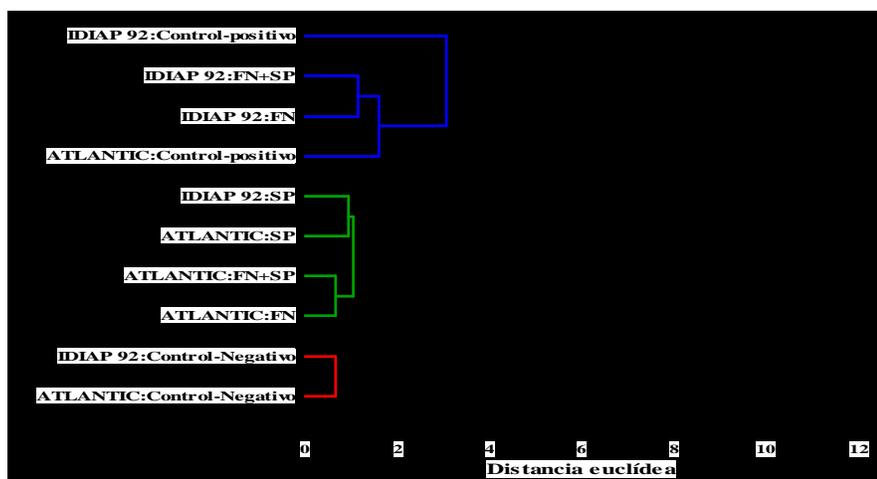


Figura 3. Dendrograma resultado del analisis de conglomerados de los datos utilizando la distancia euclídea

CONCLUSIONES

Se observó un efecto positivo en las plantas inoculadas con bacterias, de las cuales las tratadas con fijadoras de nitrógeno presentaron los mejores índices de desarrollo y crecimiento.

El sistema autotrófico con la incorporación de biofertilizantes permitió una buena adaptación de la planta al invernadero, con lo cual se elimina la fase de aclimatación en el proceso de obtención de semilla prebásica, simplificando los ciclos para la masificación y se reducen las pérdidas de plántulas.

BIBLIOGRAFÍA

- Holguin, G., 2008. La comunicación entre bacterias y plantas. *Ciencia* (abril-junio): 72-78
- Rigato, S., González, A. y Huarte, M. 2001. Producción de Plántulas de Papa a Partir de Técnicas Combinadas de Micropropagación e Hidroponía para la Obtención de Semilla Prebásica. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 12:110-120.
- Reyes, I.; Álvarez, L.; El-Ayoubi, H. y Valery, A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro 20(1)*: 37-48
- Romero, L. 2005. La estrategia de la semilla en el sistema papero de Los Andes de Mérida. Una visión desde la perspectiva Agroecológica. *Tesis Doctoral*. Postgrado de Ecología Tropical, Universidad de los Andes. pp. 108