

Efecto de los microorganismos eficientes Lebame, en la aclimatización *ex vitro* de caña de azúcar (*Saccharum. spp.*) cultivar C87-51

Rafael Gómez-Kosky^{1*}, Aydiloide Bernal-Villegas¹, Carlos Fernando Reyes-Esquirol¹, Dunia Núñez -Jaramillo¹, Midiala Bermúdez-Calimano¹, Yamilet Cardenas-Cuellar², Pablo Machado-Armas¹, Ramiro Castillo-León³

1. Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA) Centro Villa Clara. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Autopista Nacional, km 246, Ranchuelo, Villa Clara. Cuba.
[*rafael.kosky@inicavc.azcuba.cu](mailto:rafael.kosky@inicavc.azcuba.cu)
2. Centro Nacional de Hibridación. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Guayos, Sancti Spiritus. Cuba.
3. GESA Ciego de Ávila. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Ciego de Ávila. Cuba.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es evaluar la efectividad del Lebame sobre la aclimatización *ex vitro* del cultivar de caña de azúcar C87-51. Se utilizó un diseño completamente aleatorio con cuatro tratamientos, tres diluciones del bioproducto (8.0, 10.0, 12.0 mL L⁻¹) y un control (0 mL L⁻¹). Los tratamientos fueron asperjados con Lebame, a partir de los siete días en tres momentos (7, 14 y 21 días). A los 15 días del trasplante se evaluó la supervivencia y, a los 45 días, se evaluaron: formación del cepellón, altura de la planta (cm), 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 y unidades SPAD. Los resultados mostraron un efecto positivo del Lebame en la aclimatización del cultivar C87-51 que superó al control en las variables de calidad evaluadas, con la excepción del diámetro del tallo y la longitud de la hoja ⁺¹, sin encontrar diferencias significativas entre los tratamientos, las diluciones del bioproducto estudiadas no presentaron diferencias estadísticas entre ellas, por lo que con 8 mL L⁻¹ de este fue suficiente para obtener plantas *in vitro* con la calidad requerida.

Palabras clave: microorganismos eficientes, Lebame, aclimatización *ex vitro*.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effectiveness of Lebame on the *ex vitro* acclimatization of the C87-51 sugarcane cultivar. A completely randomized design was used with four treatments, three dilutions of the bioproduct (8.0, 10.0 12.0 mL L⁻¹) and one control (0 mL L⁻¹). The treatments were sprayed with Lebame after 7 days in three moments (7, 14 and 21 days). Fifteen days after transplantation survival was observed and at 45 days, the following were evaluated: root ball formation, plant height (cm), stem diameter (mm), number of roots, fresh plant mass (g), fresh mass of the root (g), fresh mass of the leaf (g), number of leaves, leaf length ⁺¹ and SPAD units. The results showed a positive effect of Lebame in the acclimatization of cultivar C87-51 surpassing the control in the evaluated quality variables, with the exception of the diameter of the stem and the length of the leaf⁺¹ without finding significant differences between treatments, Dilutions of the bioproduct did not present statistical differences, so 8 mL.L⁻¹ were sufficient to obtain *in vitro* plants with the required quality.

Key words: efficient microorganisms, Lebame, *ex vitro* acclimatization.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos eficientes (EM) son una mezcla de microorganismos benéficos naturales, sin manipulación genética, presentes en ecosistemas naturales, fisiológicamente compatibles unos con otros, en lo fundamental bacterias fotosintéticas productoras de ácido láctico, levaduras, actinomicetes y hongos. Estos pueden aplicarse como inoculante para incrementar la diversidad microbiana de los suelos, que aumenta su calidad y sanidad, a su vez, aumenta el crecimiento, calidad y rendimiento de los cultivos, según Arias (1).

El Lebame es un bioproducto constituido por los microorganismos de la colección de cultivos del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), compuesto por una mezcla de *Bacillus subtilis* B/23-45-10 Nato, *Lactobacillus bulgaricum* B/103-4-1 y *Saccharomyces cerevisiae* L-25-7-12, con una concentración de 10^6 UFC mL⁻¹, mezclado con miel final de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) y sulfato de amonio, a través de un proceso fermentativo. Este producto tiene estabilidad hasta seis meses y puede almacenarse a temperatura ambiente indican Ortega et al. (2).

En trabajos realizados por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), con la aplicación de dos diluciones (5 y 10 mL L⁻¹) de Lebame en diferentes cultivos hortícolas: pimiento (*Capsicum annuum* L.), tomates (*Solanum lycopersicum* Mill), lechuga (*Lactuca sativa* L.), acelga (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*), cebolla (*Allium cepa*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), girasol (*Helianthus annuus* L.) y col (*Brassica oleracea* L.). Se logró estimular su crecimiento, desarrollo y rendimiento con la aplicación de 10 mL L⁻¹ de Lebame, según Terry et al. (3). En tomate se demostró el efecto positivo de cuatro diluciones de este producto (2,5; 5; 10; 15 mL L⁻¹) sobre la germinación de las semillas, expresan Carrillo et al. (4).

En la fase de aclimatización *ex vitro*, de la Biofábrica, se aplican diferentes productos con el objetivo de estimular la supervivencia, el crecimiento y desarrollo de los cultivares en esta fase. Esto contribuye a aumentar la capacidad del umbráculo, al reducir el tiempo de permanencia de las plantas *in vitro* de caña de azúcar. Existe poca información sobre el uso de microorganismos benéficos en la aclimatización *ex vitro* de plantas *in vitro*, indica Pandey et al. (5).

En la literatura científica consultada no se ha encontrado, hasta el presente, información sobre la utilización de este producto en la aclimatización *ex vitro* de la caña de azúcar. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto del Lebame sobre el crecimiento de las plantas *in vitro* de del cultivar C87-51, en condiciones de cultivo *ex vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en la Biofábrica de Caña de Azúcar, que pertenece a la Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar Centro-Villa Clara (ETICA centro-VC). Se utilizaron plantas *in vitro* del cultivar C87-51, procedentes de la fase de enraizamiento con 15 días de cultivo, estas tenían una altura mayor de 3.0 cm y de 3-5 las hojas. Fueron trasplantadas a bandejas plásticas de 60 alveolos, con capacidad de 76 cm³ de sustrato, compuesto por compost, a partir de cachaza de restos de la caña de azúcar y zeolita en proporción de 3:1 (v/v).

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio con cuatro tratamientos, tres diluciones de Lebame (8.0, 10.0, 12.0 mL L⁻¹) y un control (0 mL L⁻¹). El bioproducto se asperjó con una mochila con capacidad para 16 L, a los siete, 14 y 21 días, después del trasplante. En cada bandeja se plantaron 60 plantas *in vitro*, que permanecieron en condiciones de umbráculo. La atención cultural a las plantas *in vitro*, durante todo el experimento fue según el manual de procedimientos establecido por Jorge et al. (6).

A los 15 días del trasplante se evaluó la supervivencia y, a los 45 días, se tomaron 15 plantas por tratamiento y se realizaron las siguientes evaluaciones: 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 según Reeves *et al.* (7).

Condiciones de cultivo

Las bandejas con las plantas *in vitro* fueron colocadas bajo umbráculo, estructura metálica sin techo, de plástico, y cubierta con una malla sombra, de color negro, que permitió la reducción del 50 % de la intensidad luminosa. Esta osciló entre 224 y 457 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, medida con un luxómetro LM 76 Lightmeter (París, Francia). La humedad relativa del 70-85 %, con riego dos veces al día, por microaspersión, durante 5 minutos. La temperatura de 25 ± 2 °C en época de seca y 32 ± 2 °C en época de lluvia. Se emplearon un total de 180 plantas *in vitro*. En tres bandejas por tratamiento, como repetición.

Análisis estadístico

En el análisis de la normalidad de las variables se utilizó la prueba de *Shapiro Wilk* y la homogeneidad de varianza por Levene. Para la comparación entre las medias, se aplicó un Análisis de varianza (ANOVA simple) y la diferencia entre las medias se determinó por la prueba de Tukey. Se utilizó el Paquete Estadístico SPSS, versión 23.0 del 2015 para Windows. En todos los casos, las diferencias significativas fueron establecidas para $p \leq 0.05$. Todos los experimentos se repitieron dos veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el efecto del Lebame en la fase de aclimatización *ex vitro*, sobre las plantas *in vitro* de caña de azúcar, las variables altura, masa fresca de las plantas y de las raíces alcanzaron valores significativamente superiores al control, con las tres diluciones utilizadas de Lebame. Entre ellas no hubo diferencias estadísticas (tabla 1).

Tabla 1. Efecto del Lebame sobre la altura y masa fresca de la planta y masa fresca de la raíz de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) cv. C87-51 en fase de aclimatización *ex vitro* a los 45 días de cultivo

Diluciones	Altura de la planta (cm)	Masa fresca de la planta (g)	Masa fresca de la raíz (g)
Control	16.37 b	5.40 b	1.49 b
8 mL L ⁻¹ de Lebame	18.23 a	6.77 a	2.18 a
10 mL L ⁻¹ de Lebame	17.85 a	6.64 a	2.17 a
12 mL L ⁻¹ de Lebame	17.58 a	6.47 a	2.11 a
EE	11.87 $\pm$ 0.28	6.32 $\pm$ 0.10	1.99 $\pm$ 0.07
CV	11.87	12.1	26

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p < 0.05$ (n=60) EE. Error Estandar, CV. Coeficiente de Variación.

La literatura científica consultada refiere que los biofertilizantes son productos elaborados a base de microorganismos que viven en el suelo, en poblaciones bajas. Cuando estas se incrementan de forma artificial, ponen a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de las sustancias nutritivas que necesitan para su desarrollo y suministrar sustancias hormonales o promotoras del crecimiento Shankar et al. (8).

El contenido de clorofilas totales (unidades SPAD), el número de hojas y la masa fresca de la hoja fueron superiores al control, con las tres diluciones empleadas de este bioproducto. Es importante señalar que entre ellas no mostraron diferencias estadísticas (tabla 2). Resultado similar al mostrado en la tabla 1.

Tabla 2. Efecto del Lebame sobre el número y masa fresca de la hoja y unidades SPAD de la planta *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) cv. C87-51 en la fase de aclimatación *ex vitro* a los 45 días de cultivo

Diluciones de Lebame	Número de hojas	Unidades SPAD	Masa fresca de la hoja (g)
Control	4.27 b	31.32 b	4.27 b
8 mL L ⁻¹ de Lebame	4.80 a	35.82 a	4.80 a
10 mL L ⁻¹ de Lebame	5.07 a	38.33 a	5.07 a
12 mL L ⁻¹ de Lebame	4.87 a	38.11 a	4.87 a
EE	9.75	35.90±0.11	9.75
CV	4.75 ± 0.06	7.9	4.75 ± 0.06

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p < 0.05$ (n=60) EE. Error Estandar, CV. Coeficiente de Variación.

La importancia de estos bioproductos radica en su capacidad para suplementar o movilizar nutrientes con un mínimo uso de recursos no renovables, que pueden aplicarse en pequeñas unidades para solucionar problemas locales y no contaminar el medio ambiente, indica Fernández (8).

El número de raíces también fue significativamente superior, con las tres diluciones utilizadas de este bioproducto. La longitud de la hoja⁺¹ y el diámetro del tallo no presentaron diferencias estadísticas, en ninguno de los tratamientos. La formación del cepellón no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, ni entre estos y el control (tabla 3).

Tabla 3. Efecto del Lebame sobre el número de raíces, la longitud de la hoja+1, y diámetro del tallo de las plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) cv. C87-51 en la fase de aclimatación *ex vitro* a los 45 días de cultivo

Diluciones de Lebame	Número de raíces	Longitud de la hoja + 1 (cm)	Diámetro del tallo (mm)
Control	9.6 b	61.05 a	3.64 a
8 mL L ⁻¹ de Lebame	13.3 a	63.32 a	3.77 a
10 mL L ⁻¹ de Lebame	12.8 a	60.13 a	3.66 a
12 mL L ⁻¹ de Lebame	13.8 a	60.79 a	3.75 a
EE	12.62 ± 0.24	61.32 ± 0,7	3.71 ± 0.057
CV	14.9	8.63	11.58

Medias con letras no comunes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según prueba de Tukey para $p < 0.05$ (n=60) EE. Error Estandar, CV. Coeficiente de Variación.

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 para lograr plantas con los parámetros de calidad requeridos y acortar el tiempo de las mismas en esta fase de la propagación *in vitro*. Por lo que el incremento del número de raíces pudiera ser debido a la necesidad de estas de absorber agua. Los microorganismos eficientes (ME) tienen la capacidad de desarrollar efectos beneficiosos entre el suelo y la planta según Lindani (9).

Con las tres dosis de Lebame se lograron parámetros de calidad superiores en las plantas *ex vitro*, en comparación con el control (figura 1). Al respecto, Terry et al. (3), informaron resultados satisfactorios con la aplicación 10 mL L⁻¹ de bioestimulante en diferentes cultivos hortícolas. Resultados similares también señalaron Carrillo et al. (4) con las diluciones de (2.5; 5; 10; 15 mL L⁻¹) de este bioproducto 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.



Figura 1. Plantas *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum* spp. cv C87-51) a los 45 días de cultivo, en fase de aclimatización *ex vitro*, con la aplicación de las diferentes diluciones de Lebame.

CONCLUSIONES

El Lebame tiene un efecto positivo sobre las plantas *in vitro* de caña de azúcar del cultivar C87-51, que permite lograr plantas con la calidad requerida para su comercialización. No se encontraron diferencias entre las diluciones de Lebame, por lo que 8 mL.L⁻¹ son suficientes para lograr plantas *in vitro* con la calidad requerida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arias, A. Microorganismos Eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente. Revista de Ciencia e Ingeniería. 2010. 02 (02), pp. 42-45.
2. Ortega, G.M.; Díaz de Villegas, M.E.; Delgado, G.; Martínez, A. Estudio de estabilidad del bioproducto Lebame. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar. 2015. 49 (3), pp.3-8.
3. Terry, E.; Ruiz, J.; Carrillo, Y.; Díaz, M.E. y Delgado, G. Resultados del Lebame en cultivos hortícolas de interés económico Memorias de Diversificación 2017.

4. Carrillo, Y.; Terry, E.; Ruiz, J.; Díaz, M.E. y Delgado, G. Efecto del Lebame en la germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Cultivos Tropicales, 2017, 38 (3), pp. 30-35.
5. Pandey, A.; Soccol, C.; Nigam, P.; Soccol, V.T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: Sugarcane bagasse. Bioresource Technology, 2000, 74(1):69-80.
6. Jorge, H.; Jorge, I.; Gómez, J.; Mesa, J.M.; Bernal, A. Normas y Procedimientos del Programa de Fitomejoramiento de la Caña de Azúcar. Actualización 2011. PUBLINICA, La Habana, Cuba. 2011 291:310 pp.
7. Reeves, D.W.; Mask, P.L.; Wood, C.W.; y Delaney, D.P. Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: influence of management practices. Journal of plant Nutrition 1963. 16: 781-796.
8. Shankar, S.J.; Chandra, P.V.; Singh, D.P. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. Agriculture Ecosystems & Environment. 2011;140(3-4):339-53.
9. Fernández, A.L.; Sagardoy, A.M. Bacterias solubilizadoras de fósforo como biofertilizantes: aislamiento caracterización diversidad y promoción del crecimiento vegetal. En: Rizosfera Biodiversidad y Agricultura Sustentable. 1st ed. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología; 2013. p. 137-50.
10. Lindani, N.; Olivier, M. Effects of the integrated use of effective micro-organisms compost and mineral fertilizer on greenhouse-grown tomato. African Journal of Plant Science. 2012;6(3):120-4.