



EFECTO DEL LEBAME EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Effect of LEBAME on germination of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seeds

Yudines Carrillo Sosa^{1✉}, Elein Terry Alfonso¹,
Josefa Ruiz Padrón¹, María E. Díaz De Villegas²
y Grizel Delgado²

ABSTRACT. The inoculation of efficient microorganisms to the ecosystem improves the soil quality and the plant growth, as well as, it helps the decomposition process of organic materials. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of bioproduct LEBAME, determining dilutions as well as imbibition times on tomato germination of seeds. The study was carried out as a randomized complete bifactorial experimental design and treatments were combinations of three imbibition times (15, 30 y 60 minutes), four dilutions of LEBAME (2,5; 5; 10; 15 mL L⁻¹) and one control imbibed with water (0 mL L⁻¹). Data were processed through a factorial ANOVA using the IBM SPSS (version 19) program. Results showed a positive response of LEBAME on germination of tomato seeds. The dilutions studied were statistically different between them; those of 5, 10 and 15 mL L⁻¹ were significantly higher. Although with only 5 mL L⁻¹ it was enough to get the greater stimulation and an increase in length of the radicle and the hypocotyl, reaching values of 21 and 32 % respectively, compared to the control imbibed with water. Taking into account the results obtained in this research, the positive effect of the product LEBAME by stimulating the germination process was demonstrated, so it can be considered a promising product for Cuban agriculture.

Key words: growth, stimulation, vegetables, microorganisms

INTRODUCCIÓN

El tomate es la hortaliza más ampliamente difundida en todo el mundo y la de mayor valor económico.

RESUMEN. La inoculación de microorganismos eficientes al ecosistema mejora la calidad del suelo y el crecimiento de las plantas; así como, ayuda al proceso de descomposición de materiales orgánicos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad del bioproducto LEBAME determinando las diluciones y los tiempos de imbibición en la germinación de las semillas de tomate. El experimento se llevó a cabo mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Los tratamientos fueron combinaciones de tres niveles de tiempos de imbibición (15, 30 y 60 minutos), con cuatro diluciones de LEBAME (2,5; 5; 10; 15 mL L⁻¹) y un control embebido en agua (0 mL L⁻¹). Los datos fueron procesados a través de un ANOVA factorial utilizando el programa IBM SPSS Statistics (versión 19). Los resultados mostraron una respuesta positiva del LEBAME sobre la germinación de las semillas de tomate. Las diluciones estudiadas difirieron estadísticamente entre ellas; las de 5, 10 y 15 mL L⁻¹ fueron significativamente superiores, aunque con solo 5 mL L⁻¹ fue suficiente para obtener el mayor estímulo y un incremento de la longitud de la radícula y del hipocotilo alcanzando valores con respecto al control embebido en agua de 21 y 32 % respectivamente. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en esta investigación se demostró, el efecto positivo del bioproducto LEBAME al estimular el proceso de germinación, considerándose un producto promisorio para la agricultura cubana.

Palabras clave: crecimiento, estimulación, hortalizas, microorganismos

Es la segunda especie en importancia dentro del género *Solanum* spp., por su papel en los hábitos alimenticios de una amplia parte de la población mundial^A.

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32700

² Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA-Cuba)

✉ yudines@inca.edu.cu

^AFoolad M. Genome mapping and molecular breeding of tomato. International Journal of Plant Genomics. 2007;1-52. doi: 10.1155/2007/64358

En Cuba, en el año 2014 la superficie sembrada de este cultivo ocupó 44 885 hectáreas lo que representa el 22,2 % de la superficie sembrada de hortalizas, con un nivel de producción de 454 112 toneladas y un rendimiento promedio de 10,12 t ha⁻¹. Comparado con el año 2013, se produjo una disminución en la superficie cosechada, la producción obtenida y el último indicador anteriormente mencionado en 17,32, 33,03 y 18,98 % respectivamente^B.

En este sentido, conforme van pasando los años se hacen más evidentes los daños que causa el uso indiscriminado e inconsciente de fungicidas, plaguicidas y fertilizantes minerales, provocando efectos negativos y acumulativos en suelo, las plantas, los animales y el hombre. Las prácticas agrícolas llevadas a cabo durante décadas, han conducido a un desequilibrio de la ecología microbiana del suelo lo cual se manifiesta en su aspecto físico, químico y biológico (1).

Los biofertilizantes son productos a base de microorganismos que viven normalmente en el suelo, aunque en poblaciones bajas, al incrementarlas por medio de la inoculación artificial, son capaces de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de las sustancias nutritivas que necesitan para su desarrollo; así como, suministrar sustancias hormonales o promotoras del crecimiento (2). 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 que no contaminan el medio ambiente (3).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) influyen en las plantas mediante una multitud de mecanismos diferentes y existen en la literatura revisiones extensivas que así las describen (4).

Uno de los bioproductos utilizados con éxito en la agricultura son los microorganismos eficientes (ME) los cuales fueron desarrollados en la década de los 70, por el profesor japonés Teruo Higa. Teóricamente este producto comercial se encuentra conformado esencialmente por tres diferentes tipos de organismos: levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias fotosintéticas (5), encontrándose que el éxito de su efecto potenciador estaba en su mezcla; por eso se dice, que la suma de los tres tiene mayor efecto que cada uno por separado^C.

Inicialmente, los ME fueron desarrollados para el mejoramiento de los suelos y el tratamiento de los residuos agropecuarios como vía de nutrición de las plantas. En los últimos tiempos y a la luz de las exigencias contemporáneas caracterizadas por la demanda mundial

de una producción más sana, el interés por el uso de los biofertilizantes ha ido en incremento progresivo. Por otra parte, los microorganismos manejan la estabilidad y productividad de los agroecosistemas y varias investigaciones se dirigen al beneficio que aportan a la productividad agrícola (6,7).

De acuerdo a estos antecedentes, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad del bioproducto LEBAME determinando las diluciones y los tiempos de imbibición con mayor efecto en la germinación de las semillas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental fue realizado en el mes de diciembre de 2013, en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), ubicado en San José de las Lajas, provincia Mayabeque, en el laboratorio del departamento de Fitotecnia. El cultivo indicador fue el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), cultivar 'Mara' (8).

El bioproducto estudiado fue LEBAME, obtenido por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), el cual se presenta en forma líquida y está compuesto por una combinación de microorganismos eficientes de los géneros *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus bulgaricum* y *Saccharomyces cerevisiae*, contando con un título de 10⁶ ufc mL⁻¹.

Para estudiar la respuesta germinativa de las semillas de tomate a la aplicación de diferentes diluciones y tiempos de imbibición en LEBAME, el experimento se realizó con un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Los tratamientos estuvieron conformados por combinaciones de niveles de dos factores (A: tiempo de imbibición y B: diluciones); se combinaron tres tiempos diferentes (A: 15, 30 y 60 minutos) con cuatro diluciones (B: 2,5; 5; 10; 15 mL L⁻¹) y un control embebido en agua; dando lugar a 15 tratamientos con cinco repeticiones para un total de 80 placas petri. Las combinaciones de los tratamientos estudiados se muestran en la Tabla I.

Las semillas de tomate se colocaron en frascos de cristal que contenían 100 mL del bioproducto. Se realizó la siembra de 20 semillas por placa empleando papel de filtro como sustrato humectado con 5 mL de agua destilada, permaneciendo en la oscuridad. A las cinco placas de cada tratamiento se les evaluó diariamente el número de semillas germinadas, tomándose como criterio de germinación la emisión de la radícula, a partir del cual se determinaron los días y los porcentajes de germinación. Estos datos fueron transformados mediante la fórmula $\arcsin\sqrt{\dots}$; además se calculó el índice de velocidad de germinación (IVG) mediante la fórmula: $IVG = \sum (ni/ti)$ (9), donde:

IVG – Índice de velocidad de germinación
ni – número de semillas germinadas
ti – tiempo necesario para alcanzar el mayor porcentaje de germinación

^B ONEI. Agricultura, Ganadería, Silvicultura y Pesca. In: Anuario estadístico de Cuba 2014; 2015. 33 p.

^C Higa T. Una revolución para salvar la tierra [Internet]. EM Res Organ Okinawa; 1993 [cited 2015 Dec 10]. Available from: <http://www.biopunto.cl/>

Tabla I. Descripción de los tratamientos estudiados

No	Tratamientos	
	D	TI
1		15 min
2	2,5 mL L ⁻¹	30 min
3		60 min
4		15 min
5	5 mL L ⁻¹	30 min
6		60 min
7		15 min
8	10 mL L ⁻¹	30 min
9		60 min
10		15 min
11	15 mL L ⁻¹	30 min
12		60 min
13		15 min
14	0 mL L ⁻¹ (agua)	30 min
15		60 min

D: diluciones; TI: tiempo de imbibición

A los cuatro días después de la siembra, se midieron las longitudes de las radículas y de los hipocotilos (cm) de cuatro plántulas por cada placa, para un total de 20 plántulas por tratamientos. Son indicadores de crecimiento que permitieron calcular posteriormente la relación longitud del hipocotilo y la radícula (LR/LH). Los datos fueron procesados mediante un ANOVA factorial y las medias fueron comparadas mediante la dócima de Duncan (10) para un 5 % de significación, después de verificarse que cumplían con el ajuste de distribución normal y de homogeneidad de varianzas. Todo ello a través del programa IBM (11).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla II se puede observar que no hubo interacción significativa entre las variables estudiadas. El efecto manifestado por las diluciones para la mayoría de las variables, no constituye una respuesta aditiva de los tiempos de imbibición. Considerando los resultados obtenidos se separaron los efectos de cada uno de ellos.

No se encontraron diferencias significativas entre los tres niveles de tiempo de imbibición. Por lo tanto, desde el punto de vista práctico, la imbibición de las semillas de tomate en LEBAME durante 15 minutos (menor tiempo), se convierte en la mejor propuesta estudiada.

La imbibición de las semillas durante 15 minutos, también fue investigada por otros autores.

Los resultados obtenidos con este tiempo de imbibición, mostraron un aumento significativo con respecto al control, en cuanto al tamaño de las posturas, el tallo y la longitud de las raíces de dos solanáceas (berenjena y ají), al ser embebidas en un biopreparado de la bacteria *Brevibacillus borstelensis* B65 (12).

En la Tabla III se observa el efecto de diferentes diluciones y tiempo de imbibición del bioproducto LEBAME en la germinación de las semillas de tomate. Al analizar independientemente cada factor, se pudo observar que la variable porcentaje de germinación no difirió estadísticamente entre los tratamientos, manifestando resultados muy similares para todos. De igual manera, se evidenciaron valores cercanos al 100 % lo cual se considera un poder germinativo alto.

Las Figuras 1 y 2 muestran los resultados de los análisis de las combinaciones del efecto de las diluciones; por ser el único factor que resultó significativo para el resto de las variables estudiadas.

La imbibición de las semillas de tomate en las diluciones 5, 10 y 15 mL L⁻¹ de LEBAME, provocó una disminución en los días a la germinación (Figura 1A). Prácticamente el total de las semillas germinadas (99-100 %) fue con un día de antelación con respecto a las del tratamiento control (97-98 %), lo que constituyó un aumento en la velocidad de la misma en 26,9 % (Figura 1B). Sin embargo, en relación con los tratamientos embebidos en la dilución 2,5 mL L⁻¹ y el control en agua los resultados fueron estadísticamente similares.

Las diluciones estudiadas difirieron estadísticamente entre ellas, la más baja alcanzó menor efectividad; en cambio, las diluciones 5, 10 y 15 mL L⁻¹ fueron significativamente superiores y no difirieron entre sí (Figura 2A). De esta forma, se evidencia que con solo 5 mL L⁻¹ es suficiente para obtener el mayor estímulo en el crecimiento a partir de un incremento de la longitud de la radícula y del hipocotilo, alcanzando valores superiores con respecto al control embebido en agua de 21 y 32 % respectivamente.

En la Figura 2B, se puede observar que la relación (LH/LR), mostró un comportamiento similar entre las diluciones estudiadas; aunque, manifestó diferencias estadísticas con respecto al control superándolo en un 10 %. Cuyas diferencias pudieron estar dadas por el aumento de la longitud de la radícula, proporcionando ventajas en cuanto al aumento del área de absorción de agua respecto a la parte aérea.

Tabla II. Pruebas de los efectos entre los factores para las variables estudiadas

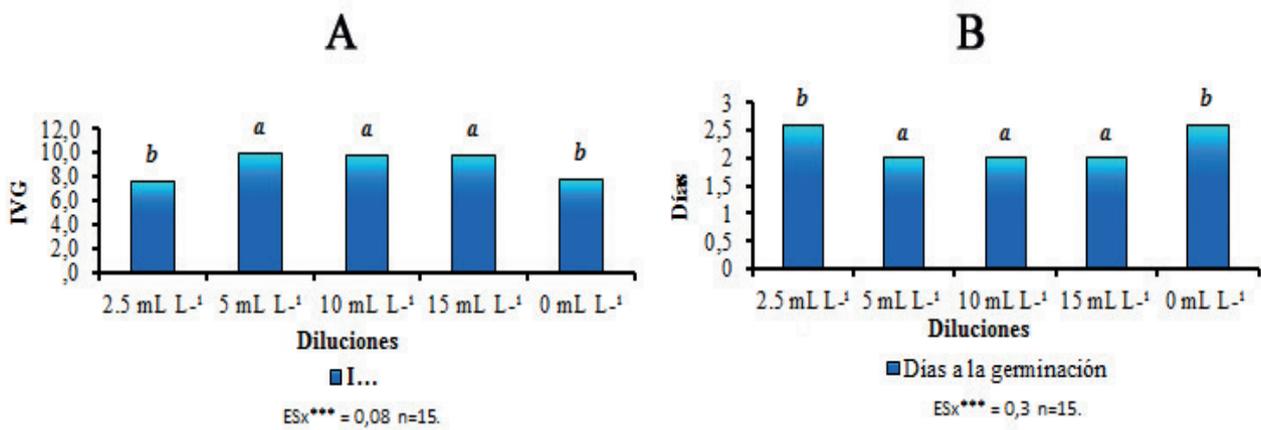
Variables estudiadas	% de germinación	Días	IVG	Longitud		LR/LH
				Hipocotilo	Radícula	
diluciones	,243	,000	,000	,000	,000	,000
tiempo	,152	,889	,923	,498	,889	,663
diluciones*tiempo	,779	,998	,999	,633	,494	,565

Valores de p≤0,05 efecto significativo

Tabla III. Efecto de dosis del LEBAME en la germinación de semillas de tomate

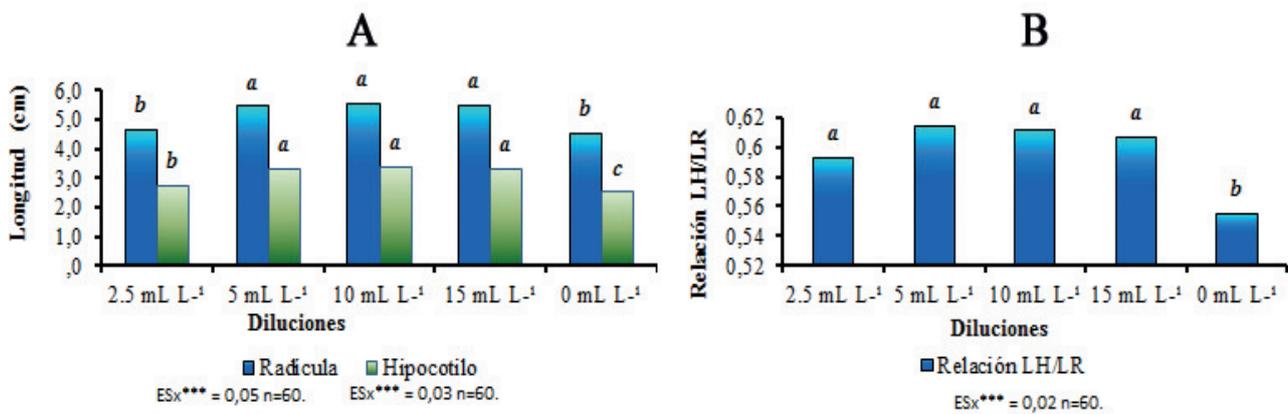
D	Tratamientos	TI	No	Germinación (%)	arcos√
2,5 mL L ⁻¹		15 min	1	97	1,44
		30 min	2	99	1,53
		60 min	3	98	1,48
5 mL L ⁻¹		15 min	4	98	1,48
		30 min	5	100	1,57
		60 min	6	100	1,57
10 mL L ⁻¹		15 min	7	97	1,44
		30 min	8	99	1,53
		60 min	9	100	1,57
15 mL L ⁻¹		15 min	10	98	1,48
		30 min	11	99	1,53
		60 min	12	99	1,53
0 mL L ⁻¹ (agua)		15 min	13	98	1,48
		30 min	14	97	1,44
		60 min	15	97	1,46
ESx***					0,04 NS

Medias con letras comunes no difieren significativamente según Duncan para p≤0,05



IVG: índice de velocidad de germinación
Medias con letras comunes no difieren significativamente según prueba de Duncan (p≤0,05)

Figura 1. Efecto de las diluciones del LEBAME en el IVG (A) y días a la germinación (B)



A: longitud de la radícula y el hipocotilo; B: relación longitud hipocotilo/radícula (LH/LR)
Medias con letras comunes no difieren significativamente según prueba de Duncan (p≤0,05)

Figura 2. Efecto de las diluciones del LEBAME en algunas variables del crecimiento de plántulas de tomate

Por otra parte, también el incremento de las longitudes de la radícula se le pudiera atribuir a la necesidad de las plántulas de absorber agua. Valores similares fueron obtenidos al evaluar el efecto de una mezcla de fosfolípidos de origen natural, sobre la germinación *in vitro* de semillas de tres cultivares de tomate. Se observó un efecto inductor sobre el crecimiento radicular de las plántulas, dados por longitudes de radículas significativamente superiores con respecto a los controles (13). Los fosfolípidos son fuentes de fósforo orgánico, por la acción de las fosfolipasas, con implicación directa en todas las fases de desarrollo y especialmente en la fase inicial de germinación de las semillas y formación de las plántulas (14).

De acuerdo con otras investigaciones (15), es atribuible también a *Bacillus* sp, la capacidad de solubilización de fosfatos. En los medios de cultivo se detectó hasta 56,0 mg L⁻¹ de fósforo soluble (P-PO₄), comparable a la obtenida por otras bacterias rizosféricas. Además, el ensayo arrojó que presentan propiedades bioquímicas y fisiológicas relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal. La cepa *Bacillus subtilis* BEB13-bs no se destaca por mejorar la germinación, mientras que incrementa la biomasa en plántulas, presentando el mejor efecto sobre el vigor tanto en plántulas de tomate como de pimiento. También mejora su sistema radical provocando un incremento significativo en la masa seca y la longitud de las raíces de 18-26 % y 13-15 % respectivamente, en comparación con el tratamiento control.

La germinación depende de la viabilidad del embrión y de la ruptura del letargo. En este último caso, inciden las bacterias promotoras del crecimiento vegetal; pues se ha explicado que la reducción en los niveles de etileno por efecto de la actividad de la enzima desaminasa del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) en la semilla, aumentaría su germinación, junto con la producción de ácido indolacético (AIA) que estimularía la división celular, para así favorecer el inicio del crecimiento del embrión (16).

Respecto a los microorganismos eficientes (ME) se plantea que pueden coexistir en culturas mixtas y que son fisiológicamente compatibles unos con otros y que, además, tienen la capacidad de desarrollar efectos beneficiosos en suelos y plantas (17).

Por otra parte, trabajos desarrollados en condiciones de semilleros, demostraron que los ME ejercen las funciones de aumentar la velocidad y el porcentaje de germinación de las semillas por su efecto hormonal, similar al del ácido giberélico. También aumenta el vigor y el crecimiento del tallo y de las raíces, desde la germinación hasta la emergencia de las plántulas, por su efecto como RPCV; se incrementan las probabilidades de supervivencia

de las plántulas, así como, aseguran una mejor germinación y desarrollo (18).

Las respuestas a la inoculación pueden ser variables y los microorganismos presentes pueden colonizar y permanecer en la rizosfera; por otra parte, los incrementos en producción de biomasa deberían ser considerados de relevancia ecológica (19).

CONCLUSIONES

- ◆ Se demuestra el efecto positivo del bioproducto LEBAME al estimular el proceso de germinación de las semillas de tomate.
- ◆ No hubo diferencias entre los tiempos de imbibición, lo que evidencia que, con solo 15 minutos, es suficiente para estimular las variables estudiadas.
- ◆ El efecto de las diluciones 5, 10 y 15 mL L⁻¹ resultó significativo, las variables IVG, la longitud de la radícula, del hipocotilo y la relación LH/LR superaron al control en 27, 21, 32 y 10 % respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Terry AE, Leyva GÁ, Hernández A. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Revista Colombiana de Biotecnología. 2005;7(2):47-54.
2. Shankar SJ, Chandra PV, Singh DP. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. Agriculture Ecosystems & Environment. 2011;140(3-4):339-53.
3. Fernández AL, Sagardoy AM. Bacterias solubilizadoras de fósforo como biofertilizantes: aislamiento caracterización diversidad y promoción del crecimiento vegetal. In: Rizosfera Biodiversidad y Agricultura Sustentable. 1st ed. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología; 2013. p. 137-50.
4. Ribaud MC, Riva SD, Curá AJ, Ponds C, Granel-R A. Etileno como mediador de los mecanismos directos e indirectos de la promoción del crecimiento vegetal ejercido por rizobacterias. In: Rizosfera Biodiversidad y Agricultura Sustentable. 1st ed. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología; 2013. p. 215-240.
5. Margulis L, Bassler B, Sandín M, Restrepo J. Macrobiótica: Nutrición Simbiótica y Microorganismos Regeneradores. 1st ed. Madrid: Integralia la casa natural; 2014. 389 p.
6. Carrillo CG, Juárez J, Ruiz LD, Müller GR. Aumento del rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cuando la raíz se desarrolla colonizada por microorganismos. Biotecnología Aplicada. 2000;17(3):171-6.
7. Liriano GR, Núñez DB, Hernández L, Castro A. Evaluación de microorganismos eficientes y *Trichoderma harzianum* en la producción de posturas de cebolla (*Allium cepa* L.). Centro Agrícola. 2015;42(2):25-32.
8. Moya LC, Álvarez M, Domini CME, Arzuaga SJA. Mara nueva variedad de tomate de mesa. Cultivos Tropicales. 2004;25(2):69.

9. Khan AM, Ungar AI. The Effect of salinity and temperature on the germination of polymorphic seeds and growth of *Atriplex triangularis* Willd. *American Journal of Botany*. 1984;71(4):481-9.
10. Duncan DB. Multiple Range and Multiple F Tests. *Biometrics*. 1955;11(1):1-42.
11. IBM Corporation. IBM SPSS Statistics [Internet]. U.S: IBM Corporation; 2011. Available from: <http://www.ibm.com>
12. Nápoles VS, Serrat DM, Ortega DE, Ramos BH. Efectos de *Brevibacillus hortelensis* B65 sobre la germinación y el desarrollo de posturas de hortalizas en fase de semillero. *Cultivos Tropicales*. 2015;35(3).
13. Travieso MC, Pino O, Sánchez Y, Rojas M, Peteira B. Evaluación *in vitro* del efecto de fosfolípidos sobre la germinación de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cultivos Tropicales*. 2015;36(2):148-52.
14. Nakamura Y, Koizumi R, Shui G, Shimojima M, Wenk MR, Ito T, Ohta H. Arabidopsis lipins mediate eukaryotic pathway of lipid metabolism and cope critically with phosphate starvation. *National Academy of Sciences*. 2009;106:20978-83.
15. Luna ML, Martínez PRA, Hernández IM, Arvizu MSM, y Pacheco AJR. 'Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento.' *Revista Fitotecnia Mexicana*. 2013;36(1):63-9.
16. Jalili F, Khavazi K, Pazira E, Nejati A, Rahmani HA, Sadaghiani HR, Miransari M. Isolation and characterization of ACC deaminase-producing fluorescent pseudomonads to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. *Journal of plant physiology*. 2009;166(6):667-74. doi: 10.1016/j.jplph.2008.08.004.
17. 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.
18. Kloepper WJ, Castillo JD, Burkett CM, Lawrence SK. Más allá del tratamiento a las semillas: Evolución de productos basados en PGPRs que contienen complejas comunidades microbianas. In: *Rizosfera Biodiversidad y Agricultura Sustentable*. 1st ed. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología; 2013. p. 241-60.
19. García SIE. Bacterias solubilizadoras de fósforo como biofertilizantes: aislamiento caracterización diversidad y promoción del crecimiento vegetal. In: *Rizosfera Biodiversidad y Agricultura Sustentable*. 1st ed. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología; 2013. p. 137.

Recibido: 3 de junio de 2016

Aceptado: 6 de febrero de 2017