

# RESPUESTA DEL CULTIVO GARBANZO (*CICER ARIETINUM* L.) A LA INOCULACIÓN CON *MESORHIZOBIUM CICERI* EN LA REGIÓN CENTRO DE CÓRDOBA

Ayoub, I.<sup>1</sup>; Bigatton, E.D.<sup>1</sup>; Gastaldi, N.<sup>1</sup>; Berdini, A.<sup>1</sup>; Archilla, .V.<sup>1</sup>; Bruno, M.A.<sup>1</sup>; Pizzolitto, R.P.<sup>1,2</sup>; Martín, M.P.<sup>1</sup>; Dubini, L.E.<sup>1</sup>; Vázquez, C.<sup>1</sup>; Merlo, C.<sup>1,2</sup>; Lucini, E.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Microbiología Agrícola. Córdoba. Argentina.

<sup>2</sup>Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-CONICET). Córdoba. Argentina.

iayoub@unc.edu.ar

## RESUMEN

El garbanzo es una de las legumbres más importantes en el mundo. En Argentina, la provincia de Córdoba concentra el 50% de la producción nacional. Es conocido que la inoculación del cultivo con *Mesorhizobium ciceri*, es una alternativa sustentable para incrementar el rendimiento y la calidad del grano obtenido. El objetivo fue evaluar la respuesta del cultivo de garbanzo a la inoculación con *M. ciceri* en la región centro de Córdoba. El ensayo fue realizado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC) utilizando el cultivar Norteño. Se realizaron dos tratamientos: a) semillas inoculadas con *M. ciceri* (In), y b) control sin inocular (C). Las plantas inoculadas presentaron mayor número, peso y porcentaje de nódulos funcionales. En las plantas inoculadas se alcanzó un rendimiento mayor (10,84 qq.ha<sup>-1</sup> vs. 4,87 qq.ha<sup>-1</sup>) y los granos presentaron mayor calibre. La inoculación con *M. ciceri* incrementó el rendimiento y la calidad del grano cosechado.

**Palabras clave:** Bioinsumos – rizobacterias – rendimiento – Fijación Biológica del Nitrógeno.

## INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es una de las legumbres invernales más importantes en el mundo. Se cultivan aproximadamente 10 millones de hectáreas a nivel mundial y la producción es de aproximadamente 8 millones de toneladas (Vizgarra et al., 2013). Los rendimientos promedios a nivel mundial son de 880 kg.ha<sup>-1</sup> en condiciones de secano y 1500 kg.ha<sup>-1</sup> bajo riego (Sadri y Banai, 1996)

En Argentina la superficie sembrada de garbanzo para la campaña 2018/2019 fue de 153.286 ha, mientras que en la campaña 2020/2021 fue de 81.236 ha (Ministerio de Agricultura ganadería y pesca, 2021), lo cual indica una fuerte retracción del área sembrada. La siembra del cultivo en las latitudes medias se realiza entre los meses de mayo y junio, con densidades de siembra promedio entre 250.000 y 350.000 plantas.ha<sup>-1</sup> a 0,52 m de espaciamiento entre surcos (Toledo, 2016).

La provincia de Córdoba concentra el 50% de la producción nacional de garbanzo, presentando un gran salto tecnológico que consiste en la incorporación del sistema de siembra directa. Esto ha permitido incrementar el rinde de 500 a 2000 Kg.ha<sup>-1</sup> (Carreras et al., 2016). En este sentido, el rinde promedio en la provincia es de 2000 kg.ha<sup>-1</sup>, con máximos en la campaña 2015/2016 y 2016/17 de 2500 kg.ha<sup>-1</sup> en condiciones de

secano y de 2800 kg.ha<sup>-1</sup> bajo riego (promedio de 3 años) (Toledo, 2016). La superficie sembrada de las campañas 2015/2016 a 2018/2019 se ubicó en torno a las 50.900 hectáreas, mientras que en la campaña 2020/2021 fue de 40.500 ha con un rinde promedio de 1180 kg.ha<sup>-1</sup>, siendo este el menor rinde de los últimos 10 años (Bolsa de Cereales de Córdoba, 2021).

Las provincias de Córdoba y Salta fueron pioneras en la mejora genética del cultivo de garbanzo desarrollando variedades adaptadas a nivel local. El primer cultivar registrado en Argentina fue “Chañaritos S-156” en 1992. Luego se desarrolló un nuevo cultivar “Norteño” (inscripto en INASE en 1998). Desde el 2007 en adelante, se registraron dos variedades, “Felipe UNC-INTA” y “Kiara UNC-INTA” (inscriptos en INASE en 2012), que han superado en rendimiento y calidad de grano a las variedades ya existentes (Carreras et al., 2016). Todos estos cultivares fueron desarrollados por el criadero Alpa Sumaj en conjunto con la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba.

Para alcanzar altos rendimientos y granos de calidad, el garbanzo, al igual que el resto de las leguminosas requieren grandes cantidades de nitrógeno en los suelos. Para suplir esta demanda, las plantas leguminosas han desarrollado el mecanismo de fijación biológica de nitrógeno (FBN) cuando se asocian simbióticamente con bacterias diazótrofes (comúnmente denominadas

“rizobacterias”). La simbiosis *rizobio-leguminosa* es un proceso altamente específico en donde intervienen interacciones microorganismo-planta a nivel genético y molecular. Se estima que el mayor aporte de nitrógeno al agroecosistema proviene de la FBN (aproximadamente un 80% del total nitrógeno, equivalente a 200 y 250 kg. N.ha<sup>-1</sup>.año<sup>-1</sup>) (FAO, 1995)

El garbanzo es un cultivo altamente específico, por lo que únicamente es capaz de establecer relaciones simbióticas con *Mesorhizobium cicerii* (Nour et al., 1994). *M. cicerii* se encuentra incluido dentro del conjunto de microorganismos promotores del crecimiento vegetal, los cuales actúan como biofertilizantes debido a su contribución a la nutrición nitrogenada de los suelos. *M. cicerii* presenta diversos mecanismos de acción para promover el crecimiento vegetal, tales como la FBN, la producción de fitohormonas como las auxinas, mecanismos de solubilización de fósforo y producción de sideróforos, entre otros (Shahab et al., 2009; Tena et al., 2016; Pandey et al., 2018). Estas características convierten a *M. cicerii* en una alternativa sustentable para incrementar el rendimiento y la calidad del grano obtenido en el cultivo de garbanzo (Pandey et al., 2018; Yadav et al., 2018). Es por ello que, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta del cultivo de garbanzo a la inoculación con *M. cicerii* en la región centro de Córdoba.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Para realizar los ensayos se utilizaron semillas de garbanzo (cultivar Norteño) que fueron otorgadas por la Cátedra de Mejoramiento Genético Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Córdoba).

### Microorganismos

Las semillas fueron inoculadas con un bioinsumo líquido formulado con la cepa *M. cicerii* y a una concentración aparente de 1.10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. El bioinsumo fue proporcionado por la cátedra de Microbiología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Córdoba).

### Diseño experimental

El ensayo fue realizado durante la campaña agrícola invierno/primavera del año 2019 (**Figura 1**) en la parcela experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Córdoba) (31°26'24.29"S y 64°11'1.49"O). Se realizó un diseño en bloques completamente aleatorizados en los cuales se sembraron tres bloques con dos parcelas cada uno (inoculado y control). Cada parcela experimental presentó 5 surcos (0,52 cm entre surcos) de 6 m de largo con una separación de 5 cm entre plantas. Se realizaron dos tratamientos Inoculado (In) con *M. cicerii* y Control sin inocular (C). Previo a la siembra, las semillas fueron tratadas con un curasemillas a base de Tiabendazole (15 g.L<sup>-1</sup>), Fludioxonil (2.5 g.L<sup>-1</sup>), y Metalaxil-M (2 g.L<sup>-1</sup>). Luego, las semillas fueron inoculadas al momento de siembra a una concentración aparente de 9. 10<sup>9</sup> UFC.semilla<sup>-1</sup>.



**Figura 1.** Ubicación de parcela experimental.

## Determinaciones

### Parámetros de crecimiento

Para evaluar la respuesta a la inoculación, se realizaron mediciones a 30 plantas en pie seleccionadas al azar durante 6 semanas desde septiembre a noviembre. Los parámetros evaluados fueron los siguientes: a) altura de plantas (AP), b) diámetro del tallo (DT), c) número de hojas por planta (nH), d) número de vainas por planta, e) altura de la primera vaina, f) peso de los granos y granometría, y g) determinación del consumo de agua.

### Parámetros de nodulación

En la primera semana de noviembre se procedió a la extracción de 74 plantas al azar y en ellas se realizaron las siguientes determinaciones: a) número de nódulos en la raíz principal, b) número de nódulos en raíces secundarias, c) peso seco de los nódulos, y d) porcentaje de nódulos funcionales.

Para poder determinar el porcentaje de nódulos funcionales, se procedió a tomar cada uno de los nódulos y realizar la observación "al corte" de la presencia de la proteína *Leg-hemoglobina* (Lh) en estado oxidado (coloración rojiza). Esta proteína se encuentra en forma mayoritaria en el nódulo y su función es transportar oxígeno a la cadena respiratoria de los bacteroides (De Felipe Antón, 2009) La presencia de la Lh, en estado oxidado en el interior del nódulo indica que el proceso de FBN está ocurriendo (Briones, 2001), además indica que las bacterias están vivas y activas metabólicamente (Virtanen et al., 1947)

### Análisis Estadísticos

Para realizar el análisis de los datos obtenidos, se utilizó el software Infostat (Di Rienzo, JA et al., 2017) Los datos fueron analizados mediante ANOVA y test LSD para comparación de medias ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS

### Parámetros de crecimiento

Al analizar los parámetros ecofisiológicos de crecimiento, se observaron diferencias significativas para variables como altura de planta y diámetro del tallo, donde el crecimiento de las plantas en las parcelas inoculadas fue mayor (**Tabla 1; Figura 2**). En cambio, no se encontraron diferencias significativas en el número de hojas por planta entre los tratamientos analizados (**Tabla 1**). El incremento en la altura de la planta y el número de hojas permite una mayor producción de fotoasimilados que redundarán en

un mayor número de granos por  $m^2$  y en un mayor calibre fruto del llenado.

**Tabla 1.** Parámetros de crecimiento del cultivo de garbanzo determinados en el estadio fenológico R8 <sup>a</sup>. Los datos representan la media de 30 réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba LSD;  $p \leq 0,05$ ).

Tratamiento	AP (cm)	DT (mm)	nH	AV (cm)	Vainas/planta
<b>INOCULADO</b>	39,37 a	2,22 a	19,99 a	27,40 a	13,14 a
<b>CONTROL</b>	34,38 b	1,82 a	19,15 a	22,31 b	6,16 b

<sup>a</sup> AP: Altura de la planta.

DT: Diámetro del tallo.

nH: Número de hojas por planta.

AV: Altura a la primera vaina.

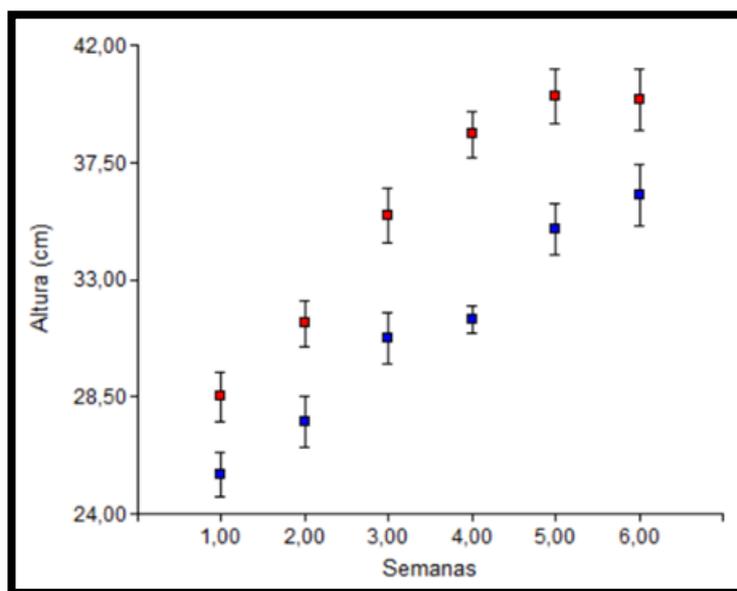
El número de vainas por planta y la altura de la primera vaina variaron en forma significativa siendo superiores en el tratamiento inoculado (**Tabla 1**). Esto es importante ya que un menor despeje de las vainas respecto a la superficie del suelo dificulta la cosecha mecánica del cultivo (Peñaloza y Levio, 1991). Es importante destacar que, si analizamos los requerimientos hídricos del cultivo, Carreras et al. (2006), establecen que el garbanzo necesita al menos 300 mm para completar su ciclo. En el caso de la ciudad de Córdoba, el cálculo realizado en la plataforma *cropwat* arroja un valor de 328 mm. Durante el ciclo del cultivo (mayo a noviembre) en nuestro ensayo, el total de precipitaciones registradas fue de 109 mm, unos 63 mm menos que la media histórica para la zona (172 mm). A su vez el agua disponible en el suelo no superó los 120 mm (2 m de profundidad), por lo que el cultivo no cubrió su necesidad.

### Parámetros de nodulación

Las plantas inoculadas presentaron en promedio la mayor cantidad de nódulos (2,59 inoculadas vs. 0,04 testigo) y el 53% de los mismos se encontraban funcionales (**Tabla 2**). A su vez se observó que el peso seco de los nódulos fue mayor en el tratamiento inoculado respecto al control (**Tabla 2**). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Romdhane et al. (2007) y Abril et al. (1997) quienes en ensayos a campo demostraron que la inoculación de diferentes cultivares de garbanzos con cepas de *Mesorhizobium* spp. incrementaron en forma significativa el número y peso de los nódulos.

La ausencia de nódulos en la mayoría de las plantas del tratamiento control probablemente se debe a que, en el suelo de las parcelas donde se realizaron los ensayos no se sembró garbanzo previamente, por lo cual se infiere que no hay presencia de cepas de *M. ciceri* nativas o salvajes. Las plantas del tratamiento control ante la falta del aporte nitrogenado que realiza *M. ciceri* mediante la

FBN, presentaron una tonalidad verde-amarillenta evidenciando la falta de aporte de nitrógeno (Kopp & Peticari, 2016).



**Figura 2.** Curva de crecimiento del cultivo de garbanzo. Altura (cm) de las plantas en función del tiempo (semanas). Los cuadrados rojos indican la altura de las plantas del tratamiento inoculado con *Mesorhizobium ciceri* y los cuadrados azules indican la altura de las plantas del tratamiento control.

**Tabla 2.** Parámetros de nodulación en el cultivo de garbanzo <sup>a</sup>. Los datos representan la media de 30 réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba LSD;  $p \leq 0,05$ ).

Tratamiento	NRP	NRL	% NF	Peso nódulos (g)
INOCULADO	2,59 a	7,39 a	53,69 a	2,06 a
CONTROL*	0,04 b	0,19 b	4,03 b	0,18 b

<sup>a</sup> **NRP:** Nódulos en raíz principal.

**NRL:** Nódulos en raíces laterales.

**% NF:** Porcentaje de nódulos funcionales.

\* Algunas plantas del tratamiento presentaron nódulos muy pequeños y con una funcionalidad baja.

### Rendimiento

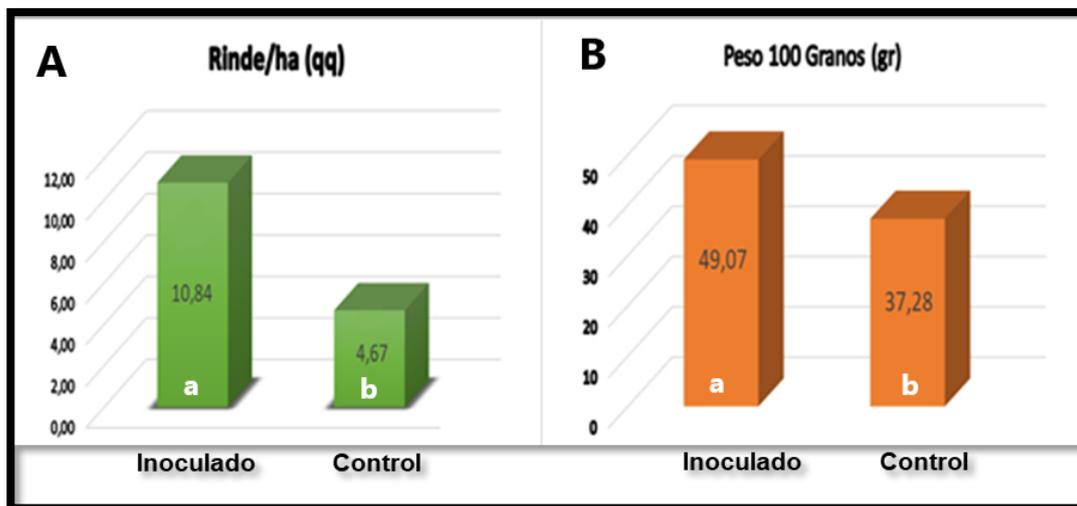
El rendimiento obtenido fue de  $10,84 \text{ qq} \cdot \text{ha}^{-1}$  ( $1084 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) para el tratamiento Inoculado y de  $4,67 \text{ qq} \cdot \text{ha}^{-1}$  ( $467 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) para el control (**Figura 3A**). Esta diferencia entre tratamientos se explica en primera instancia por la mayor presencia de vainas en el tratamiento inoculado, la cual está directamente relacionada al principal componente del rendimiento que es el número de granos/ $\text{m}^{-2}$ , el cual a su vez está asociado al aporte nitrogenado que realiza *M. ciceri*. Además, las "rizobacterias" no solo realizan FBN, sino que además tienen la capacidad de solubilizar el fósforo contenido en el suelo mediante la acción de las enzimas fosfatasa y la liberación de ácidos orgánicos, y de producir fitohormonas como el ácido indol acético (AIA). Ambos efectos, sumados al aporte de nitrógeno por la FBN promueven aún más el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento del cultivo (Camelo et al., 2011).

En cuanto al peso de 100 granos (**Figura 3B**), también se detectaron variaciones significativas, presentando el tratamiento Inoculado un valor de  $49 \text{ g}/100 \text{ granos}$ , valor ligeramente mayor al promedio obtenido por Toledo (2016) que fue de 42,9. Mientras que el tratamiento control presentó un valor de  $37,28 \text{ g}/100 \text{ granos}$  (**Figura 3B**).

Respecto a la granulometría o calibre de granos cosechados el tratamiento inoculado concentra la producción principalmente entre los calibres de 8 y 9 mm, representando estos un 41,80 % y 51,09 % respectivamente. Solo un 6,64 % del total de los granos se encontraron dentro del calibre de 7 mm. Mientras que el tratamiento control concentra sólo un 14,32% de los granos en el calibre 9 mm, 62,64% en el calibre 8 mm, y un 21,92% en el calibre 7 mm (**Figura 4** y **Figura 5**). La granulometría del grano cosechado es importante, ya que el grano de garbanzo se comercializa en base a grados

determinados por su calibre (Ramacciotti, 2015). El precio free on board (FOB) por tonelada en febrero 2021 para el calibre 7 mm fue de 725 dólares, para el calibre 8 mm fue de 825 dólares, mientras que el calibre 9 mm se cotizó a 925 dólares (Bolsa de Comercio de Rosario, 2022). Es

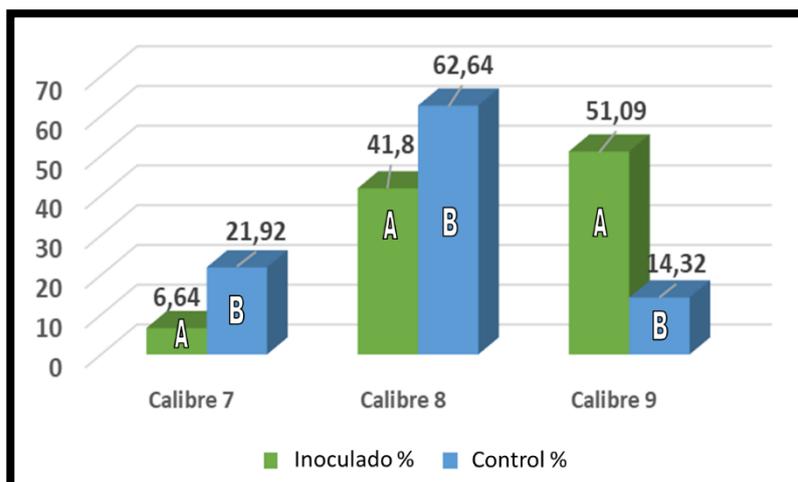
importante remarcar que calibres mayores determinan una mayor rentabilidad. En este sentido, el tratamiento inoculado presenta un 51% de los granos dentro del calibre 9 mm frente al 14% que concentra en dicho calibre el control.



**Figura 3. A.** Rendimiento ponderado en quintales por hectárea en ambos tratamientos. **B.** Peso promedio de 100 granos (g) en ambos tratamientos. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba LSD;  $p \leq 0,05$ ).



**Figura 4.** Granos cosechados a partir del tratamiento inoculado y control del cultivo de garbanzo.



**Figura 5.** Calibre (mm) de los granos cosechados a partir del tratamiento inoculado y control del cultivo de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba LSD;  $p \leq 0,05$ ).

## CONCLUSIONES

- La utilización de *M. ciceri* en el cultivo del garbanzo incrementa parámetros de crecimiento tales como altura de planta y número de hojas.

- La inoculación del cultivo de garbanzo contribuye a incrementar el rendimiento del cultivo y su calibre.

- Finalmente, este trabajo permite poner de manifiesto la importancia de la utilización de estas técnicas de tratamiento de semillas con bioinsumos previo a la siembra.

## BIBLIOGRAFIA

Abril A., Ryan A., y Carreras J. 1997. Inoculación de garbanzo con *Rhizobium* sp. nativos de la Provincia de Córdoba, Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 29, 24–31.

Bolsa de Cereales de Córdoba. 2021. Producción de Garbanzo en la Provincia de Córdoba campaña 2020/2021 (332nd ed.). <https://www.bccba.org.ar/informes/calculos-finales-de-produccion-de-garbanzo-en-cordoba-campana-2020-21/#:~:text=La%20producci%C3%B3n%20de%20garbanzo%20en,5%20campa%C3%B1as%20para%20la%20provincia.>

Bolsa de Comercio de Rosario. 2022. Cotizaciones de legumbres. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/mercado-de-granos/cotizaciones/legumbres>

Briones G. (2001). Factores de virulencia en *Brucella abortus*: Caracterización bioquímica y genética de la biosíntesis del glucano 1-2 cíclico y estudio de su participación en la virulencia. Tesis para optar al Título de Doctor en Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad Nacional de General San Martín.

Camelo, M., Vera, S. P., & Bonilla, R. R. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Cienc. Tecnol. Agropecuaria*, 12(2), 159–166.

Carreras J J, Mazzuferi V E, Karlin M S, Ackermann B A, Aguilar R, Albrecht J C, Alemanno G A, Allende M J, Ateca N S, Avalos D S, Badini R, Beltramini V S, Biderbost E B, Bologna S, Cantarero M G, Caramello D A, Castro R J, Cavenio M R, Cisternas A P, ... Vizgarra O N 2016. El cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Argentina (J. Carreras, V. Mazzuferi, y M. S. Karlin, Eds.). Facultad de Ciencias Agropecuarias. <http://hdl.handle.net/11086/6010>

De Felipe Antón M R 2009. Biotecnologías limpias en agricultura: Fijación Biológica de nitrógeno.

Estructura-función de la simbiosis *Rhizobium*-Leguminosa. In An. R. Acad. Nac. Farm. Real Academia Nacional de Farmacia (España).

Di Rienzo J A, Casanoves F, Balzarini M G, Gonzalez L, Tablada M, y Robledo W 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA Universidad Nacional de Córdoba.

FAO. 1995. Manual Técnico de la Fijación Simbiótica Del Nitrógeno: Leguminosa/*Rhizobium*. Roma : FAO.

Kopp S B, y Peticari A 2016. Las Bacterias Fijadoras De Nitrógeno. El cultivo de garbanzo en Argentina (1era ed., pp. 115–129). Universidad Nacional de Córdoba.

Ministerio de Agricultura ganadería y pesca. 2021. Producción de LEGUMBRES en Argentina. [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/magyp\\_informe\\_legumbres\\_julio\\_2021.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/magyp_informe_legumbres_julio_2021.pdf)

Nour S M, Fernandez M P, Normand P, y Cleyet-Marel J C 1994. *Rhizobium ciceri* sp. nov., consisting of strains that nodulate chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Int J Syst Bacteriol*, 44(3), 511–522.

Pandey R P, Srivastava A K, Gupta V K, O'Donovan A, y Ramteke P W 2018. Enhanced yield of diverse varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by different isolates of *Mesorhizobium ciceri*. *Environ. Sustain.* 1(4), 425–435.

Peñalosa H E, y Levio C 1991. Comportamiento de tres genotipos de garbanzo de diferente peso de grano, en cuatro niveles de población de plantas. *Chil. J. Agric. Res.* 51(2), 183–191.

Ramacciotti, J. I. 2015. Respuesta agronómica de tres genotipos de garbanzo a diferentes densidades de siembra. Tesis para optar al Título de Ingeniero Agrónomo de la Universidad Nacional de Córdoba <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/1903>

Romdhane S B, Tajini F, Trabelsi M, Aouani M E, y Mhamdi R 2007. Competition for nodule formation between introduced strains of *Mesorhizobium ciceri* and the native populations of rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) in Tunisia. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23(9), 1195–1201.

Sadri B, y Banai T 1996. Chickpea in Iran. Adaptation of Chickpea in the West Asia and North Africa Region, 23–44.

Shahab S, Ahmed N, y Khan N S 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSBs. *Afr. J. Agric. Res.*, 4(11), 1312–1316.

Tena, W., Wolde-Meskel, E., & Walley, F. (2016). Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to inoculation with native and exotic *Mesorhizobium* strains in Southern Ethiopia. *Afr. J. Biotechnol.*, 15(35), 1920–1929.

Toledo R E 2016. Ecofisiología de Garbanzo. El cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Argentina (1era ed., pp. 89–114). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.

Virtanen A I, Erkama, J M, y Linkola H 1947. On the relation between nitrogen fixation and leghaemoglobin content of leguminous root nodules. *Acta Chem. Scand*, 1, 90–111.

Vizgarra O N, Espeche C M, y Ploper L D 2013. Evolución del cultivo de garbanzo en la República Argentina.

Publicación Especial No 48, 48, 7–11.  
<https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/2569>

Yadav P, Chandra R, Pareek N, y Raverkar K P 2018. Screening of multi-trait mesorhizobium isolates for plant growth promotion and nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 7(8), 2592–2599.