

04-034

EVALUATION OF THE BIOSTIMULANT EFFECT ON GERMINATION OF CHICKPEA SEEDS

Parra, Lorena (1); Mostaza-Colado, David (2); Sánchez Hernández, Jorge (2); Marín Peira, José (3); Mauri Ablanque, Pedro Vicente (2)

(1) Universitat Politècnica de València, (2) IMIDRA, (3) AREA VERDE

Biostimulants are substances, which increase the development of plants, their productivity, and fruit quality. Its use in agriculture improves the obtained yields and the resistance of plant species against Climate Change. The present work aims to evaluate the effect of biostimulants on the germination of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and the most appropriate dose of application. To this end, two laboratory tests are conducted. Initially, a sample of soil from the experimental cultivation plot is collected and dried on a stove at 60 °C. In the first test, 15 plates with 100 grams of soil, 5 chickpeas, and 50 mL of water per plate, and 2 drops of biostimulant per chickpea are used. On the other hand, the second test uses cotton and paper saturated in water and the medium in which the chickpea and biostimulant are added. In both cases, 1 control and 4 treatments of biostimulant with 1:1, 1:2, 1:5, and 1:10 dilutions of a commercial product are tested. To evaluate the optimal dose we compare the evolution of germination and the initial seed growth every 48 hours for 11 days.

Keywords: growth; seedling development; establishment; legume; *Cicer arietinum* L experimental cultivation

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE UN BIOESTIMULANTE EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE GARBANZO

Los bioestimulantes son sustancias que aumentan el desarrollo de las plantas, la productividad y la calidad del fruto. Su empleo en agricultura potencia los rendimientos obtenidos y la resistencia de las especies vegetales frente al Cambio Climático. El presente trabajo pretende evaluar los efectos que estos compuestos aportan a la germinación del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y la dosis más adecuada de aplicación. Para ello, se desarrollan dos pruebas de laboratorio. Inicialmente, se recoge una porción de suelo de la parcela de cultivo experimental y se deja secar en una estufa a 60 °C. En la primera prueba, se emplean 15 placas con 100 gramos de suelo, tierra, 5 garbanzos y 50 mL de agua en cada placa y 2 gotas de bioestimulante por garbanzo. Por el contrario, en la segunda prueba se utiliza algodón y papel saturado en agua como medio en el que se añaden los garbanzos y el bioestimulante. En ambos casos, se ensaya 1 control y 4 tratamientos de bioestimulante con diluciones 1:1, 1:2, 1:5 y 1:10 del producto comercial. Para evaluar la dosis óptima se compara la evolución de la germinación y el desarrollo inicial de la semilla cada 48 horas durante 11 días.

Palabras clave: crecimiento; desarrollo de la plántula; establecimiento; leguminosa; *Cicer arietinum* L.;cultivo experimental

Correspondencia: PEDRO VICENTE MAURI ABLANQUE; pedro.mauri@madrid.org

Agradecimientos: Esta investigación ha sido parcialmente financiada por “Proyectos de innovación de interés general por grupos operativos de la Asociación Europea para la Innovación en materia de productividad y sostenibilidad agrícola (AEI-Agri)” en el marco del “Programa Nacional de Desarrollo Rural 2014-2020”, GO TECNOGAR y por “Proyecto de investigación de financiación propia del Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) para 2022 y 2023”, VALVAGAR.



©2022 by the authors. Licensee AEIPRO, Spain. This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introducción

El sector agropecuario se enfrenta, en la actualidad, a la complicada tarea de satisfacer la demanda de alimentos a nivel mundial. Escenarios presentes y futuros auguran un aumento de la presión demográfica, horizontes de crisis y escasez económica, así como el agravamiento de los fenómenos y condiciones meteorológicas adversas ligados al Cambio Climático. Además, el actual modelo de explotación agrícola causa enormes impactos y desequilibrios sobre los sistemas naturales, sociales y económicos. Ante esta situación, se hace necesario, por un lado, mejorar los rendimientos obtenidos, con cultivos más homogéneos, vigorosos, productivos y resistentes, cuyas mermas asociadas a problemas de germinación y desarrollo sean mínimas. Y, por otro lado, minimizar el empleo de recursos, ya sea hídricos, fitosanitarios, fertilizantes, herbicidas, etc. Para dar respuesta a estos problemas, el cultivo de especies de legumbres, como el garbanzo, pretende ser parte de la solución (Meriño *et al.*, 2018; Cabeza *et al.*, 2018), dadas sus características agronómicas y nutricionales (Cabeza *et al.*, 2018; Canonero, 2018)

En la actualidad, el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum L.*) está en auge y genera uno de los mayores volúmenes de producción de legumbres a nivel mundial, con unas 1.100.000 Tm/año. Esta práctica se concentra, principalmente, en los países suroccidentales asiáticos, destacando India y Pakistán, y en Australia (Echevarría *et al.*, 2019). El creciente interés en su explotación viene dado por sus características agronómicas y nutricionales, así como de la capacidad de hacer frente a los escenarios futuros de Cambio Climático, que prevén una magnificación de los efectos negativos derivados de las inclemencias meteorológicas, con aumentos de la temperatura media, disminución de precipitaciones y mayor frecuencia de fenómenos extremos, tales como granizadas, fuertes lluvias, sequías y olas de calor (del Moral de la Vega *et al.*, 1994; Cabeza *et al.*, 2018).

Es sabido que esta especie vegetal mejora la estructura y fertilidad del suelo, debido a la relación simbiótica con bacterias del género *Rhizobium* sp., fijadoras de N₂ atmosférico, permitiendo la reducción del uso de abonos nitrogenados. Además de ser una excelente fijadora de carbono, favorece la ruptura del ciclo biológico de patógenos edáficos si se practica en rotación con cultivos de cereales. Por añadidura, su sistema radicular posee una excelente capacidad de ramificación y profundización en el suelo. Lo que le permite capturar más humedad del suelo, en comparación con otras especies de legumbres (del Moral de la Vega *et al.*, 1994; Fierros Leyva *et al.*, 2017). Por todo ello, es capaz de soportar condiciones más extremas de falta de agua (Wery, 1990; Vergara-García *et al.*, 2014). Al igual que también soporta mejor los episodios de elevadas temperaturas, inundaciones o plagas, en comparación a otras clases de cultivo (Cabeza *et al.*, 2018; Meriño *et al.*, 2018; Echevarría *et al.*, 2019).

No obstante, existen factores abióticos, bióticos y propios del cultivo de garbanzo que suponen un riesgo en la producción. Entre los primeros, se hallan fenómenos meteorológicos tales como las granizadas, calor y lluvias elevados, así como suelos arcillosos, saturados en agua, excesivamente ácidos y/o con elevados contenidos en sales y yesos (Vergara-García *et al.*, 2014; López-Padrón, 2021). Entre los segundos factores, destacan las enfermedades causadas por microorganismos edáficos patógenos, incluyendo hongos, bacterias, virus, fitoplasmas y nematodos, siendo la rabia del garbanzo (*Ascochyta rabiei*) y, sobre todo, la fusariosis (*Fusarium oxysporum* F. sp. *ciceris*) los que mayores pérdidas generan (López-Padrón, 2021). Asimismo, resultan relevantes las pérdidas por depredación, principalmente, de palomas, corzos o jabalíes. Estos factores pueden agravar los problemas propios de este cultivo. Que, principalmente, son el crecimiento heterogéneo, dada su elevada sensibilidad a enfermedades y plagas, así como la baja competencia frente a especies arvenses, motivado por su lento desarrollo y una escasa producción de biomasa (Jessop y Wright, 1991).

Para evitar la aparición de especies arvenses, la práctica más usual es el empleo de herbicidas. Sin embargo, no existen tratamientos específicos aplicables al cultivo de garbanzo. Además, su empleo suele requerir una serie de condicionantes previos y, en

algunos casos, puede dañar al propio cultivo. También es común la aplicación de fungicidas para tratar el ataque de hongos, aunque su aplicación se suele realizar una vez se observan los síntomas, por lo que se reduce la eficacia del tratamiento. Menos usual es el empleo de fitosanitarios contra insectos. Pese a poder llegar a causar grandes pérdidas, esta práctica suele acarrear más gastos que beneficios. Asimismo, existen acciones físicas que tratan de suprimir o minimizar las mermas ocasionadas por estos factores. En cuanto al control de las especies arvenses, destacan técnicas como sembrar en hileras agrupadas o aumentar la densidad, la *falsa siembra*, rotación de cultivos, escardas manuales o mecánicas, y la siega. Para evitar el ataque de hongos, se aconseja retrasar al máximo la fecha de siembra, nivelar y favorecer la infiltración en el suelo para evitar el encharcamiento, y cuidar el estado de las semillas de siembra. También pueden emplearse agentes biológicos para el control de plagas, y métodos físicos-mecánicos contra la depredación, tales como emisores acústicos, roturación y labor profunda, o erradicación de especies adventicias favorecedoras de plagas. Además, recientemente, se han desarrollado una amplia gama de soluciones basadas en la tecnología de precisión encaminadas a erradicar las especies arvenses, tanto de control químico como físico. Sin embargo, los elevados costes de implementación y la brecha digital son aún un notable impedimento en su implementación (Fernández-Quintanilla *et al.*, 2017).

Uno de los principales focos de esfuerzo en la actualidad se ciernen en aumentar los rendimientos, producción, eficiencia y resiliencia de los cultivos agrícolas para dar respuesta a la demanda creciente de alimentos, y cumplir con los Objetivos de Desarrollo Sostenible. En este aspecto, la etapa de germinación de la semilla representa un factor limitante en la producción. Para evitar la merma provocada por una mala germinación, se han empleado técnicas como la mejora genética o tratamientos basados en agentes biocontroladores, como hongos del género *Trichoderma* sp., y bioestimulantes (Singh, 1997; Echevarría *et al.*, 2019; Canonero, 2018; Majkowska-Gadomska, 2017). Los bioestimulantes constituyen un amplio espectro de sustancias cuyos principios activos son capaces de potenciar los parámetros fisiológicos de las plantas, aumentando su resistencia frente a factores bióticos y abióticos, proporcionando una mayor productividad. En el cultivo del garbanzo, los más empleados son los constituidos por microorganismos beneficiosos, los extractos de algas, sustancias húmicas y, recientemente, nanopartículas de quitosano, con efectos positivos en la germinación de semillas (Meriño *et al.*, 2018; Huez-López, 2019; López-Padrón, 2021). Los extractos de algas marinas contienen sustancias como las auxinas, citoquinas y betaínas que promueven el crecimiento, con resultados beneficiosos como pretratamiento en la germinación de semillas de garbanzo (Huez-López, 2019). Igualmente, como microorganismos beneficiosos puede señalarse el empleo de cepas de *Azotobacter*, aislados de cepas de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum*, o *Ascophyllum nodosum*, con resultados positivos en germinación y estimulación del crecimiento foliar, entre otros (López-Padrón, 2021).

Las pruebas realizadas en el presente experimento forman parte de los esfuerzos enmarcados en el proyecto *GOTechnoGAR*. En aras de mejorar los rendimientos obtenidos y la rentabilidad económica, se persigue tecnificar el cultivo del garbanzo con el empleo de nuevas tecnologías, transferir los conocimientos generados a los agricultores para vencer la brecha tecnológica, valorizar las variedades mejoradas de garbanzo, y desarrollar técnicas de gestión novedosas basadas en la aplicación de bioestimulantes y patrones de siembra pioneros. El potencial de este trabajo reside en la aplicación de una técnica innovadora, la siembra de semillas de garbanzo con bioestimulantes, y su futura transmisión y divulgación a los profesionales del sector agrícola. De este modo, si los resultados son positivos, los rendimientos en campo se verán visiblemente incrementados, consiguiéndose mejores cosechas con menor esfuerzo y empleo de recursos.

2. Objetivos

En el presente trabajo, el objetivo general es: evaluar los efectos de un bioestimulante en la germinación de semillas de garbanzo.

El objetivo general queda desarrollado en los siguientes objetivos específicos:

- Verificar si el bioestimulante influye en la germinación de las semillas.
- Valorar la dosis de bioestimulante más adecuada para las semillas de garbanzo.
- Determinar la mejor praxis para aplicar el bioestimulante en garbanzo.

3. Metodología

3.1. Características de la semilla

Este trabajo propone un ensayo que pretende analizar el comportamiento de la semilla de garbanzo de la variedad AMELIA durante la germinación. El proveedor de semillas es la empresa *AGROSA SEMILLAS SELECTAS*, S.A., ubicada en Jadraque (Guadalajara) y especializada en la producción de semillas certificadas de grandes cultivos. Entre ellos, destacan los destinados a cultivos de especies leguminosas y, sobre todo, de garbanzos. Según la información provista por esta empresa, la variedad AMELIA suministrada se caracteriza por tener pétalos blancos, resistente al encamado o arqueamiento del tallo durante su crecimiento, y adaptable a todo tipo de terrenos. Su fecha de siembra óptima se realiza durante los meses de enero y febrero y presenta alta resistencia frente a enfermedades causadas por hongos, como la rabia o tizón. Además, su pequeña semilla es muy apreciada por su elevado valor nutritivo.

3.2. Características del ensayo

El experimento se lleva a cabo en la Finca El Encín, perteneciente al Instituto Madrileño de Investigación, Desarrollo Rural y Agroalimentario (IMIDRA). Se localiza en el municipio de Alcalá de Henares, Madrid, España.

El material empleado para el ensayo consta de placas Petri, algodón, discos de papel y agua destilada. Se esterilizan en origen o, en su caso, en una campana de flujo laminar, a fin de evitar posibles contaminaciones del medio externo. Por otro lado, en el cultivo experimental se emplea una porción de suelo procedente de una parcela de explotación agrícola, que presenta una textura franco-arcillosa y estado de barbecho en el momento de extracción. Se realizan varios procedimientos encaminados a estudiar el efecto de la aplicación de un bioestimulante (BioE) a las semillas de garbanzo y su poder de germinación. Para ello, se dispone de 15 placas Petri con 100 g de suelo procedente de la parcela donde se realiza el ensayo de siembra en la Finca El Encín (IMIDRA) y 15 placas Petri con papel de filtro y algodón, con el fin de retener la humedad.

El suelo o sustrato extraído permanece 96 h en estufa durante 48 h a una temperatura de 40°C para eliminar la humedad. Posteriormente, se desmenuza a mano y se eliminan las malas hierbas para obtener una muestra homogeneizada y disgregada. Después, se pesan 100 g de suelo en una balanza de laboratorio, dispuestos directamente sobre la placa Petri, y se colocan 5 semillas de garbanzo de forma circular, lo más separadas posible. Se le aplica a cada uno de los garbanzos 2 mL de BioE a diferentes concentraciones en forma de 2 gotas. A estas placas con sustrato se les añade 50 mL de agua destilada y esterilizada, repartidos sobre la ubicación de las semillas, preferentemente.

Por otro lado, a las placas Petri con papel y algodón se les añade agua destilada y esterilizada hasta saturar el algodón, y se desecha el fluido sobrante para evitar un exceso de humedad que pueda ocasionar un crecimiento de hongos o mohos indeseable. De igual forma, en cada placa se colocan 5 semillas de garbanzo, agregando 2 mL de BioE a cada una. Este procedimiento queda plasmado en la Tabla 1.

Tabla 1. Procedimiento de siembra de garbanzos en placa Petri: ensayo de germinación con aplicación de bioestimulante recubriendo la semilla.

NOMBRE ENSAYO	DOSIS BIOE (%)	Nº DE SEMILLAS POR PLACA	Nº DE PLACAS
CONTROL (C)	0	5	3 con sustrato y 3 sin sustrato
DOSIS 1 (D1)	100	5	3 con sustrato y 3 sin sustrato
DOSIS 2 (D2)	50	5	3 con sustrato y 3 sin sustrato
DOSIS 3 (D3)	20	5	3 con sustrato y 3 sin sustrato
DOSIS 4 (D4)	10	5	3 con sustrato y 3 sin sustrato

Las placas sembradas se depositan en una estufa incubadora con una temperatura fija de 23°C y una humedad del 90% durante los 9 días de duración del experimento (216 h). El ensayo comienza el lunes 24 de enero y finaliza el miércoles 2 de febrero del año 2022. El experimento en laboratorio consta de una fase previa de preparación de muestras, realizada el día 24 de enero, y una fase de observación-seguimiento, constituida por 2 observaciones practicadas cada 48 h, una tercera observación, transcurridas 72 h, y una última observación, a las 48 h.

La Figura 1 muestra con detalle el proceso de siembra y aplicación de BioE a las semillas de las placas con suelo y papel, así como de la estufa de germinación. Las placas Petri con sustrato se mantienen abiertas, mientras que las que contienen papel de filtro y algodón, cerradas y selladas con papel *parafilm* en el borde. Además, es empleado un *data-logger* modelo *TESTO 184H1* para controlar la temperatura del ensayo, tal y como se refleja en la Figura 2. Se mantiene constante durante todo el ensayo, salvo en el momento de apertura de las puertas para controlar el estado de las placas.

Figura 1: Detalle de la aplicación de BioE a garbanzos sembrados en placa Petri estéril con papel de filtro y algodón (sin sustrato -a-), y en placa Petri con sustrato (b). Por otro lado, detalle de las placas sin sustrato (c) y con sustrato (d) en la estufa de germinación.

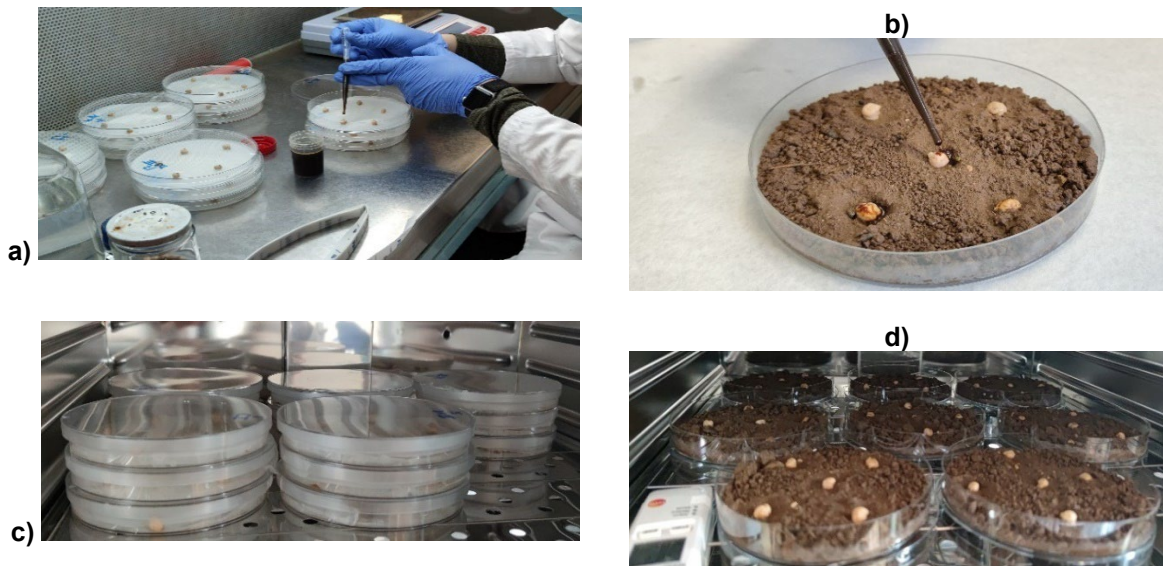
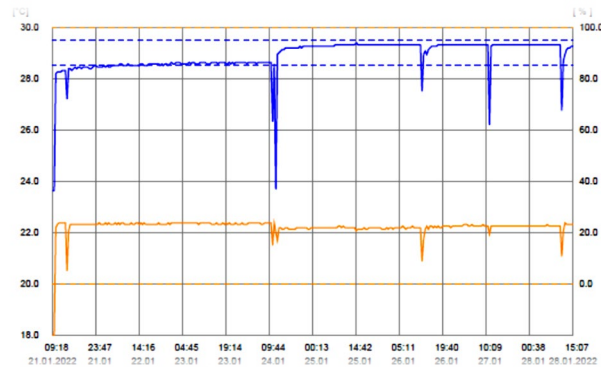


Figura 2: Registro de la temperatura en la cámara de germinación durante el periodo de estudio.



Durante cada seguimiento de conteo, se anotan los parámetros *número de semillas germinadas a día n* (NGn), *número de semillas con cotiledones a día n* (NCn), y la *presencia/ausencia de moho en las semillas a día n*. Cuando se alcanzan las 216 h, se efectúa un último recuento de placas en el que se extraen los garbanzos y se inicia el registro de raíces secundarias observadas en la fase vegetativa de la semilla en las placas Petri sin sustrato. En este campo, se detallan las semillas que comienzan a desarrollar *raíces secundarias* que parten de la radícula principal. Además, se mide la *longitud en centímetros de la raíz* (longitud radicular) y de los *cotiledones* (longitud de las hojas), y se cuentan los nudos visibles.

Por lo tanto, los parámetros a evaluar son los que se indican a continuación:

- *Éxito de germinación (%)*: representa la germinación porcentual efectiva en tanto por ciento (%) respecto del total de semillas de garbanzo cultivadas.
- *Porcentaje de cotiledones (%)*: representa los individuos en tanto por ciento (%) que han desarrollado hojas respecto del total.
- *Porcentaje de raíces (%)*: representa los individuos en tanto por ciento (%) que han desarrollado raíz, respecto del total.
- *Porcentaje de hongos (%)*: representa los individuos en tanto por ciento (%) que han sido colonizados por hongos, respecto del total.
- *Porcentaje de raíces secundarias (%)*: representa los individuos en tanto por ciento (%) que han desarrollado raíces que parten del eje radicular primario, respecto del total, a fecha final de ensayo.
- *Longitud de cotiledones (cm)*: medida promedio en centímetros de la longitud de las hojas o fracción fotosintética de la semilla, a fecha final de ensayo, en las placas sin sustrato.
- *Longitud radicular (cm)*: medida promedio en centímetros de la longitud de la raíz de la semilla, a fecha final de ensayo, en las placas sin sustrato.
- *Número de nudos (n)*: medida numérica de la cantidad de nudos observados en las plántulas a fecha final de ensayo en las placas sin sustrato.

Los resultados obtenidos en el experimento son sometidos a un análisis estadístico realizado mediante el *software* informático *STATGRAPHICS*, versión *Centurion XVI.1* para *Windows*. Se calcularon datos promedio, desviación estándar, y un análisis de la varianza ANOVA basado en la comparación de los factores de tratamiento aplicados, con un intervalo de confianza del 95%.

4. Resultados y discusión

A continuación, se procede a mostrar el resultado del seguimiento del ensayo de germinación de las semillas de garbanzo. Durante la primera observación (26-01-2022), se detectan mayores porcentajes de germinación en los garbanzos sin BioE (control) y dosis bajas de

producto (10% y 20%). Por otro lado, el crecimiento de hongos filamentosos es superior en las placas con mayores dosis de BioE. La siguiente observación (28-02-2022) revela una tendencia hacia un mayor éxito de germinación en placas con nulas y menores dosis de BioE, así como mayor proliferación de hongos en las semillas cultivadas en placas con sustrato. Transcurridas 72 h (31-01-2022), se mantienen las tendencias detectadas. Asimismo, la práctica totalidad de semillas en placas con ambos medios de cultivo desarrollan hongos, y se registra una detención en el desarrollo de los garbanzos en placas con sustrato. En la última observación (02-02-2022) se estabilizan las cifras obtenidas respecto a los parámetros evaluados.

Los resultados obtenidos a lo largo del estudio respecto del *éxito de germinación en tanto por ciento (%)* se representan en la Figura 3a, en placas sin sustrato, y la Figura 3b, con sustrato. La Figura 4a recoge el *% de cotiledones* en placas sin sustrato y la Figura 4b, con sustrato. Mientras, el *% en hongos* queda plasmado en la Figura 5a y Figura 5b para las placas con y sin sustrato, respectivamente. Asimismo, la Figura 6 representa el *% de raíces secundarias* en placas sin sustrato y, la Figura 7, los valores obtenidos en cuanto a *longitud radicular (cm)* -raíz-, de *cotiledones* -hojas- y al *número de nudos* detectados a fecha de fin de ensayo en las placas sin sustrato. En este último, se muestra, además, la desviación estándar mediante barras de error para cada parámetro analizado.

En líneas generales, la evolución es similar en ambos medios de cultivo, a excepción del éxito de germinación, más lento y menos efectivo en el medio sin sustrato. La colonización por hongos es generalizada en ambos casos, aunque el volumen total apreciado de materia fúngica es notablemente superior en las placas con sustrato. Debido a este factor, no se pueden cuantificar raíces secundarias. Tampoco es posible medir el número de nudos, la longitud radicular ni la longitud de los cotiledones. En estas condiciones, las semillas no se desarrollan correctamente y comienzan un proceso rápido de senescencia.

Respecto a los porcentajes de raíces secundarias en placas sin sustrato, los mayores valores se asocian a los tratamientos Dosis 4 (D4) y Control (C). Por otro lado, se observan mejores resultados, en cuanto al *% de cotiledones*, en los tratamientos D4 y, menores, en el tratamiento D1, en ambos medios de cultivo. En esta línea se sitúan los resultados correspondientes a la longitud radicular, de cotiledones y del número de nudos en las placas sin sustrato. Se detectan mayores longitudes de raíces en C, y magnitudes notablemente más elevadas respecto al resto las obtenidas en el caso de la longitud de hojas y en el número de nudos en los tratamientos D4 y C.

Una vez finalizado el periodo de seguimiento, se obtiene un mayor éxito de germinación en las semillas cultivadas en las placas con sustrato respecto a las que tenían algodón y papel (sin sustrato). En las placas con sustrato, los mayores porcentajes se recogen en el tratamiento Control (C), sin BioE; mientras que, en las placas sin sustrato, en la Dosis 3 (D3). La Dosis 1 (D1) significa un éxito de germinación notablemente inferior en ambos casos, siendo esta diferencia más acusada en el caso de las placas con sustrato.

En la Figura 8, se aportan los resultados obtenidos en forma de gráfica respecto a los porcentajes en tanto por ciento (%) de germinación, para los medios con y sin sustrato.

Por otro lado, se muestra tabulado en la Tabla 2 el tratamiento estadístico de datos realizado, en el que aparecen los datos obtenidos en promedio y la varianza. Asimismo, se comparan las muestras estudiadas en función de los distintos factores de tratamiento aplicados mediante un análisis de la varianza ANOVA simple, procediendo a su clasificación en grupos homogéneos de los factores y su p-valor, con un intervalo de confianza del 95%. Se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre grupos si su p-valor es inferior a 0,05.

Tal y como se registra en el apartado *Metodología*, los datos analizados en la presente prueba experimental comprenden el *éxito de germinación (%)*, *porcentaje de hojas o cotiledones (%)* y *porcentaje de hongos (%)*, en los medios de cultivos en placa con y sin sustrato. Además,

se examinan los datos obtenidos en cuanto a la *longitud radicular (cm)*, *longitud de los cotiledones u hojas (cm)*, y el *número de nudos* detectados.

La clasificación en grupos homogéneos responde a la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los factores de tratamiento categorizados con caracteres distintos, a saber, *a*, *ab*, *b*, *bc* y *c*. A la vista de los resultados, se obtienen diferencias estadísticamente significativas exclusivamente en las placas sin sustrato.

No se detectan diferencias estadísticamente significativas en los medios de cultivo con sustrato, aunque, en las placas sin sustrato, existen diferencias estadísticamente significativas entre los factores aplicados. Se corrobora la similitud de los resultados obtenidos para los distintos parámetros estudiados en el caso de *D4* y *C*, adoptando el mismo grupo estadístico en la mayor parte de los casos. Únicamente, respecto a la longitud de cotiledones, los resultados son algo menores en *C* (grupo homogéneo *bc*) frente a *D4* (grupo *c*). En cuanto al *% de hojas y éxito de germinación*, la *D3* muestra un comportamiento aceptable, en comparación con los factores *C* y *D4*.

A la vista de los resultados obtenidos, se comprueba que el bioestimulante influye en la germinación de las semillas de garbanzo. En este experimento, el efecto resulta ser negativo para los parámetros evaluados en las placas sin sustrato, mientras que, en las placas con sustrato, solo se recogen tendencias de carácter, igualmente, negativo. Además, se detecta que mayores dosis de bioestimulante disminuyen drásticamente los parámetros de la germinación evaluados. De este modo, se obtienen mejores cifras en los tratamientos control (*C*), sin aplicación de bioestimulante, o cuando este es aplicado en dosis bajas (*D4*). Este hecho se detecta de forma cualitativa, mediante observación directa, durante el periodo de seguimiento del ensayo, y cuantitativamente, mediante el análisis matemático realizado con los datos recopilados.

Figura 3a: Éxito de germinación en tanto por ciento (%) en placas sin sustrato.

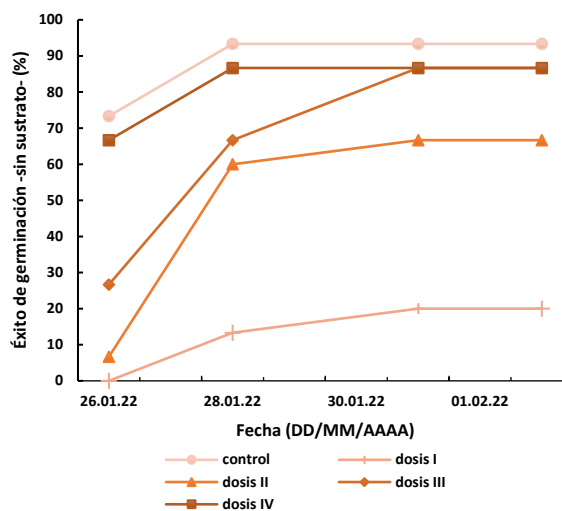


Figura 3b: Éxito de germinación en tanto por ciento (%) en placas con sustrato.

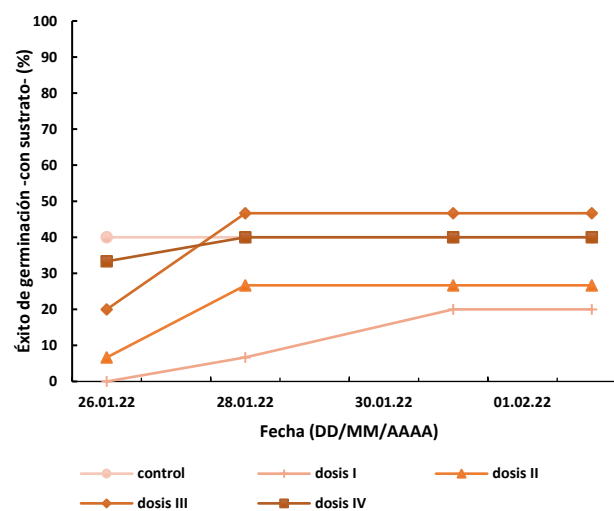


Figura 4a: Porcentaje de cotiledones en tanto por ciento (%) en placas sin sustrato.

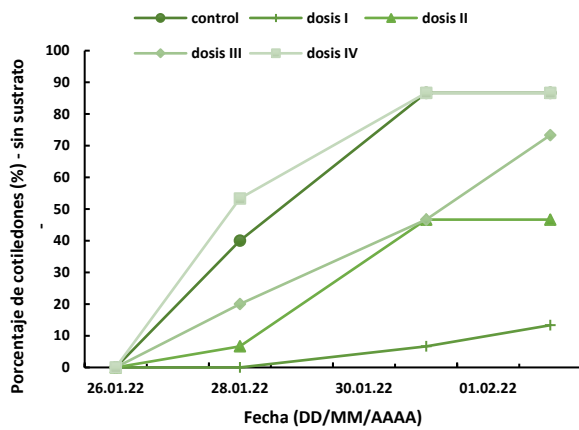


Figura 4b: Porcentaje de cotiledones en tanto por ciento (%) en placas con sustrato.

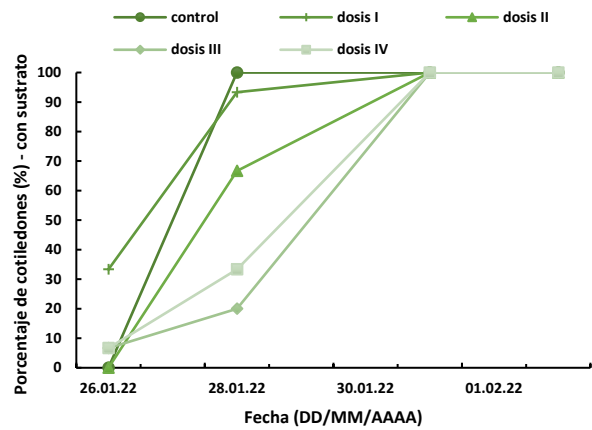


Figura 5a: Porcentaje de hongos en tanto por ciento (%) en placas sin sustrato.

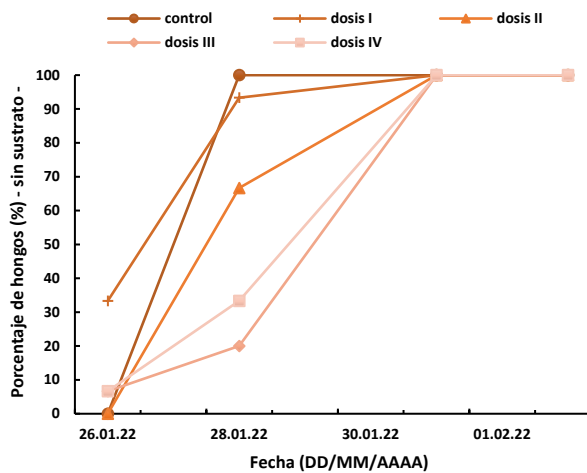


Figura 5b: Porcentaje de hongos en tanto por ciento (%) en placas con sustrato.

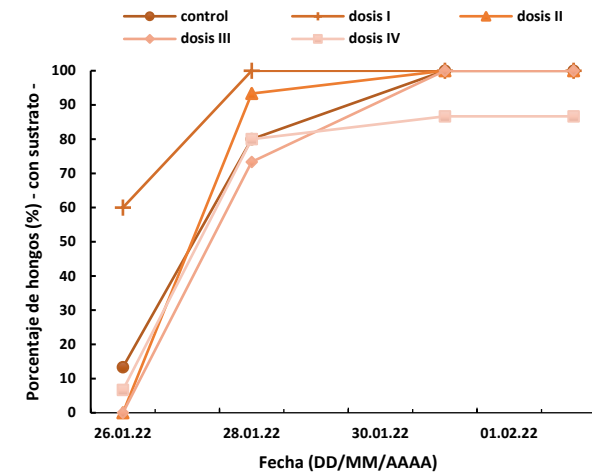


Figura 6: Porcentaje de raíces secundarias en tanto por ciento (%) en placas sin sustrato.

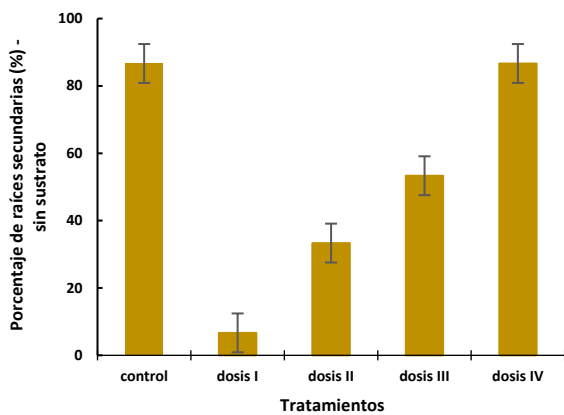


Figura 7: Longitud (cm) radicular (raíces), cotiledones (hojas) y número de nudos.

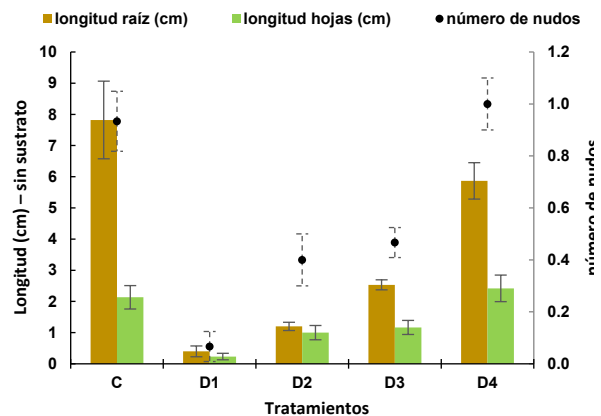


Figura 8. Resultados de éxito de germinación (%) en placas a) sin sustrato y b) con sustrato.

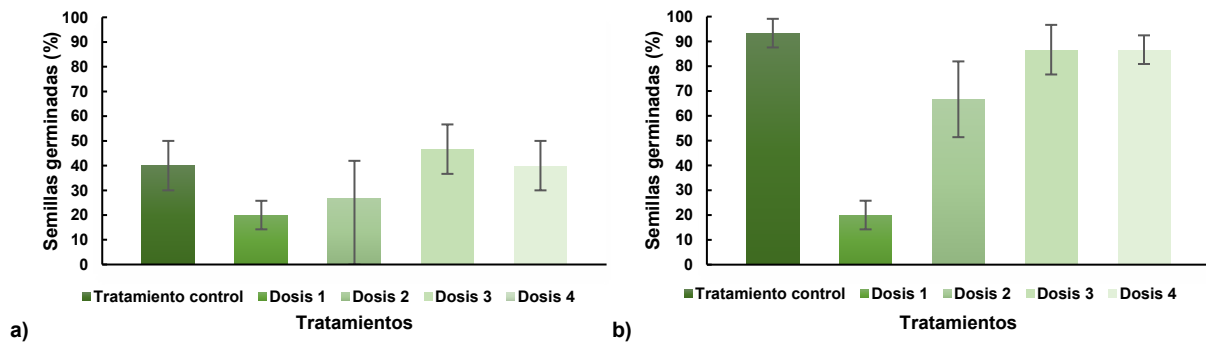


Tabla 2. Resumen estadístico de los resultados obtenidos respecto del % de hojas y de germinación en medios de cultivo con y sin sustrato. Para las placas sin sustrato, se realizan también en el caso del % de raíces secundarias, longitud radicular y de los cotiledones, así como del número de nudos.

Raíces secundarias -sin sustrato- (%)				Número de nudos -sin sustrato-			
Trat.	\bar{x}	σ	p-valor	Trat.	\bar{x}	σ	p-valor
0	86,70 ^a	±2,89	0,0000	0	0,90 ^a	±0,12	0,004
1	6,70 ^b	±2,89		1	0,1 ^b	±0,06	
2	33,30 ^c	±2,89		2	0,40 ^c	±0,10	
3	53,30 ^c	±2,89		3	0,50 ^c	±0,06	
4	86,70 ^a	±2,89		4	1,00 ^a	±0,10	
Hojas -sin sustrato- (%)				Hojas -con sustrato- (%)			
Trat.	\bar{x}	σ	p-valor	Trat.	\bar{x}	σ	p-valor
0	86,70 ^a	±5,78	0,0004	0	20,00 ^a	±10,00	0,5962
1	13,30 ^b	±5,78		1	0,00 ^a	±0,00	
2	46,70 ^c	±11,55		2	6,70 ^a	±5,77	
3	73,30 ^a	±5,78		3	13,30 ^a	±11,55	
4	86,70 ^a	±5,78		4	6,70 ^a	±5,77	
Germinado -sin sustrato- (%)				Germinado -con sustrato- (%)			
Trat.	\bar{x}	σ	p-valor	Trat.	\bar{x}	σ	p-valor
0	93,30 ^a	±5,78	0,0113	0	40,00 ^a	±10,00	0,5552
1	20,00 ^b	±10,00		1	20,00 ^a	±10,00	
2	60,00 ^a	±20,00		2	26,70 ^a	±15,27	
3	86,70 ^a	±5,78		3	46,70 ^a	±5,775	
4	86,70 ^a	±5,78		4	40,00 ^a	±10,00	
Longitud de cotiledones -sin sustrato- (cm)				Longitud radicular -sin sustrato- (cm)			
Trat.	\bar{x}	σ	p-valor	Trat.	\bar{x}	σ	p-valor
0	2,10 ^{bc}	±0,38	0,0066	0	7,80 ^a	±1,24	0,0001
1	0,20 ^a	±0,10		1	0,40 ^b	±0,17	
2	1,00 ^a	±0,23		2	1,20 ^b	±0,13	
3	1,20 ^{ab}	±0,23		3	2,50 ^b	±0,16	
4	2,40 ^c	±0,43		4	5,90 ^a	±0,58	

El efecto nocivo de la aplicación de bioestimulante en la germinación ha sido documentado en otros estudios científicos. En esta línea, Majkowska-Gadomska *et al.* (2017) obtuvieron una menor energía y capacidad de germinación en semillas de plantas ornamentales tratadas con bioestimulantes. Antonio *et al.* (2019) recoge, no obstante, efectos beneficiosos tras la aplicación de bioestimulantes basados en extractos de algas marinas en la germinación de semillas de garbanzo, especialmente a dosis bajas. Este hecho parece corroborar el posible efecto contraproducente de la aplicación de dosis elevadas de bioestimulante durante los primeros estadios de vida del garbanzo, a falta de realizar un mayor volumen de ensayos

experimentales que lo verifique. Además, otros componentes, como el producto FitoMas-E, han resultado ser efectivos en los parámetros de germinación de semillas y producción evaluados en el estudio de Meriño Hernández *et al.* (2019). La aplicación de FitoMas-E y ácido indolbutírico favoreció igualmente la germinación de semillas del cítrico *Murraya paniculata L.*, en el ensayo de Baños *et al.* (2004). Ambos tratamientos fueron efectivos, igualmente, a dosis bajas de aplicación. Por otro lado, Ansari *et al.* (2015) realizaron ensayos con bioestimulantes líquidos comerciales basados en cepas de *Azotobacter sp.* con macetas en invernadero. Obtuvieron unos efectos beneficiosos en la germinación de semillas y la longitud promedio de los brotes.

La dilución de bioestimulante al 10% (D4) logra cifras ligeramente mayores que el tratamiento C, en cuanto al *número de nudos y longitud de cotiledones (cm)*. Este hecho parece apuntar hacia un efecto positivo derivado de la aplicación de dosis bajas de bioestimulante en términos de vigor de la plántula, una vez se produce su emergencia durante el proceso de germinación.

En este ensayo, las semillas sembradas en las placas con sustrato germinan de forma más eficaz, con un mayor *éxito de germinación*, aunque su posterior desarrollo se detiene, debido a la proliferación de hongos. A este hecho se le atribuye la pérdida progresiva de humedad del sustrato y unas condiciones del medio de cultivo poco favorables para el crecimiento, desarrollo y establecimiento de la semilla. En este sentido, las condiciones aportadas en la siembra en placa con algodón y papel, donde se mantiene un grado de humedad aceptable durante la fase de seguimiento resulta ser clave en la obtención de mayores evidencias en los parámetros de la germinación tenidos en cuenta.

5. Conclusiones

En este trabajo, se estudia el efecto en la germinación de semillas de garbanzo causado por la aplicación de un bioestimulante. El objetivo perseguido es comprobar si existe tal efecto y, en ese caso, evaluar el grado de influencia sobre una serie de parámetros de germinación seleccionados. Este esfuerzo se plantea de cara a lograr mejores rendimientos en los cultivos y minimizar los recursos empleados.

A la vista de los resultados conseguidos, se establecen las siguientes conclusiones:

- La aplicación del bioestimulante influye en la germinación de las semillas de garbanzo.
- El bioestimulante reduce el éxito de germinación (%) de las semillas de garbanzo.
- La dosis de bioestimulante más adecuada ha resultado ser la dosis 4, con una dilución al 10%.
- La mejor praxis es la aplicación de bioestimulante en bajas dosis.

De cara al futuro, se pretende comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo mediante el diseño de nuevas pruebas, testar con la aplicación de bioestimulantes de distinta composición, y variar las condiciones y los medios de cultivo. De este modo, se verificará el efecto y modo de empleo de diferentes bioestimulantes, así como la influencia del medio de cultivo en la germinación y desarrollo embrionario de las semillas de garbanzo. Por consiguiente, se evitará que la colonización por hongos altere la naturaleza de los parámetros evaluados y se prestará especial cuidado en que las semillas utilizadas hayan sido conservadas y tratadas correctamente.

Dado el elevado potencial que ofrece la innovadora técnica de aplicación de bioestimulantes en semillas de garbanzo, es fundamental proseguir con los esfuerzos en la búsqueda de la mejor praxis y componentes empleados. De esta forma, se podrán obtener cosechas más sostenibles, con el mínimo empleo de recursos y mejores rendimientos. Por lo tanto, es vital dar a conocer a los profesionales del sector el empleo de estas técnicas de cara a que puedan ser implementadas y perfeccionadas en las parcelas de cultivo a nivel global.

6. Referencias

- Ansari, M. F., Tipre, D. R. y Dave, S. R. (2015). Efficiency evaluation of commercial liquid biofertilizers for growth of *Cicer arietinum* (chickpea) in pot and field study [online]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 4, 17–24. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.09.010>. <Consultado el 17/03/2022>.
- Baños, H. L., Alemán, J., Martínez, M., Ravelo, J., Surís, M., Miranda, I. y Rodríguez, H. (2009). Efecto de bioestimulantes sobre la germinación y el crecimiento de *Murraya paniculata* L. [online]. *Cultivos Tropicales*. 30, 1. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/262634785>. <Consultado el 17/03/2022>.
- Cabeza, R. C., Escobar, I. H., Zayas, I. U., Robaina, F. R., Gil, M. E. D., Dubergel, E. F., Veranes, C. S., Polón, R.; Galán, T. R., Cardoso, M. B.; Abadin Lorenzo, J. P., Gózales, J. C. G. (2018). El cultivo de algunas legumbres para la producción local de alimentos y la mitigación del cambio climático. PARTE I. El cultivo del frijol carita o caupí (*Vigna unguiculata* L.). *Anuario Ciencia en la UNAH*. 16, 1. Recuperado de: <https://revistas.unah.edu.cu/index.php/ACUNAH/article/view/994>. <Consultado el 17/03/2022>.
- Canonero, L. J., Lattanzi, F., Molina, M. M., & Pinotti, L. S. (2018). *Evaluación de la capacidad biocontroladora de Trichoderma sp. en un cultivo de garbanzo (Cicer arietinum) en la región semiárida de la provincia de Córdoba* [online]. Tesis de licenciatura. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/11086/6667>. <Consultado el 17/03/2022>.
- del Moral de la Vega, J., Mejías-Guisado, Á., López-Morillo, M., (1994). El cultivo del garbanzo: diseño para una agricultura sostenible. *Hojas divulgadoras del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*. 12-94. Madrid, España.
- Echevarría, A., Triana, A., Rivero, D., Rodríguez, A. y Martínez, B. (2019). Generalidades del cultivo de garbanzo y alternativa biológica para el control de la Marchitez [online]. *Cultivos Tropicales*, 40 (4). ISSN 1819-4087. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362019000400010&script=sci_arttext&lng=pt. <Consultado el 15/03/2022>.
- Fernandez-Quintanilla, C., Dorado, J., Andújar, D., Peña-Barragán, J. M., Ribeiro, A. y López-Granados, F. (2017). Últimos avances en tecnologías para una gestión sostenible de las malas hierbas. En: Royuela-Hernando, M. y Zabalza Aznárez, A. (Eds). *XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología*. Actas. Universidad Pública de Navarra.
- Fierros-Leyva, G. A., Ortega-Murrieta, P. F., Acosta Gallegos, J. A., Padilla-Valenzuela, I., Valenzuela-Herrera, V., Jiménez-Hernández, Y. y López-Guzmán, J. A. (2017). Respuesta del rendimiento de genotipos de garbanzo blanco a la sequía terminal. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*. 8, 5, 1143-1154. México. Recuperado de: <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.114>. <Consultado el 16/03/2022>.
- Huez-López, M. A., López-Elías, J. y Jiménez-León, J. (2019). Efecto de soluciones de extractos de algas marinas en la germinación y plántula de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) [online]. *OmniaScience. Compendio Científico en Ciencias Agrícolas y Biotecnología*. 2, 31. XXI Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas. Recuperado de: <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n2-043>. <Consultado el 17/03/2022>.
- Jessop, R. y Wright, R. (1991). *New crops: agronomy and potential of alternative crop species*. Inkata Press. Melbourne, Sydney.
- López-Padrón, I., Martínez-González, L., Pérez-Domínguez, G., Reyes-Guerrero, Y., Núñez-Vázquez, M. y Cabrera-Rodríguez, J. A. (2021). Uso de bioestimulantes en el cultivo del garbanzo. *Cultivos Tropicales*. 42 (4). Ed. 13. Recuperado de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362021000400013&lng=es&tlng=es. <Consultado el 16/03/2022>.

- Majkowska-Gadomska, J., Francke, A., Dobrowolski, A., y Mikulewicz, E. (2017). The effect of selected biostimulants on seed germination of four plant species [online]. *Acta Agrophysica*. 24, 4, 591-599. ISSN: 1234-4125. Recuperado de: <http://www.acta-agrophysica.org/The-effect-of-selected-biostimulants-on-seed-germination-of-four-plant-species,105078,0,2.html>. Consultado el 17/03/2022.
- Meriño-Hernández, Y., Boicet-Fabré, T., y Boudet-Antomarchi, A. (2018). Efectividad del FitoMas-E en el cultivo del garbanzo bajo dos niveles de humedad del suelo [online]. *Centro Agrícola*. 45, 1, 62-68. ISSN 2072-2001. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852018000100008&script=sci_arttext&tlng=pt.<Consultado el 17/03/2022>.
- Singh, K.B. (1997). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*. 53, 161–170.
- Vergara García, G., Sánchez de Rivera, T,S. y Mauri Ablanque, P.V. (2014). Mejora del garbanzo. *Agricultura: Revista agropecuaria*. 828, 428-431.
- Wery, J. (1990). Adaptation to frost and drought stress in chickpea and implications in plant breeding. En: Saxena, M. C., Cubero, J. I. y Wery (Eds.). Present status and future prospects of chickpea crop production and improvement in the Mediterranean countries. *Options Méditerranéennes*. 77-85. CIHEAM, Paris.

- **Comunicación alineada con los Objetivos de Desarrollo Sostenible**

