

# **Reducción de la fertilización nitrogenada en distintos cultivos económicos mediante la aplicación de biofertilizantes desarrollados en el INIFAT**

*Rafael Martínez Viera, Bernardo Dibut Álvarez, Rosa García Gómez, Grisel Tejeda González, Yoania Ríos Rocafull, Marisel Ortega García, Janet Rodríguez Sánchez y María E. Simanca Morales.*

**Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT)**

E-mail [rmartinez@inifat.esihabana.cu](mailto:rmartinez@inifat.esihabana.cu)

## **Introducción**

El uso creciente de los fertilizantes nitrogenados en la producción agrícola ha traído como consecuencia un fuerte impacto ambiental que se refleja en graves daños para la salud del hombre, debido a que la fabricación industrial de estos productos produce emisiones de anhídrido carbónico y de óxido nitroso a la atmósfera, al mismo tiempo que su aplicación en el campo da lugar a la lixiviación de nitratos y a emisiones de óxido nítrico y amoníaco, especialmente a partir de la urea. Pero, además, este incremento de uso está acompañado por un aumento exponencial de formas no renovables de energía; así, la fabricación de los 77 millones de toneladas que se aplican en el mundo como fertilizante nitrogenado requieren anualmente 100 millones de toneladas de combustible, lo que corresponde al 1.4% de todo el combustible consumido, lo que resulta totalmente insostenible (Bockman, 1999).

Como se aprecia, la producción industrial de fertilizantes no puede satisfacer las necesidades de una población mundial en creciente aumento, especialmente cuando el exceso conduce a contaminar el agua de beber o a la eutrofización de los lagos, o a que las emisiones de óxido nitroso contribuyan al efecto invernadero de la atmósfera terrestre, además del incremento considerable de fuentes de energía no renovables. Por ello, se hace imprescindible adoptar una estrategia de suministro de nutrientes a los cultivos integrando una inteligente combinación de fertilizantes químicos, abonos orgánicos y biofertilizantes, todo ello dentro del marco de la Sostenibilidad, que es la tendencia surgida como contraposición a la Revolución Verde, para reducir los daños causados al ambiente y a la salud del hombre por los métodos irracionales que se han empleado en las últimas décadas.

En general, la sostenibilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos internos de los agroecosistemas. En este sentido, los biofertilizantes son un componente vital de los sistemas agroecológicos, ya que constituyen un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable de reducir los insumos externos y de mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos.

En Cuba se han ejecutado profundos estudios sobre la microflora de sus suelos en los últimos 40 años. Se han organizado colecciones de especies microbianas con características de biofertilizantes, mediante aislamientos realizados en gran número de regiones y suelos del país. Se ha hecho una selección de las cepas más eficientes y efectivas mediante estudios del quimiotaxismo, reducción del acetileno y screening in vitro y en bandejas. Se han creado nuevos medios de cultivo que permiten una rápida y abundante multiplicación de las bacterias. Se han determinado tecnologías de fabricación para las diferentes especies bacterianas. Los resultados que se han obtenido, algunos de los cuales se ofrecen en el presente trabajo, pueden servir de estímulo a los investigadores de los países tropicales para aprovechar al máximo la actividad de los microorganismos fijadores de nitrógeno, en estrecha relación con las favorables condiciones ambientales

Como resultado de estos trabajos, hoy se utilizan extensamente en Cuba los biopreparados a base de *Azotobacter chroococcum* sobre una amplia gama de cultivos que son beneficiados por esta bacteria, la cual se encuentra en gran parte de los suelos del país, aunque en poblaciones que solo alcanzan entre 1000 y 10 000 células/g de suelo, por lo que la acción beneficiosa se manifiesta en un nivel muy bajo, haciendo necesario aumentar la población artificialmente mediante la aplicación de biopreparados, lo que permite alcanzar entre 100 y 1000 millones de células/ g de suelo (Martínez Viera y Dibut, 1996). Se desarrolla, desde 1990, un programa de fabricación y aplicación de la bacteria a base de cepas seleccionadas, que son capaces de suministrar entre 30-50% de los requerimientos de nitrógeno de las plantas mediante la fijación biológica

En el presente trabajo se ofrecen los resultados más importantes que se han obtenido en Cuba con la aplicación de los biopreparados a base de cepas seleccionadas de la bacteria *A. chroococcum*, los cuales tienen el nombre registrado comercial de DIMARGON. Igualmente, se presentan resultados obtenidos en otros países, en los cuales se comercializa el DIMARGON.

### **Materiales y Métodos.**

Los resultados que se presentan en el trabajo fueron obtenidos en condiciones de producción, tanto en Cuba como en otros países, aplicando las Normas Técnicas indicadas para los diferentes cultivos. La única diferencia consistió en la reducción del fertilizante nitrogenado, en las cantidades que se indican posteriormente en cada cultivo, para demostrar la posibilidad de sustituir este fertilizante por el nitrógeno fijado por las bacterias.

El producto comercial DIMARGON fue fabricado en las instalaciones del INIFAT, en el caso de Cuba, o en las instalaciones montadas en Colombia con el asesoramiento del INIFAT. En el caso de México, el producto se fabricó de forma artesanal, solo para su validación.

## Resultados obtenidos con la aplicación de DIMARGON en hortalizas

En lo que se refiere a las hortalizas, el efecto de la inoculación con Azotobacter en Cuba puede resumirse con el ejemplo del tomate (Martínez Viera, 2003), en el cual puede reducirse hasta 40% la aplicación del fertilizante nitrogenado. El suministro de nitrógeno fijado de la atmósfera por parte de las bacterias, unido a la acción de las sustancias fisiológicamente activas que sintetizan, permite obtener los resultados que se muestran en las tablas N° 1 y 2 y en las fotos 1 y 2.

Tabla1. Efecto de la aplicación de Azotobacter sobre el rendimiento de dos variedades de tomate en Santiago de Las Vegas

Variedad	Tratamiento	Rendimiento/m <sup>2</sup>	Incremento (%)
INIFAT-28	Testigo	4.60 b	-
	Azot. en polvo	7.10 a	54.0
	Azot. líquido	8.60 a	87.6
Placero H	Testigo	3.25 c	-
	Azot. en polvo	5.20 b	60.0
	Azot. líquido	6.15 a	89.2

Tabla 2. Efecto de la aplicación de Azotobacter sobre la calidad de los frutos de tomate cv INIFAT-28 en Santiago de las Vegas (promedio de 50 frutos)

Variante	Cosechas					Promedio
	1	2	3	4	5	
	Diámetro (mm)					
Testigo	59.5	72.8	70.3	73.5	64.4	68.1
En polvo	72.3	76.3	76.2	75.2	71.9	74.4
Líquido	81.0	77.4	74.4	74.6	73.5	76.2
	Peso (g)					
Testigo	98.9	178.3	167.9	174.3	135.0	132.4
En polvo	171.2	190.1	196.0	191.0	170.5	183.0
Líquido	218.8	168.7	189.2	194.9	183.4	191.0



Foto 1. Desarrollo de las plántulas de tomate cv. INIFAT-28 por la aplicación de DIMARGON



Foto 2. Aumento del número y tamaño de los frutos por racimo y aceleración de la maduración por la aplicación de DIMARGON, reduciendo 30% el fertilizante.

### **Resultados obtenidos con la aplicación de DIMARGON en el plátano.**

El plátano nunca ha sido considerado entre los cultivos que pueden asociarse con las bacterias fijadoras de nitrógeno, y no existen reportes en la literatura sobre el particular. Los resultados de experimentos preliminares realizados con la cepa INIFAT-17 de *A. chroococcum*, seleccionada por quimiotaxismo en presencia de secreciones de las raíces de plátano, ofrecieron indicios de un posible actividad fijadora de nitrógeno, por lo cual se realizaron experimentos con ayuda del isótopo  $^{15}\text{N}$  para demostrar esta posibilidad. Sus resultados se muestran en la Tabla N° 3 (Álvarez et al., 2002).

Tabla 3. Procedencia del nitrógeno de la planta de acuerdo con los resultados de los análisis isotópicos.

Variante	% NddF	%NddS	%NddA
Testigo(31.9mgN)	5.14c	94.86a	0
Testigo(507mgN)	36.06b	63.94d	0
507mgN y 35.7mgP	32.26b	64.74d	0
A. chroococcum y 507mgN	46.72a	53.28c	0
A. chroococcum y 31.9mgN	5.14c	80.98b	13.88b
A. chroococcum, 31,9mgN y 35.7mgP	4.00c	70.25c	25.75a
ESX	1.44	4.26	5.85
CV(%)	5.8	6.0	64.7

NddF nitrógeno derivado del fertilizante

Ndds nitrógeno derivado del suelo

Ndda nitrógeno derivado de la atmósfera

Como puede verse en la tabla, las únicas variantes en las que se demostró la fijación de nitrógeno atmosférico fueron las inoculadas con *A. chroococcum* que recibieron una dosis mínima de fertilizante nitrogenado, siendo mayor la fijación cuando se añadió fósforo, elemento fundamental para ese proceso. Cuando se agregan dosis altas de fertilizante nitrogenado no ocurre la fijación, porque las bacterias disponen de suficiente nitrógeno a su alcance y se ahorran el elevado costo energético que exige el proceso de fijación.

Los resultados experimentales fueron ratificados en condiciones de producción, donde se obtuvieron los resultados que se presentan en la tabla N°4 (Dibut et al., 1996).

Tabla 4. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de fertilizante nitrogenado en combinación con *A. chroococcum* sobre el rendimiento del plátano (Tm/ha).

Variante	Plátano fruta (Cavendish gigante)	Plátano burro (CEMSA)
100 % N	42.19	23.84
100 % N + Azotobacter	44.77	27.74
70 % N	37.97	20.48
70 % N + Azotobacter	41.83	23.08
50 % N	34.50	15.09
50 % N + Azotobacter	36.90	18.06

En la tabla se pone de manifiesto el efecto estimulador del DIMARGON cuando se aplica el 100% del fertilizante nitrogenado, y se demuestra que, cuando se reduce el 30% del fertilizante y se aplica la bacteria, se obtienen rendimientos similares a los que se logran con 100% del fertilizante. En la Foto N° 3 puede verse el tamaño de los frutos y el número de frutos por racimo cuando se aplica el biopreparado, en comparación con una planta que no lo recibió.



Foto 3. Comparación entre un racimo de una planta de plátano “burro” que recibió el biopreparado DIMARGON y el de una planta que no lo recibió.

### Resultados obtenidos con la aplicación de DIMARGON en yuca y boniato

En estos cultivos se aprovecha, además de la actividad fijadora de nitrógeno, la capacidad que tienen las sustancias activas sintetizadas por *A. chroococcum* de estimular la fotosíntesis y reducir la respiración, como ha sido demostrado por nuestro grupo de trabajo (Acosta et al., 1993), lo que permite el almacenamiento de fotosintatos, que constituye la base de la formación de tubérculos y raíces, constituidas por material de reserva. En la tabla 5 se ofrecen los rendimientos obtenidos con la aplicación de DIMARGON sobre dos clones de yuca (*Manihot sculenta*) y dos de boniato (*Ipomoea batatas*) (Martínez Viera 1998).

Tabla 5. Efecto de la aplicación de *A. chroococcum* sobre el rendimiento de yuca y boniato (Tm/ha).

Variante	Clones de yuca		Clones de boniato	
	CMC-90	Señorita	Yabú 8	CEMSA 78354
100 % N	31.5	32.9	25.0	30.0
50 % N	20.0	20.6	18.7	20.6
50 % N + Azotobacter	32.6	35.4	30.6	34.3

Como se observa, la aplicación no solo compensa el 50% del nitrógeno necesario para estos cultivos, sino que además incrementa los rendimientos por la acción de las sustancias activas. En la Foto 4 puede verse la diferencia entre la productividad de las plantas inoculadas y las no tratadas.



Foto 4. Comparación entre una planta de yuca tratada con DIMARGON y una planta no tratada

### Resultados obtenidos con la aplicación de DIMARGON en frutales

En el medio tropical ocurre también fijación de nitrógeno en la filosfera, zona que está en contacto con la hoja y la atmósfera, sometida a la actividad reguladora de ambas. Los microorganismos que viven en las hojas, entre los cuales se encuentran las bacterias del género *Azotobacter*, toman el agua y los gases disueltos de la atmósfera y los nutrientes a partir de los exudados de las hojas vivas, los cuales están regulados por el estado nutricional de las plantas. El follaje funciona como soporte, trampa de agua, y centro de producción de nutrientes y condiciona el medio para el crecimiento microbiano; además, procesa y distribuye compuestos nitrogenados en flujo a través de la planta hacia las partes más jóvenes. Esta propiedad, y la habilidad para concentrar materia resuspendida o disuelta en la atmósfera con gran rapidez, hace que las hojas tengan una gran importancia en los ecosistemas agrícolas (Higa, 1995)

Al determinar los métodos de aplicación de biofertilizantes a base de *A. chroococcum* en Cuba se aprovecharon los conocimientos existentes acerca del papel de la filosfera, y se comprobó que las aplicaciones foliares en las extensas plantaciones de cítricos del país, utilizando el avión, eran de gran efectividad, como se demuestra en la tabla 6 (Martínez Viera y col., 1996).

Tabla 6. Efecto de la aplicación foliar de *A. chroococcum* sobre el rendimiento de toronja y naranja.

Tratamiento	Rendimiento (Tm/Ha)
Toronja	
50 % N + <i>Azotobacter</i>	73.00
100 % N	66.50
50 % N	57.90
Naranja	
50 % N + <i>Azotobacter</i>	48.00
100 % N	36.25
50 % N	27.60

Como se observa en la tabla, por el método de aplicación aérea se consigue no solo la sustitución del fertilizante, sino que permite una alta expresión de las sustancias activas sintetizadas por las bacterias, que estimulan la floración y la fructificación, lo que se traduce en rendimientos más altos. En este sentido, la inoculación actúa en sustitución de productos comerciales a base de aminoácidos, hormonas vegetales y otras sustancias, que se ofrecen para estos mismos fines y tienen un precio elevado.

En la Tabla 7 se ofrecen los resultados de la aplicación de DIMARGON sobre el mango, en el Edo. Sinaloa (México), sin aplicación de fertilizante nitrogenado.

Tabla 7. Efecto de la aplicación de DIMARGON sobre el mango.

Corte	No. de frutos		Peso de cosecha (Kg)	
	Control	DIMARGON	Control	DIMARGON
1	328	716	201.8	349.2
2	796	540	310.4	218.8
3	348	630	218.6	314.6
Total	1472	1886	735.8	882.6

Como se ve, hay un incremento de 12% en el rendimiento total. Pero lo más importante es que se pone de manifiesto la aceleración de la maduración, siendo mucho más elevado el rendimiento de la primera cosecha, lo cual tiene un gran valor comercial.

### **Resultados obtenidos con la aplicación de DIMARGON en algodón**

En las tablas 8 y 9 se ofrecen los resultados obtenidos en las pruebas realizadas sobre algodón en las haciendas “El Puente” y “San Lorenzo”, en el Departamento del Tolima.(Colombia). El control recibió 100% de NPK y la variante con DIMARGON recibió solo 70% de NPK (Martínez Viera et al., 2002).

Tabla 8. Efecto de la aplicación del DIMARGON sobre el desarrollo de las plantas de algodón en dos haciendas del Departamento del Tolima.

Lugar	Variante	Días a recolección	Plantas por metro	Altura de la planta (cm)
Hacienda El Puente	Control	130	5.0	90
	DIMARGON	120	7.0	120
Hacienda San Lorenzo	Control	120	5.5	120
	DIMARGON	115	7.2	135

Tabla 9. Efecto de la aplicación de DIMARGON sobre el rendimiento y sus componentes en algodón sembrado en dos haciendas del Departamento del Tolima

Lugar	Variante	Motas / planta	Peso mota (g)	Rendimiento (Tm/Ha)	Incremento (%)
Hacienda El Puente	Control	15.0	4.02	2.70	55
	DIMARGON	23.0	5.31	4.10	
Hacienda San Lorenzo	Control	12.15	3.80	2.39	62
	DIMARGON	17.03	5.08	3.88	

En las tablas puede observarse el acortamiento del ciclo del cultivo entre 5 y 10 días, el mayor número de plantas por metro lineal, que reduce la necesidad de resiembra, y la superior altura de las plantas desde los primeros días después de la emergencia, que lleva implícito un número más alto de cápsulas y motas. El rendimiento aumenta entre 55 y 62%

En la foto 5 se observan los efectos de la aplicación del biofertilizante.



Foto 5. Diferencias entre un campo de algodón tratado con DIMARGON, con reducción del 30% de todo el fertilizante químico (derecha) y uno sin tratar con aplicación del 100% del fertilizante.

### Resultados de la aplicación de DIMARGON en el cultivo del arroz

El arroz requiere altas cantidades de NPK, lo cual eleva extraordinariamente los costos de producción y constituye el principal factor limitante para el cultivo. En las haciendas “San Lorenzo” (Municipio Armero del Guayabal) y “La Pilar” (Municipio Venadillo), en el Departamento del Tolima (Colombia), se realizaron las validaciones en arroz del biofertilizante DIMARGON, en combinación con el FOSFOSOL (a base del hongo solubilizador del fósforo *Penicillium bilaii*), reduciéndose 30% la cantidad de fertilizante NPK; mientras que los campos controles mantenían el 100% de NPK. Los resultados se ofrecen en la Tabla 10 (Martínez Viera et al., 2002).

Tabla 10. Efecto de la aplicación de DIMARGON y FOSFOSOL sobre el rendimiento del arroz en dos haciendas del Departamento del Tolima.

Lugar	Variante	Granos / espiga	Granos vanos (%)	Rendimiento (Tm/Ha)	Incremento (%)
Hacienda S. Lorenzo	Control	145	6	7.81	--
	DIMARGON	150	4	8.12	4
	DIM + FOSF	153	4	8.96	15
Hacienda La Pilar	Control	133	6	6.14	--
	DIMAZOS	148	4	6.74	9
	DIM + FOSF	155	4	7.32	18

Como puede verse, el DIMARGON es capaz de aportar mediante la fijación biológica el 30% del nitrógeno que se redujo en el fertilizante, e incluso incrementar el rendimiento entre 4 y 9% por la acción de las sustancias activas. Cuando se combina con FOSFOSOL, se suministra el nitrógeno y el fósforo que se ha reducido en el fertilizante y el rendimiento se incrementa entre 15 y 18% por la acción conjunta de las sustancias activas sintetizadas por todos los microorganismos.

En las fotos 6 y 7 puede verse el efecto de la aplicación del biofertilizante.



Foto 6. Comparación entre el crecimiento de las plantas de arroz en un campo en que se aplicó DIMARGON (derecha) y en uno en que no se aplicó (izquierda).



Foto 7. Efecto de la aplicación del biofertilizante sobre el desarrollo de las espigas de arroz en el momento de la cosecha.

## Conclusión

A través de distintos ejemplos en diferentes cultivos, se ha puesto de manifiesto la elevada capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico que tienen las cepas tropicales de la bacteria *Azotobacter chroococcum* cuando se hace una selección adecuada, tomando en cuenta no solo los resultados de la prueba nitrogenasa, sino tomando en cuenta también su respuesta quimiotáctica frente a las secreciones radicales y su mayor o menor adaptabilidad a las diferentes condiciones de los agroecosistemas

Los beneficios obtenidos con el uso de los bioproductos a base de bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico pueden aún ser superiores si se utilizan productos mixtos, sobre todo en combinación entre *Azotobacter chroococcum* con bacterias u hongos solubilizadores del fósforo del suelo (Subba Rao, 1996). También Parr y col. (1994) y Higa (1995) han planteado que la mejor probabilidad de lograr importantes ventajas de la aplicación de microorganismos beneficiosos al suelo es la inoculación como parte de un cultivo mixto, con una densidad de inóculo suficientemente grande para permitir maximizar la posibilidad de su adaptación a las condiciones ecológicas del lugar

En Cuba se han desarrollado ya productos a base de *A. chroococcum* y *Pseudomonas fluorescens* (Bach et al., 2000), así como a base de *A. chroococcum* y *Azospirillum brasiliense* (Martínez Viera et al., 2001) y *A. chroococcum* y *Bacillus subtilis* (Tejeda et al., 2001) y, en los últimos tiempos, se desarrolló un bioproducto a base de cinco microorganismos en una sola fermentación, el cual está validándose actualmente (Martínez Viera et al., 2003) Es decir, que los resultados que se ofrecen en el presente trabajo tienen grandes perspectivas de ser mejorados en un futuro próximo, con todas las implicaciones beneficiosas que esto tiene para la economía de los cultivos y para la salud ambiental.

## Literatura

1. Acosta, M.C., R. Martínez Viera y B. Dibut (1993): Efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum* sobre la fotosíntesis y la respiración del tomate. En **Resúmenes de la ¡V Jornada Científica del Instituto de Botánica**, La Habana, pp. 54
2. Alvarez, C., R. Martínez Viera, B. Dibut, M. Ortega (2002): Fijación de nitrógeno en plátano por *Azotobacter chroococcum*. En **Memorias del XII Congreso Científico del INCA, CD**, San José de las Lajas.
3. Bach, T., J. Ferrán y A. Delgado (2000): **Obtención de un biofertilizante multipropósito a partir de la Fosforina**. Informe presentado al Comité de Expertos del CITMA, PMCT Biotecnología Agrícola, 81 pp.

4. Böckman O. (1997): Non biological nitrogen fixation. En **Biological Nitrogen Fixation. The Global Challenge and Future Needs**, Roma, pp 24-26.
5. Dibut B, A. Rodríguez y R. Martínez Viera (1996): Efecto de la doble función de Azotoryza sobre el plátano. Infomusa, 5(1): 20-23.
6. Dibut, B. (2000): **Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento para el beneficio de la cebolla**. Tesis de Doctorado, La Habana, 104 pp
7. Higa, T., (1995): Effective microorganisms: their role in Kusei Nature Farming and Sustainable Agricultura. En **Proceedings of the Third International Conference on Kusey Nature Farming**, U.S. Department of Agriculture, Washington, pp 161-184.
8. Martínez Viera R. y B. Dibut (1996): Los biofertilizantes como pilares básicos de la agricultura sostenible. En Curso-Taller sobre Gestión Medioambiental de Desarrollo Rural, La Habana, pp 62-81.
9. Martínez Viera R. (1998): Los biofertilizantes como factores de economía y productividad en la Agricultura Tropical. En **Curso-Taller sobre Agricultura Sostenible en el Trópico**, La Habana, pp 26-41.
10. Martínez Viera R. (1999): **Puesta a punto de la tecnología de fabricación y aplicación de un hongo solubilizador del fósforo del suelo**. Informe final de Proyecto, INIFAT, La Habana, 32 pp.
11. Martínez Viera, R., B. Dibut, G. Tejeda y R. García (2001): Trascendencia internacional de los biofertilizantes cubanos. En **Memorias del V Congreso Latinoamericano de las Ciencias del Suelo, CD**, Varadero.
12. Martínez Viera, R., B. Dibut, R. García y G. Tejeda (2002): Efectividad de los biofertilizantes cubanos en Colombia. En **Memorias del XII Congreso Científico del INCA CD**, San José de las Lajas.
13. Martínez Viera, R. B. Dibut, R. García y G. Tejeda (2003): Informe Final del Proyecto "Obtención de **un biofertilizante multipropósito para uso de la Agricultura Urbana**", La Habana, 75 pp.
14. Parr, J.F., S.B. Hornick y D.D. Kaufman (1994): **Use of microbial inoculants and organic fertilizers in agricultural production**. Published by The Food and Fertilizer Technolgy, Taipei, pp.228-245

15. Subba Rao, N.S. (1996): Interaction of Nitrogen-fixing microorganisms with other soil microorganisms. En **Biological Nitrogen Fixation, Marcel Decker Ed., Nueva York, pp 37-63.**

16. Tejeda,G., J. Rodríguez, R. García, R. Martínez Viera (2002): Obtención de un biopreparado con efecto antagonista y estimulador del crecimiento vegetal, mediante el cocultivo de *Bacillus subtilis* y *Azotobacter chroococcum*. En **Resúmenes del XII Congreso del INCA, La Habana, pp 38.**