

Azotobacterización. Un método sostenible para el aumento de la producción vegetal.

Bernardo Dibut Álvarez, Rafael Martínez Viera, Marisel Ortega García, Rosa García, Grisel Tejeda, Luis Fey , M. E.Simanca y Y.Rodríguez.

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT).

bdibut @ inifat.esihabana.cu

Introducción

Uno de los retos más complejos a cumplir por la presente generación de científicos y productores agrícolas en el mundo es la producción de alimentos. En este sentido, el germoplasma que hoy se cultiva y comercializa se caracteriza por variedades de alto potencial de rendimiento, incluyendo híbridos, por lo que el incremento de la productividad será difícil de superar y sólo podría lograrse por tecnologías de nueva generación, entre las que se incluyen el uso de estimuladores del crecimiento y el rendimiento vegetal (Bauer, 2001; Burdman *et al.*, 2000)

Así, una de las vías que nos facilitan la Microbiología del Suelo y la Biotecnología Agrícola aplicada, incluyendo la bioingeniería, consiste en la obtención de bioestimuladores a partir de la explotación de los microorganismos del suelo que, entre otras funciones, tienen la propiedad de producir sustancias fisiológicamente activas que, al interactuar con la planta, finalmente desencadenan en una mayor activación del metabolismo vegetal y consecuentemente actúan aumentando el desarrollo y el rendimiento (Huerta *et al.*, 2001).

En el mundo, desde mediados del siglo pasado y hasta la fecha, se ha demostrado en diversos cultivos la potencialidad de diferentes microorganismos, entre ellos *Azotobacter chroococcum*, como bioestimuladores y su efecto beneficioso sobre la productividad; sin embargo, la falta de procedimientos tecnológicos efectivos y económicos trajo como resultado la discontinuidad en las aplicaciones de esta bacteria en pruebas de campo y el impedimento de que pudiera generalizarse sobre grandes áreas de producción agrícola (IFOAM, 2001; Itzigsohn, *et al.*, 2000; Sasson, 2000).

El presente trabajo se realizó con el objetivo de iniciar los estudios encaminados a desarrollar en Cuba los procedimientos básicos y aplicados para la obtención y uso de bioestimuladores del crecimiento capaces de beneficiar una amplia gama de cultivos económicos, empleando en este caso la cebolla como cultivo modelo, al tratarse de una especie que se desarrolla bajo condiciones edafoclimáticas no favorables en casi la totalidad de los agro ecosistemas cubanos.

Materiales y Métodos

Los estudios se desarrollaron entre los años 1987-2000 sobre suelo Ferralítico Rojo típico (Instituto de Suelos, 2000) empleando bajo condiciones experimentales, en áreas del INIFAT, Santiago de Las Vegas, un diseño en Bloques al Azar con parcelas de 25 m² y 5 réplicas, realizando todas las atenciones a las plantaciones de cebolla según lo recomendado en el instructivo técnico del cultivo, incluyendo las variedades empleadas y la producción de semillas (Dirección de Cultivos varios, 1983; Muñoz *et. al.*, 1991). Las pruebas bajo condiciones de producción, también sobre el mismo tipo de suelo, fueron atendidas siguiendo el mismo procedimiento y se ubicaron en diferentes empresas de las provincias La Habana, Matanzas y Ciego de Ávila. Todas las semillas, con la germinación adecuada, provienen del Banco de Germoplasma del INIFAT y de la Empresa de Semillas Varias del Ministerio de la Agricultura.

El biopreparado, a base de la cepa INIFAT-17 de *Azotobacter chroococcum*, se obtuvo y fue aplicado según la tecnología diseñada para tal objetivo (Dibut, 2000). Los análisis de crecimiento y desarrollo de las plantas se realizaron por los métodos de Květ *et. al.*, (1991). El conteo microbiológico de células (incluyendo la dinámica poblacional) en el suelo rizosférico se desarrolló siguiendo el procedimiento de Fulchieri y Frioni (1986).

Los ensayos de validación y aplicaciones bajo condiciones de producción realizadas en México, Turquía y Colombia se desarrollaron siguiendo igualmente las recomendaciones establecidas en los instructivos de cada uno de los cultivos encuestados. El análisis biométrico se ejecutó mediante el programa STAT-ITCF.2 y la valoración socioeconómica del resultado fue elaborada según la metodología descrita por el Ministerio de Finanzas y Precios (1992).

Resultados y Discusión

La marcha para la obtención de biopreparados de este tipo (fig. 1) parte del manejo de la biología del suelo a ciclo cerrado, comenzando por el aislamiento y purificación de aquellos microorganismos capaces de brindar un efecto beneficioso sobre el cultivo. Así, al procesar cientos de muestras a partir de diferentes localidades del país se encontró que la especie *Azotobacter chroococcum* estaba ampliamente distribuida y en cantidades favorables en el suelo como para iniciar las investigaciones.

Una vez obtenida la colección nacional de referencia de la bacteria se condujeron los ensayos de selección de cepas, escogiéndose como la más efectiva la cepa INIFAT-17 (Dibut *et. al.*, 1990), teniendo en cuenta su marcado potencial de síntesis de sustancias fisiológicamente activas, destacándose la producción de reguladores del crecimiento (entre 14 - 32.5 µg/L), aminoácidos (17 aminocompuestos con concentración total de 728 nmol/mL), 4 vitaminas y 5 péptidos de bajo peso molecular (Dibut, 2000).

Este proceso de selección se extendió a condiciones de campo con las cepas más y menos efectivas de la bacteria resultantes de las condiciones de screening,

corroborándose el efecto encontrado por la cepa INIFAT-17, la cuál también resultó la de mejor comportamiento bajo estas condiciones (tabla 1).

Tabla 1. Potencial bioestimulador de diferentes cepas de *A. chroococcum* sobre el cultivo de la cebolla en condiciones de campo.

Variante (cepas)	Rendimiento (t.ha ⁻¹)	Peso de bulbos (g)	Diámetro de bulbos (cm)
INIFAT- 15	17.90 b	73.12 b	4.36 b
INIFAT- 3	19.69 a	83.63 a	4.88 a
INIFAT-17	19.73 a	87.25 a	4.93 a
INIFAT-10	17.62 b	71.70 b	4.31 b
Control	16.88 c	68.20 c	4.03 b
Esx	0.27	1.76	0.15
CV(%)	1.5	2.3	3.3

Nota : Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha = 0.05$.

Otro resultado inicial que permitió trazar una estrategia sostenible en la aplicación de esta biotecnología consistió en la obtención de un medio de cultivo (DIMARGON) que permite la aplicación de dosis reducida de la bacteria, sólo 2 L/ha, con un efecto distintivo sobre las plantas (tabla 2), en comparación con los medios de cultivos mas frecuentemente empleados en la literatura para el crecimiento y fabricación del microorganismo.

Tabla 2. Efecto bioestimulador de *A. chroococcum* (cepa INIFAT-17) crecida en diferentes medios de cultivos sobre plántulas de cebolla.

Variante	Largo de la plántula (cm)	Número de hojas	Diámetro del bulbillo (cm)	Peso seco (g.pl ⁻¹)
Medio Asbhy	13.31 b	2.53 b	0.25 b	51.13 b
Medio Jensen	12.20 c	2.33 c	0.21 c	44.26 c
Medio Dimargon	14.17 a	2.78 a	0.33 a	73.19 a
Control	11.01 d	2.17 d	0.18 d	35.17 d
Esx	0.35	0.27	0.15	0.12
CV (%)	1.42	1.10	5.04	2.59

Nota: Medias con distintas letras difieren significativamente entre sí para $\alpha=0.05$.

En cuanto al método de inoculación empleado, se demuestra que la inoculación al semillero o cepellón es suficiente para obtener el efecto deseado sobre las plantas (tabla 3), lo cual en ocasiones coincide con lo descrito por otros autores para este tipo de rizobacteria, aunque algunos reportes de la literatura científica y comercial recomiendan más de una aplicación durante el ciclo del cultivo.

En cuanto a dosificación, todos los bioestimuladores a base de *Azotobacter* que se reportan se aplican a más de 2L/ha, llegando hasta 10-20 L/ha. Teniendo esto en cuenta, puede deducirse la desventaja económica que estos presentan en su aplicación en comparación con los que se obtienen a través del procedimiento que aquí se describe.

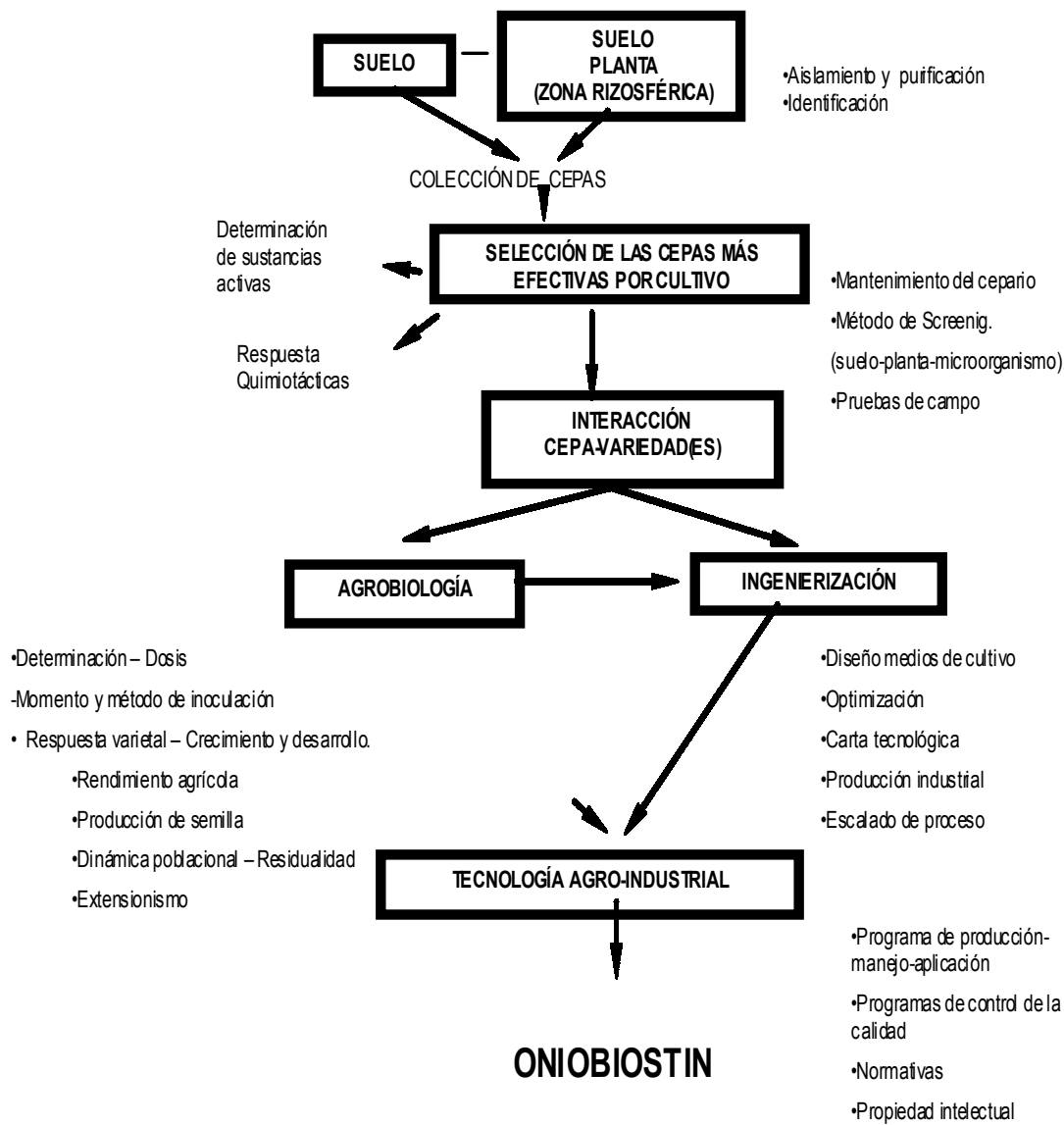


Fig 1. Procedimiento general de trabajo para la obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento vegetal.

Tabla 3. Efecto de diferentes momentos de inoculación de la bacteria sobre el rendimiento de la cebolla. Campaña 1988 – 1989.

Momento Inoculación	Rendto (t/ha) Campaña		Peso bulbo (g) Campaña		Diamt bulbo (cm) Campaña	
	1988-89	1989-90	988-89	1989-90	988-89	1889-90
Control	15.38 d	14.27 d	61.57 d	57.07 d	4.47 c	3.98 d
I. Semillero	18.58 a	17.36 a	76.77 a	72.62 a	5.04 a	4.79 a
I. Campo	16.43 c	14.97 c	66.85 c	61.08 c	4.63 b	4.22 c
I. Semillero y campo	17.05 b	15.44 b	74.02 b	65.12 b	4.78 b	4.36 b
Esx	0.18	0.17	1.69	1.87	0.12	0.08
Cv(%)	1.0	1.1	2.3	2.6	2.5	1.8

En la tabla, puede verse en ambas campañas de experimentación, el mayor rendimiento (entre 21-23%), peso (25-27%) y diámetro del bulbo (entre 14-20%) obtenido con la inoculación al cepellón en relación con el control sin inocular. El resto de las variantes a pesar de que superan al control, promedian valores inferiores en comparación con la inoculación una sola vez al cepellón.

El efecto del microorganismo se evidencia desde las etapas iniciales del cultivo. En la Tabla 4, se presenta la respuesta de la bacteria sobre las posturas de cebolla una vez concluida la etapa de semillero; en este orden, puede observarse en las tres variedades estudiadas incrementos entre 19 y 26% en la altura de las plántulas con un 45-49% más de población. El número de hojas aumentó entre 29-50% con la bacterización, al igual que el diámetro del bulbillo (entre 28-29%) y el volumen radical (32-46%). Un parámetro estrechamente relacionado con el rendimiento lo constituye la biomasa o peso seco de la planta, incrementándose en este caso entre 57 y 83% con relación a las posturas no bacterizadas.

Tabla 4. Efecto de bacterización con Oniobiostin sobre el crecimiento y desarrollo de posturas de cebolla.

Campaña 1989-1990. Güira de Melena.

Variedad	Variante	Altura (cm)	Población (Pas/m ²)	num. hojas	Volumen radical (cm ³)	DIAN del bulbillo (Mm.)	Biomasa (mg.pl ⁻¹)
Texas	Testigo	23.3 b	336 b	2.82 b	0.36 b	3.61 b	162.2 b
	Inoculado	29.8 a	501 a	4.20 a	0.52 a	4.65 a	254.0 a
Red Cróele	Testigo	24.7 b	351 b	3.60 b	0.39 b	3.77 b	193.0 b
	Inoculado	27.9 a	510 a	4.18 a	0.51 a	4.88 a	270.2 a
Caribe-71	Testigo	22.0 b	329 b	3.57 b	0.41 b	3.50 b	169.1 b
	Inoculado	26.2 a	463 a	4.34 a	0.54 a	4.93 a	311.1 a
Esx	-	0.60	1.3	0.11	0.10	0.15	1.28
Cv(%)	-	1.9	3.7	2.7	1.2	2.5	3.1

Nota: Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha = 0.05$

Al realizar las aplicaciones sobre semillero bajo condiciones de gran producción en diferentes localidades, igualmente se comprueba el efecto de *A.chroococcum* sobre las posturas de cebolla (tabla 5). En este caso, la altura, número de hojas y diámetro

del bulbillo aumentó en 38-49%, 46-54% y 43-52%, respectivamente, con relación a las áreas controles sin inocular.

Este comportamiento permite acortar el ciclo de semillero al obtener posturas aptas para el trasplante entre 7 y 10 días antes en comparación con las posturas no inoculadas, con el consiguiente beneficio por concepto de ahorro de mano de obra, aplicación de pesticidas y riegos programados para este período que se logra anular. Actualmente, las empresas productoras de semillas y plántulas demandan resultados de este tipo, ya que pueden satisfacer a sus clientes con menos costos de producción, en menor tiempo y manteniendo la calidad del material vegetal comercializado.

Tabla 5. Efecto estimulador del Oniobiostin sobre plantas de cebolla en el momento del trasplante.

Localidad	Variiedad	Variante	Altura (cm)	Número de hojas	Diámetro del bulbillo (Mm.)	Biomasa (g . PL ⁻¹)
Quivi can	i.e. Granes	Testigo	21.8 b	3.76 b	4.06 b	0.162 b
		Inoculado	30.2 a	4.12 a	6.19 a	0.229 a
C. de Ávila	“	Testigo	20.7 b	2.79 b	3.15 b	0.136 b
		Inoculado	31.0 a	4.11 a	5.70 a	0.224 a
Matanzas	“	Testigo	22.1 b	3.14 b	3.72 b	0.157 b
		Inoculado	29.4 a	4.21 a	5.98 a	0.214 a
Batabanó	“	Testigo	20.4 b	2.57 b	3.14 b	0.124 b
		Inoculado	31.9 a	4.10 a	5.80 a	0.218 a
Quivicán	Y.G.Híbrida	Testigo	20.2 b	3.47 b	3.36 b	0.128 b
		Inoculado	27.3 a	4.54 a	4.44 a	0.203 a
Matanzas	“	Testigo	21.3 b	2.99 b	3.46 b	0.153 b
		Inoculado	28.4 a	4.36 a	4.61 a	0.215 a
Güines	“	Testigo	24.1 b	2.75 b	3.00 b	0.163 b
		Inoculado	30.8 a	3.74 a	4.28 a	0.221 a
Güira de Melena	Caribe -71	Testigo	26.7 b	3.09 b	3.22 b	0.182 b
		Inoculado	34.0 a	4.33 a	4.84 a	0.229 a
Batabanó	“	Testigo	25.3 b	2.94 b	2.88 b	0.162 b
		Inoculado	35.4 a	4.06 a	3.93 a	0.243 a
Güira de Melena	C.Amarilla-36	Testigo	24.3 b	3.26 b	3.92 b	0.178 b
		Inoculado	34.7 a	4.28 a	5.66 a	0.253 a
Batabanó	Red Creole	Testigo	20.3 b	3.32 b	3.54 b	0.119 b
		Inoculado	28.8 a	4.83 a	4.77 a	0.236 a

Nota. Medias con letras diferentes en cada ensayo presentan diferencias significativas entre sí para P<5%.

El efecto anterior es producto de la población de células de la bacteria asociada a la zona rizosférica de las plántulas. En la Tabla 6, se muestra el número de bacterias por gramo de suelo en las posturas inoculadas en comparación con los controles, donde igualmente se asocia el *Azotobacter*, pero en este caso las poblaciones autóctonas presentes en el suelo o sustrato. Esta diferencia de población (entre 1.3 – 4.5 x 10³ UFC/g de suelo rizosférico) justifica la aplicación del microorganismo, ya que poblaciones del orden de 10⁴ UFC/g de suelo (testigo) no producen el efecto

estimulador sobre la plantas, a diferencia de títulos del orden de 10^7 UFC/g de suelo (inoculado) con los cuales se logra el efecto agrobiológico que es capaz de potenciar la bacteria sobre la producción de posturas.

Tabla 6. Población de *A.chroococcum* en la zona rizosférica de plantas de cebolla en el momento del trasplante.

Localidad	Variedad	Variante	Población N (U.F.C . g suelo seco ⁻¹)	log N
Quivicán	Texas E.Granex	Testigo	3.2×10^4	4.50 b
		Inoculado	5.1×10^7	7.70 a
Batabanó	“	Testigo	1.2×10^4	4.07 b
		Inoculado	3.4×10^7	7.53 a
Guínes	“	Testigo	2.6×10^4	4.41 b
		Inoculado	5.8×10^7	7.76 a
Quivicán	Yellow G.Híbrida	Testigo	7.6×10^3	3.88 b
		Inoculado	1.5×10^7	7.17 a
Guínes	“	Testigo	5.4×10^4	4.73 b
		Inoculado	7.3×10^7	7.86 a
G.de Melena	Caribe-71	Testigo	8.1×10^3	3.90 b
		Inoculado	3.2×10^7	7.50 a

Nota: N -número de células totales de *A.chroococcum* presentes en suelo rizosférico.

Medias con distintas letras presentan diferencias significativas entre sí para $P < 5\%$.

Al avanzar el ciclo del cultivo, en evaluaciones fonológicas realizadas a los 30, 50 y 70 días después del trasplante, se mantuvo la superioridad (entre 34 – 46%) en altura, número de hojas, diámetro del bulbo y biomasa seca por planta inoculada con relación a los controles sin tratar, tanto en condiciones experimentales como en condiciones de producción en más de 32 ha muestreadas.

En relación al rendimiento agrícola, se promedia en los ensayos experimentales realizados durante tres campañas, índices que oscilan entre 1.7 – 2.15 t/ha de más en las plantaciones inoculadas con incrementos entre 16 – 20% en el peso y entre 10 – 15% en el diámetro de los bulbos. Al aplicar varias variedades bajo condiciones de producción (123 ha) se lograron aumentos entre 2 – 3.5 t/ha (tabla 7), lo que representa un incremento entre 17 – 28% con relación a las superficies donde no se aplicó este método biotecnológico.

Tabla 7. Respuesta en el rendimiento en bulbos de diferentes variedades de cebolla producto de la aplicación de Oniobiostin.

Localidad	Variedad	Variante	Superficie (ha)	Rendimiento (t.ha ⁻¹)	Incremento (%)
Quivicán	T E Granex	Testigo	8.36	10.64 b	28
		Inoculado	14.14	13.62 a	
Ciego de Ávila	“	Testigo	2.50	14.28 b	20
		Inoculado	9.80	17.10 a	
Güines	“	Testigo	3.15	15.57 b	21
		Inoculado	8.70	18.81 a	
Batabanó	“	Testigo	4.14	15.30 b	20
		Inoculado	11.10	18.43 a	
Matanzas	“	Testigo	8.25	12.23 b	21
		Inoculado	12.40	14.80 a	
Quivicán	Y .G. Híbrida	Testigo	6.60	11.10 b	21
		Inoculado	12.12	13.38 a	
Matanzas	“	Testigo	9.23	15.00 b	15
		Inoculado	17.12	17.19 a	
Güines	“	Testigo	5.15	7.26 b	33
		Inoculado	8.80	9.63 a	
Güira de Melena	Caribe-71	Testigo	1.80	14.77 b	23
		Inoculado	2.63	18.19 a	
Batabanó	“	Testigo	1.70	13.82 b	17
		Inoculado	7.86	16.15 a	
Güira de Melena	Red Creole	Testigo	5.26	11.06 b	16
		Inoculado	9.14	12.80 a	

Nota. Medias con letras diferentes dentro de cada prueba presentan diferencias significativas entre sí para P<5%.

Estos resultados no pueden ser comparados con otros similares encontrados en la literatura sobre cebolla, por lo que esta información puede considerarse un primer reporte al respecto. Al mismo tiempo, otro parámetro que hoy se le presta gran atención en cuanto a la introducción de un biopreparado, lo constituye la residualidad microbiológica del producto; en esta tecnología, el comportamiento de las poblaciones de la bacteria en las áreas aplicadas se igualan a la población autóctona en un período de 35-30 días posteriores a la cosecha (post-cosecha) de las plantas (tabla 8), lo que indica la residualidad prácticamente nula del microorganismo (Piceno y Novell, 2000).

Tabla 8 . Comportamiento de las poblaciones de *A.chroococcum* en la zona rizosférica de plantas de diferentes variedades de cebolla y suelo en tres momentos del cultivo .Santiago de Las Vegas. Campaña 1988-89 .

Variedad	Tratamiento	Población de células en tres momentos (UFC.gr suelo ⁻¹)		
		Crec.activo	Senescencia cosecha	Post.
T.E.Granex	Testigo	4.91 c	4.32 d	4.32 e
	Inoculado	7.85 a	6.77 b	4.36 e
Y.G. Híbrida	Testigo	4.88 c	4.29 d	4.29 e
	Inoculado	7.76 a	6.74 b	4.35 e
Caribe-71	Testigo	4.90 c	4.36 d	4.35 e
	Inoculado	7.82 a	6.66 b	4.41 e
C.amarilla-36	Testigo	4.92 c	4.51 d	4.32 e
	Inoculado	7.81 a	6.59 b	4.38 e

CV(%) = 2.2

Esx = 0.12

Nota. Medias con distintas letras presentan diferencias significativas entre sí.

La producción de semillas, igualmente fue estimulada por el tratamiento con Oniobiostin. El rendimiento se logró incrementar en 32% con la variante más efectiva, aunque aumentos del 13% también fueron obtenidos al sumergir por 30 min. Los bulbos en el biopreparado. El diámetro del umbela y el peso de las semillas igualmente aumentó en 3 y 12%, respectivamente, con un 3% más de germinación de las semillas provenientes de las variantes azotobacterizadas (tabla 9 a); por último, un indicador favorable resulta ser la disminución de los tallos florales, comportamiento este que ofrece notables ventajas agronómicas por concepto de mayor facilidad en la cosecha mecanizada de las semillas (Muñoz *et al.*, 1991).

Tabla 9a. Respuesta de la floración y producción de semillas de cebolla a la inoculación con Oniobiostín. Sgto. de las Vegas.

Campaña 1989-1990.

VARIANTE	Rendmt kg.ha ⁻¹	Altura Tallo Floral (cm)	Diamt Umbella (cm)	P de 1000 Semillas (g)	Germ Semillas (%)
Control	297.21 d	58.76 a	6.31 c	3.52 d	88.2 b
Bulbos sumerg	319.40 c	57.56 b	6.03 d	3.58 c	88.6 b
B sumerg Oniobiostín	335.63 b	53.84 c	6.30 b	3.78 b	91.2 a
Oniobiostín al suelo	391.00 a	54.12 c	6.52 a	3.93 a	91.8 a
ES X	0.80	0.26	0.4	0.01	0.47
CV (%)	3.4	1.5	0.6	0.3	0.5

Nota. Medias con letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0.05$

En otra campaña posterior, en prueba de extensión, se obtuvo una respuesta similar con un 36% de aumento, correspondiente a 82 kg/ha adicionales de semilla cosechada (tabla 9 b). También en paralelo, se repitieron en otras localidades pruebas del producto en esta misma campaña con resultados muy similares a la anterior. En la literatura, no se reportan efectos de biopreparados a base de *Azotobacter chroococcum* sobre la producción de semillas de cebolla (Muñoz et al., 1991; Piceno y Novell, 2000)

Tabla 9b. Efecto del Oniobiostín sobre la producción de semilla de cebolla en condiciones de producción. ESV Bolondrón. Matanzas (1.5 ha). Campaña 1990-1991.

VARIANTE	RENDIMIENTO kg.ha ⁻¹	PESO 1000 SEMILLAS (g)	GERMINACION DE LAS SEMILLAS (%)
Control	229.00 b	3.17 b	89.00 b
Oniobiostín aplicado al suelo	311.50 a	3.44 a	90.75 a

Nota. Medias con distintas letras difieren significativamente entre sí para prueba de T con P < 5%.

En general, en el país, estos bioproductos, serie DIMARGON[®], han sido aplicados en condiciones de producción sobre una amplia gama de cultivos como son las hortalizas, arroz, maíz, sorgo, viandas tropicales, cítricos y frutales, café y plantas ornamentales, entre otros, con resultados agrobiológicos que expresan un efecto del tipo aquí encontrado para el caso del cultivo de la cebolla (Martinez Viera *et al.*, 1999 ; Dibut, 2000).

Al aplicar los biopreparados DIMARGON en otros mercados, igualmente se obtuvieron buenos resultados. Por ejemplo, en México, aumentos del 32% del rendimiento en tomate y 38% en pimiento han sido logrados al aplicar el producto sobre una superficie representativa en ambos cultivos (tabla 10).

Tabla 10. Efecto de la aplicación de DIMARGON sobre el rendimiento de tomate y pimiento sembrado en el Estado de Sinaloa (México). Campaña 1999-2000.

Cultivo	Variante	Rendimiento Tm/Ha	Incremento %
Tomate	Control	47.4 b	-
	DIMARGON	63.0 a	32
ESX		1.20	
CV (%)		9.00	
Pimiento	Control	49.3 b	-
	DIMARGON	68.0 a	38
ESX		2.3	
CV (%)		11.50	

Nota. Medias con distintas letras presentan diferencias significativas entre sí, para P < 5%.

Al tratar, en Colombia, plantaciones de algodón en dos haciendas se logró aumentar en 55 y 62% el rendimiento en ambas pruebas, con el conteo de 5-8 motas adicionales por planta inoculada en relación a las plantaciones no aplicadas (tabla 11).

Tabla 11. Efecto de la aplicación de DIMARGON sobre el rendimiento del algodón sembrado en dos haciendas del Departamento de Tolima (Colombia). Campaña 1999 – 2000.

Variante	Motas/planta	Rendimiento Tm/Ha	Incremento %
Control	15.0	2.70 b	-
DIMARGON	23.0	4.10 a	55
ESX	2.1	1.60	
CV (%)	7.0	9.21	
Control	12.15	2.39 b	-
DIMARGON	17.03	3.88 a	62
ESX	1.63	2.15	
CV (%)	5.70	7.20	

Nota. Medias con distintas letras presentan diferencias significativas entre sí, para $P < 5\%$.

También en Colombia, se aplicó la bacteria, en este caso en asociación con *Azospirillum brasilense* (DIMAZOS) y *Penicillium bilaii* (FOSFOSOL) como solubilizador del fósforo en el suelo, encontrándose en dos pruebas de extensión sobre el cultivo del arroz, como muestra la Tabla 12, incrementos del 15 y 18% en el rendimiento. Estos resultados, fueron extendidos sobre extensas áreas de producción de arroz en este país, destacándose la aceptación del biopreparado por parte de productores y empresarios (Martínez Viera *et. al.*, 2002).

Tabla 12. Efecto de la aplicación de DIMAZOS Y FOSFOSOL sobre el rendimiento del arroz sembrado en dos haciendas del Departamento de Tolima (Colombia). Campaña 1999 – 2000.

Variante	Granos/espiga	Rendimiento Tm/Ha	Incremento %
Control	145	7.81 b	-
DIM+FOS	153	8.96 a	15
ESX	11.2	1.8	
CV (%)	21.0	12.3	
Control	133	6.14 b	-
DIM+FOS	155	7.32 a	18
ESX	14.1	2.9	
CV (%)	19.2	11.0	

Nota: Medias con distintas letras presentan diferencias significativas entre sí, para $P < 5\%$.

En Turquía, al bacterizar diez cultivos con DIMARGON® se registraron aumentos del rendimiento entre 23 – 46% con la obtención de frutos de mayor calidad (Dibut *et al.*, 2001), incluyendo pruebas sobre 3.2 ha de algodón donde se lograron aumentos del

orden del 54%, similares a los obtenidos en Colombia, por lo que parece indicar que se establece una efectiva asociación entre este cultivo y la bacteria.

Desde el punto de vista socioeconómico, los beneficios derivados de la introducción de esta nueva biotecnología, empleando el cultivo de la cebolla como modelo, se enmarcan en los conceptos siguientes, tomando como base de cálculo las 3060 ha de las diferentes variedades de cebolla que anualmente se cultivan en el país.

a) Ahorro de semilla (derivado de sólo un 20% de incremento en el número de plántulas que emergen). Sub-total \$ 10 036. 29

b) Por concepto de acortamiento del ciclo de semillero (en 5 días) y consecuentemente, el ahorro de 2 riegos y una aplicación fitosanitaria para un total de 255 ha de semillero. Sub-total \$ 5 370.30 .

c) Aumento del rendimiento en al menos 1 t/ha como promedio para variedades blancas y amarillas y variedades rojas. Sub-total \$ 1 762 560.

Teniendo esto en cuenta el **total de beneficios** sería de \$ 1 777 966. 59

Ahora, considerando los gastos de fabricación y aplicación del biopreparado, según la descripción de costos realizada por Dibut (2000), se tiene:

a) Gastos derivados de la producción industrial por hectolitro producido \$ 9 465.

b) Gastos por concepto de transportación del producto \$ 6 063 (HI).

c) Costo de almacenamiento (HI) \$ 0. 165

d) Gastos de aplicación de una hectárea \$ 5.00 (HI)

Sub total de Gastos : \$ 1051.87

Beneficios totales : \$ 1 777 966.59 - \$ 1051.87 = \$ 1 776 914 .72

En adición a este impacto económico, es necesario considerar los beneficios sociales que se derivan del mayor volumen alimentario de bulbos de cebolla destinados al consumo de la población y la industria, no dejando de estimar el impacto ambiental producto de la contribución en ganancias de nitrógeno sobre la superficie de suelo aplicada, como consecuencia de la capacidad nitrofixadora de estos microorganismos.

Conclusiones

Las bacterias de la especie *Azotobacter chroococcum* , capaz de asociarse con otros microorganismos beneficiosos estimuladores, se encuentran ampliamente distribuidos en los suelos Ferralíticos Rojos de Cuba. La alta concentración y rápido crecimiento que alcanza en medio Dimargon modificado permite aplicar sólo 2 L/ha del producto, lo cual, unido al alto potencial de síntesis de sustancias fisiológicamente activas expresa un marcado efecto estimulador sobre plántulas (posturas) de cebolla y logra aumentar los rendimientos entre 15 – 20%, equivalentes a 1.5 – 2.0 t adicionales por ha cultivable, incluyendo los mayores volúmenes que se logran en la producción de semillas cuando se plantan bulbos

madres bacterizados. La baja residualidad de la bacteria en el suelo le confiere un notable impacto ambiental al producto, que a su vez contribuye a la economía del país con beneficios del orden de \$ 1 776 914.72 anuales, en adición a otras ganancias similares que se obtienen al aplicar esta biotecnología en otros mercados.

Referencias Bibliográficas

1. Bauer, T. (2001): Microorganismos Fijadores de nitrógeno. En: (<http://11 w w w. microbiología. com.ar/suelo/ rhizobium.html>).
2. Burdman, S.; B.Hamaoul y Y.Okon (2000): Improvement of legume crops yields by co-inoculation with *Azospirillum* and *Rhizobium*. *The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. The Hebrew University of Jerusalem, Israel*, 64 pp.
3. Dibut, A. B (2000): Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento vegetal para el beneficio de la cebolla (*Allium cepa L.*). *Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas*, Ministerio de la Agricultura, La Habana, 104 p.
4. Dibut Álvarez, B; R. Martínez Viera; R. González; E .Delgado y B. Martín (1990): Evaluación de cepas de *Azotobacter chroococcum* aisladas de suelos de Cuba. I Actividad estimuladora del crecimiento en plántulas de tomate. *Cien. Agric.*, 40:11-16.
5. Dibut Álvarez, B.; R. Martínez Viera; Rosa García; Tugrul Yemischi; Gazi Kaya; Alí Kucuk; Ahmet Semsattin y Ertug Firat (2001): Efecto de la aplicación de DIMARGON sobre diferentes cultivos económicos en Turquía, Izmir. En: *Memorias del XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencia del Suelo*, CD-III-24 ISSN 1609 – 1876, Varadero, Cuba.
6. Dirección Nacional de Cultivos Varios (1983): *Instructivo Técnico del cultivo de la cebolla*. Ministerio de la Agricultura, La Habana, 60 pp.
7. Fulchieri, M y L.Frioni (1986): Efecto rizosférico de gramíneas sobre *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Clostridium* en ensayo de campo. *Rev. Latin. Microb.*, 28(3): 293-301.
8. Huerta, J; I.A. Escalante; J.Z. Castellanos; R.Robles y J.A.Flores(2001): Producción de biomasa y grano en frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) en función de la fertilización nitrogenada y la inoculación con *Rhizobium Leguminosarum bv. phaseoli.*. En: (<http://lzea. chapingo. mx/sometil RFM/ 20-1-es. html #Art 5>).
9. IFOAM (2001): What is IFOAM. En: (<http://ecoweb.dk/ifoam>).
10. Itzigsohn, R.; S.Burdman y Y.Okon (2000): Plant growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. *Arid. Soil. Research and Rehabilitation*, 13: 151-158.

11. Instituto de Suelos (2000): *Nueva versión de la Clasificación Genética de los suelos de Cuba*, Ed. AGROINFOR, La Habana, 64 pp.
12. Kvet, J.; P.Ondok; J.Necas y P.G.Jarvis (1991): *Plant Photosynthetic Reproduction. Manual of methods. Capx. Methods of Growth Analysis*. Dr. Junk, W.Publishers, Netherlands, 343 - 384 pp.
13. Martinez Viera, R, J.T. Giovanna; B. Dibut; R.García y G.Tejada (2002): Efectividad de biofertilizantes cubanos sobre los cultivos de arroz y algodón en la República de Colombia. En: *Programas y Resúmenes del XIII Congreso Científico, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, La Habana, 64 pp.
14. Martinez Viera, R; N.Toledo y C. Arguelles (1999): Introducción al conocimiento sobre biofertilizantes. *Universidad Tecnológica de la Huasteca*, México, 43 pp.
15. Ministerio de Finanzas y Precios (1992): *Lista Estatal de Precios y Perfeccionamiento. Dirección de Agricultura*, Ministerio de Finanzas y Precios, La Habana, 36pp.
16. Muñoz de Con, L.; A. Prats y G. Brito Iglesias (1991): *Técnica de producción de semillas de cebolla*. CIDA Ed., La Habana, 15 pp.
17. Piceno, Y. M y C.R. Lovell (2000): Stability in natural bacterial communities. I Nutrients addition effects on Rhizosphere diazotroph assemblage composition. *Microb. Ecology.*, 39(1): 32-40.
18. Sasson, A. (2000): La contribución de las biotecnologías a la alimentación . *Biotecnología Aplicada*. Vol 17 (1): 2-6.