

## **Contribución de rizobacterias fijadoras del dinitrógeno a la nutrición de cultivos económicos.**

Bernardo Dibut Alvarez, R. Martínez Viera, Yoania Ríos Rocafull, Marisel Ortega, Liuba Planas, Griselda Tejeda, Janet Rodríguez, Luis Fey, Ulises Soca y Katia Cañizares.

*Instituto de Investigaciones en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT, Cuba.*

bdibut@inifat.co.cu

### **RESUMEN**

El aporte en nitrógeno de las rizobacterias nitrofixadoras cada día cobra más importancia en el balance de nutrientes suelo-planta, la vida de la microbiota del suelo y la preservación del medio ambiente. En este trabajo, se exponen los resultados en condiciones experimentales, extensión agrícola y gran producción sobre el efecto de FBN con *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense* sobre la nutrición nitrogenada en varios cultivos económicos. La cuantificación del N fijado (%N<sub>dda</sub>) por la técnica isotópica de N<sub>15</sub> confirman niveles de fijación entre 22-25% para arroz, tomate y banano, lográndose comprobar además niveles de reducción similares y aún superiores para otro grupo de cultivos, entre los que se encuentran el trigo, maíz, sorgo, naranja y toronja, estudiados por el método de las diferencias. La capacidad constitutiva de estos microorganismos en cuanto a la síntesis de sustancias estimuladoras del crecimiento (PGPRs) hacen provocar un ligero aumento del rendimiento en los cultivos entre 2-5% con el consiguiente impacto socioeconómico. Adicionalmente, se presentan los resultados de selección de variedades e inoculación del garbanzo con *Mesorhizobium cicerii*, en donde se logran obtener ganancias de hasta el 70% de las necesidades de N-fertilizante sin afectar el rendimiento con respecto a la fertilización tradicional. Teniendo en cuenta el costo de fabricación-aplicación de los biopreparados que se introducen y el nivel de reducción de fertilizante nitrogenado que se alcanza con la biofertilización, estas técnicas biotecnológicas presentan una relación C/B atractiva que permiten ser establecidas en la práctica agrícola.

Palabras claves: *Rizobacterias, Fijación del dinitrógeno, biopreparados.*

### **INTRODUCCIÓN**

Los procesos de la fijación biológica del di nitrógeno cada día cobran más fuerzas en el desarrollo de esquemas de nutrición biorganomineral de plantas cultivables; tanto los procesos de fijación simbiótica como asociativa a partir de rizo bacterias fundamentalmente, aunque se ha demostrado que los hongos micorrizógenos arbusculares albergan numerosos microorganismos nitro fijadores que contribuyen sobremanera a las ganancias en nitrógeno en las plantas.

En términos de la agro biología se ha podido demostrar que los procesos de FBN logran fijar entre 15-30% de las necesidades de este elemento en los procesos asociativos y hasta 65-80% en

los procesos simbióticos del sistema *Rhizobium*-leguminosas, combinando estas biotecnologías con manejos órgano minerales de la fertilización de los cultivos. Tal es así, que en los últimos veinte años se han logrado comercializar con éxito numerosos inoculantes a base de estos microorganismos mediante la actividad gerencial de varias pequeñas y medianas empresas, y en los últimos años también grandes empresas de la Biotecnología Agrícola.

En este trabajo, se exponen los resultados del estudio y aplicación de rizobacterias con capacidad nitro fijadora y estimuladora sobre un grupo de especies cultivables. Así, la cuantificación del N fijado (%N<sub>dda</sub>) por la técnica isotópica de N<sub>15</sub> confirman niveles de fijación entre 22-25% para arroz, tomate y banano, lográndose comprobar además niveles de reducción similares y aún superiores para otro grupo de cultivos, entre los que se encuentran el trigo, maíz, sorgo, naranja y toronja, estudiados por el método de las diferencias.

## MATERIALES Y METODOS

Los estudios se realizaron entre los años 1997-2008 en áreas experimentales del INIFAT, el Instituto de Investigaciones del Arroz y el Combinado Citrícola Ceiba del Agua, todos el la provincia Habana, excepto INIFAT que se ubica en Ciudad de La Habana. Las atenciones culturales de cada especie vegetal se realizaron de acuerdo a lo recomendado en cada instructivo técnico, por supuesto manejando la fertilización nitrogenada de acuerdo a los niveles de reducción de dosis en cada cultivo.

Los microorganismos se aislaron a partir de suelo Ferralítico Rojo y se han conservado desde entonces en la colección de rizobacterias del Departamento de Microbiología del INIFAT y los inóculos para los ensayos y pruebas de extensión se obtuvieron a partir del crecimiento de *Azotobacter chroococcum* en medio Dimargon, *Azospirillum brasilense* en medio MPSS y *Gluconacetobacter diazotrophicus* a partir del medio SG, todos cultivados en zaranda rotatoria regulada a 32 °C de temperatura y 180 r.p.m. de agitación. Cada inoculante se aplicó a razón de 1L/ha con ayuda de una motomochila para experimentos y máquina fumigadora regulada a 3 atmósferas de presión para las pruebas de extensión, excepto *Mesorhizobium cicerii* que se aplicó a dosis de 1Kg por quintal de semilla.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el cultivo del arroz se realizaron cuatro campañas en dos años (primavera y verano) con muy buenos resultados en cuanto a la capacidad nitro fijadora de *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense*. A continuación se presentan los resultados de dos de estos experimentos realizados en áreas del IIA.

En este sentido, debemos aclarar que el cultivo del arroz es uno de los más estudiados por el grupo de investigación en lo referente a reducción de dosis de fertilizante nitrogenado, no solo en condiciones experimentales en los años noventa, sino bajo condiciones de gran extensión a lo largo y ancho de todo el país, aplicando el producto con la aviación agrícola, según lo establecido en la tecnología del cultivo.

Tabla 1. Respuesta del arroz (var. J-104) a la biofertilización con *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense*. Primavera 1998.

Variante	No. penículas/m <sup>2</sup>	Rendimiento (t/ha <sup>-1</sup> )	Peso 100 semillas (g)
0% N	304defgh	3.43gh	2.85
50% N	342cde	4.83bcde	2.94
75% N	363cd	4.52cdef	3.00
0% N + Azosp.	279cdefgh	3.98defgh	2.91
0% N + A	409abc	5.28bcd	2.99
50% N + A	453b	5.53bc	3.01
75% N + Azosp.	415ab	6.81 a	3.01
75% N + A	474 <sup>a</sup>	7.06 a	3.02
100%	428ab	6.50ab	3.03
CV (%)	7.42	6.87	1.42 N.S.
Esx	0.829	0.713	0.141

Nota: Medias con distintas letras difieren entre sí para p<5%, según prueba de Newman Keuls.

Como se observa en la tabla, la reducción del 25% de la dosis de urea logra ser suplida por la actividad nitro fijadora de las rizo bacterias estudiadas con la obtención de altos rendimientos para ambas variantes (*Azotobacter* y *Azospirillum*), sin afectar la calidad del grano cosechado; en este ensayo expresado por el indicador peso del grano en otros datos no mostrados igualmente se analizaron otros indicadores, entre ellos contenido de sólidos totales y proteínas, y no se observó afectación alguna.

Tabla 2. Efecto de la inoculación de *A.chroococcum* (Azot.) y *A.brasilense* (Azosp.) sobre el cultivo del arroz. Campaña de frío 1999, variedad J-104.

Variante	No. peníc/m <sup>2</sup>	Rend. (t/ha <sup>-1</sup> )	Peso 100 semillas (g)
0% N	110.66	2.74 b	2.92
50% N	119.72	3.95 ab	2.96
80% N	126.16	4.92 ab	3.00
0% N + Azosp.	122.16	2.94 b	3.00
0% N + Azot.	119.72	3.76 ab	3.01
50% N + Azot.	126.13	4.71 a	3.04
80% N + Azosp.	131.33	5.75 a	3.06
80% N + Azot.	132.73	5.62 a	3.05
100% (N.T.)	133.15 N.S.	5.92 a	3.03 N.S.
CV (%)	2.36	22.80	1.87
Esx	0.094	1.56	0.123

Nota: Medias con distintas letras difieren entre sí para p<5%, según prueba de Newman Keuls. 204 Kg N/ha (100% NT) 163 Kg N/ha (80% NT) 102 Kg N/ha (50% NT).

Igualmente en la campaña de frío se comprobó un comportamiento similar en la respuesta del cultivo a la inoculación de ambas rizo bacterias. En ambos casos los rendimientos en grano son elevados bajo las condiciones de Cuba (aniego), por lo que representan ensayos de alta confiabilidad. Estos resultados llevaron a tomar la decisión gubernamental de sustituir el 20% de la dosis de urea en más de 800 000 ha anuales de arroz, contribuyendo sobremanera a la economía del cultivo y al mantenimiento del medio ambiente por concepto de la descontaminación de suelos y aguas.

En ensayos con N15 se pudo comprobar estos niveles de reducción, lográndose un índice de Ndda del 24.8%, en ambas campañas durante tres años de experimentación. Un nivel similar se obtuvo en tomate (23.6 % Ndda) al ser inoculado con *A.chroococcum* con el objetivo de reducir dosis de fertilizante nitrogenado, en este caso al 25% de sustitución en base a urea bajo condiciones de gran extensión agrícola.

En gramíneas como trigo, maíz y sorgo se realizaron múltiples ensayos mediante el método de las diferencias y en todo momento se lograron obtener niveles de reducción entre 22-26% de fertilizante nitrogenado sin afectar el rendimiento, e incluso con ligeros incrementos (entre 2-5%) como consecuencia de la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento asociadas a la actividad fijadora del di nitrógeno, lo que conlleva a un efecto económico marcado, ya que generalmente estos índices se corresponden a aumentos en al menos 1-1.5 t/ha de producto agrícola con ganancias no menores de 330-510 USD la tonelada.

Para naranja y toronja se obtuvieron niveles de fijación de hasta 50% al combinar la dosis de N-fertilizante (urea y nitrato de amonio) con *A.chroococcum* y el resto de la fertilización fosfórica y potásica. El rendimiento agrícola se mantuvo y el incremento del rendimiento no sobrepasó el 2%, aunque si se aumento el contenido de sólidos totales solubles y vitaminas de los frutos. Más de 5 000 ha han sido aplicadas en extensión, en donde se ha podido corroborar estos resultados.

En banano, los niveles de reducción han sido similares, con muy buenas perspectivas en la tecnología de producción de banano ecológico, ya que además se puede combinar la fertilización biológica con rizobacterias con la fertilización orgánica a base de compost y otros sustratos orgánicos enriquecidos. Al estudiar la FBN por métodos isotópicos en este cultivo, arrojó un nivel de 24.7% de Ndda. En condiciones de gran producción se reguló como política agrícola la reducción del 30% del fertilizante nitrogenado en el cultivo combinado con la aplicación de *A.chroococcum*.

En el cultivo del garbanzo los estudios de siete años de experimentación y más de seis de extensión agraria han permitido reducir en un 70% la dosis de urea al inocular las semillas con *M.cicerii*, obteniendo producciones de grano entre 1.7 y 2 t/ha, sin afectar la calidad del grano. Hace varios años se publicó el instructivo técnico de este cultivo para las condiciones de Cuba y en la fertilización lleva incluido la biofertilización con la bacteria.

Por último se debe aclarar que la aplicación de estos biopreparados resulta muy atractiva, ya que la relación B/C es al menos de 43:1, teniendo en cuenta fundamentalmente el bajo costo de los productos y el efecto económico que se logra obtener como consecuencia de la aplicación, tanto

en ahorro de fertilizante como en la obtención de mayor volumen alimentario por unidad de superficie cultivada.

### **Referencias Bibliográficas.**

- Anthofer, J. An evaluation of the System of Rice Intensification in Cambodia. *Report to the German Agency for Development Cooperation (GTZ)*, Phnom Penh, Cambodia. 2004.
- Dibut Alvarez, B; R. Martínez Viera; R. González; M.C .A costa y A.Pérez . Biomasa vs Biomasa . Reproducción Bacteriana- producción Vegetal. En *Memorias de Conferencia Mundial sobre la Biomasa para la energía, el Desarrollo y el Medio Ambiente*, La Habana, 126pp. 1995
- Ledgard, S.F y K.W. Stele. Biological nitrogen fixation in mixed legume/grass pastures. En *Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture*. Eds. K.L.U.W.E.N. Academic Publiser, Dordrescht, pp.137-154. 1998.
- Metting, F.B. *Soil Microbial Ecology. Application in Agricultural and Enviromen Management*. Marcel Dekker Inc., New York, 450pp. 1993.
- Uphoff, N., Satyanarayana, A., and Thiyagarajan, T. M., Prospects for rice sector improvement whit the system for rice intensification, considering evidence from India, *Paper presented to 16<sup>th</sup> International Rice Conference, Bali, Indonesia*, Sept. 11-14, Agency for Agricultural Research and Development, Jakarta, Indonesia and International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines. 2005.