

# TECNOLOGÍA DE PRODUCCIÓN DE INOCULANTES DE *Azospirillum* Y FACTIBILIDAD ECONÓMICA DE SU APLICACIÓN AGRÍCOLA EN CULTIVOS SELECCIONADOS

J. Villar<sup>✉</sup>, Mabel Viñals, Xiomara Álvarez y M. Dorta

**ABSTRACT.** A developed use of agricultural inoculants contributes to decrease chemical fertilizer application and protect the environment. The practical introduction of such inoculants, however, must be economic, without detriment of traditional agricultural yields. In the present work, a new technology for producing two solid *Azospirillum* inoculants: a wet seed dressing and a wettable powder is proposed. Economical indexes of inoculant production for an industrial plant using peat and filter mud from sugar cane mills as carrier materials are presented and the economical feasibility of these inoculants in sugar cane and rice crops is discussed.

**Key words:** *Azospirillum*, inoculation, sugar byproducts, peat, technology, production, sugar cane, rice

**RESUMEN.** El desarrollo de inoculantes bacterianos de uso agrícola puede contribuir a la disminución del empleo de fertilizantes químicos y favorecer el medio ambiente. Sin embargo, su aplicación debe resultar económica para los productores, sin detrimento de los rendimientos agrícolas tradicionales. En el presente trabajo se estiman los indicadores económicos de una planta industrial, a partir de una nueva tecnología que emplea turba y cachaza como soporte, para la obtención de dos tipos de inoculantes sólidos de *Azospirillum*: polvo húmedo para impregnación de semillas y polvo humedecible para aspersión en campo, y se analiza la factibilidad económica de la aplicación de estos inoculantes en los cultivos de caña de azúcar y arroz.

**Palabras clave:** *Azospirillum*, inoculación, subproductos del azúcar, turba, tecnología, producción, caña de azúcar, arroz

## INTRODUCCIÓN

La utilización de inoculantes bacterianos en calidad de fertilizantes o estimuladores del crecimiento de las plantas es una práctica que permitiría beneficiar los cultivos sin ocasionar un gran daño al medio ambiente. Por otro lado, el costo de estos tratamientos biológicos debe ser competitivo en relación con el tratamiento tradicionalmente empleado con productos químicos.

Los inoculantes mayormente utilizados son formulados de bacterias, tales como *Rhizobium*, *Azospirillum* y *Azotobacter* (1, 2, 3, 4). El primero se ha aplicado con éxito en leguminosas, principalmente soya, mientras que los dos últimos se han ensayado en diferentes gramíneas.

Entre las bacterias asociadas a plantas más estudiadas se encuentran las pertenecientes al género *Azospirillum* (5, 6, 7, 8, 9). Este microorganismo no tiene gran capacidad para fijar el nitrógeno como lo hace el *Rhizobium* (10), pero se han propuesto otros modos de acción que se utilizan para estimular el crecimiento de las plantas (11), como son la secreción de hormonas: ácido indolacético, giberelinas, citoquininas y la transmi-

sión de señales que le permite a la bacteria alterar el metabolismo de la planta.

El licor de *Azospirillum* obtenido en el fermentador pierde rápidamente viabilidad y, en ocasiones, luego de 30 días de almacenamiento, ya no existen células viables de esta bacteria en el líquido (12), apareciendo frecuentemente grandes contaminaciones de otros microorganismos. La comercialización del inoculante requiere su formulación y presentación, como un producto fácil de aplicar y con posibilidades de ser almacenado, sin que se pierdan sus propiedades (13, 14).

Los formulados con mejores resultados y los más empleados para la introducción de los microorganismos en el suelo son los sólidos, principalmente los soportados sobre turba, que pueden tener diferente forma de agregación, de acuerdo con su uso para el tratamiento de semillas o aplicación directa al suelo (1).

El producto puede aparecer en alguna de las tres formas siguientes:

- Polvo para la impregnación de semillas (PI)  
Dosis:  $10^3$ - $10^7$  ufc.semilla<sup>-1</sup>.
- Polvo humedecible para la aspersión en suelo (pH)  
Dosis:  $10^7$ - $10^5$  ufc.ha<sup>-1</sup> (en surcos)  
 $10^4$ - $10^9$  ufc.L<sup>-1</sup> de suelo (en semilleros)
- Granulado para aplicación en campo y semilleros

♦ ufc: unidades formadoras de colonias

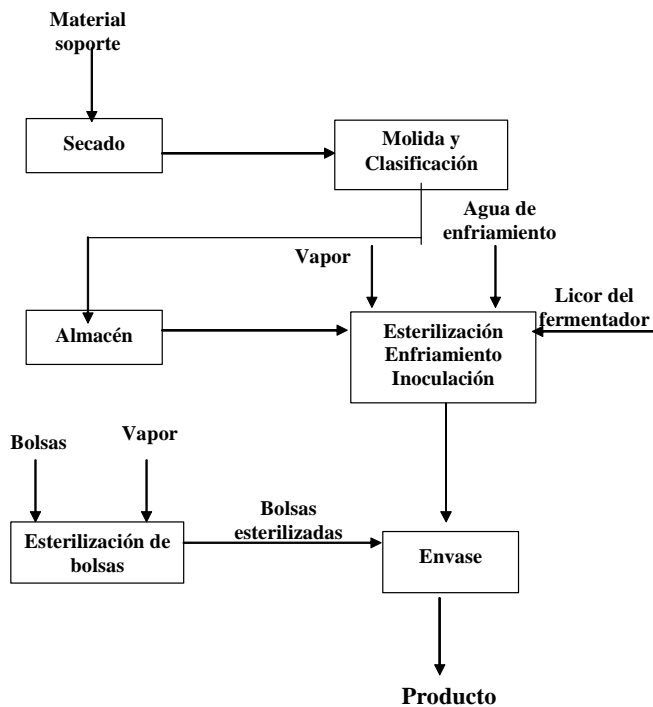
Dr.C. J. Villar y Xiomara Álvarez, Investigadores Auxiliares; Ms.C. Mabel Viñals, Investigadora Agregada y M. Dorta, Investigador del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (CIDCA), Vía Blanca 804, Apdo. 4026, La Habana, Cuba.

✉ jose.villar@icidca.edu.cu

Este trabajo tiene como objetivo determinar la factibilidad económica de la producción de inoculantes de *Azospirillum* formulados en soportes sólidos y su aplicación a los cultivos de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se propone una tecnología (Figura 1) de producción del inoculante de *Azospirillum*, con el empleo de los soportes turba o cachaza de la industria azucarera. Las características de estos materiales se muestran en la Tabla I. Con este esquema tecnológico se pueden obtener dos productos: polvo húmedo para impregnación de semillas y polvo humedecible para aspersión en campo.



**Figura 1. Esquema tecnológico para la producción de inoculante bacteriano formulado**

Las operaciones involucradas en el proceso de producción son las siguientes:

- ★ Secado: los materiales que se emplean como soporte se secan con energía solar hasta alcanzar la humedad de equilibrio con el medio (15-17 % para la turba y 10-12 % para la cachaza).
- ★ Molida y clasificación: el material se muele y tamiza en cernidor vibratorio para obtener la granulometría deseada (<200 mesh para polvo humedecible y <140 mesh

para impregnación de semillas). En el caso de producirse polvo humedecible durante esta operación, se adiciona el dispersante.

- ★ Esterilización: se realiza en un aparato hermético provisto de dispositivo revolvente-transportador con sistemas de calentamiento con vapor y enfriamiento por agua. El material se esteriliza a 121°C durante dos horas, dos veces con intervalos de 24 horas.
- ★ Inoculación: el material previamente esterilizado y enfriado hasta 30°C se inocula con licor de *Azospirillum* procedente del fermentador (>3x10<sup>9</sup> ufc.mL<sup>-1</sup>) y se homogeniza mecánicamente en el propio equipo.
- ★ Envase: el producto se empaqueta en bolsas de polipropileno previamente esterilizadas en autoclave; posteriormente se le coloca una etiqueta con las instrucciones para su uso.

El producto final posee las siguientes características en el momento de su fabricación:

- ↳ Viabilidad: mayor de 10<sup>9</sup> ufc.g<sup>-1</sup>
- ↳ Humedad: 55-60 %
- ↳ pH: 6.5-7
- ↳ El producto se conserva por un mínimo de tres meses sin que su viabilidad disminuya por debajo de 10<sup>8</sup> ufc.g<sup>-1</sup>.

Esta tecnología fue diseñada y comprobada en todas sus operaciones, aunque sustituyendo de forma manual la operación de inoculación mecánica propuesta.

Se calcularon los costos de inversión y producción estimados para los dos tipos de productos obtenidos, según la tecnología anterior, con el empleo de turba y cachaza en calidad de soportes y se determinó la factibilidad económica de la aplicación de estos inoculantes en los cultivos de caña de azúcar y arroz.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los indicadores económicos estimados del proceso para una planta de 500 t.año<sup>-1</sup> de inoculante de *Azospirillum* (formulado), se muestran en la Tabla II. La instalación estará anexa a una planta fermentativa que suministrará el licor bacteriano necesario para esta producción. Los mayores valores de inversión para la cachaza se deben a que, producto de la menor densidad de este material, deben emplearse equipos de mayor volumen, mientras que los costos de producción con la cachaza son ligeramente menores, dado su menor costo como materia prima en relación con la turba.

Los indicadores VAN, TIR y RVAN muestran valores muy favorables para esta producción en cualquiera de las variantes analizadas.

**Tabla I. Características de los soportes (valores promedio)**

Material	Procedencia	Materia prima % base seca	Humedad (%)	pH	Color
Turba semiseca	Ciénaga de Zapata	79.2	62.3	7.3	Pardo oscuro
Cachaza industrial	Central "Pablo Noriega"	80.3	73.1	7.2	Pardo

**Tabla II. Indicadores económicos estimados para la producción de inoculante formulado de *Azospirillum* (500 t.año<sup>-1</sup>)**

Indicador	Polvo para impregnación de semilla				Polvo humedecible para aspersión			
	Turba		Cachaza		Turba		Cachaza	
	MT	MLC	MT	MLC	MT	MLC	MT	MLC
CI	57 987	51 028	69 855	69 855	57 987	57 987	69 855	69 855
CP	0.27	0.18	0.25	0.16	0.33	0.24	0.31	0.22
VAN	8.1x10 <sup>5</sup>	5.3x10 <sup>5</sup>	7.4x10 <sup>5</sup>	4.7x10 <sup>5</sup>	9.9x10 <sup>5</sup>	7.2x10 <sup>5</sup>	9.3x10 <sup>5</sup>	6.6x10 <sup>5</sup>
TIR, %	244	196	194	153	295	255	237	204
PR	1.53	1.66	1.68	1.85	1.43	1.50	1.55	1.63
RVAN	13.91	10.46	10.64	7.77	17.15	14.15	13.38	10.92

MT: moneda total (pesos+MLC); MLC: moneda libremente convertible; CI: costo de inversión; CP: costo de producción/kg; PR: período de recuperación, años; RVAN: VAN/CI

*Factibilidad económica de la aplicación del inoculante bacteriano formulado en cultivos de interés agrícola.* La efectividad económica del uso de un inoculante bacteriano en un cultivo, se puede determinar al comparar el costo de su aplicación en una hectárea con el del fertilizante químico tradicional al que sustituya total o parcialmente. La dosis más favorable del formulado es la que brinde rendimientos iguales o mayores que los que se obtienen con la norma estipulada para el fertilizante químico y cuyo costo sea inferior al de este último. Esta dosis depende del tipo de aplicación y cultivo, y está ligada estrechamente también al título del inoculante en el momento de la aplicación. El tratamiento puede comprender el inoculante solo o una combinación de este y el fertilizante químico.

Una manera de enfocar el problema es considerar el ahorro que se obtiene por el uso del inoculante bacteriano, en relación con lo que se gastaría en fertilizante químico para obtener el mismo rendimiento del cultivo. Este ahorro es un indicador de la efectividad económica de la aplicación del inoculante y puede ser calculado por la siguiente ecuación:

$$A = N - (DP + F)$$

Donde:

A: Ahorro (MT)

N: Precio de la norma del fertilizante químico (MT.ha<sup>-1</sup>)

D: Dosis del inoculante formulado (kg.ha<sup>-1</sup>)

P: Precio del inoculante (MT.kg<sup>-1</sup>)

F: Precio del porcentaje de la norma del fertilizante químico aplicado (MT.ha<sup>-1</sup>).

A continuación se analiza la factibilidad económica de emplear los inoculantes de *Azospirillum* formulados, en los cultivos de caña y arroz, a los cuales les fueron aplicados con éxito inoculantes de esta bacteria en forma de licores sin formular.

*Caña de azúcar.* El inoculante *Azospirillum* como licor del fermentador (sin formular) ha sido aplicado con buenos resultados al cultivo de caña de azúcar (15), informándose rendimientos agrícolas similares a los obtenidos con la dosis completa de nitrógeno cuando se emplea una combinación de 75 L.ha<sup>-1</sup> de licor (10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> ufc.mL<sup>-1</sup>) y 30 % de la norma de fertilizante químico. Las desventajas de utilizar el inoculante bacteriano como licor del

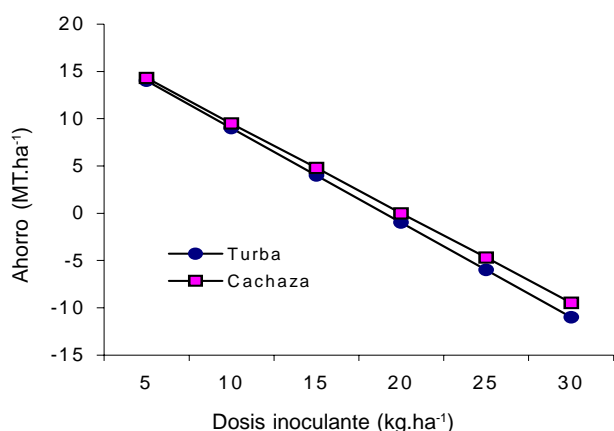
fermentador están dadas por la necesidad de aplicarlo, inmediatamente después de producido, ya que con el tiempo de almacenamiento pierde viabilidad y puede sufrir contaminaciones por otros microorganismos. Su producción comercial, por tanto, requiere la formulación del inoculante. Sin embargo, el inoculante se encarece al ser formulado por los gastos que ocasiona este proceso y es necesario definir la efectividad económica de su aplicación en esta nueva forma.

Dado que la caña de azúcar no se siembra con semilla botánica, es imposible la impregnación de semillas y, por tanto, será necesaria la aplicación del inoculante tipo polvo humedecible para aspersión al suelo.

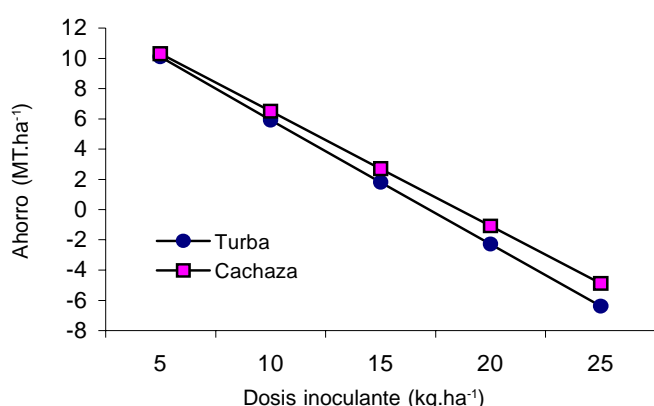
En la Figura 2 se presenta la curva de ahorro, dado por la utilización del inoculante, contra la dosis del inoculante formulado en turba y cachaza, cuando se emplea el 30 % de la norma de fertilizante como amoníaco. En general, no se observan grandes diferencias desde el punto de vista del ahorro al emplear uno u otro soporte, lo que se explica por las ligeras diferencias entre los indicadores económicos estimados para ambos. En este caso la dosis adecuada, determinada en las experiencias de campo, de 75 L.ha<sup>-1</sup> del inoculante *Azospirillum* como licor del fermentador, se puede sustituir por una dosis de 75 kg.ha<sup>-1</sup> del inoculante formulado. En la Figura 3 se observa que para una dosis de 20 kg.ha<sup>-1</sup>, ya no se obtienen ahorros por la aplicación del inoculante, luego para la dosis óptima desde el punto de vista agrícola de 75 kg.ha<sup>-1</sup>, no se lograrían efectos positivos. Se concluye que no es económicamente efectiva la aplicación del inoculante *Azospirillum* tipo polvo humedecible para el cultivo de caña de azúcar, en relación con la fertilización tradicional.

*Arroz.* El inoculante *Azospirillum* como licor del fermentador ha sido también probado en el cultivo del arroz (16), con resultados satisfactorios cuando se disminuye hasta el 30 % de la norma de fertilizante químico usualmente aplicada. En este caso, la semilla de arroz es ideal para el empleo del formulado del tipo polvo húmedo por la tecnología de impregnación, donde normalmente la dosis que se emplea es de 0.5 a 1 kg de formulado para inocular las semillas que cubren a una hectárea del cultivo. En la Figura 3, se muestran las curvas de ahorro contra dosis de inoculante para los dos tipos de soporte, cuando se apli-

ca el 70 % de la norma de nitrógeno como urea. Se observa que dada la baja dosis de inoculante que es necesario aplicar, menos de  $1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , el ahorro es considerable, alrededor de  $12 \text{ MT}\cdot\text{ha}^{-1}$  y  $8 \text{ MLC}\cdot\text{ha}^{-1}$ , por lo que resultaría muy ventajosa económicamente la aplicación de este tipo de inoculante en el cultivo del arroz.



**Figura 2. Ahorro en la aplicación del inoculante *Azospirillum* (pH) en dependencia de la dosis para el cultivo de caña de azúcar cuando se emplea el 30 % de la norma de fertilizante químico**



**Figura 3. Ahorro en la aplicación del inoculante *Azospirillum* (PI) en dependencia de la dosis para el cultivo de arroz cuando se emplea el 70 % de la norma de fertilizante químico**

## CONCLUSIONES

- Se propone una tecnología para la producción de dos tipos de inoculantes sólidos de *Azospirillum* en soportes de turba y cachaza, y se estiman algunos indicadores económicos para la obtención industrial de ambos productos que muestran la viabilidad de esta producción.
- El formulado tipo polvo húmedo para impregnación de semillas, por la baja dosis requerida en su utilización, arroja un efecto económico positivo en el cultivo del arroz, lo que podría verificarse también para otros cultivos que permiten este tipo de tratamiento.

- La aplicación del formulado tipo polvo humedecible para aspersión al suelo requiere elevadas dosis de inoculante, al igual que el licor sin formular, pero con un precio mucho mayor, por lo que no se alcanzaría con este tratamiento efectividad económica en el cultivo de caña de azúcar.

## REFERENCIAS

1. Viñals, M. y Villar, J. Avances en la formulación y aplicación de inoculantes bacterianos de uso agrícola. *Cultivos Tropicales*, 1999, vol. 20, no. 4, p. 9-17.
2. Okon, Y. y Labandera-González, C. Agronomic applications of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.*, 1994, vol. 26, no. 12, p. 1591-1601.
3. Herridge, D. Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Viet Nam. *ACIAC*, 2002, p. 86-94.
4. Slattery, J. F.; Convertry, D. R. y Slattery, W. I. Rhizobial ecology as affected by the soil environment. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2004, vol. 41, no. 3, p. 289-298.
5. Bashan, Y. y Holguin, G. Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove forestation. *Trees*, 2002, vol. 16, p. 159-166.
6. Bolleta, A.; Venanzi, S. y Krüger, H. Respuestas del cultivo de trigo a la inoculación con biofertilizantes en el sur de la provincia de Buenos Aires. *INTA, Rivadavia*, 2002, vol. 1439 no. 1033, p. 1-6.
7. Coyné, M. Microbiología del suelo. Un enfoque exploratorio, Ed. Paraninfo 2002, p. 416.
8. Yang, C. y Cowley, D. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, vol. 66, no.1, p. 345-351.
9. Díaz, P. *et al.* Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento de la lechuga. *Terra*, 2001, vol.19, no. 4, p. 327-335.
10. FAO. Manual técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno. Leguminosa/ *Rhizobium*. Roma, 1995, 62 p.
11. Bashan, Y. y Holguin, G. Short and medium term avenues for *Azospirillum* inoculation. En *Plant growth-promoting rhizobacteria-present status and future prospects*, Sapporo : Hokkaido University, 1997. p. 130-149.
12. Nápoles, M. y Velazco, A. Utilización del ácido ascórbico como preservante en biopreparados de *Azospirillum brasilense*. *Cultivos Tropicales*, 1994, vol. 15, no. 2, p. 25-27.
13. Bashan, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, 1998, vol. 16, p. 729-770.
14. Bashan, Y.; Hernández, J. P.; Leyva, L. A. y Bacilio, M. Alginate microbeads as inoculant carrier for plant-growth-promoting bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, vol. 35, p. 359-368.
15. Roldos, J.; Casas, M. y Pérez, J. Uso de los biofertilizantes en suelos Ferralíticos cultivados con caña de azúcar. En: *Resúmenes RELAR (17:1994:La Habana)*, 1994. p. 109.
16. Hernández, T.; Díaz, G. y Velazco, A. Comportamiento de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) frente a la inoculación con *Azospirillum brasilense* como biofertilizante. *Cultivos Tropicales*, 1996, vol. 17, no. 1, p. 10-12.

Recibido: 9 de junio de 2004

Aceptado: 29 de abril de 2005