

**DESARROLLO DE BIOFERTILIZANTES A PARTIR DE LAS BACTERIAS
Gluconacetobacter Diazotrophicus Y *Bacillus Megaterium* PARA LA CAÑA DE AZÚCAR Y
OTROS CULTIVOS.**

**DEVELOPMENT OF BIOFERTILIZERS FROM BACTERIA *Gluconacetobacter
Diazotrophicus* and *Bacillus Megaterium* FOR SUGAR CANE AND OTHER CROPS**

Autores: Ana Nelis San Juan ¹, Yusmila Guevara ¹, Marlyn Pérez ¹, Daisy Dopico ¹, Vivian León ¹, Reinaldo Acosta ¹, Natividad Oliva ¹, Eugenio García ², Enma Pineda².

(1) Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. UEB Bioprocesos Cuba 10.

(2) Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA Centro-oriental Camagüey) Florida

(3) Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA Villa Clara)

* e-mail (ana.nelis@icidcamy.azcuba.cu)

RESUMEN

Es ampliamente reconocido el importante papel que juegan los microorganismos en la fertilidad de los suelos y en la nutrición de las plantas. En el trabajo realizado se diseñaron dos procedimientos tecnológicos para la producción de biofertilizantes utilizando las bacterias, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, fijadora de nitrógeno y estimuladora del crecimiento vegetal y *Bacillus megaterium*, solubilizador de fosfatos y controlador de fitopatógenos. Para la producción de ambas bacterias se diseñaron medios de cultivos utilizando productos de la industria azucarera, los procesos fueron escalados hasta planta piloto, lográndose altas concentraciones celulares de 10^{11} UFC mL⁻¹ para *G. diazotrophicus* y 10^9 UFC mL⁻¹ para *B. megaterium*, resultados que superan los reportados con medios de cultivos sintéticos.

La inoculación de *G. diazotrophicus*, en lechuga permitió incremento de la altura de las plantas, número de hojas, peso de las plantas y rendimiento a razón de 0,05 t/ha. En cultivos de tomate, permitió reducir en un 30 % la fertilización nitrogenada, evaluación en caña de azúcar en La ETICA Villa Clara, Suelos: vertisuelo, Variedad. C 8612 y Cepa: Primer retoño, permitió incrementar la altura de planta, diámetro de tallos y número de tallos por plantón, los rendimientos en la cosecha y Pol en los jugos; utilizando 20 L/ha se logran incrementar entre 8 y 9 t/ha respecto al testigo. Los ensayos agronómicos con *B. megaterium* mostraron que el biofertilizante fue capaz de incrementar, respecto al testigo, los rendimientos cañeros en 22 t/ha sin aplicar fertilizante fosforado. El uso de estos biofertilizantes puede ser un complemento viable para la fertilización en caña de azúcar logrando incrementos productivos. El estudio de oportunidad económica para la producción de estos biofertilizantes en la planta de la UEB Bioprocesos Cuba 10, mostró rentabilidad económica, el análisis del flujo de caja demostró liquidez anual y saldo acumulado positivo desde el primer año de producción.

Palabras claves: Biofertilizantes, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Bacillus megaterium*

INTRODUCCIÓN

El uso de biofertilizantes, bioestimulantes y bioplaguicidas constituye hoy en el mundo, una creciente alternativa para encarar las dificultades que afronta la producción agrícola, como es la utilización masiva de plaguicidas y fertilizantes de origen químico, estos insumos además de ser costosos, poseen un impacto muy negativo sobre la salud y el medio ambiente, la posibilidad de obtener elevados rendimientos en las cosechas y al mismo tiempo preservar el medio ambiente, está irremediamente ligada al uso generalizado de estos bioproductos. Pubiads, 2014

Está plenamente reconocido el importante papel que juegan los microorganismos en la fertilidad de los suelos y en la nutrición de las plantas, ejerciendo una fuerte influencia sobre ellas atraídos por las secreciones del sistema radicular, que contienen muchas de las sustancias alimenticias indispensables para ellos: azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, distintas combinaciones minerales e incluso vitaminas (Pérez, 1978). Estos, a su vez, sintetizan sustancias que poseen una elevada actividad fisiológica y contribuyen al abastecimiento vegetal como son las auxinas, las vitaminas y las giberelinas (Döbereiner, 1982).

La bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus*, presenta la ventaja desde el punto de vista agroecológico de asociarse a especies vegetales con altos contenidos de azúcares, obteniéndose notables beneficios en relación a la ganancia de nitrógeno en las plantas como consecuencia de la capacidad nitro fijadora del microorganismo e incrementos en el rendimiento debido a la capacidad de producción de sustancias fisiológicamente activas que igualmente lo caracteriza (Lambrecht, 2000; Riggs, 2001).

La solubilización de P por los microorganismos es un mecanismo fundamental para la promoción del crecimiento de las plantas, pues numerosos estudios han demostrado que las respuestas de las plantas a la inoculación de microorganismos en el suelo son evidentes, en muchos casos, atribuidas a la mejorada nutrición de P de la planta (Cisneros 2015).

El desarrollo de bioproductos ha sido y sigue siendo temática objeto de gran atención para el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), lo que ha permitido, mostrar una amplia y diversa cosecha de bioproductos para la agricultura (bioplaguicidas, biofertilizantes, bioestimulantes), de demostrada eficacia, con aportes significativos en el crecimiento de la producción agrícola en Cuba.

En el ICIDCA se han desarrollado dos nuevos biofertilizantes a partir de las bacterias *Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Bacillus megaterium*. El objetivo del presente trabajo ha sido mostrar los principales resultados obtenidos con los biofertilizantes diseñados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó la cepa de *Gluconacetobacter diazotrophicus* 166 INICA, aislada de caña de azúcar, variedad Ja60-5, en suelo Cambisol del CAI Espartaco de la Provincia de Cienfuegos, Cuba. Esta cepa ha sido empleada con éxito en la inoculación de vitroplantas de caña de azúcar (Casas y col., 2014) y la cepa de *Bacillus megaterium* DSM319, proveniente de la colección microbiana del ICIDCA.

Las cepas utilizadas se encuentran conservadas según metodología establecida en los estudios de implementación de los bancos de células primarios (BCP), utilizando viales de crioconservación en un congelador a $-70 \pm 2^{\circ}\text{C}$, empleando glicerol al 20 % como agente crioconservante. San Juan, 2018.

Para la producción de ambas bacterias se utilizó medios de cultivos económicos, utilizando miel final de caña como fuente de carbono, levadura torula y sales nutritivas (San Juan, 2018). Para el diseño de los medios de cultivos se tomó como base la composición del medio LGI-P (Cavalcante y Döbereiner, 1988) suplementado con sulfato de amonio dibásico, 10 mMol.L^{-1} (equivalentes a $1,32 \text{ g.L}^{-1}$) como fuente de nitrógeno inorgánico (Tejera 2004) para la bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* y el medio Luria-Bertani (LB) como medio ideal para el crecimiento de *Bacillus megaterium* (Vary y col., 2007).

La producción de los biofertilizantes se realizó a escala piloto en fermentador de 42 L de volumen total, marca INFORST Techfors-s (Figura 1), con un volumen efectivo de 30 L y tres impulsores con diámetro de 89 mm. Se trabajó con 25 L de volumen efectivo. Las condiciones de operación fueron ajustadas según procedimiento de escalado para ambas bacterias (San Juan, 2018).

Evaluación agronómica de los biofertilizantes.

Aplicación del inoculante *Gluconacetobacter diazotrophicus* en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*).

El experimento se desarrolló en condiciones de campo abierto, en áreas del organopónico Pablo Noriega, perteneciente a la Empresa 19 de abril del Municipio Quivicán, en la provincia de Mayabeque.

El producto empleado fue producido a escala de Fermentador de 42 litros con una concentración celular de $5,8 \times 10^9 \text{ UFC.mL}^{-1}$ de *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

Se estudiaron dos tratamientos, T1: Testigo sin inocular y T2: Inoculada con la bacteria. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con tres réplicas utilizando como bloques los canteros (24 m²). Al final de la cosecha se evaluaron indicadores de desarrollo vegetativo y productivo (Altura de las plantas (cm); Número de hojas por planta (u); Peso promedio de las plantas (g); Rendimiento total (t/ha). La inoculación se realizó por aspersión, con ayuda de una mochila de 16 litros, a una dosis equivalente a 2 L/ha. Para el procesamiento estadístico de los datos obtenidos se utilizó el paquete estadístico Statgraphics con la prueba “t” de Student al 5% de significación.

Aplicación del inoculante *Gluconacetobacter diazotrophicus* en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*)

Se llevó a efecto el presente estudio durante dos campañas (2016- 2017 y 2017 – 2018), en áreas del Instituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimitrova ” (IIHLD), ubicado en el municipio de Quivicán, al sur de la provincia de Mayabeque, a $22^{\circ} 23'$ de longitud norte y $82^{\circ} 23'$ de latitud oeste, a una altura sobre el nivel del mar de 68 m (IIHLD, 1997).

El material vegetal que se utilizó, fue el tomate (*Solanum lycopersicum L.*), variedad ‘L-43’, proveniente del programa de mejoramiento genético del IIHLD. Dentro de las características de esta variedad se encuentran: hábito de crecimiento determinado intermedio, buena cobertura del follaje, ciclo productivo de 100-110 días, peso promedio de los frutos 140 g en los primeros racimos y un

rendimiento potencial de 50 t/ha. Es resistente al Virus del encrespamiento amarillo de las hojas del tomate (TYLCV), presenta además resistencia a *Fusarium oxysporum* y *Stemphylium* spp, así como una buena adaptabilidad a las altas temperaturas.

Los experimentos se desarrollaron en condiciones de campo abierto. El cultivo se estableció en la misma área y durante los meses de octubre a marzo de cada campaña sobre un suelo Ferralítico Rojo típico según Hernández (2015).

Los valores promedios de la temperatura, la humedad relativa y las precipitaciones medias ocurridas durante los años en los que se realizó el estudio se corresponden a lo típico de la época y zona en la que se llevó a cabo la investigación, además éstas se ubican dentro de los rangos óptimos para el desarrollo del cultivo.

Se estudiaron un total de cuatro tratamientos, utilizando como testigo el 100 % de la fertilización nitrogenada (120 kg N/ha). Todas las variantes recibieron un fondo fijo de P₂O₅ y K₂O de 80 y 100 kg/ha respectivamente. Los tratamientos estudiados se describen a continuación:

T1: 70 % fertilización N (50% en trasplante + 20% a los 30 ddt) y 2 aplicaciones de *Gluconacetobacter diazotrophicus* (en el trasplante y a los 15 ddt)

T2: 50 % fertilización N (en trasplante) y 2 aplicaciones de *Gluconacetobacter diazotrophicus* (a los 15 ddt y a los 30 ddt)

T3: 50 % fertilización N (en trasplante) y 3 aplicaciones de *Gluconacetobacter diazotrophicus* (a los 15 ddt, a los 30 ddt y a los 45 ddt)

T4: 100 % fertilización N (50 % en trasplante + 50% a los 30 ddt)

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. El trasplante se realizó en parcelas de 21 m² (5 m de largo x 1.4 m de camellón) con un área de cálculo de 7 m². El momento del trasplante se aplicó el 50% del fertilizante nitrogenado más todo el fósforo y potasio a través del portador fórmula completa 9-13-17 y a los 35 días posteriores se aplicó el resto de la fertilización nitrogenada, para el tratamiento 1 (20%) y para el tratamiento 4 (50%) del portador urea (46 %).

El biofertilizante base *Gluconacetobacter diazotrophicus* se aplicó a razón de 2 L/ha en un volumen final de 200 L de agua utilizando una asperjadora de 16 L. Se tuvo en cuenta la existencia de una capacidad de campo del 85 % en el suelo en el momento de las aplicaciones.

VARIABLES EVALUADAS

1. Crecimiento vegetativo y morfológico.

Altura de la planta (cm), ancho de la planta (cm) y diámetro basal del tallo (mm): Para la determinación de estas variables se tomaron 10 plantas por parcela experimental y se evaluaron a los 30, 45 y 60 días después del trasplante (ddt).

2. Rendimiento del cultivo.

Se efectuaron 6 y 7 cosechas del cultivo en las campañas 2016-2017 y 2017-2018 respectivamente, donde se realizaron las siguientes evaluaciones.

Número promedio de frutos por planta (u) y masa promedio de un fruto (g): Para la determinación se contaron los frutos de 16 plantas de la parcela experimental y se pesaron en una balanza técnica.

Rendimiento total (t/ha): Se calculó sobre la base de la masa de todos los frutos por parcela, luego se transformó en t.ha⁻¹.

Procesamiento estadístico.

Para el procesamiento estadístico de la información se realizaron, en cada campaña de estudio y variables evaluadas un Análisis de Varianza de clasificación doble. Se valoró el cumplimiento de los supuestos básicos del Análisis de Varianza; la normalidad mediante los estadígrafos de asimetría y de curtosis estandarizados y la homogeneidad de varianza por la dócima de Bartlett (Cochran, 1999).

Evaluación de diferentes dosis de aplicación de *Gluconacetobacter diazotrophicus* y su efecto sobre variables agronómicas de desarrollo en el cultivo de caña de azúcar en la ETICA de Villa Clara

La evaluación se realizó en el Bloque experimental de la Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA Villa Clara).

Suelos: vertisuelo

Variedad. C 8612

Cepa: Primer retoño

de parcelas: 36

Área de cada parcela: 48 m² (4 surcos de 7.5 m de longitud x 1.60 m entre surcos)

Separación entre parcelas: Lateral: 1 surco muerto Frontal: 4 m entre réplicas

Diseño estadístico: Bloques al azar (6 x 6)

Fecha montaje: 11 de Mayo de 2017

Concentración: 4,9 x 10⁹ufc/ml

En todos los tratamientos se evaluaron variables de desarrollo vegetativo, como son:

Altura de tallos (m)

Diámetro de tallos (cm)

Número de tallos por plantón

Rendimientos cañeros t/ha

Pol en jugo t/ha

Los tratamientos fueron comparados mediante ANOVA con el empleo del test LSD de Fisher para determinar la diferencia entre medias, utilizando el programa STATGRAPHICS Centurión XV. Para la estadística convencional (media y desviación estándar) se empleó el paquete Microsoft Office Excel, 2007.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos

#	Kg de NPK/ha	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> (L ha ⁻¹)
I	N ₀ P ₀ K ₀	0
II	N ₁₂₀ P ₀ K ₁₂₀	30
III	N ₁₂₀ P ₂₅ K ₁₂₀	20
IV	N ₁₂₀ P ₅₀ K ₁₂₀	10
V	N ₁₂₀ P ₇₅ K ₁₂₀	0
VI	N ₁₂₀ P ₂₀₀ K ₁₂₀	40
Total		

Evaluación del biofertilizante solubilizador de fósforo obtenido a partir de la bacteria *Bacillus megaterium* en cultivo de caña de azúcar en la Estación Territorial de la Caña de Azúcar (ETICA) Centro-oriental en Camagüey.

El experimento fue conducido en condiciones de secano, en suelos Pardos con carbonatos (Inceptisols) de la Estación Territorial de la Caña de Azúcar (ETICA) Centro-oriental, de Camagüey. Estos suelos agrupados dentro de los sialitizados cálcicos (11), representan el 41.53 % de los suelos de la provincia (12). La cepa utilizada fue cuarto retoño del cultivar C86-12, que representa el 14.8% de la composición varietal de la provincia de Camagüey (13). La descripción de los tratamientos empleados se detalla en la Tabla 2. El diseño experimental empleado fue en bloques al azar con siete tratamientos y cinco repeticiones para un total de 35 parcelas conformadas por 4 surcos de 7.5 m de longitud, espaciados a 1,6 m con área total y cosechable por parcela de 48 m². La fertilización mineral se realizó manualmente a los 20-30 días posteriores al corte, pesando con una balanza técnica, el fertilizante correspondiente a cada parcela en una bolsa de polietileno. Las fuentes de nutrientes empleadas fueron Urea con 46 % de N, Superfosfato Triple de Calcio con 46 % de P₂O₅ y Cloruro de Potasio con 60 % de K₂O.

La aplicación del bio preparado de *Bacillus megaterium* se realizó sobre el suelo con una asperjadora de mano a los 60 días de la cosecha empleando una solución final de 200 L ha⁻¹. A los ocho meses de edad se realizó la medición del diámetro medio de los tallos en el entrenudo +7, de la longitud de la base del tallo al primer dewlap visible así como se contaron los tallos molibles en los dos surcos centrales de cada parcela, con cuyos datos se calculó la población en miles tallos ha⁻¹, según la metodología descrita en el manual de conducción de experimentos de campo del INICA (6). Una semana antes de cada cosecha se tomó una muestra de 10 tallos por cada parcela en las que se determinaron, el brix refractométrico, y el porcentaje de pol en caña. La producción se evaluó en cada parcela mediante el pesaje directo de la caña cortada manualmente con un dinamómetro acoplado a una alzadora mecánica.

Los resultados de las variables ton ha⁻¹ (CTHA) y pol ha⁻¹ (PTHA) y el % pol caña (PPC), así como los resultados de la evaluación de los componentes del rendimiento (diámetro, longitud y población de tallos), se procesaron estadísticamente mediante el paquete estadístico INFOSTAT, versión 2008. En caso de encontrarse diferencias entre tratamientos, se empleó una prueba de rangos múltiples de medias (Duncan, p≤0.05) para establecer la diferencia entre las medias.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos

Ttos	NPK (Kg ha ⁻¹)	Biofertilizante <i>Bacillus megaterium</i> (L ha ⁻¹)
I	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	0
II	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	5 L ha ⁻¹
III	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	10 L ha ⁻¹
IV	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	15 L ha ⁻¹
V	N ₁₀₀ P ₅₀ K ₁₀₀	5 L ha ⁻¹
VI	N ₁₀₀ P ₅₀ K ₁₀₀	10 L ha ⁻¹
VII	N ₁₀₀ P ₅₀ K ₁₀₀	15 L ha ⁻¹
Medias		

C.M. E		
C.V %		
Sx		
Fcalc		
Ftab ^(6/24)		
P.error		

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la producción de los biofertilizantes a partir de las bacterias *Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Bacillus megaterium* se diseñaron medios de cultivos complejos a partir de los subproductos de la industria azucarera, utilizando fundamentalmente miel final de caña y levadura torula previamente hidrolizada, las concentraciones fueron definidas de acuerdo a los requerimientos nutricionales para cada uno de los microorganismos utilizados. Con el medio utilizado y los parámetros de operación establecidos en fermentados de 42 litros, permitieron obtener cultivos con concentraciones celulares de 10^{11} UFC mL⁻¹ para *G. diazotrophicus* a las 48 horas y 10^9 UFC mL⁻¹ para *B. megaterium* a las 24 horas, resultados que superan los reportados con medios de cultivos sintéticos. San Juan 2018.

Resultados de las evaluaciones agronómicas de los biofertilizantes obtenidos en diferentes cultivos.

En la Tabla 3 se muestra los resultados obtenidos al final de la cosecha. Entre los dos tratamientos evaluados se observan diferencias significativas, es decir, el tratado presentó mayor valor en la altura de las plantas, mayor número de hojas y peso promedio de las plantas respectivamente en comparación con el testigo, alcanzando así los mejores resultados la variante T2 respecto a la variante T1. El rendimiento agrícola en t.ha-1 comparando observado entre los dos tratamientos, resultó ser mejor el T2 con un rendimiento de 0,1 t.ha-1 respecto al testigo que alcanzó 0,05 t ha-1 respectivamente, superándolo en 0,05 t ha-1. Estos resultados indican que el tratamiento 2 influyó positivamente sobre el rendimiento. Por lo que se puede concluir que se obtuvo un incremento en el desarrollo vegetativo y productivo de las plantas en la variante inoculada.

Tabla 3. Efecto de la aplicación de *Gluconacetobacter diazotrophicus* sobre el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) .

Variante	Altura de las plantas (cm)	Número de hojas (u)	Peso X de las plantas (g)	Rendimiento (tn/ha)
T1 (Testigo)	17.8 b	14.2 b	50 b	0.05 b
T2 (Inoculada)	22.5 a	18.9 a	110 a	0.1 a
Esx	1.66	1.15	12.80	0,58
CV (%)	3.08	13.69	36.98	7,26

Medias con letras distintas difieren significativamente al 5%.

Aplicación del inoculante *Gluconacetobacter diazotrophicus* en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*)

Las variables de crecimiento vegetativo altura de la planta y ancho de la planta tuvieron un comportamiento similar. Los mayores valores alcanzados a los 60 ddt se produjeron en los 1 (70 % de la fertilización nitrogenada + 2 aplicaciones de la bacteria) y 3 (50 % de la fertilización nitrogenada + 3 aplicaciones de la bacteria) lo que posibilita obtener un buen desarrollo de las plantas haciendo un uso racional de los productos químicos. Resultados similares fueron obtenidos por Vidal (2017) al evaluar el efecto de *G. diazotrophicus* sobre el crecimiento de la planta. Data no mostrada

En cuanto al diámetro basal del tallo de la planta a partir de los 45 días después del trasplante se produjo un incremento apreciable en este indicador. Se puede observar que los mayores valores correspondieron a T3 (50 % fertilización N + 3 aplicaciones de la bacteria) y T1 (70 % fertilización N + 2 aplicaciones de la bacteria) sin diferir significativamente del testigo. Data no mostrada

Pineda (2017) expone que las plantas de tomate que fueron inoculadas con este microorganismo presentaron un mayor desarrollo en follaje, tallo y sistema radicular comparadas con los controles negativos.

Estos resultados indican que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal endófitas tienen mayor disponibilidad de nutrientes en el interior de los tejidos vegetales y mínima competencia con otros géneros bacterianos relacionados, tal como sucede en la rizósfera y suelo (Muthukumarasamy, 2002). El *G. diazotrophicus* tiene como característica que invade el sistema de conducción en el interior del sistema radical, en donde los carbohidratos y ácidos orgánicos, metabolitos generados por la fotosíntesis les sirven como fuente de alimento; cuando colonizan y circulan en el xilema de una amplia variedad de plantas domésticas y silvestres (Muñoz, 2005). Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal endófitas pueden además transformar esos metabolitos de la fotosíntesis en sustancias promotoras del crecimiento vegetal (Riggs, 2001), con las que ejercen efectos positivos sobre el crecimiento de la planta.

En la Tabla 4 se observa el efecto de los tratamientos sobre los componentes del rendimiento. En cuanto al número de racimos por planta, porcentaje de fructificación existió una tendencia igual para ambas variables, obteniéndose los mejores resultados en los tratamientos 1 (70 % de fertilización N + 2 aplicaciones de la bacteria) y 3 (50 % de fertilización N + 3 aplicaciones de la bacteria). El número de frutos por planta fue otro componente del rendimiento que no presentó diferencias estadísticas entre sus tratamientos, sin embargo, la máxima cantidad de frutos se alcanzó en el tratamiento 1.

Tabla 4. Efecto de los tratamientos sobre los componentes del rendimiento.

Tratamientos	No. Racimos/planta (u)	Fructificación (%)	Frutos/planta (u)
1	26,16	54,66	20,11
2	24,87	48,82	17,75
3	26,57	52,42	18,54
4	24,87	51,85	19,21
ESx	1,34	1,85	0,93
CV (%)	20,95	14,26	19,70

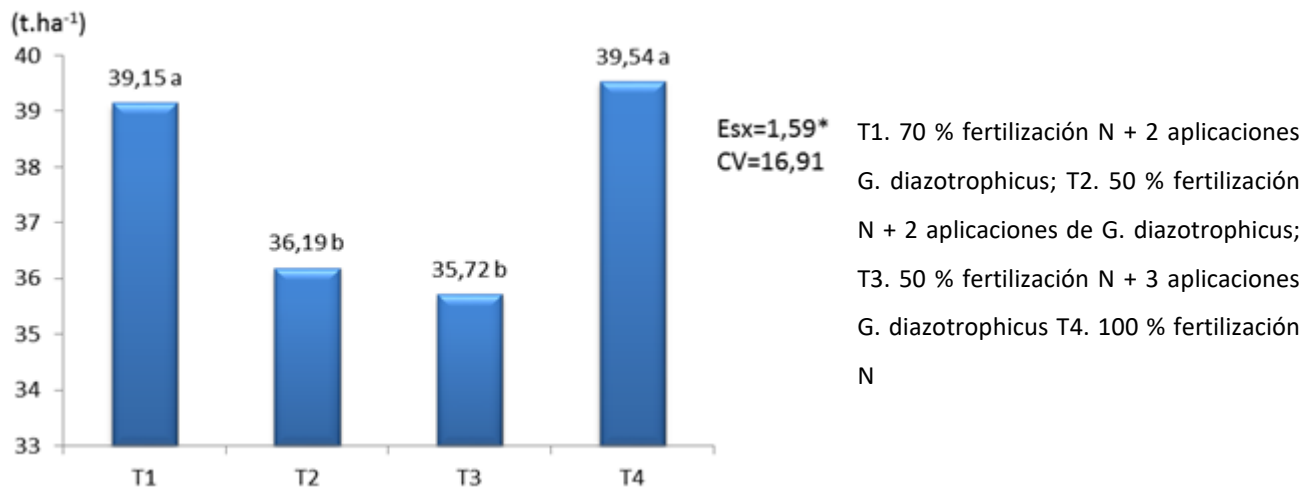


Figura 1. Efecto de los tratamientos del biofertilizante *Gluconacetobacter diazotrophicus* en el cultivo de tomate sobre el rendimiento (t.ha⁻¹).

Se puede apreciar que el rendimiento muestra diferencias significativas entre los tratamientos, siendo el tratamiento 1 (70 % de fertilización N + 2 aplicaciones de la bacteria) el que obtuvo el máximo valor sin diferir significativamente del tratamiento 4 donde se aplicó el 100% de la fertilización nitrogenada. Estos resultados son similares a los obtenidos por Vidal (2017) quien al inocular las plantas de tomate con *G. diazotrophicus* no produjo diferencias significativas sobre el rendimiento en frutos de 1^o categoría, su peso medio y el rendimiento total, con un aumento en la producción del 45% en los frutos de primera, componente importante de la calidad comercial del tomate. Estos resultados sugieren que en el xilema de la planta, la bacteria actúa simultáneamente en la generación de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y con ello una eficaz absorción radical del fertilizante nitrogenado. En los tratamientos donde la fertilización nitrogenada se redujo al 50% también se observó un efecto benéfico sobre el rendimiento.

Evaluación preliminar de diferentes dosis de aplicación de *Gluconacetobacter diazotrophicus* y su efecto sobre variables agronómicas de desarrollo en el cultivo de caña de azúcar en la ETICA de Villa Clara

En las Figura 2 y 3 se puede apreciar que al término de la cosecha existen diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la altura de los tallos, los tratamientos 2 y 6 alcanzan los mejores resultados para esta variable agronómica seguida del tratamiento 4 con respecto al testigo.

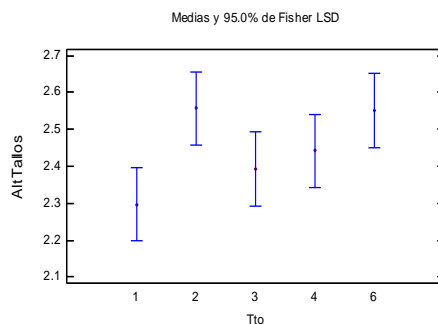
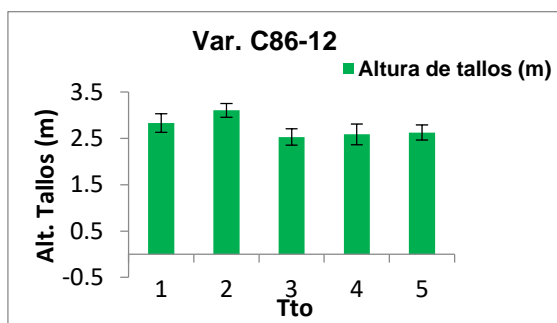


Figura 2. Altura de las plantas de caña de azúcar de los diferentes tratamientos durante el tiempo de cultivo. Barras verticales indican DS, para $p < 0.05$

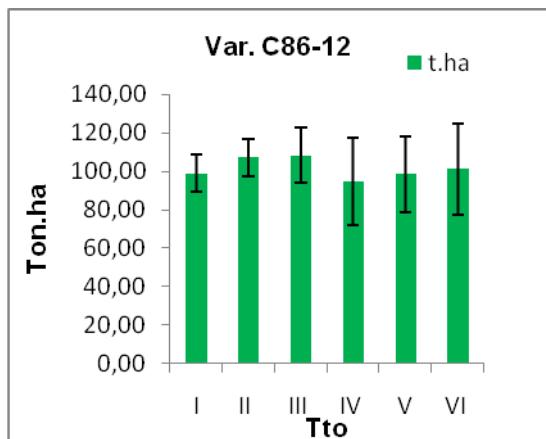


Figura 4. Rendimiento en Ton de caña de azúcar por hectáreas de los diferentes tratamientos durante el tiempo de cultivo. Barras verticales indican DS, para $p < 0.05$

Figura 3. Prueba de rangos múltiples (LSD) de Fisher para los valores medios de altura de las plantas de caña de azúcar entre los tratamientos.

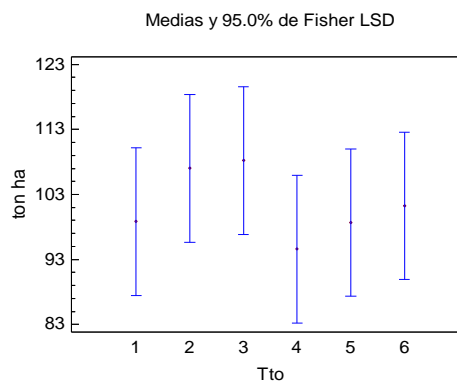


Figura 5. (LSD) de Fisher para los valores medios de Rendimiento en Ton de caña de azúcar por hectáreas entre los tratamientos.

Los mejores resultados se obtienen con los tratamientos II y III, utilizando 0 fósforo y una dosis de 30 L/ha y 25 Kg de fósforo y 20 L/ha del biofertilizante base *Gluconacetobacter diazotrophicus*, respectivamente y con estos tratamientos se logran incrementar entre 8 y 9 t/ha respecto al testigo. Este microorganismo tiene grandes atractivos desde el punto de vista agronómico, pues libera hasta el 50% del nitrógeno transformado mediante la fijación biológica (Cojho *et al.*, 1993) y produce sustancias promotoras del crecimiento vegetal, fundamentalmente ácido indol acético (Fuentes-Ramírez y col., 1993; Lee y col., 2004 y Madhaiyan y col., 2006). Se conoce el efecto del AIA en la formación de los dominios apicales, la diferenciación vascular y el desarrollo de los órganos del cultivo (Velázquez y col., 2010).

Variable: Pol por hectáreas de caña de azúcar

El análisis de Pol de los jugos de caña permite relacionar los diferentes tratamientos del experimento con el contenido de sacarosa en el jugo, los resultados muestran diferencias significativas entre todos los tratamientos, obteniéndose los mejores resultados de acuerdo a las figura 6 y 7 en las variantes II y III. Los tratamiento II y III mostraron los mejores resultados.

Figura 16. Rendimiento en Ton de caña de azúcar por hectáreas de los diferentes tratamientos durante el tiempo de cultivo. Barras verticales indican DS, para $p < 0.05$

evaluadas, los niveles de fertilización utilizados también permitirán obtener altos rendimiento de azúcar.

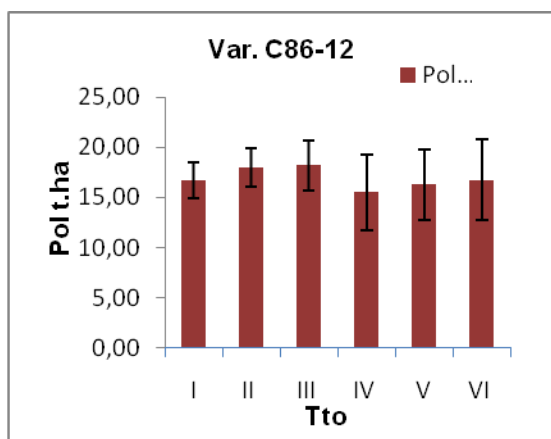


Figura 6. (LSD) de Fisher para los valores medios de Pol t.ha de caña de azúcar entre los tratamientos.

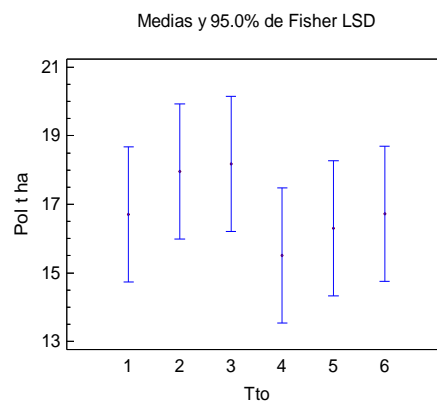


Figura 7. (LSD) de Fisher para los valores medios de Pol t.ha de caña de azúcar entre los tratamientos.

En resumen los resultados alcanzados en cuanto a la estimulación positiva sobre las variables agronómicas estudiadas, se deben a que la bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* es capaz de liberar el nitrógeno fijado, producir diversas auxinas, y se le atribuye además otro mecanismo de acción como la solubilización de fósforo.

Evaluación preliminar del biofertilizante solubilizador de fósforo obtenido a partir de la bacteria *Bacillus megaterium* en cultivo de caña de azúcar en la Estación Territorial de la Caña de Azúcar (ETICA) Centro-oriental en Camagüey.

Los resultados de los componentes del rendimiento (Tabla 5), indican que para el diámetro de tallos todos los tratamientos resultaron superiores al testigo donde solo se aplicó fondos de nitrógeno y potasio (Duncan, $p \leq 0.05$). El mejor tratamiento, superior estadísticamente al resto de los tratamientos resultó la dosis de fondo de nitrógeno y potasio, con un incremento medio de 10,5 mm. Con respecto al testigo con aplicaciones de fondo de N y K. Con respecto a los tratamientos con biofertilizante se encontró cuando se empleó la dosis de 10 $L ha^{-1}$ del bio-p para los tratamientos con biofertilizante resultó estadísticamente superior al resto de los tratamientos. En la población de caña de azúcar estudiada los resultados de la

Figura 18. Pol t.ha de caña de azúcar de diferentes tratamientos durante el tiempo de cultivo. Barras verticales indican DS, para $p < 0.05$

es de fondo de nitrógeno y potasio, con un incremento medio de 10,5 mm. Con respecto al testigo con aplicaciones de fondo de N y K. Con respecto a los tratamientos con biofertilizante se encontró cuando se empleó la dosis de 10 $L ha^{-1}$ del bio-p para los tratamientos con biofertilizante resultó estadísticamente superior al resto de los tratamientos. En la población de caña de azúcar estudiada los resultados de la

tallos, el tratamiento con 10 L ha⁻¹ del bio-preparado sin aplicaciones de fertilizantes fosfóricos y solamente fondos de nitrógeno y potasio, resultó superior (Duncan, p≤0.05), al resto de los tratamientos. El tratamiento con aplicaciones de nitrógeno y potasio sin bio-preparado resultó inferior a todos los tratamientos, lo que demuestra que independientemente que no llegara a ser significativa, la aplicación del bio-preparado, incrementó la producción de esas variables determinantes en el rendimiento agrícola e industrial.

Tabla 5. Resultados de cosecha del experimento con bacterias solubilizadoras de Fósforo *Bacillus megaterium*.

#	NPK (Kg ha ⁻¹)	B. megaterium (L ha ⁻¹)	t caña ha ⁻¹	% pol en caña	t pol ha ⁻¹	tallos miles ha ⁻¹
I	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	0	41.22 ^d	19.21 ^d	7.93 ^c	61.69
II	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	5 L ha ⁻¹	49.74 ^c	19.38 ^c	9.64 ^b	69.94
III	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	10 L ha ⁻¹	55.15 ^{bc}	19.28 ^b	10.63 ^b	66.79
IV	N ₁₀₀ P ₀ K ₁₀₀	15 L ha ⁻¹	63.83 ^a	19.50 ^a	12.45 ^a	65.82
V	N ₁₀₀ P ₅₀ K ₁₀₀	5 LL ha ⁻¹	57.71 ^{abc}	18.46 ^b	10.66 ^b	67.74
VI	N ₁₀₀ P ₅₀ K ₁₀₀	10 L ha ⁻¹	62.38 ^{ab}	19.65 ^a	12.26 ^a	68.99
VII	N ₁₀₀ P ₅₀ K ₁₀₀	15 L ha ⁻¹	50.11 ^c	19.06 ^c	9.56 ^b	66.50
Medias			54.31	19.22	1.45	66.75
CME			35.3143	0.2771	1.3856	15.7259
CV %			10.94	2.74	11.26	5.94
Sx			1.00	0.17	0.20	0.67
F calculada			8.92	2.68	9.13	2.20
F tab (6/24)			3.67	2.51	3.67	2.51
Signific			***	*	***	ns

*** Significativo al 1 % de probabilidad de error

* Significativo al 5 % de probabilidad de error

ns No significativo estadísticamente

- Medias acompañadas de distintas letras difieren estadísticamente entre sí (Duncan, p ≤ 5%)

CONCLUSIONES

- La inoculación de *Gluconacetobacter diazotrophicus* permitió el incremento de la altura de las plantas, el número de hojas, peso de las plantas y por ende el rendimiento en el cultivo de la lechuga a razón de 0,05 t/ha.
- *G. diazotrophicus* permite reducir en un 30 % la fertilización nitrogenada recomendada para el tomate en las condiciones de suelo Ferralítico Rojo típico, constituyendo una alternativa de manejo nutricional, económicamente viable, que permite incrementar los indicadores de crecimiento y productividad del cultivo.
- La inoculación de la bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* en cultivos de caña de azúcar permite incrementar la altura de planta, diámetro de tallos y número de tallos por plantón, los rendimientos en la cosecha y el Pol en los jugos.

- Los tratamientos en cultivo de caña de azúcar donde se empleó el *B. megaterium* bacteria solubilizadora de fosfato, con o sin aplicaciones de fosforo mineral superaron al testigo con fondos fijos de nitrógeno y potasio, resultando la dosis de 15 L ha⁻¹ sin aplicación se superfosfato la de mejores resultados.

REFERENCIAS

1. Pérez, P.; J. García, J. y Fernández, P. “Agroquímica”. 1978. T-I. Editorial Revolucionaria.
2. Döbereiner, J.; Baldani, J.Y. Bases científicas para una agricultura biológica. 1982. Ciencia y Cultura. 34(7):65-70.
3. Döbereiner, J.; Reis, V. M.; Paula, M. A. y Olivares, F. “Endophytic diazotroph in sugarcane, cereals and tuber plants”. 1993. En: New Horizons in Nitrogen Fixation. R. Palacio, J. Mora y W. E. Newton. Eds. Klumer Academic Publisher, Netherlands, p. 671–676.
4. Lambrecht, M., Okon, Y., A. Van de Broek, and J. Vanderleyden. Indol 3 acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacterial-plant interactions. Trends in Microbiology. 2000, 8: 298-300.
5. Riggs, P.J.; Chehous, M. K.; Iniguez, A.L.; Kaepffer, S.M.; Triblett, E.W. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. Aust. J. Plant. Physiology, 28 (9): 829-836, 2001.
6. Cisneros CA., Sánchez M., Menjívar C. Evaluación de solubilización de fosfatos por microorganismos rizosféricos de un Andisol del municipio de Cajibío (Cauca) y su efecto en plántulas de café (*Coffea arabica* var. Castillo). Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia. Tesis de Doctorado en Ciencias Agrarias. Facultad de Ingeniería y Administración, y Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2015, 52 pp.
7. Casas, M. “Resultados de colonización e interacción del endófito *Gluconacetobacter diazotrophicus* en vitroplantas de caña de azúcar”. 2014. Seminario INISAV, La Habana.
8. Vary, P.S.; Biedendieck, R.; Fuerch, T.; Meinhardt, F.; Rohde, M.; Deckwer, W. *Bacillus megaterium*-from soil bacterium to industrial protein production host. App Microbiol Biotechnol. 2007, 76, p. 957-967.
9. Tejera, N.; Ortega, E.; Rodés, R.; Lluch, C. Influence of carbon and nitrogen sources on growth, nitrogenase activity, and carbon metabolism of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. 2004. Can. J. Microbiol. 50: 745–750.
10. San Juan, A. N. y cols. Informe final del proyecto Desarrollo, evaluación y producción de Biofertilizantes para la agricultura cañera y otros cultivos. 2018. ICIDCA. AZCUBA
11. Hernández, A., Pérez, J.M., Bosch, D. y Castro, N. Clasificación de los suelos de Cuba. Ed. INCA, 2015, 91p. IIHLD. Memorias 25 Aniversario. La Habana, 1997, 98p.
12. Dibut Álvarez, Bernardo et al. Nuevos aislados de *Gluconacetobacter diazotrophicus* en cultivos de importancia económica para Cuba. Revista Cultivos Tropicales. pp: 5-10. Vol 26, 2, 2005. Disponible en: <http://www.redalyc.org>. Fecha de Consulta: 12 de enero 2017.
13. Cochran, W. y G.M. Cox. Diseños experimentales. México: Editorial Trillas, 1999. 661p.
14. Ascanio O., Sulroca F. Nuevo Agrupamiento Agroproductivo de los suelos cañeros de Cuba. Departamento Suelo y Agroquímica, Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, MINAZ, Ciudad de la Habana, Cuba. 1986, 12 p.
15. Servicio de Recomendación de Fertilizantes y Enmiendas para la Caña de Azúcar (SERFE). 2018. Interfase de recomendaciones de fertilizantes para la Zafra 2018-2019, 16 pp.
16. Empresa Azucarera Camagüey. Composición varietal de la Empresa Azucarera Camagüey, cierre, diciembre 31 de 2018, 4pp.

17. Vidal, V.; S. Vio, S.; Soledad García; Pamela Bernabeu; Flavia Luna; Mariana Garbi y Susana Martínez. Promoción del crecimiento de plantas de tomate inoculadas con *Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Burkholderia tropica*.. XI Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos- Corrientes (Argentina). Agrotecnia 25(2017) REBIOS 2017. p.47
18. Muñoz, J. La interacción *Gluconacetobacter diazotrophicus* – caña de azúcar como modelo para el estudio de la transmisión de bacterias benéficas. 2005. Elementos, 57, p 57-62.
19. Cojho, E. H., V. M. Reis. A. C. Schenberg, and J. Döbereiner. Interactions of *Acetobacter diazotrophicus* with an amylolytic yeast in nitrogen-free batch culture. 1993. FEMS Microbiol. Lett. 106:23-31.
20. Fuentes-Ramírez, L. E.; T. Jiménez-Salgado.; I. R. Abarca-Ocampo, and J. Caballero-Mellado. *Acetobacter diazotrophicus* and indolacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico”. 1993. Plant Soil 154:145-150.
21. Lee, S.; Flores, E. M.; Contreras, Z. M.; García, F. L.; Escamilla, J. E. and Kennedy, C. Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome c biogenesis genes. J. Bacteriol. 2004, 186: 5384-5391.
22. Madhaiyan, M.; Poonguzhali, S.; Hari, K.; Saravanan, U. S. and Sa, T. Influence of pesticides on the growth rate and plant-growth promoting traits of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Pesticide Biochem. Physiol. 2006. 84:143-154.
23. Velázquez, H. M. L.; Baizabal, A. V. M.; Cruz, V. F.; Trejo-, C. M. J.; Fuentes, R. L. E.; Bravo, P. A.; Cajero, J. M.; Chávez, M. M. P. y Valdez, A. J. J. *Gluconacetobacter diazotrophicus* levansucrase is involved in tolerance to NaCl, sucrose and desiccation, and in biofilmformation”. Archives of Microbiology, vol. 193, no. 2, 20 de noviembre de 2010, pp. 137-149.