Monibac: un biofertilizante con base en cepas nativas de *Azotobacter* sp. para incrementar la productividad y sostenibilidad del algodonero

Ruth Bonilla Buitrago[1]
José Gregorio Morales [2]

Introducción

El nitrógeno es el elemento más limitante para el crecimiento de las plantas en suelos tropicales (Franco y Dobereiner, 1994), por esta razón se emplean grandes volúmenes de productos químicos nitrogenados para incrementar la producción agrícola. En el mundo se ha registrado la aplicación de 77 x 10^6 toneladas de nitrógeno como fertilizante, que requieren cerca de 91 x 10^9 toneladas de combustible fósil que representa aproximadamente 1.4% del total de este combustible (Marín y col. 2003).

Si bien la utilización de fuentes químicas nitrogenadas ha incrementado la producción, ha provocado, sin embargo diferentes efectos negativos en los recursos naturales, tales como acumulación de nitratos en las aguas almacenadas en el subsuelo, toxicidad en las plantas por los altos niveles de NO_2 en los suelos, lo cual ocasiona la muerte de la biota del suelo y la presentación de desequilibrios en los procesos naturales biológicos y químicos, además de un elevado costo económico, social y ecológico, representados en la disminución de la productividad agropecuaria.

En la actualidad, en el mundo se defiende la generación de tecnologías más acordes con la naturaleza, como es el caso del uso de microorganismos eficientes en la fijación biológica de nitrógeno, con el ánimo de reducir la aplicación de fertilizantes sintéticos. Acudir a los biofertilizantes en los sistemas productivos, es una alternativa viable e importante para lograr un desarrollo agrícola ecológicamente sostenible, ya que permiten una producción igual a la obtenida con productos convencionales a menor costo; además, no contaminan el ambiente y mantienen la fertilidad del suelo y la biodiversidad.

Con el objetivo de ofrecer a los productores este tipo de insumos, CORPOICA ha desarrollado investigaciones que incluyen desde el aislamiento de cepas nativas eficientes, estandarización de metodologías para su multiplicación en medios adecuados, hasta la producción de biofertilizantes, siendo relevante la obtención de Monibac por las ventajas que ofrece su aplicación a la agricultura, en particular para el cultivo del algodonero.

Conceptos Generales

¿Qué es un biofertilizante?

Es un producto biológico con base en microorganismos del suelo que al ser inoculado aumenta sus concentraciones en el mismo, haciendo disponibles los nutrientes para las plantas.

¿Qué es Monibac?

Es un biofertilizante con base en cepas nativas eficientes de *Azotobacter chroococcum*, que al ser inoculado aumenta la producción y productividad del algodonero y otros cultivos; tiene dos presentaciones: líquida y sólida; contiene una concentración mínima de 10^8 unidades formadoras de colonia/gramo (UFC/g) de inoculante en la presentación sólida y de 10^8 UFC/ml en medio líquido.

[1] Bióloga, Ph. D. Ciencias Agrícolas. Investigador Principal. Programa Recursos Biofísicos de CORPOICA. C. I. Tibaitatá. email. reboniru@yahoo.es
[2] I. A. Investigador Asociado. Plan de Algodón. C. I. Turipaná. E mail: gregorio72000@yahoo.com.mx

¿Como actúa?

El *Azotobacter chroococcum* es responsable de la fijación biológica de nitrógeno en las plantas, es decir, que actúa como fertilizante nitrogenado muy apropiado para reducir la aplicación de productos nitrogenados de origen químico; además, se le atribuye la propiedad de propiciar la producción de hormonas de crecimiento, contribuyendo así al desarrollo de la planta.

Recomendaciones de Uso

El Monibac se debe conservar en nevera, a una temperatura de 4°C, en estas condiciones no se altera su eficacia por 90 días.

La presentación en medio líquido se recomienda en pequeñas áreas, en dosis de 60 litros/ha, y la cantidad de su aplicación y de las semillas se determina según el área a sembrar. Las semillas se sumergen en el biofertilizante durante 15 minutos, luego se secan bajo la sombra y se procede a la siembra inmediatamente.

En medio sólido, el inóculo se agrega a una solución de azúcar al 10% para permitir su adherencia a la semilla; se recomienda peletizar la semilla utilizando carbonato de calcio con el objetivo de evitar el daño por plagas; después se dejan secar las semillas bajo sombra y se siembran el mismo día utilizando una dosis de 1 kg/20 kg de semilla.

Área Geográfica de Aplicación

Está probada la eficiencia de Monibac con base en *Azotobacter chroococcum* en áreas con características agroecológicas similares a las predominantes en la Región Caribe Colombiana, con indicación en suelos de pH neutro a alcalino.

Desarrollo de la Producción de Monibac

El Monibac se desarrolló en las siguientes etapas secuenciales:

Aislamiento de *Azotobacter* sp.

El proceso de aislamiento del *Azotobacter* sp. se realizó en el laboratorio de la Estación Experimental Motilonia, localizada en Codazzi (Cesar).

Los microorganismos se aislaron de los suelos de la Costa Caribe (Codazzi, Riohacha y Montería), de pH entre 6.0 y 7.3, con bajos contenidos de materia orgánica (1.0-1.5%) y texturas de franco-arcillosa a franca. Codazzi (Cesar) está ubicado a una altura de 160 metros, con temperatura media anual de 28°C, precipitación anual de 1.360 mm y 68% de humedad relativa. Riohacha (La Guajira), está situada a 5 m.s.n.m., con temperatura media anual de 29°C, un promedio de precipitación anual de 300 mm y 60% de humedad relativa. Montería (Córdoba) se halla a una altura de 14 metros, con temperatura media anual de 28°C, promedio de precipitación anual de 1500 mm y humedad relativa de 80%.

Las muestras de suelos fueron recolectadas y procesadas mediante la metodología de los gránulos de suelo en medio convencional Asbhy modificado por Novo (1993), (Figura 1).

Figura 1. Siembra de gránulos de suelo para el aislamiento de microorganismos.

Los criterios tenidos en cuenta para el aislamiento fueron: abundancia del crecimiento; características microscópicas y macroscópicas típicas del género *Azotobacter* sp. Para la purificación de las cepas se utilizaron las metodologías microbiológicas por pases sucesivos, establecidas en forma convencional.

Producción en Medio Líquido de un Biofertilizante basado en *Azotobacter*

En el proceso de producción se empleó inicialmente el medio líquido convencional (Asbhy) y para la experimentación exploratoria en invernadero se seleccionaron las cepas que presentaron mayor producción de biomasa a las 72 horas de fermentación. En esta etapa se seleccionaron y multiplicaron las cepas identificadas como *Azotobacter* AC1, *Azotobacter* AC2 y *Azotobacter* AC3.

Evaluación de la respuesta del algodón a la inoculación con las cepas AC1, AC2 y AC3

Las semillas de algodón se inocularon con el producto líquido obtenido con base en las cepas AC1, AC2 y AC3 de *Azotobacter sp.*, las cuales se sumergieron en el producto, donde permanecieron en imbibición durante 15 minutos, después de lo cual se dejaron a la sombra hasta su secado, sembrándose más tarde. Como resultado importante se observó que la cepa AC-1 presentó mayor efecto en la reducción del tiempo de germinación (Figura 2) y en la altura de la planta en relación con las otras cepas estudiadas.

Figura 2. Germinación del algodón.

Producción en Medio Sólido de un Biofertilizante Basado en *Azotobacter*

Dado que el escalamiento en medio líquido presenta la limitación del transporte y la susceptibilidad a la contaminación, siendo además incómoda su aplicación práctica, se procedió a la búsqueda de un soporte sólido.

En este sentido se inició la evaluación de dos soportes sólidos: turba y cachaza suplementada, esta última, proveniente del Ingenio Sicarare-Codazzi, en dos presentaciones: 1 y 2. Luego se verificó el crecimiento del microorganismo y se hicieron las respectivas incubaciones, en las cuales se obtuvieron concentraciones adecuadas; se realizó el análisis de calidad cada 15 días durante 12 semanas, por dos períodos consecutivos.

Los resultados evidenciaron que la cachaza suplementada 1 es ligeramente mejor que la 2 y la turba, por lo cual se considera que ésta es un sustrato promisorio para la multiplicación del microorganismo. También revelaron que el biofertilizante se conserva bien a 4°C durante 90 días sin alterar su viabilidad (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de inóculos sólidos con base en *Azotobacter chroococumm* a través del tiempo.

Tiempo (días)	Monibac		
	Cachaza suplementada*		Turba*
	UFC/g inoculante **		
	1mm	2mm	
0	10^9	10^9	10^8
15	10^9	10^9	10^8
30	10^8	10^8	10^8
45	10^8	10^8	10^8
60	10^8	10^8	10^7
75	10^8	10^8	10^7
90	10^8	10^8	10^7

* Promedio dos períodos consecutivos
** Unidades formadoras de colonia por gramo de inoculante

Evaluación del biofertilizante en soporte líquido y sólido en invernadero

Una vez realizados los experimentos de laboratorio, en los cuales se encontró que la mejor cepa del microorganismo era la identificada como C1 y definido que la cachaza suplementada de 1 mm y el medio agrícola eran los mejores soportes sólidos y líquidos, respectivamente se procedió a la evaluación en invernadero utilizando como planta indicadora la especie algodón. Al respecto se hicieron cuatro tratamientos, o sea, en medio líquido (agrícola); en medio sólido (cachaza suplementada y turba) (Figura 3), agregando 25 kg de nitrógeno en forma de urea y un testigo convencional, es decir, la fertilización aplicada por los productores de la zona (75 kg de nitrógeno). Se observó que en los tratamientos líquido y sólido del biofertilizante se reduce el uso de los fertilizantes nitrogenados de síntesis en aproximadamente 60%.

Figura 3. Algodón inoculado y peletizado con biofertilizante.

Según los resultados el mejor tratamiento fue la cachaza suplementada más 25 kg de nitrógeno, con respecto a los otros tratamientos (Tabla 2).

Tabla 2. Respuesta del algodonero a la inoculación con biofertilizantes en soporte líquido y sólido*. Codazzi (Cesar).

Tratamientos	Peso húmedo g/matera	Peso seco g/matera
Testigo (75 kg de N en forma de urea)	19.12	3.35
Cachaza suplementada + 25 kg de N en forma de urea	26.10	7.12
Turba + 25 kg de N en forma de urea	21.85	6.15
Biofertilizante líquido	21.12	6.35

**Azotobacter chroococcum*

Evaluación del biofertilizante en soporte líquido y sólido en campo

Para la evaluación en campo se establecieron parcelas de 50 m² con los mismos tratamientos utilizados en el invernadero con la especie algodón en el municipio de Codazzi (Cesar). En Montería se establecieron los siguientes tratamientos: en medio sólido (cachaza suplementada) + 35 kg de nitrógeno; medio sólido + reinoculación con medio líquido y un testigo convencional, o sea, la fertilización aplicada por los productores de la zona (105 kg de nitrógeno).

Los resultados muestran que el tratamiento donde las plantas fueron inoculadas con medio sólido (cachaza suplementada) alcanzó la mayor producción de algodón semilla (2.467 kg/ha), el cual fue superior 18.8% al tratamiento del productor. Las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas; sin embargo, se evidencia una clara tendencia de incremento en la producción de algodón semilla en las plantas inoculadas en soporte sólido y líquido respecto al testigo. El empleo del biofertilizante no incidió en la calidad de la fibra (Tabla 3).

Tabla 3. Respuesta del algodonero a la inoculación con biofertilizantes en soporte líquido y sólido. Codazzi (Cesar).

Tratamientos	Rendimiento (kg/ha)
Testigo (75 kg de N en forma de urea)	2077
Cachaza suplementada + 25 kg de N en forma de urea	2467
Turba + 25 kg de N en forma de urea	2265
Líquido	2218

**Azotobacter chroococcum*

Los resultados de la inoculación del algodonero en suelos de Montería, indican que donde se efectuó el tratamiento con el biofertilizante sólido y se reinoculó se obtuvo el mayor rendimiento de algodón semilla con 3.078 kg/ha; el cual superó en 10.0 y 4.05% a los rendimientos obtenidos en el tratamiento del productor y con el inoculado (Tabla 4).

Tabla 4. Respuesta del algodonero en campo a la inoculación con biofertilizantes en soporte líquido y sólido*. Montería (Córdoba).

Tratamientos	Rendimiento (kg/ha)
Testigo (105 kg de N)	2797
Cachaza suplementada + 35 kg de N	2953
Cachaza suplementada + reinoculación líquida	3078

**Azotobacter chroococcum*

Determinación de la Identidad Molecular (género y especie)

La identificación de la cepa AC1 se realizó en el laboratorio de biología molecular de CORPOICA; los resultados confirmaron que pertenece al género *Azotobacter* y a la especie *Azotobacter chroococcum*.

Estado Actual

Con el propósito de obtener la licencia de venta y el registro de productor del biofertilizante Monibac para el cultivo del algodón, en la actualidad se desarrollan dos pruebas regionales de eficacia en la E. E. Motilonia y en el C. I. Turipaná (Figura 4).

Figura 4. Estado actual del cultivo del algodonero.

Respuesta de Otras Especies a la Inoculación

Evaluación del Inóculo en Cuatro Leguminosas Arbóreas

Ante la inquietud de algunos investigadores pecuarios, en relación con la necesidad de producir forraje de buena calidad en épocas de sequía, se iniciaron algunos trabajos exploratorios en leguminosas arbóreas, con el propósito de potenciar los sistemas silvopastoriles.

El experimento se desarrolló en invernadero en la Estación Experimental Motilonia, Codazzi (Cesar), con cuatro leguminosas arbóreas: acacia, algarrobillo, iguá y trupillo, las cuales fueron inoculadas con los biofertilizantes en soporte líquido empleando la metodología de imbibición de semillas.

Los resultados indican que la inoculación con cada una de las cepas (AC1- AC2- AC3) disminuyó el tiempo de germinación de las especies, aumentó la altura de la planta y la producción de materia seca (fracción fina). Se observó una tendencia de especificidad entre las cepas microbianas utilizadas como fertilizantes biológicos y las arbóreas así como su influencia en la concentración de diferentes nutrientes en el follaje. Los resultados fueron promisorios y se espera continuar con las investigaciones para obtener biofertilizantes específicos para las diferentes especies arbóreas.

Utilización en Tomate y Ají

Es importante mencionar además que también se realizaron ensayos en tomate y ají en las vedas indígenas de La Guajira. Los resultados revelan que la inoculación con cepas de *Azotobacter* en medio líquido, incrementó notablemente la producción de ají y tomate en 17 y 31%, respectivamente.

Proyecciones

- Producción a nivel comercial y continuación de la investigación sobre medios de cultivo de bajo costo e implementación de pruebas de eficiencia en hortalizas, leguminosas arbóreas y otras especies de interés económico.

- Aislamiento, purificación, identificación y multiplicación de otras especies y cepas para producir biofertilizantes mixtos que potencien sus acciones y sinérgias.

Referencias Bibliográficas

Baldani, J. I.; Dobereiner, J. 1995. Recent advance in BNF with non-legumes plants. In: International Symposium on sustainable agriculturae for the tropics- The role of biological nitrogen fixation, Andra dos Reis. Abstracts. Angra dos Reis: The National Centro for Agrobiology Researche (Embrapa-CNPAB). p. 53-54.

Bonilla, R. 2003. Utilización de organismos simbióticos y asimbióticos en la producción del algodón. *En:* Estrategias de organización, comercialización y tecnología para mejorar la competitividad del sistema de producción en el Cesar. Memorias. p. 49-57.

Bonilla, R.; Pedroza, A. M. 2003. Aislamiento, caracterización y producción semiindustrial de *Azotobacter chroococcum y Azotobacter vinelandii*. Bogotá, Corpoica. 16 p. (Boletín Técnico).

Bonilla, R.; Roncallo, B. 2003. Microorganismos nativos como fertilizantes biológicos en leguminosas arbóreas. Innovación y Cambio Tecnológico. 2 (3)18-24.

Bonilla, R.; Novo, R.; Martínez, M.; Galvis. A.; Venegas, N.; Parra, D.; Vanegas, O. 2000. Generación de tecnología para la utilización de la fijación no simbiótica de nitrógeno como alternativa a la fertilización. 2000. Valledupar, Corpoica. (Boletín de Investigación. No. 5).

Dobereiner, J.; Baldani, V .L.; Olivares, F .L.; Reis, V. M. 1994. Endophytic diazotrhophs; the key to graminaceous plantas. In: Hegazi, N.A.; Fayez, M: Morrib,. M. edc. Nitrogen fixation with non-legumes. Cairo. The American University. p. 395-408.

Dobereiner, J.; Baldani, V. L.; Baldani, J. I. 1995. Cómo isolar e identificar bacterias diazotróficas de plantas nao-leguminosas. Itaguaí: Embrapa -CNPAB. 60 p.

Franco, A. A.; Dobereiner, J. A. 1994. Biología do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. Summa Phytopathologica, Sao Paolo, 20(1):68-74.

Lozano, A. 1998. Determinación de la actividad nitrogenasa en cultivos de microorganismos diazotróficos (Guía). Bogotá, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Química. 52 p.

Marín, V. A.; Baldani, dos Santos, R.; Baldani, I. J. 2003. Fixacao biologica de nitrogeno; bacterias fixadoras de nitrogeno de importancia para a agricultura tropical. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria. 44 p. (Comunicado Técnico).

Novo, R. 1993. Microbiolgoía del suelo y biofertilización. *En:* Fundación de Asesorías para el Sector Rural. Memorias . Santa Fé de Bogotá, Fundases. 101 p.

Ramírez, M. 2003. Manual de procedimientos técnicos de producción de *Rhizobium*. Bogotá, Corpoica. 98 p.