

**USO DE LOS MICROORGANISMOS EFICACES EM Y LA VINAZA COMO
POTENCIALIZADORES DE MICRORGANISMOS BIOTRANSFORMADORES DE
RESIDUOS DE COSECHA Y FIJADORES DE NITRÓGENO EN EL CULTIVO DE LA CAÑA
DE AZÚCAR**

**EFFICIENT MICROORGANISMS AND VINASSE UTILIZATION AS PROMOTORS OF
HARVESTING WASTES BIOTRANSFORMATION AND FIXING NITROGEN
MICROORGANISMS ON SUGARCANE CROP**

Silvio Fernando Cadena Saucedo

**Desarrollos Agroindustriales Ltda. Ingeniero Agrónomo, MSc suelos Universidad
Nacional de Colombia. sfcadena@hotmail.com**

RESUMEN

Con el objetivo de lograr un aprovechamiento de los residuos de cosecha del cultivo de la caña de azúcar, estos fueron inoculados con diferentes mezclas de microorganismos para promover al aporte de nutrimentos como resultado de su biotransformación y la fijación biológica de nitrógeno para así mejorar las condiciones físicas, químicas y microbiológicas del suelo. Para ello se utilizaron diferentes microorganismos como bacterias ácido lácticas, fotosintéticas y hongos degradadores aplicados en campo en un medio conteniendo vinaza. Durante 4 meses se evaluó la relación carbono/nitrógeno para determinar el grado de transformación de los residuos. Los resultados mostraron diferencias significativas en el valor de la relación C/N entre tratamientos con respecto al testigo (C/N = 41,6), encontrándose los menores valores (C/N = 34) un efecto positivo de los EM y los degradadores sobre la biotransformación de los residuos de cosecha. De otro lado se observó que los EM en mezcla con bacterias diazotróficas pueden reemplazar hasta en un 30% los fertilizantes nitrogenados sintéticos mediante la fijación biológica de nitrógeno manteniendo la producción y la calidad de la caña cosechada.

Palabras claves: biotransformación, EM, Vinaza, relación C/N, fijación biológica de nitrógeno, nutrientes.

ABSTRACT

To improve the physical, chemical and biological features of soil as a result of availability of the nutrients from harvesting wastes biotransformation of sugarcane crop and nitrogen biological fixation several mixtures of microorganisms were tested. Lactic, photosynthetic bacteria and cellulolytic fungi in mixture to vinasse were applied on field. Carbon-Nitrogen ratio as an indicator of biotransformation degree was determined during four months. These results showed significant differences on C/N ratio between treatments in order to the test (C/N = 41,6), and lowest values (C/N = 34) determined a positive effect of EM and cellulolytic microorganisms combination over wastes biotransformation. The other hand, this study carried out fixing nitrogen bacteria in combination with EM can contribute to 30% nitrogen required by plant keeping sugarcane output and quality.

Key words: biotransformation, EM, Vinasse, C/N ratio, Nitrogen biological fixation, nutrients.

INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento del material a descomponer es una tarea especializada que guarda una estrecha relación entre el tipo de molécula y el microorganismo o grupo de ellos que pueden utilizarla. Estudios sobre la descomposición de la celulosa muestran que los colonizadores iniciales son hongos como *Rhizoctonia solani*, *Humicola sp.*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* y *Aspergillus*; en el caso de las pectinas, estas son atacadas por bacterias anaeróbicas como *Clostridium*; las sustancias a base de proteína y almidón son atacadas por bacterias del género *Bacillus*; la hemicelulosa es atacada principalmente por actinomicetos como *Streptomyces griseus*, *S. Aureofaciens*, *S. Antibioticus*, *S. Roseochromogenus* (Arévalo, 2002), *Nocardia rugosa* (Bonilla, 1996) y levaduras como *Saccharomyces sp* (Hsie et al, 1984).

Estudios realizados muestran que la mayoría de los residuos provenientes de las labores agrícolas, industriales y urbanas, como los denominados residuos glutámicos, las vinazas, etc., con pH de 4.7 (acidez= 0.13 mol de H⁺/Kg), aumentan la actividad microbiana del suelo (Colozzi-Filho et al 1996). La vinaza es un residuo líquido producido durante la destilación de los mostos fermentados en la fabricación de alcohol; aproximadamente por cada litro de alcohol se obtienen 5 y 13 litros de vinaza compuesta de azúcares, resinas, ácidos orgánicos, aminoácidos (Menezes, 1980), y altos niveles de potasio (41 kg/m³ en la vinaza del 55% y 6 kg/m³ en la vinaza del 10% de sólidos totales; Quintero, 2003). Cuando la vinaza es aplicada en el suelo puede inhibir inicialmente la actividad de algunas bacterias del género *Beijerinckia* (Neves et al, 1983), debido posiblemente a la alta demanda química y bioquímica de oxígeno (DQO Y DBO entre 20-120 g/L; Pérez, 1997), pero luego activa rápidamente las transformaciones biológicas realizadas por hongos y bacterias (Menezes, 1980). Al parecer, la materia orgánica coloidal y los ácidos orgánicos presentes en la vinaza, además del

contenido de azúcares, favorece la actividad y el aumento de la población microbiana, ayudando a solubilizar diversos elementos nutricionales (Gloria, 1975; Penatti et al, 1988; Rodella et al, 1981 y Körndorfer – Martins, 1992). Adicionalmente la vinaza ha sido eficientemente utilizada en el compostaje de residuos agroindustriales para la preparación de abonos orgánicos en cantidades entre 20-30% de la mezcla (Bravo, 2001).

De otro lado, en las actuales condiciones edafoclimáticas predominantes en la parte plana del Valle del Río Cauca, la caña de azúcar requiere después del potasio, cantidades importantes de nitrógeno para su óptimo desarrollo. De esta manera, considerando los contenidos de nitrógeno en tallos, hojas y yaguas, la planta puede extraer 105 kg de N por cada 100 toneladas de tallos, de los cuales cerca de 60 kg de N están presentes en los tallos (Quintero, 1999). De otro lado, en la atmósfera terrestre prácticamente hay una fuente inagotable de nitrógeno (79 %N), pero se encuentra en forma elemental formando enlaces triples muy estables y poco aprovechables por las plantas superiores. Posiblemente la fijación biológica de nitrógeno producto de la asociación simbiótica entre la planta y bacterias diazotróficas y algas azul-verdosas sea tal vez la alternativa más económica y menos contaminante para suplir nitrógeno a la planta.

A través de estudios realizados en Guatemala se han aislado *Azospirillum Herbaspirillum* y *Acetobacter* asociadas de forma natural entre un 20 y 60 % del N requerido por la planta (Pérez et al, 1999). En cuanto a las condiciones físicas y químicas del suelo, estudios realizados para caña de azúcar en Sur África mostraron que hay una baja actividad de los nitro fijadores en suelos arenosos y que usando *Azospirillum* se pueden fijar 25 kg N ha⁻¹ año⁻¹. (Purchase, 1980). En esta misma región se ha encontrado *Azospirillum lipoferum* asociada a diferentes gramíneas incluyendo la caña (Anderson, 1985). Las investigaciones llevadas por Dobereiner (1994) en Brasil, evidenciaron que *Acetobacter diazotrophicus* antes llamado *Saccharomyces nitrocaptans* predomina en el cultivo de la caña y que la especie *A. Halopraeferans* se adapta a suelos salinos y la especie *Azospirillum amazonense* tolera suelos ácidos. En cuanto a las dosis y formas de aplicación en caña, con la mezcla de *Azospirillum* – agua en relación volumétrica 1:20 sobre las estacas durante 5 minutos puede reemplazar en un 60% el nitrógeno requerido por el cultivo (Macalintal, 1992). Investigaciones realizadas en Costa Rica han mostrado que con la aspersion de 75 L ha⁻¹ de un biopreparado de *Azospirillum* cepa INICA-8 se logra un rendimiento igual y mayor beneficio económico que con 80 kg de N ha⁻¹ provenientes del fertilizante mineral nitrogenado (Arzola, 2000). Ensayos de campo realizados en México sugieren la mezcla de 0.5 L de *Azospirillum* sp. Concentrado en 100 L de agua, sumergir la semilla 24 horas y luego llevar la mezcla a 200 L para aplicar por hectárea. Con esta aplicación y adicionando alternativamente abonos orgánicos es posible reducir entre un 30 y 50% la aplicación de N mineral (Toledo, 1997).

MATERIALES Y MÉTODOS

Biotransformación de los residuos de cosecha de la caña de azúcar

El primer ensayo buscaba identificar si la vinaza era un medio adecuado para que los microorganismos iniciaran su actividad de consumir la celulosa de los residuos de caña y que tipo de microorganismos eran los ideales para esta función. Esta investigación fue realizada por Cenicaña en la Hacienda la Judea-Villegas, utilizando residuos encallados al 2x1 y vinaza diluida del 10% de sólidos totales incluyendo los siguientes tratamientos:

Dosis de según la relación residuo : vinaza en base al peso del residuo:

- | | |
|-------------------------------|-----------------------------|
| 1. Residuos - sin vinaza: 1:0 | 4. Residuos - Vinaza: 1:1 |
| 2. Residuos - Vinaza: 1:0.25 | 5. Residuos - Vinaza: 1:1.5 |
| 3. Residuos - Vinaza: 1:0.50 | 6. Residuos - Vinaza: 1:2 |

Dosis de los inóculos microbiales:

- a. 75 L/ha de Agroplux (lactobacillus, bacterias nitrificantes, hongos y levaduras).
- b. 20 L/ha de EM (Bacterias fotosintéticas, bacterias ácido lácticas y levaduras).
- c. 2 L/ha de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (BFN)
- d. 300 g/ha de *Trichoderma*

Se evaluaron 24 tratamientos en surcos de 5 m de longitud espaciados a 1.5 m, con tres repeticiones en un diseño de parcelas divididas, donde la parcela principal esta conformada por el inóculo y la subparcela por las dosis de vinaza; por lo tanto se obtuvieron 72 parcelas de 7.5 m² cada una, para un área total de 540 m². Las variables de respuesta incluyeron los datos semanales de temperatura y humedad, y datos quincenales del peso

Fijación biológica de nitrógeno atmosférico: Dosis de EM con bacterias diazotróficas *Azotobacter* y *Azospirillum* como complemento a la fertilización nitrogenada en caña de azúcar.

Para este experimento se usó el diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Las parcelas fueron de tamaño semicomercial, conformadas por 12 surcos de aproximadamente 100 m de longitud y con una separación entre surcos de 1,65 m para un área aproximada de 1.980 m². Los tratamientos se definieron por las mezclas de los EM con bacterias diazotróficas (Eco 1, 2 y 3) aplicadas en un volumen de 20 L ha⁻¹.

Tratamientos:

Trata ¹	% N a sustituir	N a aplicar (kg ha ⁻¹)
Eco 1	50	75
Eco 2	50	75
Eco 3	50	75
100%N	0	150

El experimento se conformo con 16 parcelas semicomerciales, cuatro tratamientos con cuatro repeticiones. Los tratamientos 1 a 4 llevaron dosis iguales de potasio (60 de kg ha⁻¹ de K₂O) usando como fuente vinaza de 55% de sólidos totales. Como fuentes de N se usó la urea (46 % de N). Los fertilizantes se aplicaron en banda superficial a los 45 días después de la siembra en plantilla o del corte en socas. Las bacterias se aplicaron asperjadas sobre la semilla durante la siembra antes de tapar o Inmediatamente después del corte sobre la cepa en socas. Para este experimento se usó la variedad CC 85-92.

A los 45 y 90 días luego de aplicar los tratamientos se realizaron lecturas de clorofilómetro (medidor de clorofila *in situ*) y a los seis meses de edad del cultivo, tanto en plantilla como en socas se tomaron muestras de tejido foliar para determinar elementos mayores y menores y se evaluaron el crecimiento y el número de tallos por surco en estaciones de muestreo previamente definidas. Las producciones de caña de las parcelas experimentales se midieron en el total del área de la parcela teniendo en cuenta el peso de los vagones en la báscula del ingenio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biotransformación de los residuos de cosecha de la caña de azúcar

En el primer ensayo se identifico que la vinaza adicionada en una cuarta parte a la mezcla final con el agua y los microorganismos representa una fuente energética para que estos inicien su función y que aquellos que redujeron eficientemente el peso de las pilas fueron los EM y el hongo *Trichoderma* en mas de un 70% de su peso inicial (Figuras 1a y 1b) en un tiempo de cuatro meses, lo que normalmente tomaría de 6 a 8 meses sin inocular el residuo. Esto se corroboró con el análisis de la actividad celulolítica que determina que valores cercanos o mayores a 100 unidades celulolíticas por minuto por litro representan una alta actividad en el consumo de celulosa como se observó en los EM y el *Trichoderma* (cuadro 1)

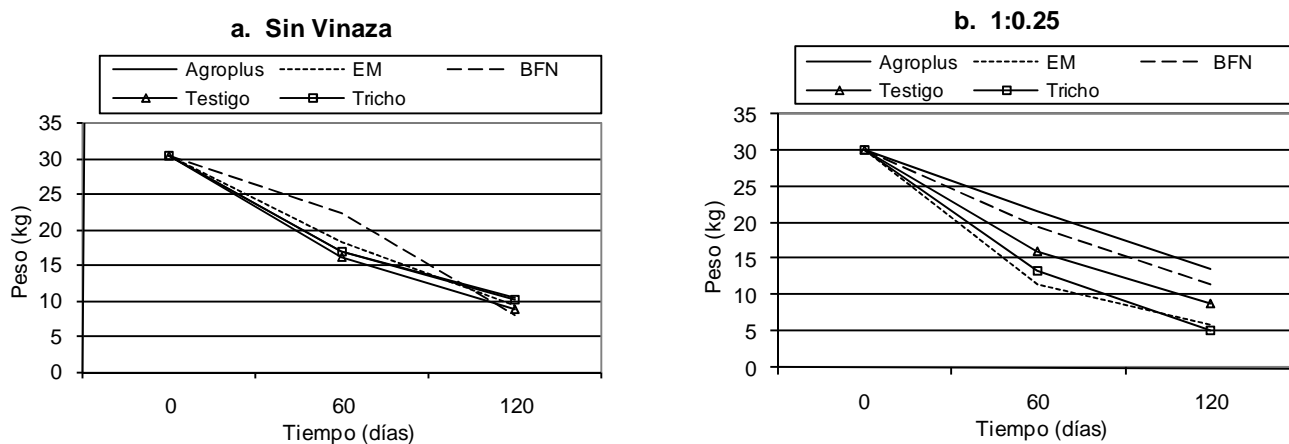


Figura 1. Disminución del peso de pila de residuos de una cosecha en verde en la variedad CC 85-92 (soca 1), obtenidas con diferentes complejos microbianos y relaciones, residuo – vinaza. Ste 50-Hda. Judea-Villegas

Cuadro 1. Determinación de la actividad celulolítica cuantitativa de los productos comerciales

PRODUCTO	Abs. 540 nm DNS	AZUCARES RED.(g/L)	UC/30min/L	UC/1min/L
Trichoderma	0.237	0.520	2888.88	96.29
EM	0.387	0.846	4700	156.66

En cuanto al grado de transformación de los residuos, los resultados mostraron diferencias significativas ($Pr > f = 0,04$) en el valor de la relación C/N entre tratamientos de residuos inoculados ($C/N = 34$) con respecto al testigo sin inocular ($C/N = 41,6$); los valores menores a 35 sugieren un efecto positivo de los EM en mezcla con otros microorganismos sobre la biotransformación de los residuos de cosecha alcanzada en un lapso de tres meses (Figura 2).

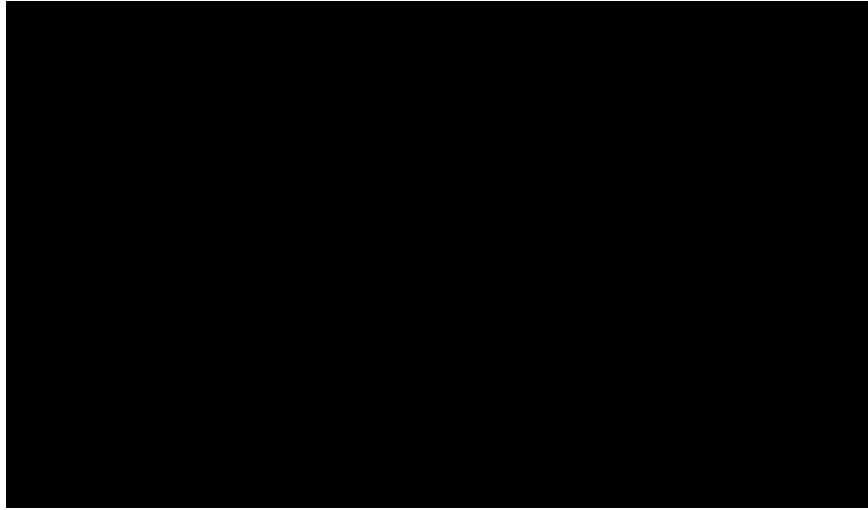


Figura 2. Variación de la C/N en residuo de caña quemada inoculado con diferentes biotransformadores en mezcla con EM

Fijación biológica de nitrógeno atmosférico:

En cuanto a la fijación biológica de nitrógeno se encontró que con la mezcla Eco 2 que contiene EM y bacterias diazotróficas se puede sustituir entre el 30 y el 50% del nitrógeno mineral aplicado convencionalmente como lo mencionan los estudios de Toledo (1997) y Pérez y otros (1999), sin disminuir significativamente la producción total (Figura 3) y manteniendo el índice de producción por ha-mes (cuadro 2).

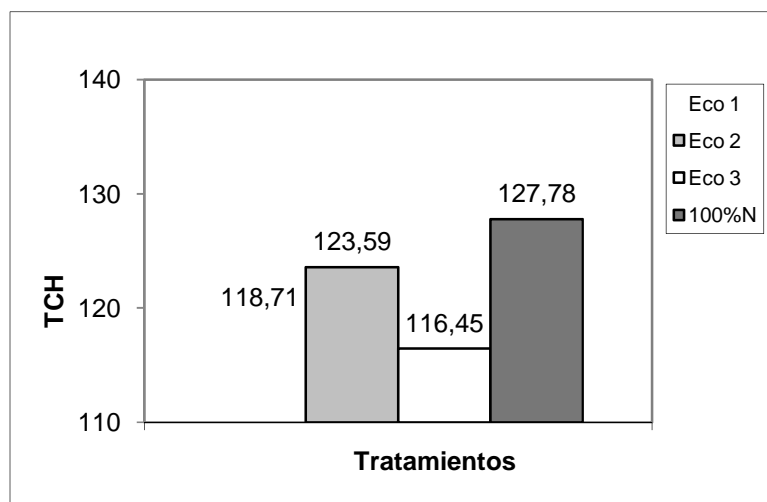
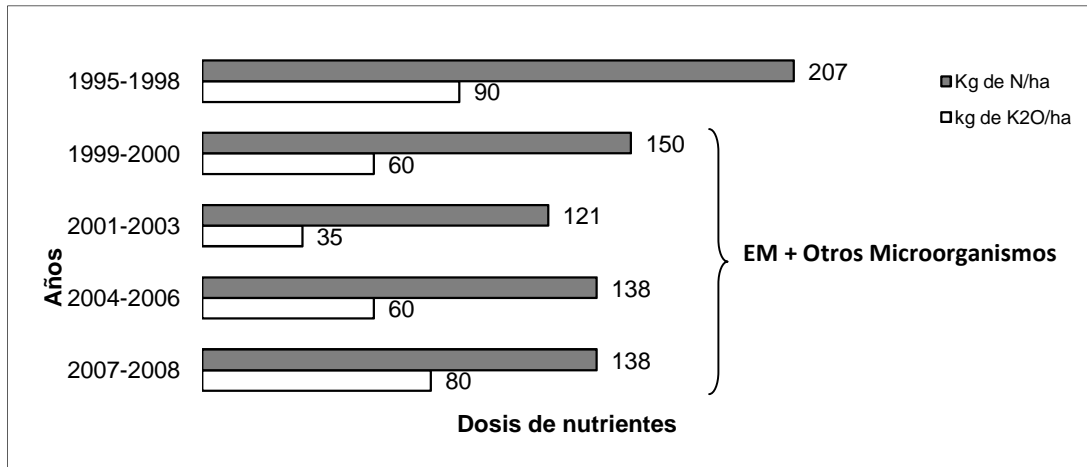


Figura 3. Variación de la producción por fijación de N como efecto de diferentes mezclas de EM y bacterias diazotróficas en el cultivo de Caña de Azúcar

Cuadro 2. Variación de la producción por hectárea mes por fijación de Nitrógeno como efecto de diferentes mezclas de los EM y bacterias diazotróficas en el cultivo de Caña de Azúcar

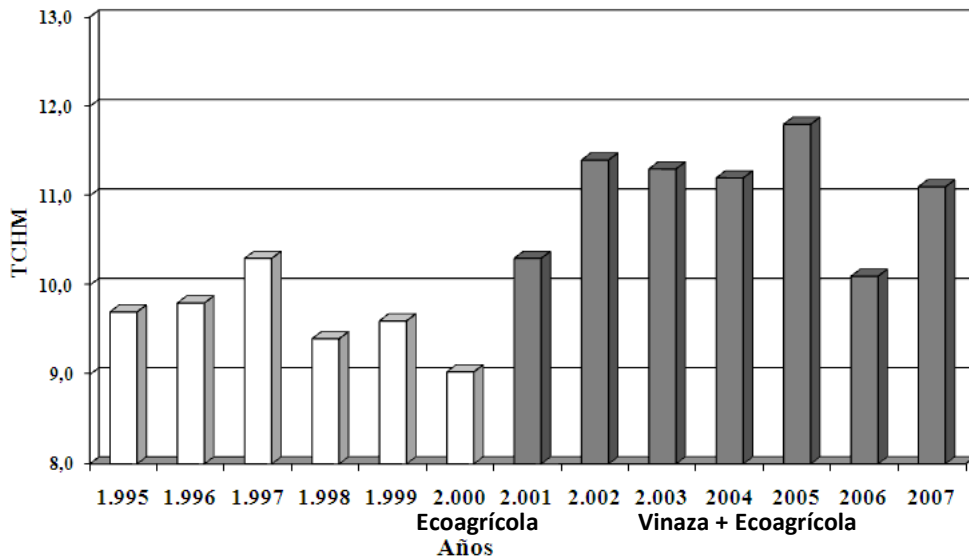
Tratamiento	% N a sustituir	N a aplicar (kg ha ⁻¹)	TCH	TCHM	grupo
Eco 1	50	75	118,71	9,13	A
Eco 2	50	75	123,59	9,51	B
Eco 3	50	75	116,45	8,96	A
100%N	0	150	127,78	9,83	B

De otro lado, en cuanto al efecto de los EM en la nutrición del cultivo de caña cuando este se ha usado en mezcla con fijadores de nitrógeno y biotransformadores de materia orgánica a nivel comercial, se han obtenido resultados promisorios que han determinado la disminución paulatina de los fertilizantes sintéticos nitrogenados teniendo el cuidado de no desmejorar la producción en el área total de la hacienda desde el año 2000 (Figuras 4 y 5). Adicionalmente con el uso de la vinaza concentrada como un abono orgánico potásico se han disminuido costos en fertilización en un 25% al reemplazar totalmente el KCl con la ventaja que por cada tonelada aplicada de vinaza concentrada se esta aportando 10 kg de nitrógeno disponible para la planta.



EM + Otros Microorganismos benéficos = Ecoagrícola

Figura 4. Disminución de las dosis de nutrientes minerales con el uso de los EM en la Hda. La Judea



EM + Microorganismos benéficos = Ecoagrícola

Figura 5. PRODUCCION COSECHA DE CAÑA POR HA/ MES DE 1995 AL 2007

CONCLUSIONES

1. Los EM actúan como potencializadores de otros microorganismos biotransformadores de materia orgánica como el *Trichoderma* haciendo su actividad más eficiente al aumentar su capacidad para biotransformar la celulosa de los residuos de cosecha y disminuir el tiempo de permanencia de estos residuos en campo en un 50%.
2. Los EM pueden ser usados en mezcla con bacterias diazotróficas para incrementar en estas últimas el potencial de fijación de nitrógeno y así suplir el 30 % el nitrógeno sintético convencionalmente utilizado en el cultivo de caña de azúcar manteniendo la producción a niveles económicamente rentables.
3. Aunque no se realizó un análisis fitosanitario en general del cultivo, luego de 10 años de estar aplicando constantemente los EM y otro microorganismos benéficos, no existe presencia de roya o carbón en el área total la hacienda La Judea (700 has) y cabe anotar que presenta los niveles más bajos de diatrea de todo el Valle del Cauca.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, I. G.** 1985. Nitrogen fixation by bacteria in sugarcane. En: South African Sugar Journal. V. 69 No. 12, december, 450 p.
- ARÉVALO, L. F.** 2002. Degradación de residuos de cosecha de caña de azúcar. CENICANA. Florida. 52 p.
- ARZOLA PINA, N.** 2000. Empleo de fuentes alternativas de nutrientes en caña de azúcar. ATAC. Revista de la Asociación de Técnicos Azucareros de Cuba v.61 no.1, p.5-7. Ene.-Jun.
- BONILLA, C. R.** 1996. Notas Preliminares sobre Biología del Suelo. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 73 p.
- BRAVO, I.; GIRALDO, E. Y GARCÉS, P.** 2001. Biotransformación de algunos residuos agroindustriales y evaluación de su proceso de humificación. En: Boletín UCAUCA No. 10, p. 6.
- COLOZZI-FILHO, A.** 1996. Aplicação ao solo de residuo da fermentação glutâmica e seu efeito sobre alguns componentes da comunidade microbiana e sua atividade. Depto de solos, Piracicaba. Sao Paulo. 5 p.
- DOBEREINER, J.** 1994. New nitrogen fixing-bacteria in association with non-legumes. En: Agrokemia es Talajtan (Hungria). V. 39 No. 3-4, p 293-300.

- GLORIA, N.A.** 1975. Utilização agrícola da vinhaça. En: Brasil açucareiro. No. 5, p 397-403.
- HSIE, M C., YEE, W . F., WANG, L. H., SANG, S. L.** 1984. The efficient Etahnol Fermentation of Acid Hydrolyzate from Hemicellulose.Extrated Bagasse. En: ASPAC, Boletín Técnico No. 85, pág 2-11.
- KORDÖRFER, G. H. y MARTINS, M.** 1992. Importancia da adubação na qualidade da cana-de-açucar. Tecnología pesquisa. En: STAB. V. 10:3; p 26-31.
- MACALINTAL, E. M.** 1992. Effect of *Azospirillum*-inoculated seed pieces and rateo f nitrogen application on yield of sugarcane. En: Proceedings of the Philippine Sugar Technologists Association, p 156-162.
- MENEZES, T. J. B.** 1980. Etanol o combustível do Brasil. Sao Paulo. Ceres. Cap. 5. p 187-201.
- NEVES, M. C., LIMA, I. T. y DOBEREINER, J.** 1983. Efeito da vinaça sobre a micoflora do solo. En: Revista brasileira de ciencia do solo. No. 7. p 131-136.
- PENATTI, P.C. et al.** 1988. Efeitos da aplicação de vinhaça e nitrogenio na soqueira da cana de açúcar. En: Boletín Técnico Copersucar. No. 44, p 32-38.
- PEREZ, E. H.** 1997. Operación de una planta piloto para tratamiento anaeróbico de vinazas. Universidad del Cauca. Popayán. p 39-46.
- PEREZ, O. et al.** 1999. Potencial de fijación biológica de nitrógeno en variedades de caña de azúcar en Guatemala. Guatemala. CENGICAÑA – CONCYT. 19 p.
- PURCHASE, B.S.** 1980. Nitrogen fixation associated with sugarcane. Proceedings of the South African Sugar Technologists Association. No. 54, p 173-176.
- QUINTERO, R.** 1999. Extracción de Nutrimientos por la caña de azúcar. En: Carta Trimetral Año 21. Cali, Colombia. p 4-8.
- QUINTERO, D. R.** 2003. Resultados preliminares y proyecciones acerca del uso de la vinaza en Colombia. CENICAÑA. 9 P. (Documento de trabajo).
- RODELLA, A.A.; PARAZZI, C. y CARDOSO, A.C.** 1981. Composição da vinhaça. Brasil açucareiro, Rio de Janeiro. Vol. 97:1, p 24-26.
- TOLEDO, R.** 1997. Fijación biológica de nitrógeno en caña de azúcar. Consorcio azucarero CAZE. Veracruz, México. 11 p.