

**Monografía.**

**Título: Métodos y formas de manejo de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento vegetal en el cultivo de la Caña de Azúcar ( *Saccharum officinarum*).**

**Autora: M.c.S Doris Torriente Díaz.**

## Índice o Tabla de contenido

	<b>Pg.</b>
1. Introducción.	3
2.1. El nitrógeno en los ecosistemas.	7
2.2. La vida en los suelos. Beneficios.	12
2.3. Importancia de los biofertilizantes.	26
2.4. Métodos y formas de aplicación de Rizobacterias Promotoras del crecimiento vegetal.	27
2.5. La cachaza. Características.	30
2.6. La Turba. Características.	32
2.7. El cultivo de la Caña de Azúcar. Importancia económica.	32
2.8. Biofertilizantes en Caña de Azúcar.	38
3. Conclusiones	41
Bibliografía consultada	42

## 1. INTRODUCCIÓN.

La necesidad de alimentación de la Población Mundial crece vertiginosamente y sin proyecciones concretas por parte de las grandes transnacionales, ni planes específicos para combatir la hambruna existente.

Castro (2000) subrayó que la población mundial se duplica cada 40 años, reporta que existe un aproximado de 3 mil millones de personas que mueren prematuramente por sed y hambre. Este propio autor en el 2007 reflexionó sobre la idea siniestra de convertir los alimentos como maíz, trigo, semillas de girasol y la caña de azúcar en etanol y alertó que está definitivamente establecida como línea económica de la política exterior de los Estados Unidos de América.

Agregó que en el caso del cultivo de la caña de azúcar y su procesamiento para producciones de alcohol requiere transformaciones de variedades tradicionalmente productoras de azúcar a transgénicas, que no es comestible y como no hay medios para evitar la contaminación de cultivos nativos en el campo, se pone en peligro la producción de alimentos de manera natural. Profundiza en el tema destacando que el procesamiento de la caña contamina los suelos y las fuentes de agua potable porque utiliza gran cantidad de productos químicos y que el proceso de destilación del etanol produce vinaza de la cual una parte puede ser utilizada para fertilizantes pero la mayor cantidad contamina ríos y fuentes de agua subterráneas.

Nova (2006) señalaba que la agricultura cañera sembraba caña sobre los mismos suelos, sin un método establecido de rotación de cultivos que favorecieron la compactación de los suelos y como resultado final su empobrecimiento, la elevación de los rendimientos en la década de los 80, se obtuvieron sobre todo por el empleo de altas dosis de fertilizantes químicos y el uso de importantes cantidades de herbicidas. Este elevado grado de quimización trajo consigo la ruptura de los equilibrios en los diferentes sistemas agro ecológicos

Ante el cambio climático que ha afectado a la producción azucarera y a las realidades a las que se enfrentan los países más pobres, se impone cada vez más la necesidad del

empleo de tecnologías sanas y limpias, no contaminantes del medio y que contribuyan a la más importante tarea, mantener la especie humana.

El cultivo de la caña de azúcar está atravesando en el mundo por una caída de los rendimientos agrícolas y Cuba no escapa de estas problemáticas. En el país se han adoptado un grupo de medidas estructurales económicas y sociales dirigida fundamentalmente a la diversificación de sus producciones agrícolas e industriales.

La industria más antigua se encuentra afectada por carencias de la materia prima, ineficiencia productiva, por los altos precios del petróleo y sobre todo por afectaciones climatológicas como la sequía que ha provocado los bajos rendimientos obtenidos actualmente. Carrobello (2005).

Urge por tanto la búsqueda de la sostenibilidad en la producción cañera. Rodríguez *et al.*, (2006) sugiere que para potenciar la agricultura cañera sobre bases sostenibles es necesario materializar e investigar sobre todo el trabajo que se ha llevado a cabo durante muchos años. Desde finales de la década del 1980 se han realizado investigaciones con vista potenciar el desarrollo cañero sobre bases propias que incluye el uso de abonos orgánicos y biofertilizantes, con el fin de aumentar los rendimientos agrícolas, disminuyendo la utilización de grandes cantidades de fertilizantes inorgánicos y mejorar las propiedades físico-químico de los suelos sometidos al monocultivo intensivo.

En el Mundo, en los últimos años se han ido adoptando diferentes medidas y nuevas metodologías de producción agrícola, las cuales permiten contrarrestar las consecuencias ecológicas perjudiciales del uso de prácticas agrícolas modernas.

En países Europeos como Bélgica, Francia, España y Alemania se promueven tecnologías sanas dedicadas al suministro de productos ecológicos que contribuyen a la mejora de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de los suelos. Fernández *et al.*, (2006) y Hernández *et al.*, (2006).

En Cuba existen diferentes estudios que han demostrado la posibilidad del uso de diferentes microorganismos como alternativas biológicas para la nutrición de las

plantas, destacándose entre ellas las bacterias nitro fijadoras y promotoras del crecimiento vegetal, así como hongos micorrízicos arbusculares (HMA), todos estos, considerados como insumos biológicos de enorme potencial en la Agricultura, gracias a los efectos positivos sobre la adaptación y la aplicación eficiente de Rizobacterias y otros microorganismos en la Agricultura dependerá en gran medida de la identificación de las funciones específicas que realizan los mismos dentro de cada agroecosistemas particular y de su integración en la estrategia a seguir en cada cultivo, tipo de suelo, etc.

En la actualidad existen muchas investigaciones que enfatizan la respuesta de los microorganismos al ambiente, pero no logran insertar muchas de estas variantes a las condiciones específicas y concretas de manejo agrotécnico del cultivo en cuestión.

En el cultivo de la caña de azúcar solo los trabajos de Roldós *et al.*, (1994) y Arzola y García (1997) abordan en determinadas condiciones el manejo adecuado de Rizobacterias a las condiciones específicas en que se desarrolla actualmente la agricultura cañera.

Los estudios anteriores se llevaron a cabo en el período 1989 a 1995 y contemplan el desarrollo de investigaciones básicas para la caracterización morfológica y bioquímica de los géneros de bacteria *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter chroococcum* y *Acetobacter diazotrophicus*, estudios de tecnologías de reproducción y su validación como biofertilizantes en determinadas condiciones edafoclimáticas y de manejo agronómico.

Como resultado concluyente de estas investigaciones se obtuvo una cepa muy promisorio de *Azospirillum brasilense* sp 81 de alta capacidad nitro fijadora y otros resultados parciales (Pérez y Casas 2005). Se concluyó además la necesidad de enfocar las investigaciones al conocimiento de la relación asociativa de cultivares de caña de azúcar con los microorganismos en diferentes condiciones específicas, enfatizando en la respuesta de la planta de manera que pudiera hacerse recomendaciones para el manejo agronómico eficiente de las cepa, suelos, etc.

Otras de las problemáticas detectadas en las investigaciones previas, es el alto grado de contaminación del producto en el almacenamiento, conservación y traslado al campo de forma líquida, por lo que se demandan estudios que aporten alternativas para una respuesta satisfactoria de la planta ante las aplicaciones de Rizobacterias en soportes sólidos.

A partir de las consideraciones anteriores, nos proponemos como objetivo

**Estudiar métodos y formas de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en el cultivo de la Caña de Azúcar.**

Para dar cumplimiento a dicho objetivo se enuncian los siguientes objetivos específicos:

1. Valorar el impacto ambiental que ha provocado el uso de los fertilizantes nitrogenados.
2. Destacar el papel que juega la vida en el suelo para el desarrollo de las plantas.
3. Destacar los métodos y formas utilizados para la aplicación de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en diferentes cultivos.

## **2.1. El nitrógeno en el ecosistema.**

El nitrógeno es un compuesto constituyente del 70 % del aire que respiramos, pero solo ciertas bacterias pueden aprovecharlos, fijarlo y transformarlos en compuestos que utilizan otros organismos, según Hernández (2001).

El nitrógeno es uno de los elementos que mas se relaciona con el rendimiento de los cultivos, de ahí su importancia en los agroecosistemas, al respecto autores como Calderón y Cabrera (2004), destacaron la relación entre el contenido de nitrógeno foliar con los rendimientos de diferentes cultivos como la papa a través de un estudio de regresión y correlación, encontraron la importancia de esta relación para determinar el momento óptimo del muestreo foliar.

### **2.1.1. Interacciones del Nitrógeno.**

El nitrógeno puede interactuar con los elementos más esenciales que demandan las plantas, como el fósforo, Milkha y Sukhdey (2005), destacan que esta interacción es una de la más importante de este elemento con el resto de los nutrientes. Que a menudo es sinérgica, ocasionalmente aditiva y en menor caso antagónica. La contribución del sinergismo entre nitrógeno y fósforo en cereales puede ser de 13 a 89% de responsabilidad en los rendimientos. Si un suelo es más deficiente en fósforo que en nitrógeno, las aplicaciones del nitrógeno solo pueden causar severas reducciones de los rendimientos en granos.

Los autores destacan que en los cereales la interacción N-P impactó en los rendimientos en un 79% y que los mismos fueron más altos en los tratamientos N-P que en los del N solo, obtuvieron en suelos deficientes de fósforo que las aplicaciones de N solo producían un pequeño incremento en rendimiento y aunque las aplicaciones N+P son más costosas serán siempre mejores los efectos conjuntos para los cultivos que solos.

Destacan además que las interacciones nitrógeno más potasio son las segundas en

importancia en la producción de los cultivos, que la misma incrementó los rendimientos en arroz y suministró suficientes niveles de nitrógeno y potasio a las plantas.

La relación Nitrógeno potasio es importante a la hora de alcanzar altos rendimientos en los cultivos Aranguren *et al.*, (2004) encontraron que esta relación resultó una variable importante para establecer estatus nutricionales de las plantas, siempre que los valores absolutos de cada elemento se encuentren en un rango óptimo.

### **2.1.2. Impacto ambiental de la aplicación de fertilizantes nitrogenados.**

#### **Perspectivas del uso de prácticas ecológicas.**

La fertilización ha sido y aún sigue siendo la principal enmienda demandada por los productores para el incremento de los rendimientos en los diferentes cultivos, Portieles *et al.*, (2006) estudiaron el efecto de los fertilizantes sobre los rendimientos de Fruta bomba (*Carica papaya L.*) en un suelo Pardo con carbonato de bajo contenido de materia orgánica, alto fósforo, medio potasio y pH alcalino. El tratamiento químico superó al testigo y alcanzó las mayores ganancias, destacándose el efecto del nitrógeno seguido por el potasio y luego el fósforo.



No obstante a los resultados que muestran el uso de los fertilizantes nitrogenados, la degradación de los suelos ya tiene una larga historia producto de la tala, quema, el empleo de monocultivo y el abuso de la fertilidad de los mismos.

Se sabe que la Naturaleza necesita cerca de quinientos años para formar, a partir de los minerales primarios, un centímetro cúbico de suelo, pero se puede perder tres veces esa cantidad en un solo aguacero según Ascanio (2002), explica que la causa primaria hay que buscarla en la pérdida de la biodiversidad que condujo el monocultivo y al uso indiscriminado de fertilizantes químicos, que ha traído como consecuencia otros efectos negativos para los suelos al provocar su acumulación excesiva en los coloides, la muerte biótica, eliminación de la vegetación superficial (efecto herbicida), contaminación de los mantos y la contaminación ambiental.

Pulido (1997) alerta que se viene manifestando una degradación del ambiente por desgracia no contabilizado que incluye muchas áreas de la producción cañera que en Cuba se ha sufrido efectos considerables por la deforestación, la desarborización y la reducción de la capacidad productiva de los suelos como consecuencias de la expansión de los cultivos especialmente la caña de azúcar y el uso de técnicas perjudiciales como la quema de caña.

Torres *et al.*, (2003) destacan que el ciclo global del  $N_2$  se ha visto afectado por el incremento irracional de la fijación de  $N_2$  mediante procesos industriales, es decir, mediante la aplicación de fertilizantes nitrogenados y que su impacto ambiental aun está por calcularse.

Hoy en día los rendimientos agrícolas se encuentran en franco descenso. Para los agro-ecólogos esto es debido a una constante erosión de las bases productivas de la eficiencia de los productos agroquímicos, entre ellos los fertilizantes químicos. Es necesario aplicar dosis mayores de estos productos para lograr iguales rendimientos a los obtenidos en épocas pasadas (Mc Guinness, 1993)

Según Anónimo (2001) el 50 % de los fertilizantes nitrogenados aplicados a los cultivos es aprovechado por las plantas el otro porcentaje es acumulado en el suelo

para ser aprovechado en las próximas cosechas pero una gran parte de este es transformado en  $N_2$  atmosférico mediante los procesos de desnitrificación de los microorganismos y otra gran parte es lixiviado a capas inferiores donde contaminan las aguas subterráneas y el manto freático en forma de nitratos ( $NO_3$ ).

Font *et al.*, (2002), en Cítricos encontraron que las aplicaciones de nitrógeno continuado (dosis de 100kg) provocaron de forma general afectaciones en los indicadores microbiológicos y en los rendimientos, lo que puede estar asociado a una disminución de los microorganismos, pues la calidad de la materia orgánica disminuye con el aumento de dosis de nitrógeno. Concluyeron que la adicción continuada de Nitrógeno, Fósforo y Potasio por más de 10 años provoca cambios en el estado microbiológico del suelo, resultando perjudicial para la microflora, la aplicación de nitrógeno de 100kg y beneficiosa la adicción de fósforo y potasio hasta 150 y 120 kg /ha/años respectivamente, existiendo una correspondencia entre la actividad respiratoria, celulolítica, nitrificadora y los rendimientos obtenidos, lo que evidencia que estos indicadores sirven para evaluar la futura productividad de los suelos.

### **2.1.3 Perspectivas del uso de las prácticas ecológica.**

Las prácticas agroecológicas aún en el mundo no tienen la aceptación que se debe de acuerdo a los beneficios que reporta a largo plazo al respecto May Ling Chang, (2006) especialista China destaca que en su país existen algunos proyectos bajo el término de eco-agricultura en escala insignificante y paralelamente a esto, crece a escala agresiva en la producción, el uso y la comercialización de plaguicidas para el consumo interno y la exportación internacional. Irónicamente, el corriente desarrollo hacia la agricultura orgánica ha sido impulsado por la alta rentabilidad a corto plazo de la exportación de productos orgánicos en el mercado internacional; y no proviene de una comprensión o conocimiento del sistema de la agricultura ecológica que podría llevarles a seres humanos y a la naturaleza beneficios de largo plazo.

Nuestro país a pesar de los esfuerzos que realiza por disminuir los impactos ambientales no ha podido eliminar de nuestros ecosistemas, problemáticas que

conducen al deterioro del medio al respecto (Funes, 2006) señala que Cuba, no escapa a algunos de estos problemas, pues confrontamos dificultades de desertificación, salinidad, procesos de degradación de la cubierta vegetal, erosión, suelos con baja fertilidad e insuficiente contenido de materia orgánica y otros. Estas dificultades, en parte, han sido ocasionadas por factores climáticos, por las restricciones impuestas por el bloqueo económico que sufre nuestro país hace casi cinco décadas y por otra parte por factores antrópicos, por el empleo de técnicas y estrategias inadecuadas.

Ascanio (2002) atestigua que sólo alrededor del 23,2% del total de los suelos agrícolas del país clasifican como productivos o muy productivos, mientras que el 76,8% restante es calificado de poco productivos o muy poco productivos

Entre los avances Funes (2006) menciona: métodos de conservación y manejo de suelos, nutrición orgánica, recuperación de tracción animal, empleo de fuentes alternativas de energía (eólica, bioenergía, solar), policultivos, manejo ecológico de plagas, agricultura urbana, entre otros. En la mayoría de estos renglones se muestran capacidad competitiva con los convencionales tanto desde los puntos de vista productivo, biológico, económico, energético y ambiental, lo cual promete un futuro alentador si somos capaces de aplicarlos paulatinamente, de manera que los productores los apliquen por convencimiento y no por indicaciones tipo “paquete tecnológico”.

Mae- Wan –Ho, (2006) informa que la experiencia Cubana brinda aportes y muestra la posibilidad real de incluir estos tipos de producción en la Agricultura. Se decidió mantener un tercio de los 11 millones de hectáreas para la agricultura con agroquímicos, otro tercio con agricultura enteramente ecológica, y en el resto emplearon una técnica de transición, mitad con agroquímicos y mitad ecológica. La producción por hectárea de la tierra totalmente ecológica es igual a la cultivada con uso de agroquímicos, mientras que la producción de los campos de transición es sólo la mitad. Esta es la evidencia más clara de que la agricultura ecológica puede funcionar a gran escala.

La Agricultura Orgánica en Cuba aún es incipiente, no obstante se ha obtenido diferentes producciones, como los reportados por (Rodríguez, 2002), el cual destaca que en ese año en el Café se produjo 104 ton y se exportó 72, en Cacao 150 y todas fueron exportadas, en miel de abejas se produjeron 728 ton y de ellas se exportaron 36, de cítricos se produjo 1969 t y todas se exportaron y de azúcar se produjeron 2395 t.

En cuanto a la producción de azúcar orgánica se han venido desarrollando algunas experiencias y se han producido en el Complejo Agroindustrial Azucarero (CAI) Carlos Baliño de Villa Clara, que por primera vez produjo a escala comercial unas 4 651 toneladas en el año 2002. En próximas zafra están previstas, una producción superior a las 6 000 toneladas de azúcar y unas 2 toneladas de miel. Rodríguez, (2002)

## **2.2. La vida en el suelo. Beneficios.**

El suelo es un sistema viviente donde se desarrolla la fauna, microfauna y una vida invisible no perceptible a simple vista, pero que desempeñan un papel fundamental en la evolución y desarrollo edafológico. Las propiedades del terreno dependen en gran parte del correcto mantenimiento de sus ciclos biológicos. Su complejidad es notable, y difícil de estudiar debido a la escala de trabajo y a la multitud de aspectos parciales que se debe tener presente en la vida de los suelos que los hace complejo y difícil. Anonimo (2006).

Calero, (1999) informó que los aspectos biológicos han ocupado segundos planos a la hora de estudiar los suelos y se lo atribuye al hecho a la complejidad e interpretación de sus estudios.

Font *et al.*, (2006), estudiaron el impacto ambiental provocado en los suelos teniendo en cuenta el uso de los indicadores microbiológicos con los físicos y químicos. Este estudio permitió diagnosticar con gran efectividad, cambios en la fertilidad del suelo, el desequilibrio en los agroecosistemas y ha condicionado el manejo inadecuado del mismo. Resultados similares obtuvieron Morales *et al.*, (2006) los cuales estudiaron

los indicadores microbiológicos como medidores de la degradación de los suelos ganaderos.

Haciendo una valoración sobre que propiedades son afectadas por el cambio y uso de las tierras Morell y Hernández (2006) realizaron una caracterización agrobiológica en los suelos Ferralíticos rojos y de los cambios que ocurren en las propiedades de los mismos, demostraron que existe una estrecha relación en el estado de conservación de los suelos con su estado estructural, así como, con la diversidad biológica presente, disminuyendo progresivamente estos valores hacia los suelos más degradados producto de la influencia antrópica.

La fauna edáfica sobre todo la macrofauna desempeña un rol importante en la conservación y mantenimiento de la fertilidad de los suelos, Sánchez *et al.*, (2006) estudiaron la presencia de organismos en diferentes condiciones. Al analizar los resultados obtenidos en cuanto a la densidad de individuos encontraron que existe una mayor colonización de organismos en los suelos Pardos Grisáceos que en otros, por las características de retención de humedad que presentan estos y concluyeron que la presencia de diferentes especies vegetales en un sistema desempeña un importante rol en la activación de la fauna.

Partiendo de la importancia que adquieren cada vez más el uso adecuado de los suelos, Crespo *et al.*, (2006) a partir de diferentes indicadores como materia orgánica, nitrógeno total, fósforo asimilable, calcio, pH, resistencia a la penetración, hojarasca, infiltración y actividad biológica, proponen una metodología que permite estimar el estado en general de la fertilidad del suelo. Esta constituye una herramienta útil de trabajo para seleccionar técnicas sostenibles para el mejoramiento de los indicadores menos favorable.

La Sociedad Americana de las Ciencias del Suelo sostiene que la calidad del suelo puede ser conceptualizada a través de funciones y balances que requieren la integración de tres componentes principales, productividad biológica, calidad ambiental y salud animal y/o vegetal, al respecto, Quiroga *et al.*, (2006) a través del Análisis de Componentes Principales evaluaron la incidencia de parámetros bioquímicos y microbiológicos como indicadores de la calidad del suelo y

encontraron que la materia orgánica determinó el 80 % de la variación en los suelos estudiados, resultando la beta-glucosidasa un mejor indicador del cambio que el carbono orgánico total. De las propiedades del suelo concluyeron que las edáficas eran las más apropiadas para evaluar la calidad, dentro de ellas la materia orgánica, la susceptibilidad a la compactación, la estabilidad estructural en húmedo, contenido de agua niveles y relación de cationes y fósforo son las que mayor influencia mostraron. Destacaron además que el bajo contenido de fósforo condiciona una baja eficiencia en el uso de nitrógeno, tanto el aportado por la fertilización como el proveniente de la mineralización de la materia orgánica.

### **2.2.1 Fijación biológica del nitrógeno.**

La fijación del nitrógeno es una facultad reservada a unos cuantos géneros de bacterias. Brill, (1997), destaca que ningún organismo superior ha desarrollado esta capacidad a pesar que algunos participan indirectamente a través del establecimiento de asociaciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno. La aparición de nuevas técnicas como los métodos de Kjeldahl, las del N<sub>15</sub> y la reducción del acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), han permitido identificar un creciente número de especies y de sistemas que fijan nitrógeno.

La fijación libre aporta mayor cantidad de nitrógeno (200 a 250T/nitrógeno fijadas al año, ya que la simbiótica aunque sea más alta es solo una facultad de determinados microorganismos. (Olivares, 2006).

Los procesos de fijación del N<sub>2</sub> atmosférico, puede lograrse mediante métodos químicos y métodos biológicos. Mayea *et al.*, (1998) señala que los primeros se basan en descargas eléctricas, donde se forma óxido nítrico el cual al reaccionar con el agua de lluvia origina ácido nítrico. Este ácido reacciona con el amoníaco (NH<sub>3</sub>) del aire para producir nitrato de amonio (NO<sub>3</sub>NH<sub>4</sub>) y de esta forma mediante las precipitaciones llega al suelo una modesta cantidad de nitrógeno. Se estima que este proceso puede fijar alrededor de 10 millones de toneladas métricas de N<sub>2</sub> por año (Anónimo, 2001).

El incremento de nitrógeno proveniente de la Fijación Biológica es la vía más promisoría de suministrar cantidades significativas de este elemento a los sistemas agrícolas sin contaminación de l medio y mejorando por tanto sus sostenibilidad (Gómez, 2004).

Cuando los microorganismos llegan al suelo comienzan un proceso de descomposición según explicó Sánchez (2006) se fijan alrededor de las raíces de las plantas, y comienzan a biodegradar todo lo que se encuentra a su alrededor, lo que aumenta los nutrientes del suelo que alimentarán las plantas. Cuando se dice que los suelos son pobres es porque tienen muy pocos microorganismos y no hay descomposición de la materia orgánica.

Torres *et al*, (2003) destacan el efecto de los biofertilizantes a base de Rhizobium en frijol, encontró que la baja disponibilidad del fósforo reduce la fijación del nitrógeno para el caso de la simbiosis por el efecto específico en la iniciación y crecimiento del nódulo y la actividad de la nitrogenasa. La disponibilidad del fósforo es un factor limitante en el proceso de simbiosis leguminosas Rhizobium debido al alto consumo de ATP de las reacciones enzimáticas, el requerimiento de este elemento se hace evidente en la medida que el cultivo comienza a disminuir su rendimiento y que a su vez no cuenta con el aporte necesario del nutriente.

Los microorganismos pueden verse afectados por diferentes factores Anónimo (2006) mencionan el Ph, la fertilidad, la disponibilidad y el contenido de materia orgánica, el contenido de residuos, la temperatura, la porosidad del suelo, la variedad de cultivo, etc. En general todas las prácticas de manejo como la quema, la exposición del suelo al sol, el uso de fertilizantes amoniacales etc, y cuando se ven afectados la vida microbiana del suelo se ven afectados también la salud de las plantas.

Existe una variante de fijación de nitrógeno a través de las bacterias endófitas que posee ventajas sobre la realizada por las bacterias rizosfericas, Muñoz y Caballero (2006) han sugerido que el interior de las plantas es un ambiente propicio para que se lleve a cabo la fijación biológica de nitrógeno (FBN), ya que este ambiente es bajo

en oxígeno y relativamente alto en fuentes de carbono, por lo que las bacterias diazótroficas endófitas podrían fijar el nitrógeno y liberarlo directamente en el interior de las plantas contribuyendo con una parte de los requerimientos nitrogenados de la planta hospedera.

Hernández, *et al.*, (2000) al estudiar las bacterias endófitas y sus beneficios, destaca que con cepas nativas aumenta la factibilidad biológica de los productos que son elaborados a partir de ellas para fines agrícolas.

*Gluconacetobacter diazotrophicus*, como modelo de bacteria endófitas se encuentra en diferentes cultivos pero su estudio se ha profundizado en el cultivo de la caña de azúcar. (Rojas y Mellado (2006)

Las relaciones endófitas que involucran a la interacción planta – microorganismos alcanzan mayor valor actualmente en el mundo, al respecto Dibut *et al.*, (2006), destacan que en los años 1999 a 2004 se ejecutaron investigaciones con el objetivo de obtener un biopreparado a partir del endófito *G. diazotrophicus* capaz de estimular el crecimiento y el rendimiento en cultivos caracterizados por su alto contenido de azúcares como boniato, yuca, malanga, papa y fruta bomba. Ellos encontraron al aplicar la bacteria, un acortamiento del ciclo de los cultivos entre 7 – 10 días, incremento entre 18- 51% de los diferentes indicadores de crecimiento y desarrollo del cultivo, el rendimiento como promedio aumentó entre 3 - 5 t/ha en relación a los cultivos no bacterizados con la obtención de frutos, raíces y tubérculos de mayor largo, peso y diámetro. Explican además el impacto económico obtenido por una relación costo beneficio de 43:1.

Ávila *et al.*, (2006), destacan a su vez que su inoculación es beneficiosa, según el genotipo de la cepa de caña y la variedad que se utilice pues no siempre resulta persistente.

En caña de azúcar se encontró que no solo tiene la capacidad de fijar nitrógeno sino además produce sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, sustancias antagónicas y solubilizadoras de fosfatos, que posee la capacidad de producir sideróforos lo cual pudiera ser de interés para el biocontrol de enfermedades. (Rojas *et al.*, 2006 y Torriente, 2006)



Fernández *et al.*, (2004) aislaron del interior de la variedad ML. 3-18 de caña de azúcar un microorganismo fijador de nitrógeno perteneciente al género *Pantoea* y clasificado como *Pantoea* sp.

A través de estudios conjuntos de Alemania y Cuba se ha indagado sobre la interacción del microorganismo *Pantoea* sp con la planta de caña de azúcar de la variedad Ja. 60-5, se muestra que la variación de la concentración de azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa en plantas inoculadas lo cual constituye un elemento a tener en cuenta en las aplicaciones de esta bacteria como biofertilizante. (Fernández *et al.*, 2006).

### **2.2.2. Mecanismo de fijación.**

La teoría de la fijación biológica se originó a consecuencia del descubrimiento realizado por Berthelot en 1882 según (Bonner y Galston, 1972) de que cuando los suelos e mantienen bajo condiciones favorables de humedad y temperatura, puede tener lugar un aumento del total de combinaciones nitrogenadas del mismo.

La reducción del ~~oxígeno~~ oxígeno molecular  $\text{N}_2$  por las bacterias involucra al complejo nitrogenasa, el cual consiste según (Michiels *et al.*, 1989) en una Fe- Mo proteína (componente II) y una Fe-proteína (componente I) similar que cataliza la siguiente reacción  $\text{N}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- + 6\text{ATP} \rightarrow 2\text{NH}_3 + 16\text{ATP} + 16\text{Pi} + \text{H}_2$

La enzima es rápidamente inactivada en presencia de oxígeno, por lo que la fijación biológica ocurre abajas concentraciones de oxígeno disuelto.

Los microorganismos que asimilan nitrógeno tienen la capacidad de usar distintas fuentes nitrogenadas. En realidad las sales de amonio son usadas preferentemente y frecuentemente en una proporción más grande que el nitrógeno molecular, por lo que la presencia de amonio inhibe la fijación, es decir que las bacterias utilizan más fácilmente las sales de nitrógeno que el atmosférico. El hecho que el amonio sea generado en el organismo a partir del nitrógeno y sea al mismo tiempo un inhibidor de la síntesis de las nitrogenasa significa que el amonio debe ser convertido rápidamente en compuesto orgánico nitrogenado o extraído del sitio intracelular del metabolismo de nitrógeno, además el amonio aportado por la fijación de algunas

bacterias inhiben realmente la nitrogenasa activa presente aún en las células (Martín 1986).

### **2.2.3 Factores que influyen en la fijación de nitrógeno.**

Son diversos los factores que influyen en la fijación del nitrógeno Ruiz, (2005) refiere que la cantidad de nitrógeno fijado anualmente por los sistemas simbióticos dependen de la planta hospedera, del microorganismo simbiótico y de las condiciones ambientales presentes como la disponibilidad de nutrientes orgánicos e inorgánicos, la humedad del suelo, la aireación, la temperatura y el pH de los suelos. Destaca como relevantes para el crecimiento de las bacterias, el suministro de carbono, la humedad y la aireación, pues se debe tener acceso a abundantes suministros de carbono para el crecimiento y la producción de energía (aproximadamente una molécula de nitrógeno requiere 16 moléculas de ATP) por lo que los organismos deben tener abundantes cantidades de sustrato. Ejemplo el *Azotobacter* fija de 10 a 15 mg de Nitrógeno/gramo de sustrato de carbono consumido.

Martínez Viera (2005), que la fijación depende de un grupo de factores como la asociación que se establezca entre planta y microorganismo, la disponibilidad de elementos en el suelo y de los factores ambientales.

El tipo de suelo y sus condiciones es otro de los factores que más influye en la fijación de nitrógeno. Steel (1992) destaca que el suelo debe manipularse en su conjunto es decir el sistema planta-suelo-bacteria y dentro de ellos cita a la temperatura y a la humedad pues ellas limitan la población de las especies más susceptibles y el exceso de agua limita la actividad simbiótica y la fijación debido a un suministro reducido de oxígeno, al igual que las disminuciones de agua inhibe la respiración. La multiplicación de las bacterias se ven favorecidas por la humedad pero no por la inundación. Períodos alternos de inundación y sequía tienen un efecto positivo sobre la población de las bacterias. Continúa mas adelante informando que el pH del suelo cuando es bajo no hay fijación de nitrógeno o muy escasa pues afecta supervivencia de las bacterias en el suelo, infección de la raíz, el inicio de la nodulación, la eficacia de la simbiosis y la nutrición de las plantas hospederas.

Los factores que más influyen en la nitrificación son los ambientales según Fernández (1999), destaca que a las características físicas y química del hábitat y menciona dentro de ellas a la presencia de nitrógeno asimilable, es decir la capacidad de utilizar indistintamente amonio o nitrato u otras formas combinadas de nitrógeno, la necesidad de nutrientes para la reacción de fijación, la disponibilidad de fuentes de energía y fuentes asimilables de carbono en el suelo, el nivel de acidez, la humedad y temperatura del suelo.

Las principales fuentes de energía en los suelos son la hemicelulosa, celulosa y la lignina y estas no son directamente utilizables por las bacterias nitrificadoras pues deben contar con microorganismos que desintegren previamente. En condiciones naturales los suministros de estas sustancias vienen dado por los residuos de los vegetales como la paja es una fuente proveedora de material carbonado, por lo que la caña de azúcar es una planta favorable a la fijación del nitrógeno porque en ella se encuentra una fuente importante de energía para el desarrollo de las bacterias nitrificadoras como resultado de la descomposición de los residuos de cosecha. (De León, 1997)

#### **2.2.4 Principales microorganismos beneficiarios del desarrollo de los cultivos.**

Se conocen varios microorganismos fijadores de Nitrógeno de vida libre como Azospirillum y Azotobacter. Martínez Viera (2005), destaca que en los últimos años se ha descubierto nuevos organismos de importancia potencial para cultivos de gran valor económico como la caña de azúcar, pero por ser tan reciente su descubrimiento aún es necesario realizar estudios profundos antes de ser aplicados a grandes escalas.

Medina (2006), señala que en las condiciones de Cuba, varios colectivos de investigadores han estudiado diferentes géneros y especies de bacterias y hongos nativos del suelo que presentan efectos muy ventajosos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Esto ha conducido a la obtención de diferentes productos biofertilizantes que han sido evaluados exitosamente, bajo diversas condiciones edafoclimáticas. El análisis de los principales procesos fisiológicos y bioquímicos

involucrados en los mecanismos de acción de los biofertilizantes demuestra el carácter sostenible de los mismos en comparación con las prácticas tradicionales de suministro de nutrientes a las plantas.

#### **2.2.4.1 El Genero Azospirillum. Características fundamentales.**

El género Azospirillum es uno de los más estudiados en cuanto a fijación biológica del nitrógeno se refiere, se ha destacado por incrementar los rendimientos en diferentes cultivos de interés económico. Bashan y Holguin (2002), Ballea *et al.*, (2002), Coiné *et al.*, (2002) y Alvarez, 2006.

Fue descubierto desde los años 1925, cuando Martines Willem Beijerinck describió una nueva especie de bacteria asilada a partir de un suelo holandés, a la que primeramente denominó Azotobacter spirillum y que posteriormente denominó Spirillum lipoferum. En 1978, después de sucesivos aislamientos de esta bacteria se sugirió que se agruparan en un nuevo género al que se denominó Azospirillum. (Mazorra, 2004).

Se conoce cinco especies del género A. lipoferum, brasilense, amazonense, halopraeferans, irakense. Algunos autores basándose en estudios moleculares, proponen transferir al género la subespecie largomobilis nombrando una sexta especie largomobilis (Ben Delhie *et al.*, 1997). Recientemente en honor a quien ha dedicado gran parte de su vida al estudio de este género bacteriano, se ha propuesto la especie candidata A. dobereineriae, según Eckert (2001).

Este género según Pazos (2000) posee una gran distribución geográfica, se describe como Gram Negativa, la morfología de las células depende de las condiciones de nutricionales.

Saura y Fernández, (2003) destacan que los beneficios de su uso ha sido ampliamente estudiados en Cuba, en Maíz por Mascar y Carcaño, (1994) y en tomate por Medina, (1994).

Este género no tiene gran capacidad para fijar nitrógeno como hacen otros pero se ha propuestos otros modos de acción como la producción de metabolitos en la

planta tales como Ácido Indol Acético (AIA), giberelinas y citoquininas todas estas sustancias importantes para el desarrollo de las plantas pues incrementan su velocidad de crecimiento en las raíces así como la transmisión de señales que le permiten, a la bacteria alterar el metabolismo de la planta. (Villar *et al.*, 2005).

Existen varios autores que le atribuyen menor significación agronómica a este microorganismo por la fijación del nitrógeno (Fallik y Okón, 1994) y (Okón y Lavandera, 1994).

#### **2.2.4.2 Interacción Planta- bacteria**

Dentro de la relación planta-bacteria juega un papel fundamental los microorganismos, los mismos ocupan dentro del suelo 0.05% y pesan alrededor de 1.6 t/ha que representa cerca de 3000 t de tierra agrícola, según Chistenase *et al.*, (2005).

Son una gran cantidad de ellos en el suelo que lógicamente no pueden ser percibidos a simple vista. De 30 minutos a 2 horas se forma una nueva generación de ellos, por lo que en un día pueden nacer de 12 a 48 generaciones, según los propios autores.

Se plantean que a altas temperaturas 25 a 30°C, en un medio rico en minerales y materia orgánica y con humedad suficiente, se multiplican con rapidez. Están formados por una única célula, no tienen boca, ni intestinos y todo lo que ingieren pasa a través de la pared citoplasmática.

La interacción de la planta con los microorganismos es uno de los aspectos más importante para el éxito de la asociación entre ellos, la fijación biológica o el aporte de sustancias promotoras del crecimiento vegetal esta en dependencia de la asociación simbiótica o no del cultivo y del organismo de que se trate.

Son muchos los autores que refieren los beneficios de la bacterización en las plantas inoculadas, Velasco y Castro (1999) concluyó que como resultado de este efecto encontró aumentos en el peso seco total, contenido de nitrógeno de las hojas,

granos y brotes, incrementos en la floración y aparición temprana de la espiga y en el porcentaje de germinación en cultivos como el arroz.

Christiansen *et al.*, (2005), sugiere que el medio juega un papel importante en la vida de los microorganismos y mencionan diferentes factores como:

1. Ph: La modificación del Ph puede activar o casi inactiva las enzimas de los microorganismos, este a u vez actúa sobre la disponibilidad o fijación de minerales nutritivos. Los suelos con pH de 5 a 6, la mayoría de los organismos benéficos a los cultivos existen y sus enzimas se activan.

2. Materia orgánica: El abono verde cría bacterias y hongos, pero no contribuye a la estructuración del suelo. Las bacterias necesitan tanto de una fertilización como las plantas de cultivos, porque en ausencia de los nutrientes necesarios, no son capaces de utilizar la materia orgánica como fuente de energía, siendo esta solo utilizada por los hongos.

3. Fertilización: Como la mayoría de las bacterias benéficas a los cultivos dependen de la materia orgánica, la aplicación de nutrientes indispensables para su desarrollo debe ser hecha junto con la materia orgánica. Los microorganismos son microplantas que necesitan tanto de nutrientes minerales como las plantas de cultivo y se perjudican por la falta de ellos.

Dentro de la relación que establecen los microorganismos con la planta juega un papel fundamental este último al respecto estudios realizados por Hernández *et al.*, (2002), en plantas de trigo en suelos Ferralíticos rojos determinaron las bacterias predominantes y la quimioatracción de algunas rizobacterias hacia los exudados radicales y encontraron que el género *Azospirillum* fue el más predominante y el más fuertemente atraído por los exudados radicales a los 14 760 minutos de exposición.

La interacción de la bacteria raíz es una colonización de la rizosfera para los microorganismos mejores adaptados al nicho ecológico. En el *Azospirillum* esta asociación se produce por determinadas características que posee el microorganismo como que son quimiotácticamente atraídos a la rizosfera por las segregaciones de las raíces y presentan un mecanismo altamente versátil que le permite sobrevivir bajo condiciones ampliamente variables, puede adherirse a la superficie de las raíces e incluso penetrar y colonizar los espacios intercelulares en el interior de la misma, algunas cepas de este microorganismo tienen potencial

para producir bacteriocinas e inhibir otros miembros de la microflora y pueden ser diferenciados por los quistes formados en su interior sobreviviendo mejor a condiciones de estrés o presión. (Fernández, 1999).

En la rizosfera existen determinados exudados vegetales que por su naturaleza pueden ser azúcares, aminoácidos, aceites orgánicos, lípidos, vitaminas, proteínas, enzimas, etc, que pudieran constituir atractivos para los microorganismos presentes en ella. Youseet y Chino, (2005) explican que en la rizosfera el potasio y el calcio están más disponibles para las plantas que el resto de los elementos.

No resulta claro aún si el *Azospirillum* penetra a las raíces de sus hospederos por la degradación activa del material de la pared celular, algunos investigadores en estudios con Guinea inoculadas apoyan este modelo de penetración activa (Michiel *et al.*, 1989).

En la caña de azúcar Fernández Vega, (1995) encontró que el *Azospirillum* se ubica en el interior de la raíz, hallaron además al estudiar los niveles de ARA en variedades de caña de azúcar que no todas las cepas del microorganismo alcanzaron los mismos niveles de fijación de nitrógeno, que se destacó la cepa 8I con valores más elevados en la actividad de la nitrogenasa y que al aumentar la concentración de nitrógeno en el suelo se redujo la actividad de dicha enzima

### **2.2.5 El género *Azotobacter*. Características fundamentales.**

Este género comprende bacterias grandes, levaduriformes, aerobias estrictas, no esporógenas y Gram negativos; son mesófilas y su temperatura óptima de desarrollo es de 30 °C. La eficacia media en relación con el N<sub>2</sub> fijado por unidad de azúcar descompuesto es de 5 – 10 g, lo cual se cataloga como bajo. El pH óptimo de crecimiento es de 6 y a niveles inferiores disminuyen las cantidades de N<sub>2</sub> fijado y hasta puede inhibirse su actividad metabólica (Martínez-Viera, 1986 y Mayea *et al.*, 1998).

Según Rodelas (2001), dentro del grupo de los fijadores de vida libre el género *Azotobacter* presenta la capacidad de fijar N<sub>2</sub> atmosférico cuando en el suelo existen

suficientes cantidades de materia orgánica, ya que en suelos poco fértiles no se obtiene efecto agronómico positivo.

La presencia de esta bacteria depende de la disponibilidad de elementos nutritivos en el medio, según Martínez Viera (1986) los contenidos de fósforo y potasio influyen, destacándose más el fósforo cuya presencia puede afectar el crecimiento del cultivo hasta inhibir su desarrollo. Los requerimientos de microelementos son notables, el molibdeno (Mo) es esencial para la mayoría de las cepas de este género, tanto cuando crecen sobre medios libre de nitrógeno como cuando se desarrollan sobre nitratos, aunque las necesidades son mayores en ausencia de nitrógeno combinado.

La aplicación práctica de la inoculación de este diazotrófo ha sido positiva y estudiada por diferentes investigadores (Burdman, 2000, Itzigsohn, 2000 y Rodelas, 2001), observándose notables incrementos en los rendimientos en diferentes cultivos, principalmente en cereales. Estos resultados obtenidos, especialmente con la inoculación de *Azotobacter chroococcum*, no deben atribuirse exclusivamente a la ganancia de N<sub>2</sub> por las plantas, ya que este microorganismo en determinadas condiciones, su efecto beneficioso se debe fundamentalmente a la capacidad de solubilizar fosfatos y sintetizar sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, tales como, vitaminas y hormonas vegetales que intervienen directamente sobre el desarrollo de las planta

Estos microorganismos son capaces de sintetizar sustancias fungistáticas que al inhibir el crecimiento de los hongos patógenos del suelo promueven indirectamente el desarrollo de las plantas, especialmente en las etapas tempranas del cultivo. González y Lluch (1992).

En este Género ha sido muy estudiado su efecto combinado con otros microorganismos, Ríos *et al.*, (2006) evaluaron al *Bacillus megtherium* var. *Phosphaticum* combinado con esta bacteria y concluyeron que la acción conjunta de ellos incrementó los indicadores de crecimiento como la tasa de asimilación neta, la



tasa de absoluta, la tasa de crecimiento relativa, la altura, el área foliar y el número de frutos en las diferentes fenofases del tomate.

### **2.2.6 Micorrizas.**

Muchos autores definen a las Micorrizas como asociaciones que se establecen entre la raíz de las plantas y los hongos, donde ambos miembros se benefician con la misma. Según Molina *et al.*, (2005) en la asociación mutualista que se establece con la micorriza, el hongo coloniza biotróficamente la corteza de la raíz, sin causar daño a la planta, llegando a ser, fisiológica y morfológicamente, parte integrante de dicho órgano. A su vez, la planta hospedera proporciona al hongo simbiote (heterótrofo), compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, y un hábitat ecológico protegido.

Se menciona muchos efectos beneficiosos en los cultivos, por varios autores como Maldonado y Ramírez (1997), Pablos *et al.*, (1997), Castillo *et al.*, (2004), Ortega *et al.*, (2004), Rodríguez *et al.*, (2004), Calderón (2004) y Ruiz *et al.*, (2004). Todos coinciden de alguna manera en que las micorrizas facilitan la nutrición y desarrollo de las plantas a las que se asocia, mejora la tolerancia frente a estrés hídrico y a los agentes patógenos, contribuye a disminuir la erosión de los suelos.

Actualmente se trabaja con el objetivo de aprovechar los beneficios de la micorrización sobre el rendimiento y crecimiento de los cultivos, sobre el mayor aprovechamiento de los nutrientes y el agua, sobre las propiedades de los suelos, así como para definir las nuevas y menores necesidades de fertilizantes en función de la fertilidad y tipos de suelos y los niveles de rendimiento de los cultivos. (Rivera *et al.*, 2006)

### **2.3. Importancia de los biofertilizantes**

Medina (2004) sugiere que esta alternativa es muy promisoría en sistemas agrícolas sustentables para el suministro de nutrientes a los cultivos por su factibilidad técnica y económica es decir procedimiento de aplicación simple y bajos costos de producción.

Son numerosos los beneficios que brindan los microorganismos y sobre todo los fijadores de nitrógeno , diferentes autores reportan que incrementan los rendimientos agrícolas entre un 5-15%, facilitan el desarrollo de la flora microbiana producto de asociaciones benéficas que se establecen entre ellos , disminuyen la predisposición al ataque de plagas y enfermedades , mejoran las condiciones físicas de los suelos, son capaces de garantizar el entre el 20 y 35 % de nitrógeno entre el 35 y 50% de fósforo, etc. Rodríguez *et al.*, (2004) y Dibut *et al.*, (2006) y Hernández *et al.*, (2006)

Los beneficios no son solo biológicos, se han encontrado beneficios económicos, Torres *et al.*, (2006) realizaron una análisis y para producir 1 cab. (13.42ha) de frijol común aplicando Rhizobium y Azotobacter encontraron menor valor con la variante biológica y se redujo en \$12 751.81 en comparación con la variante química.

La mayor importancia de los biofertilizantes vienen dada en que son tecnologías sanas que no contaminan el medio, Montes (1999) sugiere que esta práctica elimina los efectos nocivos de la fertilización nitrogenada en la absorción, asimilación y disponibilidad de diferentes nutrientes como el fósforo, además erradica la contaminación tanto atmosférica como de las aguas subterráneas y el manto freático, siendo este impacto más importante que el económico.

Atendiendo a esta importancia Ferran *et al.*, (2006), informaron que a finales del 2003 el Ministerio de la Agricultura puso en funcionamiento un Programa Emergente, con el objetivo de aumentar las capacidades de producción, maximizando la utilización de las instalaciones existentes tanto artesanales como industriales y de esa forma se beneficiaron varias áreas, después de año y medio de funcionamiento del programa, se beneficiaron un promedio de 100 mil.

La validez de esta práctica no solo está demostrada en Cuba en México se han producido biofertilizantes a base *Azospirillum brasilense* y (Caballero-Mellado, 2003) reporta que este producto obtenido en el Centros de investigación sobre la fijación biológica del nitrógeno ha permitido reducir los costos hasta un 90 %, protege al medio ambiente, incrementa los rendimientos y elevar la calidad de los productos. Se ha alcanzado el doble de los rendimientos sobre los fertilizantes químicos y reducen en un 50% el consumo de agua para riego.

#### **2.4. Métodos y formas de aplicación de biofertilizantes.**

Son varios los métodos de aplicación de biofertilizantes que se han estudiados van desde la aplicación sobre la semilla, sobre los propágulos o partes vegetativas, inoculación en el suelo, aplicaciones foliares, en conjunto con las aguas de riego etc.

El recubrimiento de la semilla es una forma muy utilizada en las hortalizas, granos y plantas medicinales, son varias las investigaciones que avalan este método de aplicación tales como las realizadas por Plana *et al.*, (1999), Riera *et al.*, (2003), Pulido *et al.*, (2003), Hernández y Ferreira (2003), Sanchez *et al.*, (2005). Todas las experiencias mostraron resultados satisfactorios sobre todo en las plantas y una influencia marcada sobre las propiedades físicas de los suelos.

Se ha utilizado además el método incorporado al suelo, dentro de ellos la aplicación superficial y de manera enterrada. Las formas superficiales de aplicar los biofertilizantes al suelo es la más comúnmente utilizada, teniendo en cuenta que el objetivo fundamental de la inoculación es aumentar la proporción del microorganismo en el suelo. Este tipo de aplicación fue estudiada por Brito *et al.*, (2004) con la aplicación conjunta de biofertilizante en Tomate en el momento de la siembra mediante la incorporación al sustrato destinado a la producción de postura en cepellón, además Terry *et al.*, (2004) bajo un suelo Pardo con Carbonato utilizando micorrizas y *Azospirillum*, se comprobaron el efecto positivo de los microorganismos al incorporarlos al suelo.

Las aplicaciones foliares son también muy usadas aprovechando el efecto filósfera presente en muchas plantas cultivadas al respecto, Martínez Viera y Dibut (1996), refiere que en Cuba aprovechando los conocimientos existentes acerca del papel de la filósfera, zona que está en contacto entre la hoja y la atmósfera. Los microorganismos que viven en las hojas toman el agua y los gases disueltos de la atmósfera y los nutrientes a partir de los exudados de las hojas vivas, lo cual está regulado por el estado nutricional de la planta. En cítricos, las aplicaciones con avión mostraron gran efectividad del biofertilizante.

Arzola y García, (1997) indican que a pesar que en las hojas de las plantas tropicales (Filósfera) viven extensas poblaciones de microorganismos y existe un ambiente favorable para la vida de diazotrofos, la zona de raíz es la adecuada para la vida microbiana y se dirige la mayor atención hacia ella.

#### **2.4.2 Formas de aplicación de biofertilizantes. Formulados líquidos y sólidos.**

Se han estudiado diversas formas de aplicar los biofertilizantes Youbain, *et al.*, (2004), montaron una variante aplicada al nido de la planta en el momento del trasplante de la lechuga, utilizando la cepa soportada en portador sólido y otra en portador líquido por goteo mediante el riego. Ambas formas propiciaron que las plantas realicen una mayor extracción de N, P, K, Ca, y Mg, causando esto el incremento de los rendimientos.

Estudios similares al anterior se realizaron por González *et al.*, (2002) con el objetivo de evaluar el Rizobac sobre algunos indicadores de crecimiento de plántulas de café, se aplicó de forma líquida y sólida. Las plántulas fueron asperjadas a los 20, 30 y 70 días de liberada del cultivo in Vitro. Los resultados mostraron que el biopreparado fue más efectivo en estado líquido que sólido.

#### **Formulados líquidos.**

Los formulados líquidos son la forma más simple de empleo de los biopreparados, es tal como sale de los fermentadores, pero además (Fernández, 1999) sugiere que esta variante es también la menos apropiada ya que requiere mover grandes

volúmenes de líquidos con peligros de contaminación en el transporte y almacenamiento y lo más riesgoso es que el microorganismo llega al suelo desprovisto de protección, pues está expuesto a los rigores del medio (calor, humedad, microflora etc.), lo que disminuye la posibilidad de supervivencia.

Esta forma de aplicación puede ser deseable en casos que no es posible tratar a la semilla botánica y que sea necesario aplicar el biofertilizante directamente a la suelo. Fernández *et al.*, (2006), refieren que la aplicación líquida de inoculantes micorrízicos es de hecho un reto, debido a la baja protección osmótica de los propágulos aplicados en medio acuático y en el sistema de riego.

Se han realizado estudios conjuntos entre Cuba y España evaluando la respuesta de los cultivos ante los biopreparados sólidos y líquidos a base de *Glomus sp*, para el tomate se aplicó el sólido en las macetas en dosis y momentos únicos y el líquido se aplicó a través del sistema de riego localizado. Se alcanzó la mayor magnitud de las variables de crecimiento en biomasa seca con el inóculo líquido independientemente de la dosis y del momento de aplicación. DellAmico *et al.*, (2006).

Estudios sobre los método de aplicación de los formulados líquidos, de manera asperjada o recubriendo la semilla, fueron realizados por Plana *et al.*, (2006) utilizando el Licomic en trigo, maíz y sorgo. Se encontró que ambas variantes incrementaron los rendimientos en los diferentes cultivos.

### **Formulados sólidos.**

La comercialización del inoculante requiere su formulación y presentación, como un producto fácil de aplicar y con posibilidades de ser almacenado sin que pierda sus propiedades. Bashan y Holguin (2002).

Los inoculantes sólidos son los que más se utilizan y los que mayor atención reciben actualmente. Se han utilizado varios soportes en diferentes formulados que van desde carbón mineral, suelo mineral, cachaza, arcilla, bentonita, vermiculita, soportes sintéticos, bagazo, aserrín, cáscara de arroz etc.

Pueden ser húmedos o secos y poseer diferentes formas de agregación (polvo granulado y polvo humedecible) según Fernández (1999).

Ruiz *et al* (2004) estudiando la micorriza de forma sólida en hortalizas para suelos Pardos con Carbonato, encontraron que el producto no fue capaz de aportar los nutrientes necesarios a través de las asociaciones micorrizicas, siendo necesario suministrar cantidades complementarias nutricionales.

Buscando alternativas de sustitución de la cachaza como sustrato se estudiaron los residuos urbanos y encontraron una tendencia homogénea con valores de concentración propios de una curva de crecimiento normal por lo que este sustrato utilizado constituye un soporte adecuado. (Ríos *et al.*, 2004).

### **2.5. La cachaza. Características.**

La cachaza es un residuo del proceso de clarificación del guarapo que incluye materias ferrosas e impurezas orgánicas en diferentes proporciones, por ello no presenta una composición definida, no obstante se reporta que presenta determinadas características químicas favorables al desarrollo de los cultivos. El contenido de humedad es alto y su composición es variable Copersucar (1988), brinda una caracterización obtenida en estudios de diferentes países. Ver anexo 1

Treto *et al.*, (2005) destacan que este subproducto de la industria azucarera esta en dependencia de la cantidad de caña que se muele y que constituye del 3 al 4 % del peso de la misma, que puede sustituir a todo el fertilizante químico.

Los contenidos de cachaza aportan al suelo en primer lugar fósforo, en segundo nitrógeno y solo ocasionalmente los de potasio según Guzmán *et al.*, (1986), destacan además que esta compuesta por 2.2 % de nitrógeno, 2.8 % de fósforo, 0.4 % de potasio, 3.0 de calcio y de cantidades apreciables de magnesio, manganeso, hierro y boro en la materia seca.

La cachaza ha sido utilizada como sustrato para el desarrollo de diferentes microorganismos, en ella los procesos bacteriológicos se efectúan con gran rapidez. Carmenate (1988) estudió a nivel de laboratorio diferentes vehículos para inocular el *Azospirillum brasilense* en el cultivo de las caña de azúcar, comprobó que la misma constituye un medio apropiado para el crecimiento y desarrollo de la bacteria y por lo tanto resulta ventajoso su uso combinado con los biofertilizantes. Ver anexo 2.

Carmenate (1988) subraya que se utiliza la cachaza como soporte para el desarrollo de los microorganismos teniendo en cuenta determinadas características que posee como su facilidad de obtención, su bajo peso, determinados nutrientes que le permiten al microorganismo mantenerse vivo por más tiempo que en formas líquida, puede aplicarse de forma manual o con máquina, su aplicación favorece a la mayoría de los suelos ya que solamente no se recomienda su uso en condiciones de acidez Arzola *et al.*, (1990), obtuvo que cuando se aplicó cachaza, los rendimientos aumentaron como promedio entre 10-20 t/ha/año en comparación con el tratamiento donde solo se aplicaron fertilizantes minerales.

La cachaza se ha utilizado con resultados satisfactorio en diferentes cultivos y ha mostrado ser superior ha otros como gallinaza, al bagacillo etc. En piña con dosis de 80 t/ha que permite sustituir todo el fertilizante mineral fosforado, 90% del nitrógeno y 40% del potasio (Treto *et al.*, 1992), cítricos logró cubrir durante cuatro años el 70% de las necesidades nutricionales, duplicando la producción de los tratamientos sin fertilización. Además, en viveros, cuando se utilizó como patrón el naranjo agrio (*Citrus aurantium*) se obtuvieron resultados satisfactorios con una mezcla de 50% de

suelo Ferralítico rojo y 50% de cachaza sin necesidad de aplicar fertilizante mineral, adelantando el crecimiento en 30 días con respecto a los que crecieron en suelo solo.

## **2.6. La turba. Características.**

La turba es uno de los productos orgánicos más utilizados con fines agrícolas, después de la cachaza. Como soporte de los microorganismos se ha utilizado ampliamente, esto responde a determinadas características favorables que presenta como su alta capacidad de retención y absorción de agua, su contenido natural de nutrientes, no forma grumos, facilidad de molida, no es tóxico ni contaminante y por su naturaleza biodegradable. (Fernández, 1999).

Generalmente la búsqueda de otros materiales como soportes está dada por no contar con yacimientos suficientes o por no contar con la calidad que ello requiere.

El proceso de obtención de un inoculante teniendo como base la turba incluye los siguientes pasos de manera general: acopio y transportación del material, secado, molida, clasificación, neutralización, envase, esterilización, inoculación y almacenamiento. Según tecnología patentizada ICIDCA. (Villar *et al.*, 2005).

## **2.7. El cultivo de la Caña de Azúcar. Importancia económica**

Caña de azúcar según datos de la FAO reportado por Alvarez (2006), la cultivan 109 países, en el 2005 su producción fue de 1323.6 t, para un rendimiento promedio de 66t/ha, en ese mismo año la azúcar de caña alcanzó su precio más alto de los últimos 25 años de 19.25cent./libra. Explica además que dentro de los más bajos (menores de 40T/ha) se encuentra Cuba con 31.2.

En la Agricultura Cañera Cubana y en la producción de azúcar se han realizado un grupo de cambios estructurales, económicos, sociales dirigido fundamentalmente a la diversificación en sus producciones los cuales vienen dados en principio a problemas económicos. La industria mas antigua está afectada por carencias de la materia prima, ineficiencia productiva, altos precios del petróleo, la caída de la cotización de la azúcar en el mercado mundial que a alcanzado precios muy bajos como 5.75 centavos la libra y lo que se agrava mas, por la sequía de los últimos tiempos y la consecuente caída de los rendimientos agrícolas Carrobello (2005).



Según informe de MINAZ (2002) se han venido desarrollando experiencias sobre la producción de azúcar orgánica. La más avanzada se realiza en un pequeño Central Azucarero perteneciente a la Universidad Central de las Villas. En la actualidad se han realizado producciones de azúcar orgánica en el Complejo Agroindustrial Azucarero (CAI) Carlos Baliño de Villa Clara, que por primera vez produjo a escala comercial unas 4 651 toneladas en el año 2002, en próximas zafra están previstas, una producción superior a las 6 000 toneladas de azúcar y unas 2 000 toneladas de miel.

Rodríguez *et al.*, (2006) informan que para potenciar la agricultura cañera sobre bases sustentables es necesario materializar e investigar sobre todo el trabajo que se ha llevado a cabo durante muchos años. Desde finales de la década del ochenta se han desarrollado investigaciones con vistas a fomentar el desarrollo cañero sobre bases propias lo que incluye la rotación de cultivos, nuevas variedades, intercalamiento, utilización de compost (abono orgánico), zeolita y biofertilizantes, con el fin de aumentar los rendimientos agrícolas, disminuir la utilización de grandes cantidades de fertilizantes inorgánicos, herbicidas, combustibles y mejorar las propiedades físico químicas de los suelos sometidos al monocultivo intensivo.

### **2.7.1 Botánica y Fisiología de la Caña de Azúcar.**

Varios autores coinciden en que la caña de azúcar fue introducida en Cuba poco tiempo después del descubrimiento de América. (Martín *et al.*, 1987)

La clasificación taxonómica mas aceptada actualmente en el Mundo es la que destaca Botta, 1978 que pertenece la Orden Poale de la familia Poaceae del Genero Saccharum y las cinco especies. *Officinarum*, *robustum*, *spontaneum*, *barberi* *sinencis*.

En su conjunto está formada por una parte aérea y otra subterránea, Dillewinj, (1975) señala que la primera parte (los tallos) juegan un papel importante en el desarrollo y crecimiento de la planta, en ellos se produce la sacarosa que se extraerá en la fabrica. En la segunda parte se destaca la raíz como órgano fundamental para el sostén y la nutrición de la planta.

Fernández *et al.*, (1983), refiere que existe una clasificación o nomenclatura de Kuiper que explica el crecimiento de las hojas, destaca que cada hoja empieza a formar su canuto cuando llega a la posición cero, de manera general cada hoja desarrolla su propio canuto. Se puede comprobar fácilmente que la hoja es responsable del crecimiento de cada canuto, basta con eliminar una hoja recién formada (+1) de un tallo en crecimiento para observar a los pocos días la atrofia del canuto. De esta forma cada una de estas unidades forman un verdadero fitómero (unidad morfofisiológica hoja –canuto).

El tiempo entre la formación de nudos sucesivos con sus entrenudos inmediatos inferiores y sus hojas se señala como plastocrón según Fernández *et al.*, (1983). El ritmo del plastocrón puede calcularse mediante las observaciones sucesivas de las hojas. Se mide al contar los días que demora el dewlap visible +1 en pasar a la posición +2. Este varía según la etapa de crecimiento, durante la etapa inicial del desarrollo heterogónico de la planta es muy breve de dos a tres días en la etapa del Gran Período de Crecimiento se dilata mucho más y oscila entre 6 y 15 días. En condiciones normales es de una semana, cuando es adversa de dos o más.

El crecimiento y desarrollo de la planta transcurre por tres fases bien determinadas, la fase heterogónica, del gran período de crecimiento y maduración, se desarrolla de manera desigual al inicio muy lento, luego gana en velocidad y nuevamente se hace lento a llegar a la etapa de maduración. Dillewinj (1975)

### **2.7.2. Fertilización nitrogenada en caña de azúcar**

La nutrición constituye el proceso más importante para el desarrollo de los organismos vivos, la realización de múltiples funciones en las plantas necesitan de los nutrientes tomados desde las raíces, ya sea desde sustratos naturales o artificiales es decir añadidos por la acción del hombre, Vazquez y Tomas, (1995).

La nutrición puede interpretarse como el paso de los nutrientes del medio (suelo, aire) al interior de las plantas para formar parte de los tejidos vegetales, es una de las vías más importante para la supervivencia de las plantas.

El nitrógeno es uno de los esenciales para el desarrollo de la planta, forma parte de los aminoácidos, de las proteínas, de los ácidos nucleicos, de la clorofila y de otros compuestos como los alcaloides según Cabrera y Bouzo (1999). Forma parte además del protoplasma, cromosoma, genes y ribosomas por lo que es un elemento fundamental en la herencia.

Sobre la fertilización nitrogenada en Caña de Azúcar existe amplios estudios e investigaciones las cuales han determinados los aspectos y factores que juegan un papel fundamental en la recomendación agroquímica de este elemento.

La influencia de la cepa de caña, es uno de los factores que más se ha estudiado en este sentido. La caña planta en las condiciones normales de nuestro país no requiere fertilizantes nitrogenados para producir al mes hasta 10t de caña /ha<sup>2</sup>, Cabrera y Bouzo (1999) precisan que las cañas plantadas de enero a junio es decir las primaveras no requieren de la aplicación de nitrógeno que en los fríos es decir las que se plantan de julio a diciembre se han encontrado respuestas ocasionales. Este resultados con anterioridad había sido encontrado por Alomá, (1972); Pérez y Cutiño (1977), Pérez y Villegas (1979) y Paneque *et al.*, (2005)

Para el caso de las socas y retoños se ha encontrado respuesta más frecuente y hay una tendencia sugerida por (Pérez, 1982) de que la demanda de nitrógeno de estas cepas aumenta con los cortes. Este mismo autor refiere que en la primera soca no siempre necesita ser fertilizada, siendo necesario en los suelos Ferrasoles y Vertisuelos pero no en los Cambisoles.

Los retoños a medida que aumentan su corte requieren más nitrógeno pero hasta un límite donde llega hacer innecesario argumentado esto porque la población del campo disminuye por aumentar el número de espacios vacíos a causa de una mayor mortalidad y envejecimiento, incrementándose el contenido de materia orgánica en el centro de la surco a causa de las raíces y tocones muertos durante el ciclo, según Iznaga, (1986).

El tipo de suelo es otro de los factores importantes a tener en cuenta al fertilizar nitrógeno. Estudios realizados por Villegas y Chang (1996) en diferentes tipos de suelo mostraron que los más favorecidos en las cosechas con la aplicación de fertilizantes nitrogenados fueron los Aluviales con 25%, los Ferralíticos cuarcíticos con 20%, los Gley ferralíticos con 16,7% y los Pardos sin carbonatos con 13%, según el orden de respuestas productivas. En los Gley donde las condiciones reductoras son fuertes la tasa de mineralización del nitrógeno orgánico es lento, lo que origina que la disponibilidad del nitrógeno asimilable sea poca, por tanto la respuesta a la aplicación de nitrógeno es amplia. Así mismo los Ferralíticos cuarcíticos son bajos en materia orgánica y textura arenosa y el efecto del nitrógeno es claro. En los suelos Ferralitizados cálcicos la respuesta de la caña planta está prácticamente ausente, pero los retoños sí responden. En el resto de los suelos es menos frecuente la respuesta a este elemento.

Las condiciones ambientales también juegan un papel importante en la asimilación del nitrógeno por la caña de azúcar. La lluvia caída es fundamental pues la planta toma el elemento en la solución del suelo y si existe deficiencia del mismo se necesitará mayor cantidad de agua para que la planta pueda absorberlo.

Cuellar *et al.*, (2002) sugieren que después de la cepa el tipo de suelo es el factor que con mayor fuerza determina la respuesta de la planta a las aplicaciones nitrogenadas porque los suelos difieren por su contenido de materia orgánica, su capacidad para mineralizar el nitrógeno o de las formas en que se favorecen las pérdidas de este. Además los factores edáficos limitativos del suelo impiden la manifestación de los efectos de este elemento.

### **2.7.3 Manejo de los fertilizantes en caña de azúcar**

Sobre el manejo de los fertilizantes en el cultivo de la caña de azúcar existe una amplia información avalada por numerosas investigaciones, los métodos de aplicación de los fertilizantes nitrogenados muchos autores coinciden en plantear que el mejor aprovechamiento de las aplicaciones se realiza de manera enterrada, muy próximos al sistema radicular de la planta de 8 a 10 cm de profundidad, Cuellar

*et al.*, (2002) sugieren que de esa forma el fertilizante queda en contacto más íntimo con las raíces y se evitan las pérdidas.

En las plantaciones cuando se realiza se hace en el fondo del surco próximo a los esquejes mezclado con el suelo. Se ha experimentado nuevos métodos de aplicación del fertilizante teniendo en cuenta, que las cepas que más abunda en los momentos actuales es la de retoño y la impostergable necesidad de hacer más económica la actividad como la fertilización plantón a plantón, al respecto Kuan (2006) sugiere un método de fertilización localizada y enterrada a 15cm al lado del plantón distribuyendo la dosis recomendada por Servicio de Recomendación de Fertilizantes y Enmiendas entre los plantones reales de cada campo y destaca que la misma fue adoptada como Medida Transitoria por la despoblación real existente en los campos.

Sobre el momento de aplicación de los fertilizantes se ha demostrado la conveniencia de hacerlo tempranamente, partiendo de que la caña de azúcar tiene la capacidad de acumular el nitrógeno en exceso para su posterior utilización y de que las aplicaciones tardías resultan dañinas para la óptima calidad de los jugos. Cuellar *et al.*, (2002) concluyeron que solo en los suelos Ferralitizados cuarcíticos debido a su bajo contenido de Materia Orgánica y a su textura arenosa se observó la conveniencia del fraccionamiento de las dosis de nitrógeno.

Se ha demostrado que los fertilizantes nitrogenados complementan su acción en la planta con la adición del resto de los elementos esenciales como el fósforo y potasio.

El fósforo por su parte es uno de los elementos que la caña de azúcar consume en menor proporción. Estudios realizados por Rodríguez *et al.*, (2006) en suelos donde se ha aplicado por más de 20 años fertilizantes fosfóricos en agroecosistemas cañeros, encontraron en muestreos foliares que los contenidos de este elemento apenas se modificaron con el incremento de las dosis aplicadas, se mantuvieron en un rango de 0.14 a 1.15 % por debajo del nivel crítico (0.19%) criterio establecido por SERFE. La no respuesta de la planta a las aplicaciones fosfóricas la

relacionaron con la poca movilidad del elemento en el suelo, a la fracción predominante y a la poca demanda del mismo por la planta.

En cuanto a la fertilización potásica se determina teniendo en cuenta sobre todo la presencia de formas asimilables en el suelo, Pineda *et al.*,(2006) destaca que en caña de azúcar se sigue como criterio el contenido de potasio asimilable para definir las dosis a emplear y que esto se complementa con la cepa que se trate, el rendimiento esperado y del tipo de suelo.

El potasio es elemento fundamental para el desarrollo de la planta, Bouzo (2006) corroboró en estudios realizados en suelos de la provincia de Pinar del Río que la caña de azúcar pertenece al grupo de cultivos que demandan altas exigencias a la nutrición potásica, siendo el elemento que extrae en mayores cantidades, debido a esto es sensible a la fertilización con K, particularmente en suelos de muy bajos a medianos contenidos de este nutriente, por lo que aún cuando no se requiere suministro adicional de fósforo, la variante de fertilización solo nitrógeno; produce un decrecimiento del 38.8 % del incremento de rendimiento obtenido cuando ambos nutrientes (nitrógeno y potasio) son aplicados y concluyó que la respuesta al Nitrógeno depende del potasio presente en el suelo o de que dosis suplementarias de este nutriente sean aplicadas.

## **2.8. Los biofertilizantes en Caña de Azúcar.**

La Caña de Azúcar es una planta de fotosíntesis del tipo C4, cabe señalar las ventajas que presentan estas con respecto a las del tipo C3 como son: producen una mayor de fotosintatos por gramo de nitrógeno, una mayor eficiencia en el uso de el agua, presenta tasas de fotorespiración apenas detectables y sobre todo un mejor aprovechamiento del nitrógeno según indican Bedmar y Olivares (1982).

Ya desde la década del 70 en Brasil Dobereiner *et al.*, (1979), Dobereiner, (1984) y Anderson, (1985) descubrieron en campos sin cultivar de Caña de Azúcar que se

mantenían determinados rendimientos agrícolas, gracias a la presencia de bacterias que fijaban nitrógeno en las raíces.

En el cultivo de la Caña de Azúcar se experimentó con las bacterias *Azospirillum* y *Azotobacter* sobre la microbiología, aislamiento, cuantificación, identificación y caracterización, evaluándose diferentes cepas y se obtuvo la 8l como la de mejores resultados. Roldós *et al.*, (1994).

Se realizaron estudios en diferentes medios de cultivos para la economía y mejor comportamiento de las cepas con vista a la producción futura de tecnologías para la producción de inoculantes. (Pérez y Casas 2005)

Arzola y García (1997) obtuvieron que por aplicaciones de Rizobacterias en Caña de Azúcar los incrementos productivos fueron mayores en los suelos Sialitizados que en los Ferralíticos, en los primeros se alcanzó un 100% de sustitución del nitrógeno mineral. Este efecto se relaciona con una mayor fertilidad química, física y biológica en los primeros 50 cm de profundidad del perfil, por los contenidos de carbonatos libres y la reacción del suelo más favorable para la manutención y viabilidad de los microorganismos y por ende mayor nitro fijación para este género, encontraron que ha medida que ganan en edad la respuesta productiva decrece, que 1 kg de nitrógeno resultó equivalente a 1l del biopreparado, que las dosis de 100l/ha incrementó en el orden de 25 a 32 % con respecto ala testigo absoluto. Sugieren además que esta alternativa resultó de 3 a 4 veces más económica que las aplicaciones de nitrato de amonio, urea o amoníaco y que las ganancias pueden variar de 25 a 90\$/ha.

Se ha estudiado además los efectos de las micorrizas en el desarrollo de las plantas, este se ha realizado en microplantas y se ha encontrado incrementos significativos en plántulas donde se aplicó con respecto a las no aplicadas. Los resultados obtenidos indican un mejoramiento en las características de las plantas micropropagadas cuando se inoculan con MA en la fase intermedia, y se logra una

buena colonización de la raíz, lo que garantiza el traslado del microorganismo hasta el campo. El mejor resultado se obtuvo con la mezcla de 188 kg del biofertilizante con 1 m<sup>3</sup> de sustrato. (Soria *et al.*, 2001).



#### 4. Conclusiones.

Se arribaron a las siguientes conclusiones:

- El uso de los fertilizantes nitrogenados han contribuido a la degradación de los suelos.
- La quimización excesiva en el cultivo de la Caña de Azúcar a traído como consecuencia que se requiera mayores dosis de fertilizantes para obtener producciones similares a las alcanzadas en décadas pasadas.
- La vida en el suelo y los indicadores microbiológicos juegan un papel decisivo en el manejo adecuado de los mismos y en la implementación de alternativas biológicas.
- Los métodos y formas de aplicación de la Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en los diferentes cultivos es variada, dependiendo de la especie que se trate y de las condiciones específicas en que se desarrollan, pero existe una tendencia a tratar directamente a la semilla con el producto de forma líquida para el caso de las formas sexuales de propagación y soportada en forma sólida e incorporada al suelo para la multiplicación asexual o vegetativa.
- Los métodos y formas de aplicación de las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en Caña de Azúcar han sido experimentados fundamentalmente de forma líquida , con la desventaja de que han estado expuestas al efecto de los contaminantes y por tanto a la pérdida de viabilidad del microorganismo.

## Bibliografías Consultadas.

1. Alomá, J. 1972. La cachaza como fertilizante de la caña de azúcar. Serie Caña de Azúcar. No 88 p. 15 -21.
2. Alvarez, A. 2006 Caña de Azúcar. Rendimiento y Producción. I Seminario de Cátedra Alvaro Reynoso de las Universidades Cubanas. La Habana. ISBN 959-16-0257-07. Ponencias.
3. Alvarez, J.L. 2006 Comportamiento del cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) a la aplicación de productos biofertilizantes en diferentes épocas de siembra en condiciones de organopónico. En: III Simposio Internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosfericos y VII Taller de biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico INCA (8 :2006, nov. 8-12, La Habana) Memorias CD-ROM Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN.
4. Alvarez, N. 2006. Los rendimientos de la Caña de Azúcar en Cuba. Perspectivas. En 49 Congreso ATAC. Agricultura Cañera. 1-3 nov. Santiago de Cuba p.21.
5. Anderson, I. G. 1985. N fixation by bacteria in Sugar Cane. The south African Journal 69 (12) p. 450-455.
6. Anónimo 2001 Biological nitrogen fixation. Agency for internacional Develoment. En, [http// www.nap.edu/readingroom/brooks/br/chapter.Rev. 22/5/2006](http://www.nap.edu/readingroom/brooks/br/chapter.Rev.22/5/2006).
7. Anónimo 2006 El Suelo. Cansancio del suelo. En: [http//www.mediterraneadeagroquimico.es](http://www.mediterraneadeagroquimico.es). Rev. 15/7/2006.
8. Aranguren,M.; Puente, A.; Fortega, L.; García, M.E. 2004 Niveles foliares de nitrógeno y potasio en Naranja Valencia. Su relación con los rendimientos y el tamaño de los frutos. En: "Taller de fertilidad de suelo y nutrición de las plantas". Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
9. Arzola, N. y García, E. 1997 Enmiendas y fuentes alternativas de nutrimentos para la caña de azúcar. SERFE. Departamento de Suelo y Fertilizantes. INICA. P. 19 31.
10. Arzola, N.; Paneque, H. ; Battle, L. ; Morejón, C. ; Alfonso, B. y Hernández, G. 1990 La cachaza como enmienda orgánica y fertilizantes para la caña de azúcar. Folleto divulgativo .INCA. La Habana.

11. Ascanio, N. 2002. Reseña del uso y Manejo Agroecológico de los Suelos. Situación actual. II Seminario Internacional de Cooperativas. Universidad de la Habana. Nov. 13, 14 y 15.
12. Ávila, N.; Ortega, E. Y Armas, R. 2006. Los componentes del jugo de la caña de azúcar con distintas masa moleculares tiene efectos diferenciados sobre el crecimiento y la actividad de la nitrogenasa en *Gluconobacter diazotrophicus*. En: III Simposio Internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosfericos y VII Taller de biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico INCA (8 :2006, nov. 8-12, La Habana) Memorias CD-ROM Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN.
13. Balzarine, Mónica; Casanoves, F.; Rienzo, J. A.; Gonzalez, Laura y Robledo, C.W. 2001. Manual del usuario. INFOSTAD. Córdoba. Argentina.
14. Balleta, A.; Veranzi, S. y Kruige, H 2002. Respuesta del cultivo de trigo a la inoculación con biofertilizante en el suelo en la provincia de Buenos Aires. INTA Rivadavia, vol. 1439 No 1033 p. 1-16.
15. Bashan, y. y Holguin, G. 2002 Plant Growth-Promotion bacterial potential tool, for arid mw Mangrove forerstation. Thees, vol.16, p. 159-160.
16. Bedmar, E.J. y Olivares, S. Limitaciones de la fijación biológica del nitrógeno. Investigación y Ciencia feb. P. 20-34.
17. Ben Dekhie, S. 1997. Transfer of conglomeromas largomobilis subsp. Largomobilis to the genes Azospirillum as Azospirillum comb. Mov. And elevation of conglomeromas largomobilis subsp. Paroensis to thenew type species conglomeromas, conglomeromas paranoensis sp. Nov. Syst. Appl. Microbiol. Vol 20. p72-77.
18. Bonner, G. Y Galston, A. 1972. Principios de Fisiología Vegetal Edición Rev. Instituto del Libro. La Habana. P.248-258.
19. Botta, S. 1978. Estudios morfológicos y anatómicos en la Caña de Azúcar. Su relación con la resistencia a la sequía. Tesis de opción de Doctor en Ciencias Agrícolas. ISAAC. P. 22- 53.
20. Bouso, Libia. 2006. Avances para la estrategia en el manejo los nutrientes. En: 1-3 nov. Santiago de Cuba. 49 Congreso ATAC. Agricultura Cañera. p. 14.
21. Brill, J. 1977. Fijavción biológica de nitrógeno atmosférico. Investigación y Ciencia. Nov.- Dic. No 17. p.44-54.

22. Brito, A.L.; Arozarena, N.; Dibut, B. Ríos, Yoania; Croche, Grisel; Ortega, Maricel y Fey, L. 2004 Evaluación de la aplicación conjunta de biofertilizantes en el cultivo del tomate (*Lycopersicum esculentum*. Mill) En: "Taller de fertilidad de suelo y nutrición de las plantas". Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
23. Burmand, S.; Ocón, Y. y Jurkiwitch, Y. 2000. Surface characteristics of *Azospirillum brasilens* in relation to cell aggregation and attachment to land roots. *Rev. Microbiol* vol. 26. p. 91-110.
24. Caballero, J. 2003. Se comercializa ya biofertilizantes en la UNAM. En: <http://www.dgi.UNAM.mx/boletín>. *Rev.* 22/2/2006.
25. Cabrera, A. 1997. Generalidades sobre la nutrición de la caña de azúcar. Curso I. El suelo transformaciones y movimientos de los nutrientes. P.12-30.
26. Cabrera, A. Y Bouso, Libia. 1999. Capítulo I. Generalidades sobre la nutrición de la caña de azúcar. Capítulo II Manejo de los fertilizantes sobre bases económicas. En: *Fundamentos económicos para el uso de fertilizantes y enmiendas en Caña de Azúcar*.p. 67-75.
27. Cairo, P. y Fundora, N. 1994. *Materia Orgánica del suelo. Algunas propiedades físicas del suelo*. Edc. Pueblo y Educación. P. 68, 157-188.
28. Calderón, A. 2004. Estudio de una fuente orgánica y dos minerales en la formación de sustratos y aplicación de micorrizas en la adaptación de vitroplantas de Babanos (*Musa spp*). En; I Simposio de Simbiosis micorrízica en la Agricultura Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
29. Calderón, Maida y Cabrera, A. 2004 Relación entre los contenidos foliares de Nitrógeno y el rendimiento de la papa (*Solanum tuberosum*) cultivadas en suelos Ferralíticos rojos ( Ferrasol) En: "Taller de fertilidad de suelo y nutrición de las plantas". Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
30. Calero, B.; Guerrero, A.; Alfonso, C.; Somoza, V. Y Camacho. E. 1999. Efecto de la fertilización mineral sobre el estado microbiológico del suelo. *Rev. La Ciencia y el Hombre*. Universidad Veracruzana. México.

31. Carrobello, Caridad. 2005. Tierras ex cañeras. Diversificación. Bohemia. Año 97. No 19. septiembre. p. 28-35.
32. Castillo, I.; Soto, Lourdes; Medina, Aida; Noval, Blanca; Portieles, Yanet; Rodríguez, Yaquelín y Fernández, F. 2004. Estudio bioquímico preliminar de la influencia del Rizobac en la interacción micorriza – tomate. En: “I Simposio de simbiosis micorrízica en la Agricultura” Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
33. Castro, F. 2000. Apuntes para una agenda del sur: Nuevo milenio en desarrollo. Ciencia e Innovación y Desarrollo (Cuba), 5(2)p. 23-45.
34. Castro, F. 2007. Reflexiones del Comandante en jefe. “Lo que aprendimos del VI Encuentro Hemisférico de la Habana.”. Gramma 1era edición. año 43 No 115 mayo 15 p. 1-3.
35. Coiret, M. 2002. Microbiología de suelo. Un enfoque exploratorio. Ed. Paraninfo. P. 46 Congreso ATAC 1-3 nov. 2006. Agricultura Cañera. Memorias. p. 12.
36. Copersucar 1988. Recomendaciones de adubación para cultivo de azúcar. Cadenas Copersucar Sao Paulo. Serie agronómica 17.
37. Crespo, G.; Guerrero, A.; Alfonso, C.; Somoza, V. y Camacho, E. 2006. Evaluación integral del estado de fertilidad de los suelos en una región ganadera de la Habana. En: “Taller de fertilidad de los suelos y nutrición de las plantas”. Congreso Científico del INCA (14: 2006, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
38. Cuellar, I.; De León, M.; Gómez, A.; Piñón, D.; Villegas, R. Y Santana, I. 2003. Caña de azúcar. Paradigma de sostenibilidad. Edición Publicinca. La Habana. Cuba. P. 175.
39. Cuellar, I.A; Villegas, R.; León, M. Y Pérez, H. 2002. Manual de Fertilización de la caña de azúcar en Cuba. Editorial Publicinca. ISBN: 1234567834. Ciudad de la Habana. P. 10, 26-78, 104, 111
40. Chisteansen, Lucía; Danborenea, Sofía; Leonardi, Martina y Soaby Noelia. 2005. Recuperando la biofertilidad del suelo. Monografía de Ciencias naturales. En: [www.monograf.com](http://www.monograf.com). Rev. 10/2/2006.
41. De León, M. Efectos del nitrógeno sobre la caña de azúcar. En: Bases para la fertilización mineral de la caña de azúcar. INICA P. 10-25.

42. Dell'Amico, J.A.; Fernández, F.; Nicolás, E.; López, L.F. y Sánchez, M.J. 2006. Respuesta fisiológica del Tomate a la aplicación de dos inoculantes a base de *Glomus* sp (INCA) por dos vías diferentes de inoculación. En: Taller de biofertilización de los Trópicos". Congreso Científico del INCA (14: 2006, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
43. Dibut, B.; Martínez, R.; Tejeda, G.; Ortega, M.; García, R.; Ríos, Y.; Rodríguez, Y.; Fey, L. y Semania, E. 2006. Potencial agrobiológico de nuevos biofertilizantes y bioestimulantes obtenidos en le INIFAT. Situación Nacional e Internacional. 2006. En: "Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos Rizosféricos. Taller de biofertilización de los Trópicos". Congreso Científico del INCA (14: 2006, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
44. Dillewinj, C.V. 1975. Botánica de la caña de azúcar. Edición Revolucionaria. Inst. del Libro. P. 132-138, 153-160, 200-258.
45. Dobereiner, Johana; Marcial, I.E. y Day, J.M. 1976. Associative symbiosis in tropical grass. Characterization of microorganism and nitrogen fixing sites. En: Newton, w Nymar, CS(eds). Symposium on nitrogen fixation. Washinton Stade, University Pres, Pullman.
46. Dobereiner, Johanan 1984. Bergeys Manual and determinative bacteriology Edition edu. Mc Grow and Hill. New York.
47. Eckert, B. 2001. *Azospirillum doebereineae* sp. New a nitrogenfixing bacterium associated with the C4 grass. *Miscanthus Ins.J. Syst. Evol. Microbiolo.* Vol. 51 p.17-26.
48. Fallik, E.; Saring, S. Y Okon, Y. 1994. Morphology and phisiology of plants roots, assosiated with *Azospirillum* In. *Azospirillum-plants. Associations* Y. OKón (ed) CRC Pres. Boca Ratón p. 77-84.
49. Fernández, F.; DellAmico, J. Pérez, Y. 2004. Evaluación de la viabilidad de los inoculantes de hongos micrrizicos arbusculares de *Glomus carium* y *Glomus fasciculation*, conservados en medio líquidos (licomic). II Simposio Internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosférico y VII Taller de biofertilización de los trópicos. Congreso científico del INCA 14: 24 nov. 9-12. La Habana memorias CDROM INCA. ISBN: 959-7023-27-X.

50. Fernández, L.; Ortega, E.; Grimm, B. y Hainezal, M.R. 2006. Variación en la concentración de aminoácidos y azúcares en plantas de caña de azúcar inoculadas con *Pantoea* sp. Taller de biofertilización de los Trópicos". Congreso Científico del INCA (14: 2006, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
51. Fernández, R.; Dávila, A. Y Del Toro, F. 1983. Botánica y Fisiología de la Caña de Azúcar. Editorial. Pueblo y Revolución. p.22, 120-153.
52. Fernández, Ramona. 1999. Obtención y Evaluación de un inoculante microbiano a partir de *Azospirillum* sp. Tesis (en opción al título de Master en Ciencias Microbiológicas). Universidad de la Habana. P.14-19, 20-26, 26-35, 36-59.
53. Font, L.; Calero, B. Y Castillo, A. 2002. Estado microbiológico del suelo, base del Manejo Integral de un agroecosistema cítrico. Ciencias del Suelo. Vol. 18 No 3 dic. Fernández, F.; Dell'Amico, J. Y Pérez, Y. 2004 Evaluación de la viabilidad de inoculantes micorrízicos arbusculares de *Glomus clarium* y *fasciculatum* conservados en medio líquidos (Licomic) En: "I Simposio de simbiosis micorrízica en la agricultura.". Congreso Científico del INCA (14: 2006 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
54. Font, L.; Calero, B.; Chaveli, P.; Del Castillo, A.; Mendoza, L.; Pacheco, O.; Francisco, A.; Pérez, D.; Guerra, A.; Caballero, R.; Valencia, M. 2006 Diagnóstico microbiológico del suelo. Una necesidad en el desarrollo sostenible de los agroecosistemas. En VI Congreso Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo. (16: 2006 mar, 8-10: La Habana). Memorias. CD-Rom Sociedad Cubana de las Ciencias del Suelo, 2006. ISBN 959-7023-35-0.
55. Funes, F. 2006 La agroecología y su contribución para solucionar problemas medioambientales y socioeconómicos del mundo de hoy. VI Encuentro de Agricultura Orgánica y Sostenible.
56. García del Risco, E. y Vázquez Fernández, A. 2000. Los suelos y fertilización de la caña de azúcar. Instituto Nacional de investigaciones de la Caña de Azúcar. Ciudad de la Habana. P. 46.
57. Gómez, L.A.; Martínez, A.; Dueñas; G. y Shagarodsky. T. 2004 Identificación de genotipos de Caupi para fijar nitrógeno del aire, como vía para el incremento de la contribución de nitrógeno proveniente de la fijación simbiótica a la

- sostenibilidad de los sistemas agrícolas en Cuba. 2004 En: II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
58. González, J. y Lluch, Carmen. 1992. Biología del Nitrógeno. Interacción Planta-Microorganismo. Ed. Rueda. Madrid. España.
59. Gónzalez, M.E.; Cabrera, M. y Hernández, A. 2002 Efecto del biopreparado Rizobac sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de cafeto. *Coffea canephora* P.var. Robusta) seedlings. Cultivos Tropicales. Vol.23. No2.
60. Guzmán, T.; Sulroca,F.; Boulart, L. Y Hernández, S. 1986. Agrotécnia de la Caña de azúcar III. Tomo I. Editorial ISAJAE. Ciudad Habana. P. 397-399.
61. Hernández, A. Acebedo, Y.; Diallo, B.; Jazin, M.; Alvarez, M. Y Heydrich, M. 2006. Perspectiva del empleo de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del tomate. En: III Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VIII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 2006 4 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
62. Hernández, A.; Pérez, J.; Bosch, I.; Rivero, L. D. 1999. Nueva versión de clasificación genética de los suelos. La Habana. Agrinfor, MINAGRI. Instituto de Suelo. P: 64.
63. Hernández, A.; River, N. Y Heydrich, M. 2004. Caracterización de la comunidad microbiana endófito y rizosférica asociada ala cultivo del arroz. Variedad j. 104. 2004. En: II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
64. Hernández, A; Plana, R.; Martín, G.; Santander, J. L. 2002 Estudio de algunos géneros microbianos asociados a diferentes variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.) en suelo Ferralítico Rojo. Rev. Cultivos Tropicales. Vol. 23, No 2.
65. Hernández, G. 2001 Los biofertilizantes de la UNAM. Suplemento de Investigación y Desarrollo. La Jornada. Abril.



66. Itzigsohn, R.; Burdman, S. y Okn, Y. 2000. Plant growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. *Arid Soil research and Rehabilitation* 13. p. 151-158.
67. Iznaga, O. 1986. Efectividad de los fertilizantes nitrogenados en la caña de azúcar, en los suelos Ferralíticos rojos saturados. Tesis (en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas). INICA. Ciudad Habana. P. 131.
68. Kuan, I. 2006. Fertilización plantón a plantón en Caña de azúcar. En: 1-3 Nov. Santiago de Cuba. 49 Congreso de Técnicos Azucareros. Memorias p: 126
69. Mae Wan Ho 2006. El inevitable retorno a una agricultura sana. Capítulo XXVII. Genetic Engineering- Dream or Nigthmare. The Brave New Woror Bad Science an Big Business. Gateway Books, Bath.
70. Mae-Wan Ho. 1998 El inevitable retorno a una agricultura sana. Capítulo XXVIII Genetic Engineering - Dream or Nightmare? The Brave New World or Bad Science and Big Business», Gateway Books, Bath.
71. Maldonado JM, Ramírez GA. 1997. Efecto de la inoculación con hongos micorrizógenos en almácigos de café (*coffea arábica*) Variedad Colombia. Tesis (en opción de grado científico) Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medellín, 1997, pp. 3 – 83.
72. Martín, A. 1986. Introducción a la microbiología del suelo. Editorial. Revolucionaria. p: 66.
73. Martín, J. R.; Gálvez, G.; Armas, R.; Vigoa, R. y León, A. 1987. La Caña de Azúcar en Cuba. Editorial Científico-Técnico. P. 539, 567-579.
74. Martines Viera, R. y Dibut, B. 1996. Beneficio de la utilización de los biofertilizantes en Cuba. I Encuentro Internacional sobre Agricultura Urbana y su impacto en la comunidad. La Habana. P. 61-70.
75. Martínez, Viera, R. 1986. Ciclo biológico del nitrógeno. Cap. I y II. Ed. Científico técnica. La Habana. p: 13, 35, 49
76. May Ling Chan 2006. Estado actual de la agricultura sostenible y la seguridad alimentaria China. VI Encuentro de Agricultura orgánica y sostenible mayo. Resúmenes.

77. Mayea, S.; Carone, Margarita; Novo, R.; Boado, Isabel; Silveira, E.; Soria, Miguelina; Morales, Yolanda y Valiño, A. 1998. Microbiología Agropecuaria. Tomo II. Ed. Félix Varela. La Habana. pp 156-178.
78. Mazorra, Yaremis. 2004. Aplicación de biofertilizantes y diferentes niveles de materia orgánica en el cultivo de la zanahoria ( *Daucus carota* L.). Tesis ( en opción del título de Ingeniero Agrónomo). Universidad de Matanzas. P. 4-26.
79. Mc. Guinness, H. 1993 Living Soils: Sostenible alternative to chemicals fertilizar. Consumer Police Institute, p. 411 Medina Brito, M. 2007 Los equipos multiculturales en la empresa multinacional. Tesis (opción de Doctor en Ciencias). En [www.eumed.net](http://www.eumed.net). Rev. 15/1/2007.
80. Medina, N. 1994. La biofertilización como alternativa para la nutrición mineral del tomate. XVII. Reunión Iberoamericana de Rizobiología. Resúmenes. La Habana. p. 111-112.
81. Medina, N. 2004 La biofertilización como alternativa dentro de la agricultura sostenible. En: II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
82. Medina, N. 2006 Los biofertilizantes y el manejo sostenible de la fertilidad del suelo. En: VI Congreso Sociedad Cubana de las Ciencias del Suelo. ( 16: 2006 mar, 8-10: La Habana). Memorias CD-ROM. Sociedad Cubana de las Ciencias del Suelo. ISBN 959-7023-35-0.
83. Milkha S. Aulakh and Sukhdev S. 2005 Malhi Interactions of nitrogen with other nutrients and water: Effect on crop yield and quality, nutrient use efficiency, carbon sequestration, and environmental pollution. Department of Soils, Punjab Agricultural University, India. Agriculture and Agri-Food Canada, research Farm, Melfort, Saskatchewan, Canada.
84. MINAZ 2002 Informe de producción de azúcar orgánica. Revista Agricultura Orgánica, Año 8, No. 2.
85. MINAZ. 2007. Catálogo de fichas de gastos directos. Informe. Empresa Agropecuaria España Republicana.

86. Molina, M.; Mahecha, L. y Medina, M. 2005 Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. Rev Col Ciencias Pecuarias Vol. 18 p2.
87. Montes, Leidi. 1999. Efecto del fósforo en la nutrición nitrogenada del frijol común (P. vulgaris). En: (<http://www.cartuja.csic.es/SEFV99/abstracts/nutricion/s.3-6.html>). Rev. 12/3/2006.
88. Morales, A.; Calero, B.; Otero, L.; Crespo, G. Y Martínez, V 2006. Evaluación de indicadores microbiológicos en suelos ganaderos de una UBPC en la Habana. En VI Congreso Sociedad Cubana de la Ciencia de Suelo. (16: 2006 mar, 8-10: La Habana). Mermorias CD-Rom Sociedad Cubana de las Ciencias del Suelo, 2006. ISBN 959-7023-35-0.
89. Morell, F. Y Hernández, A. 2006 Degradación de las propiedades agrobiológicas de los suelos Ferralíticos rojos lixiviados por el cambio del uso de la tierra y su respuesta agroproductiva al mejoramiento del componente suelo del agroecosistema. En: Taller de Fertilidad del suelo y nutrición de las plantas". Congreso Científico del INCA (14: 2006, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
90. Muñoz, J. y Caballero Mellado, J. 2006. Gloconobacter diazothrophicus, modelo de bacteria endófitas.. Programa de Ecología molecular y microbiana. Centro de Investigación sobre FBN. Universidad Autónoma de México. En: <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/cap9/c9bi>. Rev. 22/5/2006.
91. Okón, Y. y Labandera, C. 1994. Agronomy application of Azospirillum. An evaluation of 20 years. Worldwile field inoculation. A riview. Soil Biochen 12. P1591-1600.
92. Olivares, P. 2006 Fijación Biológica del nitrógeno. Estación Experimental de Zaidi. Rev. Enero/ 2006.
93. Ortega, E.; Ortega, P.; Mirabal, L.; Loiret, F.G y Roidés, R 2004. Interacciones triples entre plantas y organismos asociados. Su relación con la nutrición mineral de las plantas. En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.

101. Pablos, P.; Fernández, P. y Reynosa, G. 1997 Relación de hongos micorrizógenos con algunas características del cultivo de la caña de azúcar. *Caña de Azúcar*. Vol. 15 (2) p. 75-77.
102. Paneque, V. M.; Calaña, J. M.; Rodríguez, L y Castellanos, E. 2005 Estudio de la fertilización nitrogenada en variedades de caña de azúcar. *Revista Cultivos Tropicales*. Vol. 26 No 4 p.: 20- 35.
103. Pérez, A.; Bustamante, C.; Rodríguez, P. y Viñals, R. 2005 influencia de la fertilización nitrogenada sobre la microflora edáfica y algunos indicadores del crecimiento y rendimiento de *Coffea carephora* Pierre, cultivada en suelo Pardo oscuro sin carbonato. *Rev. Cultivos tropicales*. Vol. 26 No 2 p. 60-69.
104. Pérez, A; Bustamante; Rodríguez, P. Y Viñals. R. 2004. Influencia de la fertilización nitrogenada sobre algunas propiedades químicas-biológicas edáficas de un suelo Pardo con Carbonato con *Coffea canephora* pierre. En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
105. Pérez, H y Villegas, R. 1979. Resultados experimentales obtenidos en la fertilización nitrogenada y fosfórica de la caña de azúcar en Cuba. INICA. Academia de Ciencias.
106. Pérez, H. 1982. Fertilización nitrogenada de la caña de azúcar. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas INCA. La Habana. P: 40-7.
107. Pérez, H.; Arzola, N; Boza, G.; Muñiz, A.; González, J.; Hernández, Elizabetha, y Suarez, D. 2006. Impacto de la Tarea Álvaro Reinoso en la producción de caña en Cienfuegos. En. Encuentro Nacional de Cátedras Álvaro Reynoso.
108. Pérez, Juana y Casas, M. 2005. Estudio de la interacción Planta *Azospirillum* en el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* sp). *Revista Cultivos Tropicales*. Vol. 26 No 4 p: 13- 16.
109. Pineda, Emma; Rodríguez, I; Moa, R; Becerra y Rentó, F. 2006 . La fertilización potásica en agroecosistemas cañeros. En Taller de fertilidad de los suelos y nutrición de las plantas. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-

- 12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
110. Plana, R.; Fernández, F.; De'll Amico, J.M.; Calderón, A. Y Fundora, L. M. 2006. Respuesta de diferentes granos básicos (*Zea mays*, *Sorghum bicolor*, *L. Moench*, *Trirum*, *durruim L.*) a la aplicación de biofertilizante Licomic. En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
111. Plana, R.; Medina, N.; Moreno, I. y Ramírez, A. 1999. Efectos agronómicos de la biofertilización con dos Rizobacterias en la producción de Trigo (*Triticum aestivum L.*) en Cuba. *Cultivos Tropicales*. Vol. 20, No 4. p. 15.
112. Portieles, M.; Torres, Y.;Gozález, X.; Cabrera,L.; Camejo, M. Y Fernández, M 2006. Efectos de NPK en los rendimientos de la Fruta bomba (*Carica papaya*) en suelos Pardo con carbonato. En Taller de fertilidad y nutrición de las plantas. Congreso Científico del INCA (14: 2006 4 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
113. Pulido, L. E.; Cabrera, A. y Medina, N. 2003. La biofertilización con Rizobacterias y hongos micorrizicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicum sculentus*, Mil) y cebolla (*Allium cepa*). II Colonización radical y estado nutricional. *Cultivos tropicales*. Vol. 24 No 2.
114. Pulido, R. 1997. Mineralización del nitrógeno y pérdidas de nutrientes por quema en un campo de caña de azúcar. Trabajo Especial de Grado. Escuela de biología. Universidad Central de Venezuela. P. 111.
115. Quiroga, A.; Furano, D.y Ormeño, O. 2006. Indicadores de la calidad del suelo. *Ciencias de Suelo*. Año XXXV. No. 275 sept. P. 22.
116. Rivera, R.; Ruíz, L.; Fernández, F.; Sánchez, C.; Riera, M.; Hernández, A.; Kalyanne Fernández; Hernández, A. Y Planas, R. 2006. La simbiosis micorrízica efectiva y el sistema suelo-planta-fertilizante. En: Congreso de la Sociedad Cubana (16:2006 mar, 8-10, La Habana). Memorias CD-Rom. Sociedad Cubana de las Ciencias del Suelo. ISBN: 959-7023-35-0.
117. Resolución 143- (2006.) Precios aprobados para la venta de la caña de azúcar como materia prima.

118. Riera, M. C. 2003. Manejo de la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares y Rizobacterias en secuencias de cultivos sobre suelo Ferralítico rojo. Tesis (opción de Doctor en Ciencias Agrícolas). INCA. P: 27-73.
119. Riera, M.C.; Méndez, M. y Medina, N. 2003 Influencia del efecto post efecto de la micorrización sobre algunos indicadores de las propiedades físicas de un suelo Ferralítico rojo. Cultivos tropicales. Vol. 24, No 23.
120. Ríos, Joania; Arozarena, N. J.; Dibut, B. L.; Ortega, Maricel; Gonzalez, Aida; Brito, L.; Ramos, H; Fernández, J, y Fey, L. 2004. Sustratos orgánicos de diverso origen como soporte de microorganismos de interés agrícola. En: En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 2004 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
121. Ríos, Yoania; Brito, A.L; Dibut, B.; Arozarena, N. J.; Cabrera, N.; Croche, G.; Fey, L.; Ramos, H.; Fernández, F.; Creach, B. y Ortega, Maricel. 2006. Efecto de la aplicación conjunta de *Azotobacter chroococum* y *Bacillus megatherium* var. *Phosphaticum* sobre diferentes indicadores de crecimiento del cultivo del tomate (*Lycopersicon, esculentum* mill) var. Inifat-28. En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 2006 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
122. Rodelas, María Belén. 2001. Interacción *Rhizobium-Azospirillum* y *Rhizobium-Azotobacter*. Efecto sobre la nodulación y fijación simbiótica del dinitrógeno en *Vicia faba*. En: (<http://193.146.205.198/sefin/Ecologia/Rodelas.html>). Rev. 22/9/2006.
123. Rodríguez, S. 2002. La Agricultura Orgánica en Cuba. Avances y retos. Revista Agricultura Orgánica, año 8 No 2.
124. Rodríguez, I.; Pineda, Emma; Más, E. Becerra, E.; Acosta, F.; Quintana, J. M. y Morder, R. 2006. Variación de la fertilidad fosfórica con el tiempo en agroecosistemas cañeros. Taller de fertilidad de suelo y nutrición de las plantas. Congreso Científico del INCA (14: 2006 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.

125. Rodríguez, P. 2002. Influencia de la fertilización nitrogenada sobre las propiedades biológicas y el crecimiento del frijol cultivado en condiciones de montaña. *Café Cacao*, vol. 3 No 3. p. 76.
126. Rodríguez, y.; Ferral,N.; Azcón, C.; Fernández, F. Y Barea, J. M. 2004. Influencia de dos hongos micorrízicos arbusculares (*Glomus intraradices* y *Mosseae*) en la expresión de transportadores de amonio en planta de tomate (*Lycopersicum esculentum* M.) crecida en amonio como fuente nitrogenada. En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 2004 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
127. Rojas, Marcia; Montuote, M. I. Y Heydrich, M. 2006. Potencialidades de la cepa de *Gluconocetobacter diazotrophicus* aisladas de diferentes ecosistemas para la estimulación del crecimiento vegetal. En: Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14:2006 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
128. Roldós, J. E. 1997. Compendio de biofertilizantes en caña de azúcar. Documento Interno Departamento de Suelo y Agroquímica. INICA.
129. Roldós, J. E.; Casa, M.y Pérez, J. 1994. Uso de los biofertilizantes en suelos Ferralíticos cultivados con caña de azúcar. Resúmenes. RECAR. La Habana. P.9.
130. Roldós, J. E.; Casas, M.; Delgado, A. Y Pérez, J. 1994. La biotecnología aplicada a la Agricultura. En: Reunión Iberoamericana ATCC 29145. *J. Bacterial*. 189. p. 1670-1677.
131. Ruiz, L.; Simo, J.; Carvajal, Dinorah. 2004. Manejo de las asociaciones micorrízicas para las hortalizas en suelos Pardos con carbonatos. En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 2004 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.

132. Sanchez, Saray, Simmón, L. y Hernández, M. 2006. Estudio de la fauna edáfica bajo diferentes sistemas silvopastoriles en suelos ganaderos. En. VI Congreso Sociedad de Suelo 16; 2006 mar. 8 0- 10 La Habana. Memorias CD ROM Sociedad Cubana de las Ciencias del Suelo ISBN. 959-7023-35-0.
133. Saura, G. y Fernández, R. 2003. Fijador de nitrógeno Azospirillum. En: [www.fiago.org.sv](http://www.fiago.org.sv). Rev. 5/11/2006.
134. Soria, E.M.; Reyes, C.; Oseguera, Z. Y Pereira, C.M. 2001. Arbuscular mycorrhization in micropropagated sugar cane plant (Sacharum officinarum). Agricultura Técnica (Chile) 6 1(4) p. 436 – 443.
135. Still, R. G. Y Torrie, J. H. 1992. Bioestadística. Principios y procedimientos. Capítulo 9. Análisis de la Varianza. Clasificación Múltiple. Capítulo 7. Análisis de la Varianza por una sola vía. “2da Edición. ISBN. 968-451-495-8. p. 188-190 y 132-134.
136. Terradez, M. 2007. Análisis de componentes. En: [www.uoc.edu](http://www.uoc.edu). Rev: 6/1/2007.
137. Terry, Ana; Planes, Maritza y Cairet,, T. 2004. Efectividad de los abonos microbianos en el cultivo del tomate ( *Lycopersicon esculentum* Mill ), en condiciones de casa de cultivo protegidos. En: Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14:2004 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
138. Torres, R.; Soria, E. M.; Pérez, C. y García, C. 2003. Incrementos del nitrógeno mediante inoculación combinada de bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> atmosférico. Disponible en: (<http://www.ilustrados.com/secciones/Agricultura-Ganadería/html>).
139. Torres, R.; Soria, Eolia; Navarro, C y García Juliana. 1997. Aplicación de la inoculación combinada de bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> atmosférico <http://www.monografía.com/mediake> Rev. 10/12/2006.
140. Torriente, Doris. 2004. Aplicación de biofertilizante a base de Azospirillum soportado en turba en el cultivo de la caña de azúcar. En: Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14:2004 nov 9-12,



- La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
141. Torriente, Doris. 2006. Métodos y formas de aplicación de Rizobacterias de la Caña de Azúcar. En Taller de fertilidad de los suelos y nutrición de las plantas. Ongreso Científico INCA (14: 2006 nov. 9-12. La Habana. Memorias CD- Rom ISBN 959-7023-27 X.
  142. Treto, Eolia; García, M. Martínez-Viera, R. Y Febles, J. M. 2005 Avances en el manejo de los suelos y nutrición orgánica. En: <http://www.desal.org.mx>. Rev. 7/2/2007.
  143. Treto, Eolia; Margarita García; R. Brunet; J. Herrera; J. Kessel; R. Gómez; R. Iglesias y H. Santana. 1992. Nutrición y fertilización de la piña, 20 años de investigación en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Cultivos Tropicales. 13(2-3) p. 5-59.
  144. Van Elasa, J. D y Heijnenc. 1990. Methods for the introduction of bacteria into soil. A Review Biol. Fertil Soils, (10)p. 127-133
  145. Vázquez. Edith y Tomás, S. 1995. Nutrición mineral. Fisiología Vegetal. Editorial. Pueblo y Educación. ISBN: 959-13-0338-6. p. 158-163.
  146. Velasco, Ana y Castro, R. 1999. Estudio de la inoculación de Azospirillum en el cultivo del arroz (*Oriza sativa*) var. A 82 en condiciones de macetas. Cultivo Tropicales 20 (1) p. 5-9.
  147. Villar, J.; Viñals, M.; Alvarez, X. Y Dorta, M. 2005. Tecnología de inoculación de Azospirillum y factibilidad económica de su aplicación agrícola en cultivos seleccionadas. Cultivos tropicales vol. 26 No 3 p. 23-28.
  148. Villega, R. Y Chang, Regla. 1996. Análisis de la fertilización nitrogenada en las cepas de plantas. En: Reporte del Departamento de Suelo y Agroquímica. INICA. Ciudad Habana. P. 17.
  149. Youbain, J.; Cabrera, A.; Arzuaga, J.; Fernández, F. Y Dell Amico, J. 2004. La aplicación de hongos micorrizógenos en soporte sólido y líquido para la producción de lechuga en casa de cultivo. En: Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14:2004 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.

150. Yousset, R. A. y Chino, M. El suelo. Aproximación a la fruticultura integral. En. <http://www.mediterraneadeagroquimicos.es>. Rev. 5/1/2006