

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE *Azotobacter chroococcum*  
Y DIFERENTES FUENTES DE MATERIA ORGÁNICA  
EN EL DESARROLLO DE ESQUEJES DE *Morus alba* L.

**A. Domínguez, A. Pérez, Yaline Soto, A. Días, Illovis Fernández,  
R. Rodríguez, A. Blanco y J. Revilla<sup>1</sup>**

Centro para el Desarrollo de la Montaña  
Limonar de Monte Ruz, El Salvador, Guantánamo, CP 99500, Cuba

E-mail: [odio@toxi.sld.scu.cu](mailto:odio@toxi.sld.scu.cu)

<sup>1</sup> Departamento Agropecuario. Universidad de Oriente.  
Santiago de Cuba, Cuba

La investigación se desarrolló en el Centro de Desarrollo de la Montaña bajo condiciones controladas de casa de vegetación, con el objetivo de determinar el efecto de dos formas de aplicación de *Azotobacter chroococcum* (inmersión y aspersión foliar) combinado con diferentes fuentes de materia orgánica (estiércol de cuy, pulpa de café y humus de lombriz) en el desarrollo de esquejes de *Morus alba*. Se evaluó, a los 14, 21 y 28 días, el porcentaje de esquejes con yemas en brotación (EY) y el número de yemas por esqueje en brotación (NYB); mientras que a los 60 días posplantación se determinó la longitud de las ramas (LR), el número de hojas (NH), la longitud de la raíz (LRa) y el peso seco de la raíz (PRa). Los tratamientos donde se utilizó el humus de lombriz como sustrato solo y combinado con la inoculación de *azotobacter* por inmersión incrementaron el NYB en 58 y 47 %, respectivamente, con relación al control. Se encontró un efecto positivo de ambos tratamientos desde la primera etapa del desarrollo de los esquejes. El humus de lombriz incrementó la LR en 147 %, el NH en 96 %, la LRa en 41 % y el PRa en 170 % con relación al control, sin diferencia con el tratamiento de *azotobacter* que incrementó estos indicadores en 144, 93, 50 y 169 %, respectivamente. Se concluye que la inoculación con *azotobacter* solo no presentó un efecto positivo, mientras que el humus de lombriz solo o combinado con *azotobacter* (inmersión) influyó marcadamente en el crecimiento y desarrollo de los esquejes.

**Palabras clave:** Abonos orgánicos, *Azotobacter chroococcum*, humus, *Morus alba*, pulpa de café

The research was carried out at the Development Center of the Mountain under controlled conditions of vegetation house, with the objective of determining the effect of two application forms of *Azotobacter chroococcum* (immersion and foliar spraying), combined with different sources of organic matter (guinea pig manure, coffee pulp and earthworm humus), on the development of cuttings from *Morus alba*. The percentage of cuttings with bud break (CB) and the number of bud breaks per cutting (NBB) were evaluated after 14, 21 and 28 days; while branch length (BL), leaf number (LN), root length (RL) and root dry weight (RW) were determined 60 days post-planting. The treatments in which earthworm humus was used as substratum alone and combined with the inoculation of *azotobacter* by immersion increased the NBB in 58 and 47 %, respectively, in relation to the control. A positive effect of both treatments was found in the first stage of cutting development. The earthworm humus increased the BL in 147 %, the LN in 96 %, the RL in 41 % and the RW in 170 % in relation to the control with no difference with the *azotobacter* treatment, which increased these indicators in 144, 93, 50 and 169 %, respectively. It is concluded that the inoculation with *azotobacter* alone did not show a positive effect, while the earthworm humus alone or combined with *azotobacter* (immersion) markedly influenced the growth and development of the cuttings.

**Key words:** Organic manures, *Azotobacter chroococcum*, humus, *Morus alba*, coffee pulp

Ante el déficit de materias primas para piensos y en un contexto donde es imprescindible desarrollar una agricultura sostenible, se hace necesario potenciar el uso de los árboles y arbustos forrajeros debido a su alto valor nutricional para los animales (Suárez y Milera, 1996).

La morera es un arbusto que tradicionalmente se utiliza para la alimentación del gusano de seda, aunque se ha incorporado con éxito en la alimentación de pequeños rumiantes, aspecto en el cual radica su verdadera importancia para la nutrición animal. Perteneció al orden Urticales, familia *Moraceae* y género *Morus*; las especies más conocidas son *Morus alba*, L. y *Morus nigra*, L. (Benavides, Esquivel y Lozano, 1995).

La propagación de estas especies es efectiva por estacas, de las cuales prende hasta un 90 % (Benavides, Fuentes y Esquivel, 1993); crecen bien tanto en suelos planos como en elevadas pendientes y se adaptan a diferentes condiciones ecológicas. No toleran suelos de mal drenaje o compactados y necesitan fertilización de forma permanente por poseer altos requerimientos nutricionales; no obstante, responden a la fertilización orgánica (Benavides, Lachaux y Fuentes, 1994) y a la aplicación de bacterias fijadoras de nitrógeno (Das, Choudhury, Ghosh, Katiyar, Rao, Mathur, Mazumder y Madhava, 1994).

Dentro de este grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno se encuentra *Azotobacter chroococcum*, capaz de producir además sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal (Swarupa y Reddy, 1995). Tomando como base lo anterior, dicho microorganismo combinado con suelo Pardo y estiércol vacuno se ha empleado con éxito en la obtención de posturas de cafeto que se caracterizan por incrementos significativos del área foliar, la masa seca y la extracción de nutrientes (Bustamante, Pérez y Rodríguez, 2000).

Otro de los aspectos importantes dentro de una agricultura sostenible, además de potencializar la utilización de los microorganismos con fines benéficos y el uso de árboles y arbustos forrajeros, es el empleo de fuentes orgánicas de origen vegetal y animal, entre las que se encuentran el humus de

lombriz, el compost, los estiércoles, la pulpa de café y los abonos verdes.

Sin embargo, los estudios relacionados con el uso de biofertilizantes en el desarrollo de esquejes provenientes de plantas forrajeras son escasos; de ahí la importancia del presente trabajo, cuyo objetivo fue evaluar la influencia de la aplicación de azotobacter y diferentes fuentes orgánicas en el crecimiento y desarrollo de esquejes de *M. alba*.

## MATERIALES Y METODOS

El trabajo se desarrolló en el Centro para el Desarrollo de la Montaña ubicado a 457 msnm, en el municipio El Salvador, provincia Guantánamo, bajo condiciones controladas de casa de vegetación; se empleó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial, donde las causas de variación fueron: formas de aplicación de *A. chroococcum* (inmersión y aspersión) y diferentes fuentes de materia orgánica (estiércol de cuy, pulpa de café y humus de lombriz). Se utilizaron 15 repeticiones por tratamiento, cada una de ellas estuvo formada por tres esquejes. La descripción de los tratamientos se muestra en la tabla 1.

**Procedimiento experimental.** Se seleccionaron ramas lignificadas de *M. alba*, con una longitud de 20-40 cm y no menos de tres yemas por estaca; se emplearon bolsas de polietileno negro de 14 cm de diámetro por 22 cm de alto, las cuales se llenaron con cada uno de los sustratos estudiados.

La cepa de *A. chroococcum* se aisló de un suelo Pardo de montaña (Hernández, 1994). El inóculo se obtuvo en el medio Dimargon (Dibut, Martínez y González, 1994) con titulación de  $10^{10}$  ufc/mL. Se emplearon las técnicas de inmersión de los esquejes en concentración 1/20 durante 10 minutos en el momento de la siembra y la aspersión foliar en dosis de 50 mL/bolsa.

Los sustratos empleados estuvieron compuestos por suelo combinado con materia orgánica (estiércol de cuy, pulpa de café y humus de lombriz) en proporción de 3:1. Las características físico-químicas de los sustratos se muestran en la tabla 2.

Tabla 1. Tratamientos utilizados en la investigación.

Código	Tratamientos
1	Control
2	Azotobacter por inmersión sin materia orgánica
3	Azotobacter por aspersión sin materia orgánica
4	Estiércol de cuy
5	Pulpa de café
6	Humus de lombriz
7	Azotobacter por inmersión + estiércol de cuy
8	Azotobacter por inmersión + pulpa de café
9	Azotobacter por inmersión + humus
10	Azotobacter por aspersión + estiércol de cuy
11	Azotobacter por aspersión + pulpa de café
12	Azotobacter por aspersión + humus

Tabla 2. Características físico-químicas de los sustratos empleados en el estudio.

Muestras	Densidad aparente (%)	Porosidad total (%)	Capacidad de campo (%)	Materia orgánica (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100 g)	pH
Suelo	0,73	68,39	32,01	2,15	0,32	5,6
Suelo + estiércol de cuy	0,70	70,36	37,84	2,50	2,07	6,4
Suelo + pulpa de café	0,48	81,55	34,00	3,10	1,77	6,8
Suelo + humus de lombriz	0,44	79,78	39,54	4,30	2,12	6,2

Suelo: Pardo con carbonatos

Densidad aparente: Se determinó por el método del cilindro

Porosidad total: Por cálculo

Capacidad de campo: Por el método de la Prensa Richard

Materia orgánica: Por el método colorimétrico, oxidación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.CrO<sub>3</sub>

pH: Por el método potenciométrico con relación sustrato:solución 1:2,5

La pulpa de café y el estiércol de cuy se recogieron después de 4 meses de estar sometidos a un proceso de meteorización.

**Muestreo y evaluación.** Los muestreos se realizaron a los 14, 21 y 28 días para determinar el por ciento de esquejes con yemas en brotación (EY) y el número de yemas por esqueje en brotación (NYB); mientras que a los 60 días posplantación se determinó la longitud de las ramas (LR), el número de hojas (NH), la longitud de la raíz (LRa) y el peso seco de la raíz (PRa).

**Análisis estadístico.** Los datos obtenidos fueron procesados mediante análisis de varianza de clasificación doble con arreglo factorial; las medias se compararon mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan (1955).

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 3 se muestran los resultados desde los 14 hasta los 28 días. El por ciento de yemas en brotación entre los 14 y 21 días de plantados los esquejes se incrementó en los tratamientos 3, 4, 5, 9, 10 y 11; mientras que en el resto se mantuvo constante. A los 28 días solo los tratamientos 4, 7, 8 y 9 no alcanzaron el 100 % de EY, aunque los valores obtenidos se consideran como aceptables. En lo referente al número de yemas brotadas se evidenciaron los mejores resultados en el tratamiento donde se utilizó el humus de lombriz como sustrato, al incrementar este indicador en un 58 % a los 28 días con respecto al control; mientras que su combinación con la inmersión de los esquejes en azotobacter solo lo incrementó a partir de los 21 días hasta los 28 días (47-53 %). Resultados igualmente positivos fueron

informados en café por Bustamente et al. (2000), quienes observaron que al inocular azotobacter por inmersión al 20 % en esquejes de *Coffea canephora*, en un sustrato a base

de suelo Pardo más estiércol vacuno (relación 3:1), se incrementó significativamente el área foliar, la masa seca y la extracción de nutrientes.

Tabla 3. Influencia del azotobacter y diferentes fuentes de materia orgánica en la dinámica de brotación de yemas en esquejes de *M. alba*.

Tratamientos	14 días			21 días			28 días		
	EY (%)	NYB	ES±	EY (%)	NYB	ES±	EY (%)	NYB	ES±
1	100	2,10 <sup>cd</sup>	0,12*	100	2,10 <sup>cd</sup>	0,13*	100	2,10 <sup>cde</sup>	0,13*
2	90	1,78 <sup>de</sup>	0,13*	90	2,33 <sup>bc</sup>	0,14*	100	2,30 <sup>bcd</sup>	0,13*
3	90	2,00 <sup>cde</sup>	0,13*	100	2,00 <sup>cd</sup>	0,13*	100	2,00 <sup>de</sup>	0,13*
4	50	1,60 <sup>e</sup>	0,18*	80	2,00 <sup>cd</sup>	0,14*	90	2,00 <sup>de</sup>	0,13*
5	70	2,86 <sup>a</sup>	0,15*	90	2,50 <sup>b</sup>	0,14*	100	2,56 <sup>de</sup>	0,13*
6	90	2,67 <sup>ab</sup>	0,13*	90	3,20 <sup>a</sup>	0,14*	100	3,33 <sup>a</sup>	0,13*
7	70	2,00 <sup>cde</sup>	0,15*	70	2,00 <sup>cd</sup>	0,15*	90	1,78 <sup>e</sup>	0,13*
8	80	2,25 <sup>bc</sup>	0,14*	80	2,25 <sup>bc</sup>	0,14*	80	2,25 <sup>bcd</sup>	0,14*
9	60	2,00 <sup>cde</sup>	0,16*	80	3,10 <sup>a</sup>	0,14*	80	3,23 <sup>a</sup>	0,14*
10	70	2,29 <sup>bc</sup>	0,15*	100	2,30 <sup>de</sup>	0,13*	100	2,30 <sup>bcd</sup>	0,13*
11	80	2,39 <sup>abc</sup>	0,14*	100	2,40 <sup>bc</sup>	0,13*	100	2,60 <sup>b</sup>	0,13*
12	70	2,57 <sup>ab</sup>	0,15*	70	2,57 <sup>b</sup>	0,15*	100	2,30 <sup>bcd</sup>	0,13*

a,b,c,d,e Medias con letras no comunes difieren a  $P < 0,05$  (Duncan, 1955)

\*  $P < 0,05$

El NYB para la pulpa de café a los 14 días de plantados los esquejes fue superior al de la mayoría de los tratamientos; a partir de ese momento se observó una disminución de este indicador hasta los 21 y 28 días. Sin embargo, al combinarla con azotobacter (aspersión) se incrementó ligeramente el NYB; ello indica la presencia de cierto factor estimulante, debido probablemente a la acción directa del microorganismo estudiado.

La respuesta encontrada con el empleo del humus de lombriz como sustrato solo y combinado con azotobacter puede atribuirse al contenido de enzimas, hormonas activas, nutrientes y microorganismos presentes en el humus, que estimulan el crecimiento de la planta y su posterior absorción de nutrimentos (Ceccanti y García, 1994), unido a un aporte extra de nitrógeno por el efecto de la fijación biológica y el incremento de las sustancias estimuladoras del crecimiento sintetizadas por el azotobacter (Swarupa y Reddy, 1995); todo ello hace que estos tratamientos constituyan una alternativa para la obtención de posturas vigorosas con una mayor supervivencia en el campo.

La inoculación con azotobacter sin fuente de materia orgánica como sustrato, no tuvo un efecto positivo en los indicadores analizados. Esto corrobora lo reportado por Mayea, Novo y Valiño (1982) y Martínez (1986), quienes plantearon que azotobacter es una bacteria heterótrofa que requiere de una fuente de carbono para su mayor eficiencia en el proceso de fijación, aunque la aplicación más eficaz de esta bacteria está ligada al establecimiento de una estrecha relación entre la cepa y el cultivo en cuestión (Tang y González, 1996). Ello quizás pueda considerarse como un factor primario para explicar la ausencia de resultados significativos en el crecimiento y desarrollo de algunas leguminosas y gramíneas inoculadas con cepas de azotobacter (Tang, 1995).

El efecto positivo hallado con la utilización del humus de lombriz solo y combinado con azotobacter desde la primera etapa del desarrollo de los esquejes, se mantuvo durante todo el proceso de crecimiento. De hecho, el tratamiento con humus de lombriz incrementó la LR en 147 %, el NH en 96 %, la

LRa en 41 % y el PRa en 170 % con respecto al control; mientras que con la inmersión de los esquejes en azotobacter antes de la

siembra en un sustrato de humus de lombriz, la LR se incrementó en 144 %, el NH en 93 %, la LRa en 50 % y el PRa en 169,6 % (tabla 4).

Tabla 4. Influencia del azotobacter y diferentes fuentes de materia orgánica en algunas características morfológicas y la biomasa radical de *M. alba*.

Tratamientos	LR	NH	LRa	PRa
1	12,40 <sup>e</sup>	8,70 <sup>de</sup>	14,60 <sup>de</sup>	1,22 <sup>f</sup>
2	18,67 <sup>d</sup>	13,60 <sup>b</sup>	16,60 <sup>bcd</sup>	1,34 <sup>ef</sup>
3	10,48 <sup>f</sup>	6,20 <sup>f</sup>	7,20 <sup>g</sup>	1,17 <sup>f</sup>
4	3,72 <sup>g</sup>	3,40 <sup>g</sup>	11,70 <sup>f</sup>	0,26 <sup>g</sup>
5	25,95 <sup>b</sup>	13,70 <sup>b</sup>	17,70 <sup>bc</sup>	2,88 <sup>b</sup>
6	30,70 <sup>a</sup>	17,10 <sup>a</sup>	20,70 <sup>a</sup>	3,25 <sup>a</sup>
7	12,20 <sup>e</sup>	8,50 <sup>e</sup>	14,30 <sup>e</sup>	1,21 <sup>f</sup>
8	12,46 <sup>e</sup>	10,20 <sup>d</sup>	16,70 <sup>bcd</sup>	1,80 <sup>d</sup>
9	30,27 <sup>a</sup>	16,80 <sup>a</sup>	21,90 <sup>a</sup>	3,29 <sup>a</sup>
10	22,54 <sup>c</sup>	13,0 <sup>bc</sup>	15,49 <sup>cde</sup>	1,32 <sup>ef</sup>
11	18,43 <sup>d</sup>	11,90 <sup>c</sup>	18,20 <sup>b</sup>	2,50 <sup>c</sup>
12	18,45 <sup>d</sup>	10,30 <sup>d</sup>	15,10 <sup>de</sup>	1,60 <sup>de</sup>
ES ±	0,56 <sup>***</sup>	0,56 <sup>***</sup>	0,75 <sup>***</sup>	0,10 <sup>***</sup>

a,b,c,d,e,f,g Medias con letras no comunes difieren a P<0,05 (Duncan, 1955)

\*\*\* P<0,001

Este comportamiento puede explicarse no solo por los elevados porcentajes de nitrógeno, potasio, fósforo y materia orgánica presentes en el humus de lombriz (Dell, Masciandro, Ganni, Ceccanti, García, Hernández y Costa, 1994), que fueron superiores a lo reportado para la pulpa de café por Traba, Maraón, Bermúdez, Verdecia, Santana y Fernández (1994) y Arango, García y Chavez (1995) y a los del presente trabajo para el estiércol de cuy, sino además por el inicio más rápido de la actividad radicular, manifestado en este caso en un mayor número de raíces fisiológicamente activas, las cuales hacen un mejor uso del agua y de los nutrientes disponibles en el sustrato, tan necesarios para las actividades metabólicas de la planta (Clavero, 1998).

De acuerdo con los resultados del presente trabajo, se puede concluir que la inoculación con azotobacter (por inmersión o por aspersión) sin fuente de materia orgánica como sustrato no presentó un efecto positivo en los indicadores analizados; mientras que el humus de lombriz solo o combinado con azotobacter por inmersión influyó marcadamente en el crecimiento y desarrollo de los esquejes de *M. alba*.

## REFERENCIAS

- Arango, B.; García, L. & Chaves, B. 1995. Respuesta del cultivo de la Pitahaya a las aplicaciones de pulpa de café. **Cenicafé**. 46 (4):219
- Benavides, J.; Esquivel, J. & Lozano, Esmerida. 1995. Módulos agroforestales con cabras para la producción de leche: guía técnica para extensionistas. Turrialba, Costa Rica. p. 60
- Benavides, J.E.; Fuentes, M. & Esquivel, J. 1993. Producción de leche de cabras alimentadas con pastos y bajos niveles de morera (*Morus sp.*). Seminario Centroamericano de Agroforestería y Rumiantes menores. Chiquimulas, Guatemala. s.p.
- Benavides, J.E.; Lachaux, M. & Fuentes, M. 1994. Efecto de la aplicación de estiércol de cabra en el suelo sobre la calidad y la producción de biomasa de morera (*Morus sp.*). En: Árboles y arbustos forrajeros en América Central. (Ed. J.E. Benavides). CATIE. Turrialba, Costa Rica. Vol. 2, p. 495
- Bustamante, C.; Pérez, A. & Rodríguez, Maritza I. 2000. Efecto de los biofertilizantes en el logro y crecimiento de posturas de *Coffea canephora* Pierre en suelo Pardo sin carbonatos. En: Salida 1.2 del PNCT 007-03-046. Estación Central de Investigaciones de Café y Cacao: Documento interno. 35 p.
- Ceccanti, B. & García, C. 1994. Coupled chemical and biochemical methodologies to characterize a composting process and humic substances.

- In: Environmental biochemistry in practice. (Eds. B. Ceccanti & C. García). Consiglio Nazionale delle Ricerche. Pisa, Italy. p. 1
- Clavero, T. 1998. Características de crecimiento radicular del pasto elefante enano (*Pennisetum purpureum* cv. Mott). **Pastos y Forrajes**. 21:63
- Das, P.K.; Choudhury, P.C.; Ghosh, A.; Katiyar, R.S.; Rao, Y.R.; Mathur, V.B.; Mazumder, M.K. & Madhava, R.A. 1994. Studies of the effect of bacterial biofertilizers in irrigated Mulberry (*Morus alba*, L.). **Indian J. of Silviculture**. 33 (2):170
- Dell, A.; Masciandro, G.; Ganni, A.; Ceccanti, B.; García, C.; Hernández, T. & Costa, F. 1994. Effect of specific humic fractions on plant growth. In: Humic substances in the global environmental and implications on human health. (Eds. N. Senesi & T. Miano). Consiglio Nazionale delle Ricerche. Pisa, Italy. p. 563
- Dibut, B.; Martínez, R. & González, R. 1994. Dimargon, nuevo medio de cultivo para la producción industrial de biopreparados a base de *Azotobacter chroococcum*. **Cultivos Tropicales**. 15 (1):12
- Hernández, A. 1994. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana. 46 p.
- Martínez, R. 1986. Ciclo biológico del nitrógeno en el suelo. Editorial Científico-Técnica, La Habana. 65 p.
- Mayea, S.; Novo, R. & Valiño, A. 1982. Introducción a la microbiología del suelo. Editorial Pueblo y Educación, La Habana. 187 p.
- Suárez, J. & Milera, Milagros. 1996. Nacedero (*Trichanthera gigantea*). **Pastos y Forrajes**. 19:201
- Swarupa, Glory & Reddy, A. 1995. Prospects of biofertilizer in coffee towards economics and ecofriendly farming. **Indian Coffee**. 50 (5):3
- Tang, M. 1995. Efecto de la inoculación con *Azotobacter chroococcum* en la germinación y altura de las plántulas en dos leguminosas y dos gramíneas. **Pastos y Forrajes**. 18:145
- Tang, M. & González, Isora. 1996. Efecto de diferentes cepas de *Azotobacter* sobre *Panicum maximum* cv. Likoni. **Pastos y Forrajes**. 19:245
- Traba, J.A.; Marañón, A.; Bermúdez, R.C.; Verdecia, M.J.; Santana, María & Fernández, M. 1994. Caracterización de residuales sólidos de café, especie *Coffea arabica* L. **Ciencia**. 45:375

Recibido el 12 de junio del 2000  
Aceptado el 29 de noviembre del 2001