

## **RESPUESTA DE LA SOYA *Glycine max* L. VARIEDAD TAMAZULA S-80 AL FERTILIZANTE LIQUIDO OBTENIDO POR FERMENTACION ANAEROBICA DEL ESTIERCOL DE BOVINOS**

Mercedes de la Garza Curcho<sup>1</sup>  
José Fausto Martínez Peñuelas<sup>2</sup>

### **RESUMEN**

Se efectuó una biodegradación anaeróbica del estiércol de bovinos, separando el líquido del sólido y empleando únicamente el primero. Además de otros nutrientes, la cantidad de nitrógeno total fue de 0.1162 g /lt.

El fertilizante se emplea concentrado y en diluciones 1:75, 1:50 y 1:25.

Como soporte se emplea suelo del bajo de la UAAAN, el cual contiene únicamente 0.05% de nitrógeno total. Además, se usó también arena como soporte, obtenida de bancos puros.

Se emplearon semillas de soya, desinfectadas con peróxido de hidrógeno a 10 volúmenes, enjuagadas con agua estéril. Se sembraron en maceta y regadas con las diluciones mencionadas, del fertilizante.

La nodulación se presentó a los 42 días, y alcanzó su máximo desarrollo a los 63; predominó en la dilución 1:75 y 1:50, y no hubo ninguna nodulación en el tratamiento con fertilizante concentrado. Los rendimientos globales fueron más altos con el fertilizante concentrado.

1 Q.F. M.C. Maestro Investigador del Depto. de Suelos, Div. de Ingeniería, UAAAN

2 Tesista M.C.

## INTRODUCCION

Debido a la creciente demanda alimenticia, es necesario un incremento en la producción agrícola, uno de los aspectos más importantes para conservar y mejorar la fertilidad de los suelos cultivables es la aplicación de fertilizantes químicos, los cuales provienen, en su mayoría, de recursos no renovables, teniéndose ya en la actualidad un déficit. Por tal motivo es necesario la creación de nuevas técnicas generadoras de fertilizantes a partir de recursos renovables, tales como la biodegradación anaeróbica del estiércol de bovinos.

La presente investigación se fundamenta en que en la biodegradación anaeróbica de la materia orgánica no se mineraliza hasta  $\text{CO}_2$  como ocurre en los procesos aeróbicos, sino que se forman productos fácilmente aprovechables que pueden ser utilizados por macro y microorganismos.

El biofertilizante líquido obtenido, se ensayó en soya por su alto valor nutritivo, tanto en la alimentación humana como en la animal, además, por evidenciar la nodulación por *rhizobia* y la adaptación de la soya a estas latitudes.

Los productos finales de la biodegradación del estiércol de bovinos, no sólo tiene cualidades de fertilizantes, sino que en los lodos se estiman propiedades de mejoradores físico-químicos del suelo, y que no son proporcionados por los fertilizantes químicos que se emplean actualmente.

La trascendencia de la presente investigación, es la de proporcionar a los productores una tecnología sencilla y económica para que se obtengan biofertilizantes en su localidad.

## REVISION DE LITERATURA

Baqueda *et al.* (1979) describen la digestión anaeróbica como el proceso de estabilización de la materia orgánica en un medio sin oxígeno, principalmente por la actividad bacteriana. Este proceso involucra siempre a 2 grupos de bacterias que actúan simultánea y equilibradamente; éstas son: las acidificantes y las metanógenas.

El proceso de biodegradación anaeróbica se presenta en 3 etapas: 1) licuefacción de la materia orgánica; 2) formación de ácidos orgánicos

cos (ácidos: acético, propiónico y butírico principalmente); y 3) formación de gas metano. Las etapas mencionadas pueden resumirse en 2 fases fundamentales: licuefacción y gasificación. Los productos finales de la primera se utilizan en la segunda, en un sistema bien balanceado y continuo, en donde la licuefacción y la gasificación ocurren simultáneamente. La licuefacción de la materia orgánica ocurre cuando las enzimas producidas por las bacterias acidificantes catalizan la hidrólisis de carbohidratos complejos, a azúcares simples y alcoholes; de lípidos a glicerol; de proteínas a péptidos y aminoácidos; de grasas a ácidos grasos. La fase de gasificación consiste en la conversión de compuestos orgánicos simples a  $\text{CO}_2$  y metano principalmente, más otros gases en menor proporción, y residuos orgánicos conocidos como lodos digeridos. La producción de metano se debe a la acción de microorganismos de la familia *Methanobacteriaceae*, que son anaerobios estrictos, y que sólo proliferan, naturalmente, en ausencia de oxígeno y a un pH ligeramente alcalino (SAHOP, 1978).

La fase de licuefacción de la materia orgánica se debe a la acción de bacterias incluidas en el género *Clostridium* que son anaeróbicas celulolíticas por la acción enzimática, y desdoblan la celulosa a ácidos orgánicos,  $\text{CO}_2$ , metano e hidrógeno (Allen, 1957).

A diferencia de la transformación aeróbica, la conversión anaeróbica no se afecta en forma perceptible por la adición de nitrógeno orgánico. Puesto que la descomposición anaeróbica proporciona poca energía, las bacterias deben degradar grandes cantidades de sustrato para asimilar una pequeña cantidad de carbono. En consecuencia, existe una demanda proporcionalmente pequeña de nitrógeno para su asimilación dentro de la célula bacteriana, menor a la cantidad normalmente presente en residuos vegetales (Alexander, 1980).

Los residuos líquidos de la fermentación contienen alta concentración de nutrimentos y materia orgánica, los cuales pueden ser utilizados como fertilizante y pueden aplicarse en fresco. Estos residuos contienen los nutrientes mayores (N, P, K) y los menores, además de vitaminas y hormonas, todos benéficos para el crecimiento vegetal y animal. Esta disponibilidad de nutrientes está muy cerca de la dieta óptima que, en determinado sitio, requiere el suelo para el crecimiento de las plantas (Arias Chavez, 1978). Los estudios hasta ahora realizados, demuestran que los biofertilizantes anaeróbicos contienen 2 ó 3 veces más nitrógeno disponible que el mejor compuesto orgánico obtenido aeróbicamente. Están considerados como fertilizantes completos que podrían llegar a competir con los fertilizantes químicos; además, no deterioran al suelo (Baquedano, M. *et al.*, 1979).

## MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en 1981 - 1982 en la UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coah.; el biodigestor se localizó en el área del establo, y los tratamientos en soya en los invernaderos de la institución; los trabajos de laboratorio se efectuaron simultáneamente en el Departamento de Suelos y en un laboratorio particular de la ciudad de Saltillo, Coah.

### Materiales

1. Digestor. Este se fabricó al unir 2 tanques de 200 litros; una vez unidos, se les practicó un orificio alimentador, 2 salidas (una para gases y otra para la salida de los fertilizantes); se impermeabilizaron las paredes del biodigestor interior y exteriormente con el producto Protexa, denominado Emultex Asbéstico, ya que éste no afecta a la biodegradación anaeróbica e impide la corrosión del digestor.

2. Sustratos. Se utilizaron 3: arena, suelo y semihidroponia (basalto lavado) en macetas de plástico No. 10.

3. Material de laboratorio. cajas de Petri y de Felsen de plástico, botellas de vidrio boca angosta con tapón de rosca de 250 ml de capacidad, pipetas graduadas en 0.1 IVA de 10 ml y de 1 ml en 0.01, probetas graduadas, báscula de precisión, bolsas de polietileno para muestreo, pala, tubos de PVC (Cloruro de polivinilo), olla de presión, tambores de plástico de 100 litros, bidones de plástico No. 10, jeringas de plástico de 1 ml, boliagitadores<sup>1</sup>, potenciómetro de Beckman, estufa para cultivos bacterianos, digestor Kjeldhal y microkjeldhal, espectrofotómetro de absorción atómica.

4. Semilla. Soya variedad Tamazula S-80.

5. Medios de cultivo. Medio de ELMA<sup>2</sup> con y sin agar.

### Métodos

1. Operación del biodigestor. Se prepara una mezcla en proporción 1:2 (una parte de estiércol de bovinos secado al aire y 2 partes de agua de la llave), 73.5 kg de estiércol con 67.7% de humedad, más 147 litros de agua, se homogeniza la mezcla previamente para vaciarse dentro del digestor y dejarse fermentar durante un período de 20 a 25 días, a una temperatura promedio de 34.5°C; se suspende la fermentación por la ausencia de burbujas en la superficie del material contenido en el digestor. Bajo estas condiciones se obtienen 3 tipos de fertilizantes: líquidos, semilíquidos y sólidos; en el presente trabajo solamente se utilizaron los líquidos, los cuales se guardaron

1 El boliagitador es un invento de la autora del método MGC y su función es la de substituir al asa de cultivo.

2 ELMA: Extracto de levadura manitol agar.

en bidones de plástico No. 10, que fueron almacenados en refrigeración a 5°C. Tanto al estiércol como al fertilizante líquido, se les practicaron los análisis químicos, dando los resultados que se muestran en los cuadros 1 y 2.

2. Recolección, preparación, análisis del suelo y arena como medios de cultivo.

Experimento 1. Suelo: Se utilizó suelo del bajío de la UAAAN del estrato 0-30, el cual se llevó al invernadero donde se homogenizó y posteriormente se tomó una muestra para análisis fisicoquímicos de rutina, con los resultados que se observan en el cuadro 3.

La arena para este trabajo se obtuvo de bancos puros, previamente lavada.

**Cuadro 1. Análisis de estiércol de bovinos, en 1982.**

Sólidos totales	96.97	%
Humedad	3.07	%
pH	9.4	%
Nitrógeno orgánico	2.46	%
Nitrógeno total	2.52	%
Nitrógeno nítrico	0.06	%
Nitrógeno de urea	0.2574	%
Nitrógeno amoniacal	0.2856	%
Cenizas	30.85	%
Azufre total	0.38	%
Cloruros	0.94	%
Fósforo	0.32	%
Potasio	0.485	%
Calcio	0.20	%
Magnesio	0.216	%
Hierro	0.280	%
Cobre	42.40	ppm
Manganeso	266.80	ppm
Zinc	355.10	ppm
Boro	No detectado	
Cobalto	No detectado	
Molibdeno	No detectado	

**Cuadro 2. Análisis del fertilizante líquido proveniente de la fermentación anaeróbica del estiércol de bovinos, en 1982.**

Sólidos totales	0.42	gr/lt
Humedad	999.58	gr/lt
pH	7.35	
Nitrógeno orgánico	0.053	gr/lt
Nitrógeno total	0.1162	gr/lt
Nitrógeno nítrico	0.0750	gr/lt
Nitrógeno de urea	0.0176	gr/lt
Nitrógeno amoniacal	No detectado	
Cenizas	0.260	gr/lt
Azufre total	0.0009	gr/lt
Cloruros	0.046	gr/lt
Fósforo	0.0011	gr/lt
Potasio	0.0447	gr/lt
Calcio	0.024	gr/lt
Magnesio	0.034	gr/lt
Fierro	0.0021	gr/lt
Cobre	0.01104	gr/lt
Manganeso	0.013	gr/lt
Zinc	0.00303	gr/lt
Boro	No detectado	
Cobalto	No detectado	
Molibdeno	No detectado	

**Cuadro 3. Características físicas y químicas del suelo utilizado en el experimento 1, durante 1982.**

Determinación	Suelo del bajío UAAAN
Arena (‰)	25.5
Limo (‰)	40.0
Arcilla (‰)	37.5
Clasificación textural	Migajón arcilloso
pH (20°C)	7.5
C.E. (mmhos/cm a 20°C)	2.2
Carbonatos (‰)	82.9
Materia orgánica (‰)	1.99
Nitrógeno total (‰)	0.05
CIC (meq/100 g)	68.7
Fósforo (kg/ha)	120.0
Potasio (kg/ha)	295.0

**Cuadro 4. Aplicación total en litros de los tratamientos**

Sustrato	Tratamiento				
	Diluciones del fertilizante			Concentrado	Medio de ELMA sin agar
	1:75	1:50	1:25		
Arena	12.5	12.5	12.5	11.4	12.30
Suelo	20.5	20.5	20.5	22.2	20.30

Las fuentes de nutrimentos utilizadas en un experimento previo fueron: 1) fertilizante líquido en diluciones 1:90, 1:50, 1:10 y concentrado; 2) medio de ELMA sin agar.

Este experimento se estableció en invernadero bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, con un período de duración de 145 días.

Siembra: Se realizó en germinadores de poliuretano, usando como soporte perlita.

Previo a la siembra de semilla, se desinfectó con peróxido de hidrógeno a 10 volúmenes durante un minuto; inmediatamente después, se lavó 6 veces con agua esterilizada, de la llave, para eliminar el efecto del peróxido.

Las macetas de los sustratos, antes mencionados, fueron llevadas al interior del invernadero, en las cuales se trasplantaron a razón de 2 plantas por maceta, cuando las plántulas tenían 2 hojas; posteriormente se inocularon con 1 ml de una suspensión de *Rhizobium japonicum* cepa 512 de la ENCB del IPN, la cual por recuento MGC (Martínez, M.E., 1981) dio una cuenta viable de  $1 \times 10^6$  por ml. La fertilización se programó 7 días después del trasplante y se aplicaron 15 ml de las diluciones 1:75, 1:50, 1:25, fertilizante concentrado y medio de ELMA sin agar; esta operación se repitió a los 42, 63 y 84 días.

## Diseño Experimental

Bajo uno completamente al azar, con 4 repeticiones, se efectuaron los siguientes tratamientos;

Tratamiento	Diluciones
1	1:75
2	1:50
3	1:25
4	Concentrado
5	Medio ELMA sin agar

## Observaciones

Cada 21 días se tomaron los datos de altura de plantas, número de ramas, por ciento de materia seca, determinación de nitrógeno total, días a floración, madurez fisiológica, recuento de vainas por planta, longitud promedio de vainas por planta, número de semillas por vaina y rendimiento total.

Para el recuento total de los *rhizobia* aplicados en forma líquida como inoculantes, se utilizó el método MGC (en cajas de Felsen desechables).

Las muestras vegetativas se procesaron a deshidratación, por 24 hr para molido y después para la determinación de nitrógeno en Kjeldhal.

El análisis estadístico se realizó por pruebas de significancia de Tukey (DSH) con una probabilidad de 0.05.

Experimento 2. Con el mismo diseño, tratamiento y repeticiones del experimento 1, se trabajó bajo condiciones de semihidroponia poniendo como soporte un sustrato de basalto (material ígneo poroso) en invernadero, con una duración de 125 días, siguiendo la metodología del experimento 1.

El volumen de los tratamientos utilizados por maceta fue de 3.5 litros; se colocó en cada maceta un tubo de 1.5 cm de diámetro, el cual sirvió para efectuar el intercambio de las soluciones y gases por subirrigación.

Las soluciones se mantuvieron a un mismo volumen y se repuso la pérdida por evapotranspiración.

El análisis estadístico fue el mismo que se empleó en el experimento 1.



## RESULTADOS

### Observaciones fisiológicas

**Nodulación:** En suelo, arena y semihidroponia se presentó en la segunda etapa de muestreo (42 días) para alcanzar su máximo desarrollo a los 63 días; el tamaño de los nódulos fue mayor en el tratamiento 1:75 y 1:50, y no se encontró nodulación alguna en el tratamiento de fertilizante concentrado. Por lo antes expuesto, se resume que sólo a bajas concentraciones del fertilizante se presentó nodulación.

**Floración:** De una manera general, ésta se inició a los 60 días con un ligero retardo en los tratamientos de alta concentración. Esto se observó en los 3 tratamientos y en el medio de ELMA sin agar.

**Formación de vainas:** Del mismo modo que en la floración, ésta se presentó a los 72 días y se retrasó en los tratamientos de alta concentración del fertilizante y medio de ELMA sin agar.

**Madurez fisiológica:** En suelo, arena y semihidroponia a bajas concentraciones (tratamientos 1:75 y 1:50), ésta fue más rápida; en los tratamientos con fertilizante concentrado y medio de ELMA sin agar se retrasó la madurez del grano.

**Cuadro 5. Número y longitud de vainas.**

Tratamientos	Lm			Nm		
	Arena	Suelo	Semihidroponia	Arena	Suelo	Semihidroponia
1 1:75	3.0	4.6	5.1	5	34	10
2 1:50	3.2	4.8	5.2	5	37	11
3 1:25	3.5	5.0	5.2	6	39	20
4 Concentrado	4.2	5.3	5.5	6	60	30
5 Medio de ELMA sin agar	3.2	4.2	5.2	7	25	9

Lm = Longitud media de vainas en cm

Nm = Número de medio de vainas

**Cuadro 6. Número de granos por vaina**

Tratamientos		Arena	Suelo	Semihidroponia
1	1:75	2	2	3
2	1:50	2	2	3
3	1:25	2	2	3
4	Concentrado	2	3	3
5	Medio de ELMA sin agar	2	2	3

**Cuadro 7. Altura de plantas y número de ramas.**

Tratamientos		Am			Nrm		
		Arena	Suelo	Semihidroponia	Arena	Suelo	Semihidroponia
1	1:75	33.2	49.2	39.6	7	11	7
2	1:50	33.5	50.1	42.7	6	12	8
3	1:25	33.5	51.25	44.7	6	12	9
4	Concentrado	34.0	51.8	46.5	8	12	10
5	Medio de ELMA sin agar	33.5	46.14	49.1	7	11	11

Am = Altura promedio final de plantas en cm

Nrm = Número de ramas total promedio

**Cuadro 8. Producción de materia seca. expresado en gramos**

Tratamientos		Arena	Suelo	Semihidroponia
1	1:75	4.7	14.5	7.4
2	1:50	5.4	18.4	9.2
3	1:35	6.1	23.4	11.5
4	Concentrado	5.2	30.0	15.6
5	Medio de ELMA sin agar	6.2	18.9	15.4

**Cuadro 9. Contenido medio de nitrógeno total (‰) en planta**

Tratamientos		Arena	Suelo	Semihidroponia
1	1:75	1.04	1.01	0.96
2	1:50	1.32	0.93	1.11
3	1:25	1.15	0.64	1.13
4	Concentrado	0.93	1.04	1.63
5	Medio de ELMA sin agar	1.78	1.04	0.71

**Cuadro 10. Rendimiento medio de granos en gramos por maceta**

Tratamientos		Arena	Suelo	Seminidroponia
1	1:75	0.89	7.75	2.26
2	1:50	0.94	9.62	3.23
3	1:25	1.28	10.45	6.36
4	Concentrado.	1.52	25.20	7.02
5	Medio de ELMA sin agar	1.59	5.95	1.30

## DISCUSION

El procedimiento utilizado para obtener fertilizantes orgánicos y acondicionadores del suelo en forma de líquidos nitrogenados, fácilmente aprovechables a partir de recursos renovables, fue posible dado que, como puede observarse anteriormente en esta investigación, la fermentación anaeróbica acelera la disponibilidad nutrimental y por esta razón, la hipótesis planteada que dice: la fermentación anaeróbica del estiércol de bovinos hace más rápidamente disponibles y asimilables a los nutrimentos en comparación con los métodos convencionales de manejo y aplicación del estiércol, se acepta debido a que:

1. La fermentación anaeróbica del estiércol de bovinos tarda aproximadamente 21 días.
2. El fertilizante fluido obtenido por fermentación anaeróbica, contiene mayor concentración nutrimental respecto a la solución nutritiva propuesta por Steinberg (1953).

3. Existe mayor disponibilidad nutrimental para asegurar el ciclo del cultivo de soya, lo cual se manifestó en la mayor parte de los parámetros analizados.

## CONCLUSIONES

Los valores registrados y expuestos en los resultados fueron analizados estadísticamente y correlacionados, de donde se desprenden las siguientes conclusiones:

### 1. Producción de Materia seca.

a) En arena, los tratamientos 5 y 2 fueron los más altos; estos rendimientos estuvieron influenciados por la madurez fisiológica, número de vainas, contenido de nitrógeno y rendimiento de cultivo.

b) En suelo, el tratamiento 4 (fertilizante concentrado) presentó el rendimiento más alto; influyeron los días a floración, madurez fisiológica, longitud y número de vainas, altura de plantas, número de ramas y rendimiento de cultivo.

c) En semihidroponia, el tratamiento 4 (fertilizante concentrado) fue el más alto, influenciado por la formación de vainas, madurez fisiológica, longitud y número de vainas, altura de plantas, número de ramas y rendimiento.

### 2. Contenido de Nitrógeno total.

a) En arena, el contenido de nitrógeno total en el tratamiento 5 fue el más alto; no dependió de ningún parámetro.

b) En suelo, los tratamientos 5 y 4 fueron los de mayor contenido de nitrógeno sin depender de ningún parámetro.

c) En semihidroponia, el tratamiento 4 fue el de mayor contenido de nitrógeno relacionado con días a floración, formación de vainas, madurez fisiológica, altura de plantas y rendimiento.

### 3. Rendimiento medio en granos por maceta.

a) En arena, los tratamientos 5 y 3 fueron los más altos relacionados con días a floración, formación de vainas, madurez fisiológica, número de vainas, altura de plantas y producción de materia seca.

b) En suelo, el tratamiento 4 fue el de mayor producción, y estuvo vinculado con la longitud y número de vainas, altura de plantas y contenido de materia seca.

c) En semihidroponia, el tratamiento 4 fue el de mayor producción y estuvo vinculado con la longitud y número de vainas, materia seca y contenido de nitrógeno.

## SUGERENCIAS

1. En el presente trabajo de investigación efectuado bajo condiciones de invernadero, el tratamiento 4 (fertilizante concentrado) fue el más sobresaliente en los diferentes parámetros estudiados; es recomendable que este mismo trabajo se continúe bajo condiciones de campo, con el objeto de estudiar diluciones de fertilizante líquido comprendidos entre las diluciones del tratamiento 1 (1:75) y del tratamiento 4 (fertilizante concentrado), para encontrar la dilución óptima que debe utilizarse, ya que existe una gran diferencia en la concentración de nutrimentos en los 2 tratamientos y, en algunos casos, el tratamiento 1 (1:75) es competitivo respecto al fertilizante concentrado.

2. El proceso de nodulación observado en este trabajo, se manifestó al aplicar el inóculo en forma líquida cuando las plantas tenían 2 hojas, por lo que sería aconsejable que *Rhizobium japonicum* se aplicara en la primera lámina de riego bajo condiciones de campo, porque tal vez éste sea el método más adecuado para lograr una mejor respuesta de la soya en relación al inóculo.

## BIBLIOGRAFIA

- Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del Suelo. México. Libros y Editoriales, S.A. pp 142 - 161, 170 - 177.
- Arias Chávez, J. 1978. Digestión Anaeróbica de Desechos Orgánicos: Prioridad Estratégica para el Co-desarrollo. Reunión Nacional sobre Energía no convencional.
- Allen, O.N. 1957. Experiments in Soil Bacteriology. Minnesota, U.S.A. Editorial Burgess, Publishing Co. pp. 6.
- Baquadano Muñoz, M., M.A. Young-M. y Morales, H.L. 1979. Los Digestores: en Energía y Fertilizantes para el Desarrollo Rural. Xalapa, México. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. pp. 6-20.
- Martínez, M.E. 1981. Análisis Comparativo del Método Clásico y el Método MGC para Recuentos Bacterianos en Suelos Agrícolas. Tesis de M.C. Saltillo, México. Colegio de Graduados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp. 11-20.
- Martínez, P.J.F. 1982. Respuesta de la Soya *Glycine max* L., variedad Tamazula S-80 al fertilizante líquido obtenido por fermentación anaeróbica del estiércol de bovinos. Tesis de M.C. Saltillo, México. Colegio de Graduados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- SAHOP. 1978. Construcción de un Digestor de Desechos Orgánicos. Cuernavaca, México. Instituto de Investigaciones Eléctricas de la UNAM. pp 1 - 6.
- Steinberg, R.A. 1953. Symptoms of Molybdenum Deficiency in Tobacco. Plant. Physiol. 28:319-322.