

EFFECTO DE LA VINAZA SOBRE EL CRECIMIENTO Y PRODUCTIVIDAD DE LA SOJA (*GLYCINE MAX*) EN CONDICIONES SEMICONTROLADAS

JUAN A. GONZÁLEZ^{1*}, SEBASTIÁN E. BUEDO¹, FERNANDO E. PRADO² y
SABRINA ÁLVAREZ³

Summary: Effects of vinasse on the growth and productivity of soybean (*Glycine max*) under semicontrolled conditions. The vinasse is an effluent generated in the production of ethanol. It is constituted by 90% water with acid pH and contains 10% of organic and inorganic compounds. The great volume of vinasse generated annually can lead to large scale contamination of both soils and water courses, which consequently can lead to socioeconomic risks. To counteract this problem, one viable possibility may be the use of vinasse as fertilizer to different crops. However, this possibility requires an evaluation of vinasse effects on plants and soils during short- and long-time periods. In this study the effect of different vinasse dilutions (1:1, 1:5 and 1:10 v/v) on the growth and productivity of soybean crop under semicontrolled conditions was evaluated. Plant height, stem diameter and leaf number did not vary significantly when comparing with the control (without vinasse). While specific leaf area (SLA) and leaf nitrogen content if were affected. Grain volume was not affected under all vinasse treatments whereas grain yield was only affected at the lowest dilution. Results are discussed in relation to stress induced by vinasse treatment.

Key words: Vinasse, contamination, soybean, growth, stress, yield.

Resumen: La vinaza es un efluente que se genera en la obtención de etanol, está constituido en un 90% por agua, su pH es ácido y contiene 10% de compuestos orgánicos e inorgánicos. El enorme volumen de vinaza que se genera anualmente, puede llevar a la contaminación de suelos y cursos de agua en gran escala con el consiguiente riesgo socioeconómico que tal situación puede producir. Una posibilidad para dicha problemática puede ser la utilización de la vinaza para fertirriego de diferentes cultivos. Sin embargo, tal posibilidad requiere evaluar sus efectos sobre las plantas como en los suelos a mediano y largo plazo. En este estudio se evaluó el efecto de diferentes diluciones de vinaza (1:1, 1:5 y 1:10 v/v) sobre el crecimiento y productividad de la soja bajo condiciones semicontroladas. La altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas no variaron significativamente respecto al control sin vinaza; mientras el área foliar específica (AFE) y el contenido de nitrógeno foliar si resultaron afectados. El volumen de grano no resultó afectado en todas las diluciones aplicadas; en tanto que, el rendimiento granario solo fue afectado a la menor dilución. Los resultados se discuten en términos del estrés provocado por la vinaza.

Palabras clave: Vinaza, contaminación, soja, crecimiento, estrés, rendimiento.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas ambientales que enfrenta la actividad sucroalcoholera en el Noroeste Argentino (NOA), y en especial en la provincia de Tucumán por ser la que más etanol produce, es la generación de vinazas. Este residuo, producto

de la destilación de la melaza para la obtención de etanol, se caracteriza por una elevada carga orgánica, pH ácido y sobre todo por el enorme volumen que se genera cada año. La vinaza, se encuentra entre los residuos industriales de mayor efecto contaminante sobre los ecosistemas ya que se caracteriza por una demanda química de

¹ Fundación Miguel Lillo - Instituto de Ecología - Miguel Lillo 251 - (4000) Tucumán (Argentina).

² Facultad de Cs. Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán, Cátedra de Fisiología Vegetal, Miguel 205, (4000) Tucumán, Argentina.

³ Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Ayacucho 471 - Tucumán, Argentina.

* jagonzalez@lillo.org.ar

oxígeno (DQO₅) entre 60.000 y 70.000 mg/L y un pH alrededor de 4,4 (Cárdenas *et al.*, 1984; Madejón *et al.*, 2001; Urbano Terrón, 2002). En relación al volumen de vinaza que se genera en el proceso de destilación, se considera que por cada litro de alcohol se generan entre 10 y 12 litros de vinaza (Quintero *et al.*, 2006). Dado que en los últimos años la producción de alcohol ha mostrado un sostenido crecimiento, la generación de vinaza también experimentó un fuerte aumento lo que lleva aparejado un potencial riesgo para el medio ambiente de no mediar rápidas y eficaces soluciones para esta problemática. En el caso de la provincia de Tucumán la producción de alcohol derivado de la melaza se incrementó desde los 150.000 m³ en el año 2006 hasta los 280.000 m³ en la zafra 2015/2016; lo que se tradujo en la generación de 1.800.000 m³ y 3.360.000 m³ de vinaza, respectivamente (Ministerio de Agroindustria, 2016). Los volúmenes mencionados no sólo dan una idea de la magnitud del problema, sino de la propia imposibilidad que representa el almacenamiento de los mismos por largo tiempo. Esta situación coloca a la industria sucroalcoholera en la necesidad de buscar alternativas tanto para disminuir la generación de vinaza en la producción de alcohol como en la reutilización de la que se genera, mediante adecuaciones tecnológicas y/o biotecnológicas.

La vinaza en promedio contiene aproximadamente 90% de agua y 10% de materia orgánica e inorgánica, pero su composición química varía con el proceso de destilación empleado, la materia prima utilizada, el sistema de fermentación implementado y el tipo de levadura utilizada (Gómez Toro, 1996; García *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2008). En términos generales la composición química de la vinaza, además de agua, incluye compuestos orgánicos como hexosas (glucosa y fructosa) y ácidos volátiles (fórmico, butírico) y no-volátiles (aconítico, láctico, fumárico, málico, sucínico y cítrico), e inorgánicos como Ca, Mg, K, bicarbonato, cloruro y sulfato, entre otros (Cárdenas *et al.*, 1984; Dantur *et al.*, 1996; González, 2000). En base a su composición química, algunos investigadores han propuesto la aplicación directa de la vinaza como fertilizante en el cultivo de la caña de azúcar (Dantur *et al.*, 1996, Scandaliaris *et al.*, 1985, 1987). En ese sentido, se ha demostrado que la aplicación de vinaza a los campos azucareros mejora la productividad

del cultivo y el rinde sacarino; demostrándose con ello que la vinaza puede sustituir parcial o totalmente la fertilización tradicional (Gómez Toro, 1996). En la provincia de Tucumán, se han realizado investigaciones que demuestran que aplicando hasta 150 m³ por hectárea/año de vinaza en el cultivo de la caña de azúcar, no se presentan problemas para los suelos (Fadda & Morandini, 2007). Sin embargo, es importante destacar que la vinaza contiene un elevado porcentaje de K, por lo que su aplicación en los campos debe ser cuidadosa para evitar la acumulación de este ión; lo que podría conducir a la salinización potásica de los suelos. Otras alternativas propuestas en nuestra provincia dentro del Programa de Reconversión Industrial (PRI) incluyen el uso de la vinaza junto a otros desechos de la caña de azúcar (bagazo) para la elaboración de compost, o en caldos de cultivo para producir inoculantes destinados al tratamiento de desechos de la industria citrícola. En otros países azucareros también se han propuesto diferentes procedimientos para la eliminación de la vinaza. Dichos procedimientos incluyen, entre otros, la digestión anaeróbica para producir biogás que podría usarse como combustible en la propia destilería con el consiguiente beneficio económico (Valdés *et al.*, 1992). Según estos mismos autores, el lodo residual podría emplearse a su vez como alimento animal o biofertilizante. Por otra parte, también se propuso la concentración de la vinaza y su posterior incineración para producir energía (Chaves Solera, 2004; Perera, 2009), para la restauración del suelo (Tejada *et al.*, 2007) o como aditamento alimenticio para cerdos (Sarría & Preston, 1992). También se ha propuesto la utilización de la vinaza para la producción de algas como la *S. máxima* para la obtención de aceites orgánicos para ser usados como biocombustibles (Montenegro-Ferraz *et al.*, 1986). Incluso se ha intentado usar la vinaza para el control de hongos fitopatógenos (Santos *et al.*, 2008).

Si bien, las propuestas para eliminar la vinaza son bastantes numerosas y diversas, su control y gestión aún no está resuelta en ningún país. En la región NOA esta preocupación solo se ha materializado en el control estatal de su confinamiento en piletas de almacenamiento para evitar su vertido en los cursos de agua. Sin embargo, esta es una solución parcial ya que el volumen de vinaza producido es muy elevado. Al momento existe un consenso generalizado que el excesivo volumen de vinaza

generado requerirá la implementación de diferentes métodos y/o estrategias de control o reuso; es decir, la combinación de distintos procedimientos hasta arribar a una solución integral de esta problemática. Por lo tanto, el estudio de alternativas de reuso para este desecho se ha convertido en una necesidad ambiental, social y económica de extrema urgencia.

Aunque la mayor parte de los estudios locales sobre el efecto de la vinaza en especies vegetales se han concentrado casi en forma exclusiva sobre la caña de azúcar (Scandaliaris *et al.*, 1985, 1987; Dantur *et al.*, 1996; Gómez Toro, 1996), algunos estudios sobre otras especies también fueron llevados a cabo. Así, se demostró que la dilución de la vinaza en agua (1:5, 1:10 y 1:20 v/v) afectaba en no más del 10% la germinación de soja, trigo y quinoa bajo condiciones controladas (González *et al.*, 2014). En el mismo estudio, se demostró también que la aplicación de vinaza afectaba el crecimiento radicular. De lo que surge que resulta necesario profundizar estas investigaciones, en especial sobre el crecimiento y la fisiología, para un mejor entendimiento del efecto de la vinaza sobre los diferentes cultivos que se desarrollan en la región NOA. Por ello, en este estudio se analiza el efecto de la vinaza sobre un cultivo muy difundido en el NOA como es la soja. Concretamente se propone evaluar el efecto de distintas diluciones de vinaza sobre los parámetros de crecimiento y la producción de grano bajo condiciones semicontroladas (invernadero).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de crecimiento

Se utilizaron semillas de soja (*G. max*) variedad A 6126 (semillero NIDERA). Las mismas se sembraron en macetas de 8 L de capacidad que contenían tierra proveniente de una zona sojera de la provincia de Tucumán (Ruta 303, entrada a Los Lapachitos, 26° 52' 34" S y 64° 53' 07" E, 422 m snm). Dicha tierra consiste en suelo tamizado (desprovisto de piedras y restos vegetales) que se extrajo a 10-20 cm de profundidad a lo largo de una diagonal en un cuadrado imaginario de 50x50 m. Una porción del material tamizado fue separada y sometida a un análisis físico-químico.

La profundidad de siembra fue de 2-3 cm. Al momento de la siembra se colocaron 6 semillas por maceta agrupadas de a dos y equidistantemente

distribuidas. Con este esquema se obtuvieron 6 plantas por macetas, pero para evitar competencias entre ellas se dejaron solamente tres por maceta. Los primeros 40 días de desarrollo fueron al aire libre y después de ese tiempo se trasladaron las macetas a un invernadero donde permanecieron 14 días (período de aclimatación) antes de iniciar el tratamiento con vinaza.

Tratamiento con vinaza

Luego del período de aclimatación se separaron las macetas en 4 grupos. Las macetas de grupos 1, 2 y 3 (tratamiento) se regaron con vinaza diluida en agua (1:1, 1:5 y 1:10 v/v), mientras que las del cuarto grupo (control) se regaron solo con agua. Los riegos se realizaron cada 2-3 días para evitar el estrés hídrico. Durante todo el periodo de tratamiento (113 días) se registraron cada hora dentro del invernadero la temperatura ambiente (T), humedad relativa (HR), radiación visible (RV) y radiación fotosintéticamente activa (RFA) con sensores específicos acoplados a dataloggers.

Vinaza utilizada

La vinaza utilizada en las experiencias fue provista por un ingenio ubicado en la Banda de Río Salí (Departamento Cruz Alta, Tucumán). La misma fue obtenida antes de la entrada a las piletas de contención. Al momento de la toma de muestras se registró la temperatura de la vinaza, el pH, la conductividad eléctrica (CE), la turbidez, el oxígeno disuelto (OD) y la salinidad con una sonda multiparamétrica (Horiba, Japan) calibrada previamente.

Análisis físico-químico del suelo

El análisis del suelo utilizado para la siembra se realizó en el laboratorio de análisis químicos de la Estación Experimental Agrícola Obispo Colombes (EEAOC).

Crecimiento de las plantas

Para estimar el crecimiento de las plantas se midió la altura, diámetro del tallo principal, número de hojas, número de nudos, área foliar específica (AFE) y masa foliar específica (1/AFE). La altura de las plantas se midió con una cinta milimétrica mientras que el diámetro del tallo se lo hizo con un calibre digital. Estas mediciones se repitieron cada 2-3 días hasta que la altura alcanzó su máximo (72-76 días posteriores a la siembra). Para estimar

el AFE se tomaron hojas de plantas completamente desarrolladas a razón de 5 por cada ensayo. De cada una de ellas, se extrajeron muestras con un sacabocados (10 discos de 8,29 mm de diámetro). Los discos que se obtuvieron se colocaron dentro de sobres de papel y se secaron en estufa a 84°C hasta peso constante (24- 36 h) a fin de obtener el peso seco (PS). Con el valor del PS y el área de los discos extraídos se procedió a calcular el AFE, expresado en $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ PS. La inversa del AFE o masa folia específica (MFE), se expresó en mg de PS cm^{-2} de hoja.

Pigmentos fotosintéticos y protectores (absorbentes de UV-B y antocianos)

Para determinar los pigmentos fotosintéticos y absorbentes de UV-B se usaron las mismas hojas que se utilizaron para obtener el AFE. De la parte media de la semilamina de cada hoja se sacaron 3 discos de 2,89 mm de diámetro empleando un sacabocados metálico. Los discos extraídos se colocaron en tubos Eppendorf conteniendo 2 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) y se dejaron en estufa a 45°C por 12 h en condiciones de oscuridad (Chappelle *et al.*, 1992). El contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenoides se determinó a partir de las lecturas de absorbancia a 649, 665 y 480 nm en un espectrofotómetro UV-visible (U-2800, Hitachi, Japan). El contenido de pigmentos fotosintéticos se obtuvo a partir de las fórmulas de Wellburn (1994):

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = (12,19 * A_{665}) - (3,45 * A_{649})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = (21,99 * A_{649}) - (5,32 * A_{665})$$

$$\text{Clorofila total (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = \text{Cl } a * \text{Cl } b$$

$$\text{Carotenoides (}\mu\text{g ml}^{-1}\text{)} = (1000 * A_{480} - 2,14 * \text{Cl } a - 70,16 * \text{Cl } b) / 220$$

Los pigmentos protectores se obtuvieron usando 2 discos foliares y 2 ml de metanol acidulado (metanol, HCl, agua 79:1:20) de acuerdo a la técnica de Mirecki & Teramura (1984). Para los pigmentos absorbentes de UV-B y antocianos las lecturas de absorbancia se hicieron a 305 nm y 540 nm, respectivamente. El contenido de los mismos se expresó como A_{305}/g PS y como A_{540}/g PS, respectivamente.

Contenido de nitrógeno foliar (N_f)

Para determinar el contenido de N_f se secaron hojas adultas de plantas completamente desarrolladas en estufa a 45°C durante 24–36 horas. Una vez transcurrido este tiempo, el material seco

se molió a polvo fino y se procedió a determinar el contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl.

Rendimiento granario

Para obtener el rendimiento granario se procesaron 20 plantas diferentes de cada tratamiento cosechadas a los 113 días de iniciado el cultivo. El resultado se expresó en g/planta . Paralelamente se determinó el peso de 1000 semillas y se midió el diámetro de las mismas. A partir del diámetro del grano, asumiendo que tiene forma esférica, se calculó su volumen.

Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se analizaron mediante el test de Shapiro para conocer la distribución y luego una prueba F (Fisher) para determinar la homogeneidad o heterogeneidad de las varianzas. Para establecer la existencia o no de diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0,05$ y $p \leq 0,01$), se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el paquete estadístico Infostat (versión 1.1).

RESULTADOS

Parámetros fisicoquímicos del suelo y de la vinaza

Los parámetros fisicoquímicos del suelo utilizado para llenar las macetas se muestran en la Tabla 1. Su pH es moderadamente alcalino y no presenta características de suelo salino de acuerdo a los valores de resistencia eléctrica. El contenido de materia orgánica es bajo lo mismo que el de carbonato de calcio, pero no así el de fósforo que resultó alto. Los parámetros fisicoquímicos de la vinaza se resumen en la Tabla 2. El pH resultó ácido, con elevada conductividad eléctrica y elevada turbidez. El grado de salinidad fue alto, mientras que el OD fue bajo.

Datos climatológicos del invernadero

En la Tabla 3 se resumen los datos de temperatura (T), humedad relativa (HR), radiación visible (RV) y radiación fotosintéticamente activa (RFA) registrados en el interior del invernadero que contenía las macetas de los distintos tratamientos.

Parámetros de crecimiento

El crecimiento en altura mostró la típica forma sigmoidea en todos los tratamientos incluido el

Tabla 1. Propiedades físico-químicas del suelo utilizado para el cultivo de soja bajo diferentes riegos con vinazas.

Lugar	Profundidad (cm)	pH	R.E. (Ohms)	Textura	M.O. (%)	P (ppm)	CO ₃ Ca (%)
Ruta 303 - Los Lapachitos	10 – 20	8	781	Franco-Arenoso	1,6	24,6	0,2

R.E.: Resistencia eléctrica a 15,6°C; M.O.: Materia orgánica; P: Fósforo. Análisis en el Laboratorio de Suelos de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC)

Tabla 2. Propiedades físico-químicas de las vinazas utilizadas.

pH	C.E. (mS cm ⁻¹)	Turb. (NTU)	O.D. (mg L ⁻¹)	T (°C)	Sal. (%)
4,8	40,9	999	0,19	75	2,6

C.E.: Conductividad eléctrica; Turb.: Turbidez; O.D.: Oxígeno Disuelto; T.: Temperatura de la vinaza al momento del muestreo; Sal: Salinidad.

Tabla 3. Resumen de datos micrometeorológicos registrados dentro del invernáculo donde se cultivó la soja con vinazas.

	T (°C)	HR (%)	RV (W m ⁻²)	RFA (μmol m ⁻² s ⁻¹)
Media	17,3	61,9	216,6	357,9
Máxima	27,2	83,7	1117,5	1969,8
Mínima	11,1	33,6	-	-

T: temperatura dentro del invernáculo; HR: Humedad Relativa dentro de invernáculo; RV: Radiación visible; RFA: Radiación fotosintéticamente activa.

control sin vinaza. En todos los casos la mayor velocidad de crecimiento se observó entre los días 20 y 70 de cultivo. La altura máxima alcanzada por las plantas control fue de 38,5 cm mientras que en los diferentes tratamientos dicho valor osciló entre 36,1 y 38,2 cm. En todos los casos no se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con el control. El diámetro de tallo en los distintos tratamientos no presentó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) respecto al control. El número de hojas, por su parte, fue significativamente menor en los tratamientos con vinaza diluida 1:1 y 1:5 pero no en la dilución 1:10. Con relación al número de nudos, no se observaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos 1:5 y 1:10, pero si respecto al tratamiento 1:1. El AFE mostró diferencias altamente significativas ($p \leq 0,01$) entre el control y los tratamientos, mientras que el contenido de nitrógeno foliar (N_f) también mostró diferencias significativas entre los mismos. En los tratamientos 1:1 y 1:5 el N_f disminuyó 19% y 27% respectivamente, mientras que en la mayor dilución (1:10) dicha disminución fue solo del 9,6% (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto del riego con vinazas diluidas en soja sobre la altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas, número de nudos, área foliar específica (AFE) y contenido de nitrógeno foliar.

Trat.	Altura (cm)	Diámetro tallo (cm)	Nº de hojas	Nº de nudos	AFE (cm ² g ⁻¹ PS)	N ₂ foliar (%)
Control	38,5 (1,4) a	3,95 (0,3) a	14,0 (1,9) a	8,42 (0,4) a	247,9 (10,0) a	2,70 a
1:1	36,8 (2,1) a	3,85 (0,7) a	12,67 (1,9) b	8,00 (0,3) b	192,3 (11,3) b	2,20 b
1:5	38,2 (3,8) a	3,98 (0,4) a	13,38 (2,1) b	8,25 (0,5) a	195,2 (20,1) b	1,96 b
1:10	36,1 (2,7) a	4,05 (0,3) a	14,0 (2,1) a	8,19 (0,8) a	195,4 (5,80) b	2,44 b

Trat.: Tratamientos. Los valores de altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas y número de nudos son el promedio de 20 plantas diferentes. El valor del AFE expresado es el promedio de 5 plantas diferentes. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estandar. Letras diferentes significa que existen diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con respecto al control.

Rendimiento granario y características de las semillas

Los tratamientos 1:1 y 1:5 afectaron al número de vainas por planta ($p \leq 0,05$). Sin embargo, en el tratamiento 1:10 esta variable no presentó diferencias estadísticamente significativas con el control. Considerando el número de semillas por planta y el volumen de las mismas, el único tratamiento donde se observaron diferencias significativas fue la dilución 1:1 con valores que resultaron diferentes en un 18% y 14% respectivamente (Tabla 5). Por su parte, el peso de 1000 semillas mostró una disminución del 7% en el tratamiento 1:1 respecto al control, pero el análisis estadístico no reveló diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Pigmentos fotosintéticos y protectores (absorbentes de UV-B y antocianos)

Tanto el contenido de clorofila *a* como el de clorofilatotal resultaron afectados significativamente en todos los tratamientos respecto al control. Sin embargo, el contenido de Cl *b* y carotenoides al igual que la relación Cl *a*/Cl *b* no difirieron significativamente del control. Respecto a los pigmentos absorbentes de UV-B, la única diferencia significativa con el control (-29%) se observó en el tratamiento 1:1; mientras en los restantes tratamientos los valores fueron similares al control. En el caso de los antocianos la disminución fue bastante pronunciada en todos los tratamientos especialmente en el 1:1, con reducciones que oscilaron entre el 40% y el 70% (Tabla 6).

Tabla 5. Efecto del riego con vinazas diluidas en soja sobre el número de vainas, número de semillas por planta, peso de 1.000 semillas y volumen de las mismas bajo distintos tratamientos.

	Vainas pl^{-1}	Semillas pl^{-1} (g)	1000 semillas (g)	Volumen de semillas (mm^3)
Control	14,3 (2,8) a	3,17 (0,9) a	123,9 (15,2) a	84,4 (7,2) a
1:1	12,4 (1,3) b	2,61 (0,7) b	114,7 (12,0) a	72,5 (10,1) b
1:5	12,6 (2,2) b	3,10 (0,9) a	123,1 (12,1) a	91,7 (9,2) a
1:10	13,2 (3,0) a	3,10 (1,1) a	120,5 (9,3) a	91,2 (7,5) a

Los valores de vainas/planta son el promedio de 20 plantas diferentes. El peso de 1000 semillas es el correspondiente a 20 grupos de 1.000 semillas cada uno. El volumen consignado es la media de 100 semillas elegidas al azar. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. Letras diferentes significa que existe diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Tabla 6. Efecto del riego con vinazas diluidas en soja sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos y protectores bajo distintos tratamientos.

	Cl <i>a</i> ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Cl <i>b</i> ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Cl <i>a</i> +Cl <i>b</i> ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Cl <i>a</i> /Cl <i>b</i>	Carotenoides ($mg\ g^{-1}\ PS$)	Abs ₃₀₅ $mg^{-1}\ PS$	Antocianos $abs540\ g^{-1}\ PS$
Control	4,35 (0,42) a	1,14 (0,16) a	5,49 (0,57) a	3,82 (0,2) a	1,03 (0,09) a	1,05 (0,01) a	46,8 (6,7) a
1:1	3,90 (0,10) b	1,03 (0,03) a	4,93 (0,13) b	3,79 (0,1) a	0,96 (0,06) a	0,75 (0,05) b	14,5 (1,7) b
1:5	3,79 (0,34) b	1,02 (0,15) a	4,81 (0,49) b	3,72 (0,2) a	0,97 (0,08) a	1,01 (0,05) a	27,7 (8,7) b
1:10	3,89 (0,37) b	1,01 (0,11) a	4,91 (0,48) b	3,85 (0,1) a	0,99 (0,07) a	0,93 (0,16) a	28,1 (8,9) b

Cl *a*: Contenido de clorofila *a*; Cl *b*: Contenido de clorofila *b*. PS: peso seco. El valor consignado para cada isoforma de clorofila es el promedio de 5 plantas distintas y el valor entre paréntesis corresponde a la desviación estándar. Letras diferentes significa que existen diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con el control.

DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo demuestran que el efecto de la vinaza sobre el crecimiento de plantas de soja bajo condiciones semicontroladas (invernadero) depende de la dilución de vinaza que se utilice. Los resultados concuerdan parcialmente con experiencias realizadas con la misma especie, en condiciones de campo y distintas aplicaciones de vinazas, donde se demostró que con riego superior a los 150 m³ de vinaza por hectárea, las plantas resultaban afectadas en su crecimiento, con disminuciones en la altura y diámetro de tallo (Muniz *et al.*, 2015). A diferencia de estos resultados, nuestros datos no mostraron diferencias significativas en los mismos parámetros cuando se compararon las plantas tratadas con las plantas control. Según los autores mencionados, las diferencias observadas podrían relacionarse al exceso de K presente en la vinaza sin diluir o a bajas diluciones (Muniz *et al.*, 2015). No obstante, esta posibilidad aún debe estudiarse con más detalles debido a que en las vinazas también se encuentran presentes otros iones que podrían actuar en forma individual y/o sinérgica afectando el normal desarrollo de las plantas. Por otra parte, investigaciones realizadas con plántulas de *Eucalyptus* de 90 días de edad, sometidas a riego con distintas diluciones de vinaza (15%, 30%, 45% y 60%), no solo no mostraron reducciones en el desarrollo y crecimiento de las plántulas; sino que por el contrario la altura de las mismas, el diámetro del tallo y la acumulación de biomasa aumentaron a medida que aumentaba la concentración lográndose los mayores incrementos a la concentración 60% (El Marouni *et al.*, 2016). Por otra parte, Murillo *et al.* (1998), utilizando vinaza proveniente del procesamiento de la remolacha azucarera sobre el girasol, demostró que el crecimiento de las plantas no fue afectado por la vinaza tanto en cultivos en macetas como a campo. En otras experiencias, donde se utilizó vinaza proveniente de la fabricación de tequila en distintas diluciones (25%, 50%, 75% y 90 %) para fertirrigar plantas de maíz, tampoco se encontraron efectos negativos sobre la altura de las plantas (Popolizio, 2017). Sin embargo, en relación al número de hojas se presentaron dos situaciones dependientes de la dilución. Así para diluciones al 50% y 75% el número de hojas disminuyó con respecto al control, mientras que a la dilución 90% esta variable no resultó afectada (Popolizio, 2017).

En nuestros resultados se observa también que en las diluciones 1:1 y 1:5 el número de hojas disminuyó con respecto al control, pero en la dilución 1:10 esta variable no resulta afectada. Teniendo en cuenta que el proceso de crecimiento de una planta representa el incremento de peso seco como resultado de la división, expansión y diferenciación celular (Lambers *et al.*, 1998), se puede hipotetizar que los tratamientos con vinaza en las diluciones utilizadas en este trabajo, no afectaron dichos procesos en relación a la altura de la planta y el diámetro del tallo. Sin embargo, al resultar afectado el número de hojas, surge la necesidad de estudiar la mayor o menor sensibilidad de cada órgano de la planta frente a cada dilución ensayada. Por otra parte, el AFE de las plantas de soja utilizadas en nuestro estudio sí resultó afectado por la vinaza. Al ser esta una variable que relaciona el área foliar con el peso seco, se convierte en un estimador indirecto del espesor de lámina foliar. Asimismo, la inversa del AFE o masa foliar específica (MFE) representa la inversión en carbono que la planta destina para lograr una superficie determinada de hoja. En ese sentido, el AFE y la MFE representan variables altamente sensibles al estrés y por lo consiguiente de gran utilidad para evaluar el efecto de diferentes agentes estresantes (Lambers *et al.*, 1998). Teniendo en cuenta los valores de AFE y MFE obtenidos para las plantas de soja cultivadas en presencia de vinaza, puede concluirse que las mismas se desarrollaron bajo condición de estrés impuesta por la vinaza. En general, se conoce que la salinidad provoca incrementos en el espesor de la epidermis y del mesófilo así como en el largo y diámetro de las células en hojas de diferentes especies (Longstreth & Nobel, 1979); por lo tanto, podría asumirse que en el caso de la soja la condición de estrés podría deberse al exceso de iones, principalmente cationes, presentes en la vinaza. Este estrés habría provocado en las plantas irrigadas con vinazas una mayor inversión en carbono por metro cuadrado de superficie foliar.

En relación al contenido de nitrógeno foliar se conoce que el mismo afecta, entre otros, diferentes parámetros vinculados al crecimiento de las plantas. Así puede afectar el número y tamaño de las hojas, el AFE y la producción de biomasa (Gastal & Lemaire, 2002). También se conoce que el contenido de nitrógeno del suelo está íntimamente relacionado con la cantidad de materia orgánica que posee, ya que la mineralización de esta última incrementa su

concentración (Lambers *et al.*, 1998). En nuestro caso, el suelo utilizado para las experiencias contenía un 1,6% de materia orgánica. El agregado de vinazas a altas concentraciones (como 1:1 y 1:5), con un contenido de materia orgánica promedio del 3 % pero con un pH ácido (4,8) habría producido un efecto sobre la población de microorganismos relacionados con la mineralización en el suelo. Esto a su vez habría afectado la descomposición de la materia orgánica, nitrificación (Resende *et al.*, 2006) y denitrificación (Leal *et al.* 1983) y con ello la cantidad de nitrógeno disponible detectado en este estudio. En consonancia con esta suposición, las variables relacionadas al rendimiento (número de vainas/planta, número de semillas/planta y peso de 1000 semillas), resultaron afectadas solo en el tratamiento con la menor dilución de vinaza (1:1). No obstante, cabe hacer notar que la soja es una especie fijadora de nitrógeno (leguminosa) y por lo tanto tiene la capacidad para asegurarse un buen suministro de este elemento. De este modo, resulta necesario realizar otros estudios a fin de lograr entender de manera más fehaciente el efecto de la vinaza sobre el metabolismo del nitrógeno en plantas de soja. Un punto importante a tener en cuenta es el hecho que el riego con vinazas se aplicó cada 2-3 días lo que produjo el impacto que se describe en este estudio. Quizás estos efectos podrían minimizarse si el riego con vinaza se aplicara durante el período de barbecho de los campos que se cultivan con soja, favoreciendo así la mineralización de la materia orgánica y la provisión de nitrógeno. Sin duda que esta hipótesis requiere de otros estudios de campo para tener una mejor aproximación a la temática del uso de vinazas como riego.

Si bien existen pocas referencias del efecto de la vinaza sobre el rendimiento granario y la producción de biomasa de la soja, otros cultivos como la caña de azúcar han sido bastante estudiados. Esto es así por cuanto la vinaza es uno de los principales desechos de la industria azucarera. Los resultados obtenidos mostraron, en general, que el uso de la vinaza en diferentes concentraciones, incrementa tanto la productividad como el rendimiento sacarino. Así por ejemplo en la India se encontró que la aplicación de 150 a 300 Tn h⁻¹ de vinaza incrementa los rendimientos de azúcar entre un 44% y un 53,8% respecto a los obtenidos con caña sin el agregado de este efluente (Baskar *et al.*, 2005). Resultados similares fueron comunicados

por Gómez & Rodríguez (2000) en experiencias a campo realizadas en Venezuela con caña como en azúcar. Otros estudios, realizados en Brasil, demostraron también que las vinazas incrementan la productividad de la caña de azúcar, lo que llevó a la conclusión que las mismas, bajo condiciones racionales de manejo, podrían reemplazar total o parcialmente la fertilización mineral (Paulino *et al.*, 2002; De Resende *et al.*, 2006, Prado *et al.*, 2013). Resultados beneficiosos de la vinaza sobre el cultivo de caña de azúcar también fueron obtenidos en Filipinas (Gonzales & Tianco, 1982), Australia (Usher & Wellington, 1979), Cuba (Vieira, 1982) y Argentina (Scandaliaris *et al.*, 1987). Otro cultivo que mostró incremento en los rindes culturales (fruto y aceite) por la aplicación de vinaza fue el olivo (Laila *et al.*, 2015). Sin embargo, en experiencias con vinaza de remolacha se encontró que la aplicación de 3 a 10 Tn h⁻¹ de vinaza a los cultivos de trigo incrementaba la productividad, mientras que dosis más altas (20 y 40 Tn h⁻¹) la decrecían, afectando incluso las características fisicoquímicas y textura del suelo (Tejada & González, 2005). Con relación a este último punto resulta necesario destacar que el suelo utilizado en el trabajo aquí presentado sufrió un proceso de compactación en aquellas macetas regadas con todas las diluciones de vinaza, pero fue más pronunciado en la dilución 1:1. Sin duda, este tema deberá ser profundizado con experiencias a campo y con otras experiencias que incluyan el seguimiento de las características físicas, químicas y biológicas del suelo a lo largo del tiempo durante varios años.

Algunos antecedentes sobre la influencia de la vinaza sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) no son claros y precisos, ya que los mismos muestran comportamientos diferentes según cual sea la especie estudiada y la concentración de vinaza utilizada. Así por ejemplo en *P. sativum* y *C. máxima*, se demostró que la síntesis de ambas isoformas de clorofila (*a*, *b*) resulta favorecida de igual manera por el agregado de vinaza a concentraciones bajas (0,5%); mientras que a concentraciones más elevadas (entre 1 y 10%) ocurre el efecto contrario, con disminuciones progresivas en la síntesis de dichos compuestos (Rani & Srivastava, 1990; Jain & Srivastava, 2012). Resultados similares fueron comunicados para maíz y caña de azúcar (Orhue *et al.*, 2005; Rath *et al.*, 2011). Sin embargo, nuestros resultados mostraron que ambas isoformas

resultan afectadas de manera diferente por el tratamiento con vinaza. Así mientras la clorofila *a* decrece por el agregado de vinaza la isforma *b* no resulta afectada, respecto al control. Aunque algunos autores relacionaron la disminución del contenido de pigmentos fotosintéticos con la baja disponibilidad de nutrientes esenciales que se produce por el menor desarrollo radicular (Rath *et al.*, 2011). Tal hipótesis no resultaría lo suficientemente clara en el caso de la soja, ya que nuestros resultados tampoco mostraron variaciones de significación en el contenido de carotenoides.

Con respecto a los pigmentos protectores (absorbentes de UV-B y antocianos) si bien se los relaciona principalmente con la protección frente al exceso de radiación solar (estrés lumínico), los mismos también participan en otras situaciones de estrés abiótico y biótico como sequía, salinidad, frío, enfermedades bacterianas y fúngicas, entre otros (Coley & Aide, 1989; Chalker-Scott, 2002; Eryilmaz, 2006; Hughes *et al.*, 2010). Por otro lado, los compuestos que absorben UV-B, especialmente los flavonoides (flavonas, flavanonas, isoflavonas) intervienen activamente en la formación de nódulos en las leguminosas como *P. sativum* y *G. max* (Phillips *et al.*, 1994). Considerando que nuestras experiencias se desarrollaron en invernadero ($358 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA en promedio), puede inferirse que las variaciones observadas en los pigmentos absorbentes de UV-B (reducción a baja concentración de vinaza e incremento a concentraciones altas de vinaza), podría relacionarse más con el contenido salino de la vinaza que con la protección lumínica, ya que el exceso de iones probablemente induzca un estrés osmótico en las plantas. En ese mismo contexto, la situación de estrés inducida por la vinaza a altas concentraciones podría ser el responsable de la disminución observada en el contenido de antocianos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio, con las limitaciones propias de los estudios en condiciones semicontroladas, así como los disponibles en la literatura, revelan que el uso de la vinaza en los cultivos requiere de un estudio profundo y propio para cada especie en particular, ya que el excesivo contenido de iones que la misma posee la convierte en un potencial agente

estresante para las plantas. En forma puntual este estudio demuestra que si se aplica en soja la dilución de la vinaza debería ser el igual o mayor a 1:10 (v:v). Sin embargo, un problema que persiste es que la posible aplicación agronómica de la vinaza (tanto en campo como en condiciones experimentales) es el intenso y persistente olor que se genera debido a la presencia de melanoidinas. Estos polímeros, de alto peso molecular, se forman al reaccionar los azúcares con aminoácidos o bien por la reacción entre los grupos amino y carboxilo de las sustancias orgánicas (Reynolds, 1968). Aparte de su olor, las melanoidinas tienen propiedades antioxidantes y frecuentemente son tóxicas para los microorganismos utilizados en los procesos de biotratamiento de efluentes (Kitts *et al.*, 1993). De esta manera el uso de la vinaza en procesos agronómicos también requerirá de la eliminación y/o neutralización de estos compuestos. Asimismo, se conoce que las vinazas pueden generar gases de efecto invernadero (GEI), especialmente N_2O (Oliveira *et al.*, 2013); por lo que este punto también deberá ser incluido en futuras investigaciones sobre el uso de este efluente. Finalmente, tampoco deberán dejarse de lado las alteraciones de las características fisicoquímicas y propiedades de los suelos que pueden generar el uso prolongado de la vinaza en prácticas de fertilización. La compactación de los suelos observadas en este estudio demuestra que hubo una alteración de las propiedades físicas del mismo lo que también deberá tenerse en cuenta en aplicaciones por períodos prolongados de tiempo. Finalmente, resta ensayar el riego de la soja con vinazas diluidas en campo tanto durante su desarrollo y también en época de barbecho. Esta última práctica quizás pueda eliminar los efectos directos sobre las plantas observados en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Haroldo Alemany quién proveyó las semillas de soja para desarrollar este estudio. Este trabajo fue realizado con fondos de la Fundación Miguel Lillo (Miguel Lillo 251, T4000JFE, Tucumán, Argentina) dentro del proyecto B-0006-1. "Efecto de las vinazas sobre las primeras etapas de germinación y plántulas en especies nativas e introducidas".

BIBLIOGRAFÍA

- BASKAR, M., H. GOPAL, M. S. DAWOOD & M. S. BOSE. 2005. Effect of integrated use of distillery effluent and fertilisers on soil properties and yield of sugarcane in sandy loam soil. *Madras Agric. J.* 92: 349-354.
- CÁRDENAS, G., R. M. RUÍZ & A. A. DELFINI. 1984. Estudio de algunos aniones y cationes en vinazas producidas por fermentación alcohólica de productos intermedios y subproductos de la fabricación de la caña de azúcar. *Revista Industr. y Agric. de Tucumán* 61: 1-25.
- CHALKER-SCOTT, L. 2002. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances Bot. Res.* 37: 104-129.
- CHAPPELLE, E. W., M. S. KIM. & J. E. MCMURTREY III. 1992. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sensing Environm.* 39: 239-247.
- CHAVES SOLERA, M. A. 2004. Las vinazas en la fertilización de la caña de azúcar. *El Agricultor Costarricense.* 43: 174-177.
- COLEY, P. D. & T. M. AIDE. 1989. Red coloration of tropical young leaves: A possible antifungal defence?. *J. Trop. Ecol.* 5: 293-300.
- DANTUR, A., J. SCANDALIARIS, F. PÉREZ ZAMORA & M. A. RONCEDO. 1996. Aprovechamiento agrícola de los residuos de la agroindustria de la caña de azúcar. Parte II. El uso de la vinaza. *Avance Agroind.* 16: 38-41.
- DE RESENDE A. S., XAVIER R.P., O. C. DE OLIVEIRA, S. URQUIAGA, B. J. ALVES & R. M. BODDEY. 2006. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, N.E. Brazil. *Pl. & Soil.* 281: 339-351.
- EL MAROUNI, L.F., J.L. MAGALHÃES, A. A. RODRIGUES, D. A. RODRIGUES, P. A. MAGALHÃES, M. S. DI CAMPOS, C. L. RODRIGUES, R. G. VITAL, T. F. CAVALCANTE, F. B. SILVA, E. M. TELES & R. G. GUIMARÃES JUNIOR. 2016. Growth of *Eucalyptus* seedlings irrigated with different vinasse concentrations. *Aust. J. of Basic & Appl. Sci.* 10: 115-121.
- ERYILMAZ, F. 2006. The relationships between salt stress and anthocyanin content in higher plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 20: 47-52.
- FADDA, G.S. & M. MORANDINI. 2007. El uso agrícola de la vinaza. Revisión de antecedentes y caracterización de las condiciones del área cañera de Tucumán para su aplicación. *Publicación Especial N° 33. Estación Experimental Agro-industrial Obispo Colombes.*
- GARCÍA, G., K. CÁRDENAS, M. SANABRIA, L. CASTILLO, L. ZEREGA & D. RODRÍGUEZ. 2007. Efecto de la fertilización con vinaza sobre el contenido relativo de clorofila y la morfoanatomía foliar de 3 variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). *Revista Fac. Agron. Univ. Zulia.* 24: 124-129.
- GASTAL, F. & G. LEMAIRE. 2002. N uptake and distribution in crops: An agronomical and ecophysiological perspective. *J. Exp. Bot.* 53: 789-799.
- GÓMEZ TORO, J. M. 1996. Efecto de la aplicación de vinaza en la producción y calidad de la caña de azúcar. *Caña de Azúcar* 14: 15-34.
- GÓMEZ, J. & O. RODRÍGUEZ. 2000. Effects of vinasse on sugarcane (*Saccharum officinarum*) productivity. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 17: 318-326.
- GONZALES, M. Y. & A. P. TIANCO. 1982. Effect of volume and time of application on distillery slops on the growth and yield of sugarcane. *Proceedings of 29th Annual Convention, Sugar Technology Association Ag., Philippines.* 467-490.
- GONZÁLEZ, J. A. 2000. Diagnóstico de la contaminación de la cuenca del Río Salí. Plan integral de acción para la solución de la contaminación de la cuenca del Río Salí. Cuadernos de Medio Ambiente. *Gobierno de la provincia de Tucumán. Dirección de Medio Ambiente.* 3:1-68.
- GONZÁLEZ, J. A., P. LANGUASCO & F. E. PRADO. 2014. Efecto de las vinazas sobre la germinación de soja, trigo y quinoa en condiciones controladas. *Bol. Soc. Argen. Bot.* 49: 473-481.
- HUGHES, N. M., K. REINHARDT, T. S., FEILD, A. R. GERARDI & W. K. SMITH. 2010. Association between winter anthocyanin production and drought stress in angiosperm evergreen species. *J. Exp. Bot.* 61: 1699-1709.
- JAIN, R. & S. SRIVASTAVA. 2012. Nutrient composition of spent wash and its impact on sugarcane growth and biochemical attributes. *Physio Mol Biol Plants.* 18: 95-99.
- KITTS D., WU, C. H., STICH, H. & W. POWRIE. 1993. Effects of glucose-glycine Maillard reaction products on bacterial and mammalian cell mutagenesis. *J. Agric. Food Chem.* 41: 2353
- LAILA, H. F., M.F.M. SHAHIN, N. S. MUSTAFA, H. A. MAHDY & H. S. A. HASSAN. 2015. Studies on the effect of vinasse, amino acids and humic acid substances as soil applications on fruit quality and quantity of Manzanillo olive trees. *Middle East J. App. Sci.* 5: 984-991.
- LAMBERS H., CHAPIN F. S. & T. L. PONS. 1998. Rol in ecosystem and global processes. pp: 545-552. In: *Plant Physiological Ecology.* Springer-Verlag, New York.

- LEAL, J.R., N.M.B AMARAL SOBRINHO, A.C.X. VELLOSO & R.O.P. ROSSIELO. 1983. Potencial redox e pH: variação em um solo tratado com vinhaça. *Rev. Bras. Ciên. Solo.* 7: 257-261.
- LONGSTRETH, D. J. & P. S. NOBEL. 1979. Salinity effects on leaf anatomy: consequences for photosynthesis. *Plant Physiol.* 63: 700-703.
- MADEJÓN, E., R. LÓPEZ, J. M. MURILLO & F. CABRERA. 2001. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Agric. Eco-Sys. Environm.* 84: 55-65.
- MINISTERIO DE AGROINDUSTRIA. 2016. Cadena Azúcar. *Informe de Coyuntura Mensual.* N° 70, 15 pp.
- MIRECKI, R.M. & A.H. TERAMURA. 1984. Effects of ultraviolet-B irradiance on soybean. V. The dependence of plants sensitivity on the photosynthetic photon flux density during and after leaf expansion. *Plant Physiol.* 74: 475-480.
- MONTENEGRO-FERRAZ, C.A., E. AGUARONE, M. KRAUTER, W. BALLONI & G. FLORENZANO. 1986. Utilization of by-products from alcoholic fermentation industry to biomass production of *Spirulina maxima*. Part II. Use of molasses alcohol distillate waste. *Revista de Microbiología* 17: 15-21.
- MUNIZ, M. P., J. W. ZANG, W. A. DAFONSECA-ZANG, A. SCHÜCH, B. EICHLER-LOEBERMANN & W. M. LEANDRO. 2015. Soybean growth affected by the application of biodigestates from sugar cane vinasse. Management of land use systems for enhanced food security. *Conflicts, controversies and resolutions.* Tropentag, Berlin, Germany.
- MURILLO, J. M., F. CABRERA, R. LÓPEZ & P. MARTIN-OLMEDO. 1998. Sunflower response to the application of a concentrated beet vinasse. *Commun. Soil Sci. Pl. Analysis.* 29: 643-655.
- OLIVEIRA, B. G., J. L. CARVALHO, C. E. CERRI, C. C. CERRI & B. J. FEIGL. 2013. Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. *Geoderma* 200–201: 77–84.
- ORHUE, E.R., A. U. OSAIGBOVA & D. E. VWIOKO. 2005. Growth of maize (*Zea mays* L.) and changes in some chemical properties of an ultisol amended with brewery effluent. *Afr. J. of Biotechnol* 4: 973-978.
- PAULINO, A. F. C. DE, C. MEDINA, C. R. ROBAINA & R. A. LAURANI. 2002. Produções agrícola e industrial de cana-de-açúcar submetida a doses de vinhaca. *Semina: Ciências Agrárias.* 23:145-150.
- PERERA, J.G. 2009. Concentración y combustión de vinazas. *Ministerio de Gobierno y Justicia de la Provincia de Tucumán, Secretaría de Estado de Gobierno y Justicia, Subsecretaría de Asuntos Técnicos.* 1-43.
- PHILLIPS, D. A., F. D. DAKORA, E. SANDE, C. M. JOSEPH & J. ZON. 1994. Synthesis, release, and transmission of alfalfa signal to rhizobial symbionts. *Pl. & Soil.* 161: 69-80.
- POPOLIZIO, T. D. 2017. *Efecto de la aplicación de vinazas de la industria del tequila en el cultivo del maíz y en la asociación planta-hongos micorrizicos arbusculares (HMA).* Tesis de Maestría. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (México). 86 pp.
- PRADO, R. D., G. CAIONE & C. N. CAMPOS. 2013. Filter cake and vinasse as fertilizers contributing to conservation agriculture. *Applied and Environmental Soil Science.* Article ID 581984. 2013: 1-8.
- QUINTERO, R., F. SILVIO, S. CADENA, O. CARLOS & B. BRICEÑO. 2006. Proyecto de investigación sobre uso y manejo de vinazas. <http://www.cengicana.org/Portal/SubOtrasAreas/Etanol/Presentaciones/ProyectosInvestigacionSobreUsoManejo%20Vinaza.pdf>. [Acceso: 03/06/2018]
- RANI, R. & M. M. SRIVASTAVA. 1990. Eco-physiological response of *Pisum sativum* and *Citrus maxima* to distillery effluents. *Int. J. Ecol. Environ. Sci.* 16:125-132.
- RATH, P., G. PRADHAN & M. K. MISRA. 2011. Effect of distillery spent wash (DSW) and fertilizer on growth and chlorophyll content of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plant. *Rec. Res. Sci. Tech.* 3:169-176.
- REYNOLDS T. M. 1968. Chemistry of nonenzymic browning. I. The reaction between aldoses and amines. *Advances Food Res.* 12: 1.
- SANTOS, M., F. DIÁNEZ, M. DE CARA & J. C. TELLO. 2008. Possibilities of the use of vinasses in the control of fungi phytopathogens. *Bioresour. Technol.* 99: 9040-9043.
- SARRIA, P. & T. R. PRESTON 1992. Reemplazo parcial del jugo de caña con vinaza y uso del grano de soya a cambio torta en dietas de cerdos de engorde. *Livestock Research for Rural Development.* 1: 4.
- SCANDALIARIS, J., N.C. DANTUR & A. LAZARTE. 1985. Posibilidad de utilizar vinazas en el cultivo de la caña de azúcar. *Avance Agroind.* 5: 16-18.
- SCANDALIARIS, J., N. C. DANTUR & M. A. RONCEDO. 1987. Influencia de la vinaza sobre la producción de caña de azúcar y las propiedades del suelo. *Revista Industr. Agríc. Tucumán.* 64: 1-44.
- TEJADA M. & J. L. GONZÁLEZ. 2005. Beet vinasse applied to wheat under dryland conditions affects soil properties and yield. *Eur. J. Agron.* 23: 336-347.
- TEJADA M., J. L. MORENO, M.T. HERNANDEZ & C. GARCIA. 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. *Agric. Eco-Syst Environ.* 119: 289-298.

- URBANO TERRÓN, P. 2002. Fertilización orgánica con vinazas de alcoholera. *Revista Vida Rural*. 155: 50-52.
- USHER, J. F. & I. P. WILLINGTON. 1979. The Potential of Distillery Waste as Sugar Cane Fertiliser. Proceedings of the Australian Society of Sugarcane Technologists. Fertilizer. *Proceedings- Australian Society of Sugarcane Technologists*. pp. 143-146.
- VALDÉS, M. E., J. RAMOS & M. OBAYA. 1992. Definición de parámetros para el tratamiento de vinazas de destilería. *Rev. ICIDCA*. 26: 23-27.
- VIEIRA, D. B. 1982. Methods of vinasse application in sugar cane, *Saccharum APC* Sao Paulo. 5: 21-26.
- WELLBURN, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol*. 144: 307-313.

Recibido el 10 de julio de 2018, aceptado el 10 de octubre de 2018. Editor: Federico Mollard.