

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Influencia de *Azospirillum* Sobre el Contenido de Nitratos en la Solución del Suelo y en Hojas de Maíz Elotero

Por:

CLAUDIA FRANCELY CUMPLIDO NÁJERA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Junio del 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Influencia de *Azospirillum* Sobre el Contenido de Nitratos en la Solución del
Suelo y en Hojas de Maíz Elotero

Por:

CLAUDIA FRANCELY CUMPLIDO NÁJERA

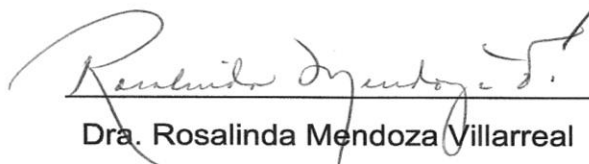
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

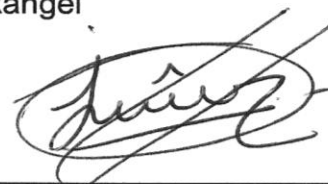
INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría

Dr. Alberto Sandoval Rangel
Asesor Principal



Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Coasesor



Dr. Antonio Juárez Maldonado
Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México

Junio del 2016

AGRADECIMIENTOS

Agradezco enormemente el apoyo obtenido del **Dr. Antonio Juárez Maldonado**, quien me ayudo a entender muchas cosas del trabajo realizado y por contar además con su entera disposición en la revisión del mismo.

En el presente trabajo también quiero agradecer a la **Dra. Rosalinda Mendoza Villareal** por facilitarme las cepas de *Azospirillum sp* para poder realizar la investigación.

El trabajo no hubiese sido posible si el **Dr. Alberto Sandoval Rangel** no me aceptara en su proyecto, siendo asesor principal, y por el apoyo brindado muchas gracias.

Gracias a mi **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por estos años formándome con los mejores maestros.

A los compañeros que tuvieron a bien darme un poco de su tiempo para realizar las tareas en el camino de esta investigación, a mis hermanas internas por su apoyo y amigos por su apoyo muchas gracias.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

*Porque a pesar de muchísimas adversidades siempre creyeron en mí y me apoyaron, a mi papá **Jorge Luis Cumplido Gaucin**, porque hasta su último aliento antes de partir, me regalo las palabras más hermosas de amor y no olvido alentarme a concluir un proyecto que siempre fue por hacerlos sentir orgullosos y sé que ahora se encuentra feliz pues lo logramos, a mi mamá **Concepción Nájera Díaz**, por trabajar tan arduamente para llegar a concluir mi carrera, por su amor y apoyo incondicional, por ser mi amiga por escucharme y aconsejarme siempre en bien de mi formación profesional y como persona, por esas noches de desvelo siempre alentándome a seguir, han sido los mejores...*

A mis hermanos por sacrificar a veces tantas cosas y apoyarme, por regalarme bellos y alegres momentos con sus hijos a quienes quiero como míos.

Margarita Nájera, tía por su apoyo y consejos gracias y Jesús Cumplido por el apoyo brindado y cariño, a todos hoy les digo lo logramos, mil gracias

Familia...

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN_____	vii
INDICE GENERAL _____	iii
ÍNDICE DE TABLAS _____	v
ÍNDICE DE FIGURAS _____	vi
1. INTRODUCCIÓN_____	1
OBJETIVO GENERAL_____	2
OBJETIVOS ESPECÍFICOS _____	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA _____	4
Producción Mundial de Maíz _____	7
Producción Nacional de Maíz _____	7
Impacto Económico y Ambiental del Empleo de Fertilizantes Químicos _	10
Uso de Microorganismos en la Agricultura_____	11
Fijación Biológica de Nitrógeno _____	12
La Rizósfera y las Relaciones Entre las Plantas y los Microorganismos _	13
Microorganismos que Actúan Benéficamente en el Suelo_____	14
Fertilizantes Microbiológicos a Base de <i>Azospirillum sp</i> _____	14
Fertilizantes Nitrogenados _____	15

Fijación Atmosférica de Nitrógeno _____	16
Uso e Inoculación con <i>Azospirillum sp</i> _____	19
3. METODOLOGIA _____	21
Variables a Evaluar _____	22
Variables de Rendimiento y Calidad _____	22
Análisis Estadístico de los Datos _____	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	24
5. CONCLUSIONES _____	33
6. REFERENCIAS _____	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción nacional de maíz. -----	8
Tabla 2. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en el pH y conductividad eléctrica de la solución del suelo -----	25
Tabla 3. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en el contenido de K, Ca y Na en la solución del suelo -----	26
Tabla 4. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en el peso fresco de la planta de maíz elotero -----	30
Tabla 5. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en el crecimiento de la planta de maíz elotero-----	30
Tabla 6. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en la calidad del elote-----	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estados productores de maíz en México en el 2012-----	8
Figura 2. <i>Azospirillum brasilense</i> -----	18
Figura 3. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en la concentración de NO ₃ en la solución del suelo -----	25
Figura 4. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en la concentración de NO ₃ en xilema de las hojas de maíz -----	27
Figura 5. Efecto de la adición exógena de <i>Azospirillum</i> en el contenido de K en xilema de las hojas de maíz -----	28

RESUMEN

Las bacterias diazóticas modifican la concentración de nitrógeno en el suelo y por lo tanto el crecimiento y desarrollo de las plantas. Cuantificar dicha modificación permitirá un uso más eficiente de los fertilizantes nitrogenados y un manejo más sostenible de los cultivos. La presente investigación tuvo como propósito medir el aporte de N-NO₃ en solución de suelo y en hojas de maíz elotero, relacionada a la adición exógena de *Azospirillum sp.* Con base en la solución fertilizante Steiner se evaluaron los siguientes tratamientos: 1) solución nutritiva completa (testigo), 2) Solución nutritiva completa más *Azospirillum*, 3) Solución nutritiva reducida en nitrógeno, y 4) solución reducida en nitrógeno más *Azospirillum*. Se evaluó contenido de N-NO₃ en la solución del suelo y xilema de las hojas, producción de biomasa y calidad del elote. Los resultados muestran que la adición de *Azospirillum* disminuyó la concentración de NO₃ en la solución del suelo, pero aumentó en el xilema de las hojas. El nivel de nitratos en el suelo fue de 166.14 mg.L., y en el xilema de 1065 mg.L. Así mismo, la adición de *Azospirillum*, aumentó el peso fresco y número de hojas y el peso y calidad del elote. Es factible reducir la fertilización nitrogenada en un 39.21 % sin detrimento del crecimiento y la calidad del cultivo del maíz elotero.

Palabras clave: Biofertilizantes, sustentabilidad, nitrógeno, hortalizas.

INTRODUCCIÓN

Los daños ambientales y la disminución en la calidad de vida de los productores y consumidores hacen necesaria la búsqueda de otras opciones de manejo que contribuyan a una agricultura más sana. En este sentido, se articulan acciones de cooperación nacional e internacional para desarrollar el uso de los biofertilizantes entre las tecnologías más promisorias para incrementar la productividad del suelo con bajo impacto ambiental (López *etal.*, 2008).

En la producción agrícola, por lo general la fertilización se realiza basada en la experiencia del productor, dosis de referencia o estimaciones, pocas veces se considera el aporte iónico del agua, el intercambio del suelo y rara vez o casi nunca el aporte de microorganismos o en el mejor de los casos se tiene conciencia de su importancia.

Como parte de la estrategia de la agricultura sostenible para aumentar el rendimiento y sustituir los fertilizantes químicos, en la actualidad son utilizados inoculantes microbianos elaborados a partir de rizobacterias. Dentro de las bacterias asociativas más estudiadas se encuentran las pertenecientes al género *Azospirillum*, el cual se ha convertido en el grupo más promisorio de diazótrofos asociados con gramíneas y otras plantas (Parra y Cuevas, 2001).

Azospirillum ha sido utilizado como agente promotor de crecimiento vegetal, debido a su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico y producir auxinas del tipo ácido indolacético (Acebo *et al.*, 2007). Así mismo se ha evaluado el efecto de la inoculación con *Azospirillum*, sobre el rendimiento de los cultivos y se ha encontrado que los incrementos oscilan entre un 10-30% en evaluaciones realizadas en campo (Parra y Cuevas, 2001).

Existe una amplia investigación en *Azospirillum*, respecto a los mecanismos de fijación y efectos en los cultivos, pero no se encontró información cuantitativa del aporte de nitrógeno a la solución del suelo, que sumada a los aportes del suelo y el agua, permita realizar una fertilización más precisa, lo cual permitirá un uso más eficiente de los fertilizantes en este caso particular el nitrógeno, sin detrimento de la productividad y calidad de los cultivos en este estudio en particular del maíz.

En esta investigación se eligió el cultivo de maíz elotero, por qué los resultados posibilitarán su aplicación a maíz para grano. Además el maíz es el principal cultivo en México, ya que participa con el 18% del valor de producción del sector agrícola (88 mil mdp en 2012 y 78 mil en 2013) y concentra el 33% de la superficie sembrada en el territorio nacional equivalente a 8.07 millones de hectáreas (Financiera Rural, 2014).

Por otra parte haciendo un ejercicio de la demanda de urea para satisfacer los requerimientos de nitrógeno por el cultivo de maíz en México. Si la dosis promedio de N para maíz es de 0.180 ton/ha, y se siembran 8.07 millones de hectáreas de las cuales un 30% se fertilizan, es decir 2.4 millones de hectáreas que multiplicadas por 0.391 ton/ha de urea, la demanda de urea sería de 0.94 millones de toneladas, que para su producción y distribución, representan impactos ambientales y económicos severos. Por lo anterior el presente estudio tuvo como:

Objetivo General

Cuantificar el aporte de N-NO₃ a la solución del suelo y en las hojas de maíz en relación a la adición exógena de *Azospirillum* y su efecto en el cultivo de maíz elotero.

Objetivos Específicos

Determinar y cuantificar la cantidad de nitratos en la solución del suelo.

Determinar y cuantificar la cantidad de nitratos en hojas de maíz elotero.

Evaluar el potencial ahorro de fertilizantes nitrogenados en maíz elotero al usar *Azospirillum sp.*

Hipótesis

La adición exógena de *Azospirillum*, aumentará el contenido de NO_3 , en la solución del suelo y compensará la disminución de nitrógeno en la solución reducida.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del Maíz

El maíz es el cultivo más importante de México, y hablando de maíz elotero específicamente es un cultivo de alto valor alimenticio ya como tal y materia prima de muchos mas productos derivados, en Mexico cientos de platillos y antojitos mexicanos llevan entre su lista de ingredientes el uso de maíz elotero por lo que es importante contribuir a la búsqueda de alternativas de producción que propicien mas y mejores resultados para el óptimo aprovechamiento del cultivo.

Mencionar además que para el cultivo de maíz elotero ay poca información por lo que siendo un cultivo de gran valor tradicional, cultural, alimenticio etc, se considero pertinente participar en la búsqueda de esas alternativas de producción que arrojen resultados mejores.

La planta del maíz es de aspecto robusto. Recuerda al de una caña. Tiene un solo tallo de gran longitud, sin ramificaciones, que puede alcanzar hasta cuatro metros de altura, es decir, poco más de la altura de dos hombres. Al hacerle un corte presenta una médula esponjosa. La planta tiene flores tanto masculinas como femeninas. La inflorescencia masculina es un espigón o penacho amarillo que puede almacenar de veinte a 25 millones de granos de polen. La femenina tiene menos granos de polen, mil como máximo, y se forman en unas estructuras vegetativas denominadas espádices.

Las hojas son largas y extensas, con terminación en forma de lanza, o lanceoladas, de extremos cortantes y con vellosidades en la parte superior. Sus raíces son fasciculadas, o sea, todas presentan más o menos el mismo grosor, y su misión es aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos pueden verse los nudos de las raíces a nivel del suelo.

El maíz requiere una temperatura cálida, entre 25 y 30°C, y mucho sol para desarrollarse bien. Sufre después de los 30°C o con temperaturas frías

menores a 8°C. Además necesita mucha agua, alrededor de cinco milímetros de lluvia o riego diarios, en promedio, cada etapa de su desarrollo demandará diferentes cantidades de agua. El maíz se adapta muy bien a todo tipo de suelos, especialmente los ligeramente ácidos, profundos, ricos en materia orgánica, con buen drenaje para no permitir encharcamientos que asfixiarían las raíces. El maíz se siembra de forma manual, depositando la semilla en los surcos, o con maquinaria. Se debe enterrar a una profundidad de cinco centímetros cada veinte o 25 centímetros, para que al crecer cuente con suficiente espacio. Entre surco y surco la separación debe ser de aproximadamente un metro. El suelo necesita haber alcanzado una temperatura de cuando menos 12°C para la siembra. Para que la semilla germine, necesita de 15 a 20°C.

La planta del maíz es de porte robusto de fácil desarrollo y de producción anual, el tallo es simple erecto, de elevada longitud pudiendo alcanzar los 4 metros de altura, es robusto y sin ramificaciones, de inflorescencia monoica con inflorescencia masculina y femenina separada dentro de la misma planta. Las hojas son largas, de gran tamaño, lanceoladas, alternas, paralelinervias. Las raíces son fasciculadas y su misión es la de aportar un perfecto anclaje a la planta. El maíz se adapta muy bien a todos tipos de suelo pero suelos con pH entre 6 a 7 son a los que mejor se adaptan. También requieren suelos profundos, ricos en materia orgánica, con buena circulación del drenaje para no producir encharques que originen asfixia radicular.

Fertilización

El maíz necesita para su desarrollo unas ciertas cantidades de elementos minerales. Las carencias en la planta se manifiestan cuando algún nutriente mineral está en defecto o exceso.

Se recomienda un abonado de suelo rico en P y K. En cantidades de 0.3 kg de P en 100 Kg de abonado. También un aporte de nitrógeno N en mayor

cantidad sobre todo en época de crecimiento vegetativo, a partir de esta cantidad de hojas se recomienda un abonado de:

- ✓ N: 82% (abonado nitrogenado).
- ✓ P₂O₅: 70% (abonado fosforado).
- ✓ K₂O: 92% (abonado en potasa).

Durante la formación del grano de la mazorca los abonados deben de ser mínimos, se deben de realizar para el cultivo de maíz un abonado de fondo en cantidades de 825 kg/ha durante las labores de cultivo. Los abonados de cobertera son aquellos que se realizan cuando aparecen las primeras hojas de la planta y los más utilizados son:

- ✓ Nitrato amónico de calcio. 500 kg/ha
- ✓ Urea. 295 kg/ha
- ✓ Solución nitrogenada. 525 kg/ha

Nitrógeno (N): la cantidad de nitrógeno a aplicar depende de las necesidades de producción que se deseen alcanzar así como el tipo de textura del suelo. La cantidad aplicada va desde 20 a 30 Kg de N por ha.

Un déficit de nitrógeno puede afectar a la calidad del cultivo. Los síntomas se ven más reflejados en aquellos órganos fotosintéticos, las hojas, que aparecen con coloraciones amarillentas sobre los ápices y se van extendiendo a lo largo de todo el nervio. Las mazorcas aparecen sin granos en las puntas.

Fósforo (P): sus dosis dependen igualmente del tipo de suelo presente ya sea rojo, amarillo suelos negros. El fósforo da vigor a las raíces. Su déficit afecta a la fecundación y el grano no se desarrolla bien.

Potasio (K): debe aplicarse en una cantidad superior a 80-100 ppm en caso de suelos arenosos y para suelos arcillosos las dosis son más elevadas de 135-160 ppm. La deficiencia de potasio hace a la planta muy sensible a

ataques de hongos y su porte es débil, ya que la raíz se ve muy afectada. Las mazorcas no granan en las puntas.

Otros elementos: boro (B), magnesio (Mg), azufre (S), Molibdeno (Mo) y zinc (Zn). Son nutrientes que pueden aparecer en forma deficiente o en exceso en la planta. Las carencias del boro aparecen muy marcadas en las mazorcas con inexistencia de granos en algunas partes de ella (CONACYT, 2014).

Producción Mundial de Maíz

Dentro de los granos básicos, el maíz presentó mayor incremento en el volumen de producción, pues con una tasa media anual de crecimiento (TMAC) de 2.7%, pasó de 615.8 millones en 1998 a 822.7 millones en el 2008. El 80% de la producción de maíz se concentró en 10 países; Estados Unidos ocupó el 1er lugar con 40%, China el 2° con el 20%, Brasil en el 3° con el 6% y México en 4° con el 3% de la producción. Los otros seis países fueron Argentina, Francia, la India, Indonesia, Italia y Sudáfrica, que en conjunto agruparon el 11% del volumen producido de maíz (SAGARPA, 2008).

Producción Nacional de Maíz

La Tabla 1 muestra el porcentaje de participación nacional para el caso del maíz elotero, es de gran importancia, y aún más importante los resultados de la investigación puesto que posibilitan el uso de los mismos en la aplicación para las demás modalidades del cultivo, sobre todo para maíz de grano que tiene gran participación en cuanto a la superficie sembrada total del país.

Tabla 1. Producción Nacional de Maíz

	SUPERFICIE SEMBRADA (HA)	PRODUCCIÓN (TON)	RENDIMIENTO (TON/HA)	VALOR PRODUCCION (MILES DE PESOS)	% DE PARTICIPACION
Maíz forrajero	577,815.43	13,777,231.36	24.98	6,768,465.03	7.15%
Maíz grano	7,426,412.19	23,273,256.54	3.30	72,518,448.81	91.92%
Maíz grano semilla	9,782.58	53,580.16	5.70	295,617.48	0.12%
Maíz palomero	514.90	2,358.14	4.58	14,384.65	0.0064%
Elote	64,555.41	811,048.56	12.69	1,763,054.30	0.80%
TOTAL	8,079,080.51	37,917,474.76	51.25	81,359,970.27	100%

Todas las entidades del país presentan algún nivel de producción de maíz, sin embargo, siete entidades concentran el 64.5% del volumen de producción nacional. Sinaloa es el principal productor al concentrar el 16.5% del total. Le siguen en importancia Jalisco, Michoacán, Estado de México, Chiapas, Guerrero y Veracruz (FINANCIERA RURAL, 2014).

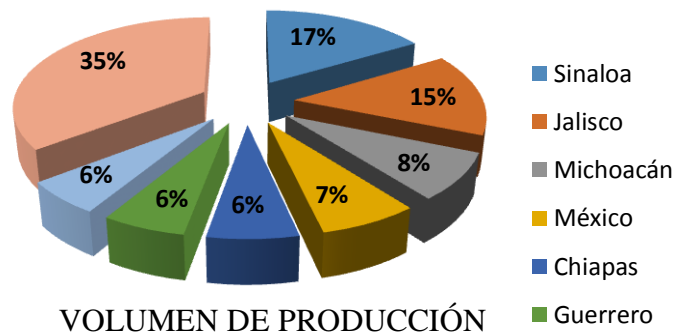


Figura 1: Estados productores de maíz en el 2012(SIAP-SAGARPA, 2012).

En lo que respecta al diagnóstico de fertilidad, en el caso del nitrógeno, la dosis a emplear se puede determinar a través de la relación entre el nitrógeno (N) disponible (N-nitratos del suelo a pre-siembra, 0-60 cm, más N fertilizante) y el rendimiento del cultivo. Es bien conocido que pueden obtenerse respuestas variables a la aplicación de N debido a diferencias en las condiciones climáticas (temperatura, precipitación), de suelo (temperatura, materia orgánica, textura), y prácticas de manejo (irrigación, densidad, arreglo espacial, fertilización), como así también por el uso de diferentes genotipos (interacción Genotipo x Ambiente x Manejo). Una parte de esta variabilidad puede ser explicada debido a la diferencias en el potencial del sitio en proveer N (proveniente de la materia orgánica del suelo).

La aplicación balanceada de N, P y S produjo un incremento en los rendimientos reflejado directamente en un aumento de la absorción de nutrientes (N, P y S) respecto a los tratamientos con aplicaciones desbalanceadas o sin aplicación de nutrientes

El rendimiento del cultivo de maíz responde independientemente a la acumulación de P y S y, por el otro lado, la absorción de N responde más robustamente a mayores niveles de absorción de P y S (relacionado con rendimientos superiores a 12-13 ton ha⁻¹).

Desde el punto de vista de una agricultura sustentable, el manejo de nutrientes en un sistema de producción debería mantener una relación balanceada entre ingresos y egresos de nutrientes en el largo plazo. De tal forma, para conservar los niveles de fertilidad de los suelos, los nutrientes removidos por la cosecha de los cultivos deberían ser reemplazados anualmente o al menos dentro del ciclo de rotación de cultivos (Ciampitti *et al.*, 2010).

Impacto Económico y Ambiental del Empleo de Fertilizantes Químicos

La agricultura juega un papel crucial en la economía de los países en desarrollo y brinda la principal fuente de alimentos, ingresos y empleo a sus poblaciones rurales. La tecnificación de la agricultura y el uso eficiente de las tierras es fundamental para alcanzar la seguridad alimentaria, reducir la pobreza y alcanzar un desarrollo integral sostenible. Desde el comienzo de la historia humana hasta los años cuarenta los cultivos eran crecidos sin la ayuda de químicos. Posteriormente, se introdujo la agricultura química en gran escala que trajo como resultado un aumento en los rendimientos y calidad de los cultivos. Las tecnologías desarrolladas durante la revolución verde en los años 60's, tales como la síntesis de agroquímicos (fertilizantes y pesticidas) y la utilización de variedades de alto rendimiento y elevada tasa de asimilación de nutrimentos, contribuyeron de manera significativa a incrementar la producción mundial de alimentos (Aguado *et al.*, 2012).

En 2005 se extrajeron a nivel mundial aproximadamente 17.5 millones de toneladas de fósforo; el 85% provino de tres países, principalmente Marruecos, y cerca de 14 millones de toneladas fueron utilizados para la elaboración de fertilizantes químicos. Lamentablemente, del total de los fertilizantes fosfatados fabricados, casi 8 millones de toneladas se perdieron por lixiviación y erosión.

En el balance energético de cultivos básicos como las gramíneas el fertilizante representa el mayor monto de energía invertida. Los mayores costos de fertilización química reducen las utilidades del productor, que de por sí ya se ven afectadas por la degradación de la fertilidad natural de los suelos por el excesivo uso de estos insumos. En muchos suelos que han sido cultivados de manera intensiva con aplicaciones altas de fertilizantes químicos se ha observado una disminución constante de la materia orgánica y de la actividad biológica. El gobierno mexicano ha encomendado a la SAGARPA e INIFAP analizar las alternativas más viables y rentables que

permitan solventar esta situación de crisis. En este caso particular, las opciones propuestas para enfrentar la problemática relacionada con los altos costos de los fertilizantes se encaminaron a lograr la optimización de las dosis de fertilización química y la promoción de la utilización de abonos orgánicos y biofertilizantes en los cultivos agrícolas de México. Estos productos, que entre otros beneficios mejoran el estatus nutricional de las plantas, son elementos indispensables en la implementación de programas de agricultura de conservación, como más agro para la modernización sustentable de la agricultura tradicional (Aguado *et al.*, 2012).

Estas cifras enfatizan la importancia de adoptar técnicas más eficientes para su dosificación y uso.

Uso de Microorganismos en la Agricultura

Uno de los elementos más valiosos que puede utilizar la agricultura ecológica es el uso de biofertilizantes, lo cual en los sistemas productivos es una alternativa viable y sumamente importante para lograr un desarrollo agrícola ecológicamente sostenible, ya que permite una producción a bajo costo, no contamina el ambiente y mantiene la conservación del suelo, desde el punto de vista de fertilidad y biodiversidad (Terry *et al.*, 2005).

En el uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura, uno de los principales problemas es el desconocimiento de las especies presentes en los agroecosistemas y en la rizósfera de los cultivos, para su posible utilización eficiente. Desde el punto de vista ecológico, es importante conocer los integrantes de la comunidad bacteriana que favorecen su aplicación como inoculantes y propician un efecto agrobiológico positivo en los cultivos agrícolas (Terry *et al.*, 2005).

Todas las plantas cultivadas y silvestres conviven en la rizosfera con una plétora de microorganismos, que ejercen diversas funciones. La diversidad y el tamaño de las poblaciones microbianas en la rizosfera son muy superiores

a los niveles encontrados en suelo no cultivado. Estos microorganismos pueden establecer distintos grados de interacción con las plantas: asociaciones libres, endofíticas o simbióticas. Además sus efectos pueden ser beneficiosos, neutros o deletéreos. Participan activamente en los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, sobre todo del nitrógeno (*Rhizobium* /*Bradyrhizobium spp.*) y del fósforo (hongos micorrícicos y bacterias solubilizadoras de P insoluble), producen hormonas vegetales, sintetizan antibióticos, entre otras características y, como resultado favorecen el establecimiento, nutrición y desarrollo de las plantas.

La elaboración y aplicación de inoculantes (biofertilizantes) basados en diversas especies microbianas es una práctica bien conocida en Agricultura, el ejemplo clásico es la aplicación de inoculantes basados en especies de *Rhizobium*, para el cultivo de leguminosas, práctica agrícola conocida desde hace más de un siglo (Nombre, 2010).

Fijación Biológica de Nitrógeno

El nitrógeno es el principal nutriente limitante en ambos sistemas naturales y agrícolas. En gran parte la agricultura actual, se suministra en una forma disponible para las plantas como los fertilizantes, generalmente producidas a través de un proceso químico (por ejemplo, el proceso Haber-Bosch, que convierte el nitrógeno atmosférico en amoníaco utilizando muy altas cantidades de energía) o de la minería de yacimientos minerales. Independientemente de si se trata de abonos producidos químicamente o por la minería, los costes energéticos y ambientales de su producción y uso son prodigiosos (James Hutton Institute, 2010).

El crecimiento de todos los organismos depende de la disponibilidad de nutrientes minerales, y ninguno es más importante que el nitrógeno, que se requiere en grandes cantidades como un componente esencial de proteínas, ácidos nucleicos y otros constituyentes celulares. Hay un suministro abundante de nitrógeno en la atmósfera de la tierra, casi el 79% en forma de

gas N_2 , sin embargo, el N_2 no está disponible para su uso por la mayoría de los organismos porque hay un triple enlace entre los dos átomos de nitrógeno, por lo que la molécula es casi inerte (Deacon, 2000).

En los ecosistemas menos alterados así como algunos agrícolas el nitrógeno soluble (amonio) se hace disponible para las plantas a través de un proceso conocido como fijación biológica de nitrógeno (FBN), en el que las bacterias que contienen el complejo enzimático llamado nitrogenasa (denominados "diazótrofos ") pueden fijar N_2 atmosférico en amoníaco (NH_3) utilizando la energía del ATP y reductores (electrones) suministrado por el metabolismo de los hidratos de carbono, tales como azúcares (James Hutton Institute, 2010).

Muchas plantas, especialmente las legumbres, pero también algunas otras plantas más altas (por ejemplo *Gunnera* y plantas "actinorrísticas", tales como *Alnus*, *Casuarina* y *Myrica*), así como algunas cícadas y el helecho *Azolla*, forman relaciones simbióticas mutualistas con bacterias fijadoras de nitrógeno. En estos sistemas, las bacterias del suelo localizadas en órganos especializados toman nitrógeno de la atmósfera y lo convierten en nitrógeno soluble que está entonces disponible para el crecimiento de la planta (James Hutton Institute, 2010).

La Rizósfera y las Relaciones entre las Plantas y los Microorganismos

Existe una amplia gama de interrelaciones entre especies de microorganismos en los ecosistemas, tales como sinérgicas, antagónicas, de competencia física y bioquímica, moduladas por múltiples y complejos factores bióticos y abióticos. En la rizósfera, uno de los principales sitios donde se presentan microorganismos, específicamente funcionales, como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfatos, promotores del crecimiento vegetal, biocontroladores y especies patogénicas, normalmente, compiten por espacio y por nutrientes. Estas interrelaciones entre microorganismos inciden en la interacción suelo-planta-microorganismos-

ambiente y repercuten, de forma directa, en el crecimiento y en el desarrollo de las especies vegetales. Microorganismos rizosféricos, como los hongos formadores de micorrizas arbusculares (AMF), hongos del género *Trichoderma* y bacterias del género *Pseudomonas*, usualmente, catalogados como agentes de control biológico (BCA) y microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM), dependen de los factores mencionados para expresar sus potenciales efectos benéficos; sin embargo, en la interacción de estos tres tipos de microorganismos, se pueden presentar efectos sinérgicos, que potencialicen los beneficios o, por el contrario, efectos antagónicos o simplemente que no ocurra ningún efecto en el crecimiento y en el desarrollo de las plantas (Cano, 2011).

Microorganismos que Actúan Benéficamente en el Suelo

Microorganismos beneficiosos incluyen aquellas que crean asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas (rizobios, hongos micorrícicos, actinomicetos, bacterias diazotróficas), promover la mineralización de nutrientes y disponibilidad, producir hormonas de crecimiento vegetal, y son antagonistas de plagas de las plantas, parásitos o enfermedades (agentes de control biológico) (FAO, 2015).

Varias etapas del ciclado de nutrientes en el suelo son exclusivamente microbianas. Así, la degradación de la mayoría de los polímeros carbonados constituyentes de los tejidos vegetales, la producción y el consumo de metano, la fijación de nitrógeno o la oxidación de amonio a nitrito y posteriormente a nitrato, son procesos biológicos llevados a cabo sólo por microorganismos (Pedraza *et al.*, 2010).

Fertilizantes Microbiológicos a base de *Azospirillum sp*

La fertilización necesaria para cubrir las demandas de la planta, suficientes para un alto rendimiento y para dejar un residuo con adecuada relación C:N para el suelo, representa un muy alto porcentaje del costo del cultivo. Por

este motivo, todas las técnicas que permitan disminuir el aporte externo de nutrientes o que beneficien su balance en el maíz harán más factible su inclusión en la secuencia agrícola.

La fijación biológica de nitrógeno a través de bacterias de vida libre o simbiótica ha demostrado ser el principal mecanismo para su entrada en la génesis de la materia orgánica del suelo.

El desarrollo de inoculantes comerciales basados en bacterias del género *Azospirillum* sp. o de otros semejantes, permite al productor disponer de otra herramienta para complementar la nutrición del sistema Suelo-Planta, y disminuir así los actuales balances negativos de la agricultura (Galarza *et al.*, 2004).

El uso de biofertilizantes en la producción de patrones porta injertos en la germinación de semilla de cítricos: Se inoculó la semilla con biofertilizantes de la empresa biofábrica, los resultados obtenidos fueron que a la semilla que se inoculó con el biofertilizante generó una planta con mayor vigor y desarrollo de tallo y foliolos de mayor tamaño que a la que no se le aplicó biofertilizantes (BIOFÁBRICA, 2015).

Un biofertilizante es un compuesto 100% hecho de microorganismos (Chavarria, 2006).

Fertilizantes Nitrogenados

Existen varios tipos de fertilizantes nitrogenados, cada uno de ellos es caracterizado por distintas formas de nitrógeno y, en consecuencia, tienen un efecto diferente sobre las plantas (Fertilizer, 2014).

Los fertilizantes nitrogenados simples son aquellos fertilizantes que incorporan al suelo el nitrógeno que es uno de los tres elementos nutrientes considerados como esenciales, se aplican para completar los requerimientos nutricionales de los cultivos en momentos de máxima necesidad. En el caso

de los cereales, desde el ahijado hasta la formación de espiga. El nitrógeno se considera factor de crecimiento y desarrollo y debe aplicarse para cubrir los momentos de necesidades intensas y puntuales, ya que interviene en la multiplicación celular y es necesario para la formación de compuestos esenciales, con lo que su deficiencia tiene efectos irreversibles sobre el cultivo. Los abonos nitrogenados simples son, fundamentalmente, abonos de cobertera aunque, debidamente manejados, pueden utilizarse para aportar nitrógeno antes de la siembra. No solo aportan nitrógeno sino que, en muchos casos, contienen azufre, magnesio, calcio e incluso microelementos. La elección del tipo de fertilizante depende de las necesidades de los cultivos, de las formas en las que se encuentre el nitrógeno, de las características edafoclimáticas, de los sistemas de cultivo y de los sistemas de riego (Fertiberia, 2014).

La solución de nitrato amónico-urea 32 es el único fertilizante nitrogenado que contiene nitrógeno en sus tres formas: ureico 50%, amoniacal 25% y nítrico 25%, lo que permite un amplísimo espectro de posibilidades de utilización y asimilación por el cultivo. El nitrógeno ureico que contiene debe sufrir el proceso de nitrificación para ser asimilable por el cultivo y, este proceso, depende enormemente del suelo y las condiciones ambientales. En función de estos factores puede utilizarse tanto en sementera como en cobertera, pero fundamentalmente se utiliza en cobertera, para cualquier tipo de cultivos, usándose, preferentemente, en zonas más cálidas que aseguran un proceso más rápido de transformación. Si se emplea en sementera, la aplicación deberá llevarse a cabo con la antelación necesaria para que el nitrógeno esté disponible en el momento en que el cultivo lo requiera (Fertiberia, 2014).

Fijación Atmosférica de Nitrógeno

La enorme energía de un rayo rompe las moléculas de nitrógeno y permite a sus átomos de combinar con el oxígeno en los óxidos de nitrógeno que forma

de aire. Estos se disuelven en lluvia, la formación de nitratos, que se llevan a la tierra. La fijación de nitrógeno atmosférico probablemente constituye entre el 5 y 8% del total fijado (Biology, 2015).

Tres procesos son responsables de la mayor parte de la fijación de nitrógeno en la biosfera: Fijación atmosférica por un rayo, fijación biológica por ciertos microorganismos, solo o en una relación simbiótica con algunas plantas y animales, y la fijación industrial (Biology, 2015).

El Género *Azospirillum*

Azospirillum es la bacteria asociativa más estudiada. Ejerce un efecto positivo en una gran diversidad de plantas (Bashan *et al.*, 1996).

Se ha detectado un incremento en el desarrollo del sistema de raíces, tanto en longitud como en volumen de las plantas (Bashan *et al.*, 2007). Además de su aplicación directamente en agricultura, *Azospirillum* se ha convertido en un excelente modelo para los estudios genéticos de bacterias asociadas a plantas en general (Bashan *et al.*, 2007).

La inoculación de gramíneas con bacterias diazótrofes fijadoras de nitrógeno atmosférico; estos microorganismos del género *Azospirillum*, *Azotobacter*, etc., no forman una asociación simbiótica, sino que su accionar, se produce alrededor del área de las raíces (rizósfera), produciendo sustancias promotoras del desarrollo radicular (fitohormonas) (Ferlini *et al.*, 2005).

El descubrimiento de las primeras especies de bacterias fijadoras de nitrógeno microaerofílicas del género *Azospirillum* era debido a la introducción de medios semisólidos exentos de nitrógeno. Bajo las condiciones de gradiente de oxígeno formados en medios semisólidos, los organismos, atraídos por sus característicos aerotaxis se trasladan a la región dentro de este medio donde su tasa de respiración está en equilibrio con la velocidad de difusión de oxígeno (Reis *et al.*, 2011).

Azospirillum representa el mejor género caracterizado de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Otros diazótrofos de vida libre detectadas en varias ocasiones en asociación con las raíces de las plantas, incluyen *Diazotrophicus*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Azoarcus spp.* y *Azotobacter*. Se destacan cuatro aspectos de la interacción raíz *Azospirillum*-planta, hábitat natural, la interacción de la raíz de la planta, la fijación de nitrógeno y la biosíntesis de hormonas de crecimiento vegetal (Janssens, 2000).

Azospirillum spp. Tiene rutas metabólicas de utilización del carbono y nitrógeno muy versátiles, adaptadas para establecerse en ambientes competitivos donde predominan la desecación y limitación de nutrientes (Baca *et al.*, 2010).



Figura 2. *Azospirillum brasilense* (Plantar, 2015).

La inoculación con cepas de *Azospirillum* seleccionadas permite reducir hasta en 50% el uso de los fertilizantes minerales (N,P,K) sin que disminuya el rendimiento del cultivo, e incluso se obtiene 5-10% de aumento respecto a

los cultivos fertilizados con el 100% del fertilizante mineral (Mellado *et al.*, 2009).

Uso e Inoculación con *Azospirillum sp.*

La introducción de bacterias específicas en la rizósfera para promover el crecimiento de la planta y de antagonizar con los patógenos del suelo y de las plantas ha sido objeto de una intensa investigación durante las últimas décadas, y esta práctica se ha convertido en común en la agricultura (Herschkovitz, 2005).

Castillejo (2012), menciona que sus resultados de inoculación en el cultivo de fresa variedad Albión complementaria a una fertilización nitrogenada le produjeron excelentes resultados para muchas características agronómicas deseables.

Las plantas inoculadas absorben más minerales y agua, y en muchos casos, eran más vigorosas y más verdes, y muestran mayor crecimiento (Bashan y Bashan, 2010).

El efecto positivo provocado por la inoculación de las bacterias en el rendimiento de grano se observó también mediante la comparación de los tratamientos que recibieron la cantidad ideal de la fertilización nitrogenada recomendado para el experimento. El rendimiento de grano del tratamiento en el que la inoculación se asocia a 100% de la fertilización N, fue del 6% superior, en relación con el tratamiento que recibió el mismo contenido de la fertilización N sin inoculación ($p < 0,05$). La producción de los tratamientos inoculados y asociadas a 80% de N y con 100% de N sin inoculación estaban siendo estadísticamente similares, demostrado en este caso que la presencia del inoculante sustituido 20% de la fertilización recomendada N para este experimento (Dalla *etal.*, 2004).

Co-inoculación con microorganismos simbióticos para crear un exitoso sistema de nitrógeno biológicofijación en un cultivo no leguminoso puede llevar a muchos beneficios para la planta (Askary *et al.*, 2009).

Un incremento hasta de 20% en el rendimiento se considera comercialmente valioso para la agricultura moderna, siempre y cuando estos resultados sean consistentes. Sin embargo, la información disponible puede resultar insuficiente para pensar en la comercialización de un inóculo bacteriano (Bashan *et al.*, 2007).

El uso de inoculantes biológicos incorporados como tratamientos de semilla es una práctica que en los últimos tiempos ha demostrado un creciente interés, a punto tal que microorganismos como *Pseudomonas*, *Azospirillum* y otros son incluidos en ensayos de investigación, parcelas demostrativas y utilizados comercialmente por no pocos productores (Ferraris y Couretot., 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Estudio

El presente trabajo se realizó durante el periodo de abril a septiembre del 2015, en el área de campo abierto del departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México. A 25° 22' 30.47" latitud Norte y 101° 28' 26.39" longitud oeste, a una altitud de 1474 msnm.

Descripción de los Tratamientos

Partiendo de la solución nutritiva Steiner, se evaluaron cuatro tratamientos:

- 1.- Solución nutritiva completa (testigo).
- 2.- Solución nutritiva completa más *Azospirillum*.
- 3.- Solución nutritiva reducida en nitrógeno.
- 4.- Solución nutritiva reducida en nitrógeno más *Azospirillum*.

En un diseño de bloques completos al azar. Se utilizó semilla de maíz AN447. La siembra se realizó en surcos de 30 m de largo y 0.9 m entre surcos, se sembró a doble hilera en tresbolillo a una distancia de 0.20 m. Para el riego y nutrición se utilizó la solución nutritiva Steiner (Steiner, 1961) al 50, 75 y 100% de acuerdo a la etapa de crecimiento del cultivo.

Aplicación de *Azospirillum*

Se utilizó una cepa de *Azospirillum sp*, proporcionada por la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal. La dosis equivalente a 5 L.ha⁻¹, se diluyó en 10 litros de agua y se regó uniformemente en el surco al centro de las hileras del cultivo de maíz.

Variables a Evaluar

Contenido de NO₃, K, Ca y Na en la Solución del Suelo.

Los NO₃, K, Ca y Na se midieron con un ionómetro marca HORIBA. La solución del suelo se obtuvo a los 15 minutos después del riego y a una profundidad de 15 cm, con un lisímetro marca IRROMETER de 12 pulgadas.

Contenido de NO₃ y K en el Xilema de las Hojas.

El extracto de las hojas se obtuvo mediante maceración de la hoja.

Crecimiento y Acomulacion de Biomasa en Fresco.

Numero de Hojas Verdaderas. Se tomaron 3 plantas al azar de cada repetición y se contó el número de hojas verdaderas

Peso Fresco de Hojas y Raíz. Se cortó la raíz y la parte aérea a la altura del cuello de la planta. Posteriormente la raíz y la parte aérea por separado.

Variables de Rendimiento y Calidad.

Peso del Elote Completo. Se cosecharon las plantas restantes, y se pesó el elote completo (3 muestras).

Ancho y Largo del Elote. Se tomaron 3 elotes de cada repetición y se midió la longitud y diámetro con un vernier electrónico marca AUTO TEC.

Peso del Elote Sin Hoja. Se quitaron las hojas de 3 elotes y se pesaron por separado.

Análisis Estadístico de los Datos

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza ($p \geq 0.05$) y prueba de medias LSD para las variables estadísticamente diferentes. Se utilizó el

software estadístico InfoStat Versión 2008 y STATISTICA Version 7 para windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la Adición de *Azospirillum* en la Solución del Suelo

pH y CE

La adición exógena de *Azospirillum sp* no afectó el pH y la conductividad eléctrica de la solución, como lo muestran los resultados de la Tabla 2.

Se esperaba que el pH de la solución aumentara, como efecto de la oxidación de nitrógeno amoniacal $\text{NH}_4 - \text{NH}_3$ a NO_3 , esta oxidación implica la liberación del H^+ y una reducción del pH. El hecho que no se muestre en los resultados, puede ser debido a que el H^+ liberado actúa como ion de intercambio al ocupar los sitios libres en el suelo por la extracción de cationes como K^+ , Ca^{++} , Mg^+ principalmente (PNA, 2015).

Sin embargo en la literatura se reporta que la actividad microbiana afecta el pH del suelo, y a su vez la actividad microbiana es influenciada por el pH. En particular el pH alcalino dificulta la actividad de *Azospirillum*, y se establece que el rango ideal es de 6 a 8, pues valores superiores a 8 puede en ocasiones inhibir la adhesión de *Azospirillum* a las raíces o incluso la muerte, disminuyendo por lo tanto la oxidación del nitrógeno amoniacal, y la reducción de las formas asimilables de este elemento (Ibáñez, 2007).

Respecto a la conductividad eléctrica, a diferencia del pH, no se esperaba un incremento sino más bien un decremento, porque al oxidar el NH_4 , NH_3 a NO_3 , se espera que la velocidad de adsorción de N-NO_3 aumente y en el contenido de iones en la solución disminuya y por lo tanto los valores de CE también.

Tabla 2. Efecto de la adición exógena de *Azospirillum* en el pH y Conductividad Eléctrica de la solución del suelo.

Tratamiento	pH	C.E
Sol Completa	7.99 a	1420.00 a
Sol Completa + <i>Azosp</i>	7.79 a	1614.71 a
Sol Reducida	7.94 a	1847.57 a
Sol Reducida + <i>Azosp</i>	7.89 a	1420.57 a
Fc – Ft (P≥0.05)		
	1.27 – 0.30	1.13 – 0.35

*Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas (LSD Fisher, $\alpha \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Fc= F Calculada, Ft = F de Tablas.

NO₃, K, Ca y Na en Solución de Suelo

La adición exógena de *Azospirillum* no afectó la concentración de nitratos en la solución del suelo, como se puede constatar en la Figura 3. Como se planteó en la hipótesis, se esperaba un aumento de estos iones en la solución del suelo, como resultado de la actividad del *Azospirillum* sobre la reducción del NH₄ y NH₃, a NO₃.

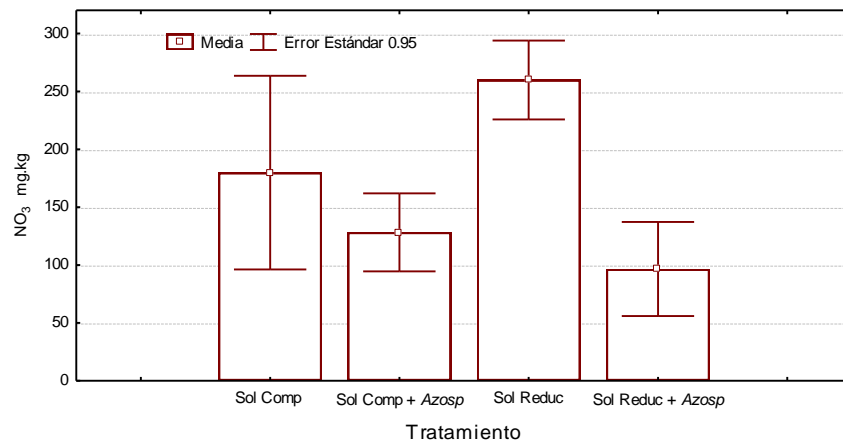


Figura 3. Efecto de la Adición exógena de *Azospirillum* en la concentración de NO₃ en la solución del suelo.

La Tabla 3 muestra la medición de los iones de Ca, K y Na de la solución del suelo y no se encontró efecto de la aplicación exógena de *Azospirillum* sobre K y Ca, pero si sobre Na. Los valores más bajos de sodio se encontraron donde se adiciono *Azospirillum* (Tabla 3), una concentración baja de sodio en la solución es deseable, dado que el sodio aumenta el potencial osmótico de la solución y reduce la adsorción del agua por la planta, y una vez incorporado al suelo disminuye la floculación de las arcillas, que afecta la estructura, la aireación y capacidad de retención del agua (Smart Fertilizer Management, 2016).

Se midieron estos cationes por que junto a Mg, presentan la mayor concentración en las soluciones del suelo, en las zonas agrícolas del altiplano. Además existen reportes que *Azospirillum* afecta positivamente la disponibilidad K y Ca (Reyes, 2007). Sin embargo, en este estudio no se encontraron resultados similares.

Tabla 3. Efecto de la adición exógena de *Azospirillum* en el contenido de K, Ca y Na en la solución del suelo.

Tratamiento	K	Ca	Na
	mg.kg		
Sol Completa	30.42 a	357.14 a	147.14 a
Sol Completa + Azosp	41.85 a	352.85 a	106.00 b
Sol Reducida	35.57 a	435.71 a	113.00 ab
Sol Reducida + Azosp	21.42 a	337.14 a	105.28 b
Fc – Ft (P≥0.05)	0.82 – 0.49	0.79 - 0.53	1.49 – 0.24

*Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas (LSD Fisher, $\alpha \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Fc= F Calculada, Ft = F de Tablas

Efecto de la Adición de *Azospirillum* en la Concentración de NO₃ y K en el Xilema de la Hoja.

La adición exógena de *Azospirillum* aumento la concentración de NO₃ en el xilema de las hojas como se refleja en la Figura 4. Y los valores más altos se encontraron en el tratamiento de solución reducida en nitrógeno más la aplicación de *Azospirillum*. En la prueba de medias también se muestra que supera a la solución completa. Si recordamos que en la solución del suelo la concentración NO₃ no fue diferente en los diferentes tratamientos pero si aumenta en el xilema de las hojas, indica que este resultado puede ser debido a la capacidad de la bacteria *Azospirillum* para fijar nitrógeno atmosférico reduciéndolo a una forma asimilable a través de una enzima llamada nitrogenasa, el mecanismo que produce éste efecto es la liberación de ciertas fitohormonas por parte de la bacteria en cuestión, principalmente el AIA (ácido indol-3- acético) (Paredes, 2013). Caso contrario a lo encontrado por Pellicer *et al*, 2008, donde la concentración de nitratos en hojas y frutos disminuyo respecto a cultivos donde no usaron bacterias (*Azotobacter* y *Azospirillum*). Esto pudo ser debido al contenido elevado de materia orgánica en el suelo que alteró las funciones y propiedades de los biofertilizantes.

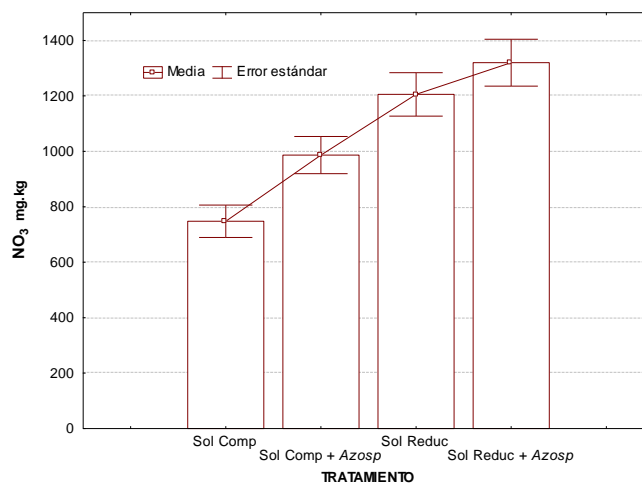


Figura 4. Efecto de la adición exógena de *Azospirillum* en el contenido de NO₃ en Xilema de las Hojas de Maíz

En la Figura 5 se presentan los resultados correspondientes a la concentración de K en xilema de las hojas. En este caso, los resultados mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$). Se observó que la solución reducida más *Azospirillum* presentó la concentración más alta de potasio en las hojas. Estos resultados demuestran que la bacteria aplicada no solo actúa sobre la fijación de nitrógeno sino que afecta positivamente la disponibilidad de otros nutrientes como el potasio (Acebo et al., 2007).

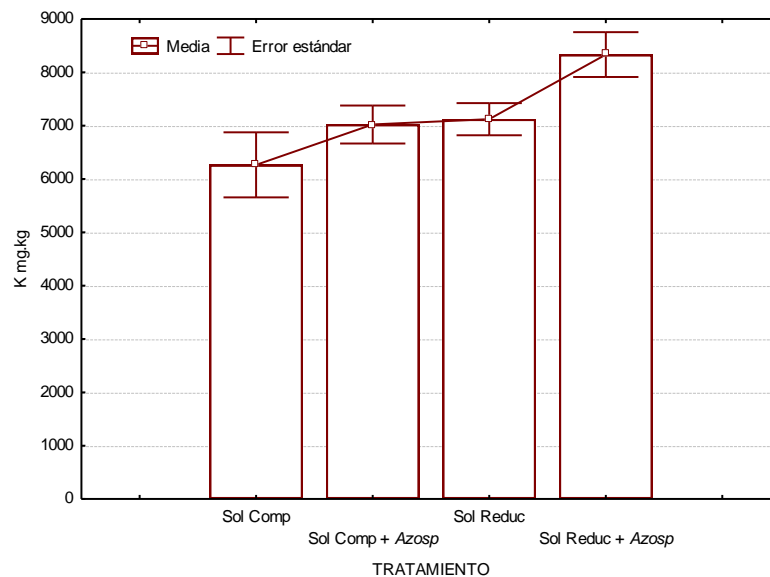


Figura5. Efecto de la adición exógena de *Azospirillum* en el contenido de K en Xilema de las Hojas de Maíz

Efecto de la Adición Exógena de *Azospirillum* en la Producción de Biomasa, Crecimiento y la Calidad del Elote.

Producción de Biomasa, Medido como Peso fresco

La adición exógena de *Azospirillum* afectó el peso fresco de la planta, y la acumulación de peso fresco fue diferente en cada órgano, como se observa en la Tabla 4. Al realizar la fragmentación de la planta, para determinar cuál órgano de la planta acumulo más peso, se encontró que las hojas y el elote completo fueron los órganos con más peso acumulado, mientras que la raíz, el tallo y la espiga no mostraron diferencia. La mayor acumulación de peso fresco en hojas se obtuvo cuando se aplicó solución completa más *Azospirillum* y en la solución reducida. Mientras que la mayor acumulación de peso en elote se obtuvo cuando se aplicó solución reducida más *Azospirillum*.

Los datos obtenidos de la acumulación de peso fresco son muy variables por lo cual no permiten ver una relación directa entre la adición de *Azospirillum* y la acumulación de peso fresco en la planta de maíz. Las causas pueden ser varias, entre ellas; la dinámica del desarrollo de *Azospirillum* en el suelo, en la literatura se reporta que *Azospirillum* al estar en presencia de fertilizantes nitrogenado en el suelo, no se desarrolla adecuadamente. Por otro lado el cultivo de maíz comercial a desarrollado dependencia de los fertilizantes nitrogenados (Riedell, 2010).

Tabla 4. Efecto de la adición exógena de *Azospirillum* en el peso fresco de la planta de maíz elotero.

Tratamiento	Peso Fresco en kg					
	Raíz	Tallo	Hojas	Elote	Espiga	Total
Sol Completa	0.115	0.442 a	0.266 a	0.258 b	0.013 a	1.097 b
Sol Comp + Az	0.147	0.446 a	0.284 a	0.305 ab	0.011 a	1.194 ab
Sol Reducida	0.283	0.441 a	0.278 a	0.313 ab	0.008 a	1.326 a
Sol reduc + Az	0.175	0.397 a	0.165 b	0.331 a	0.011 a	1.080 b
P>0.05). Fc= Ft	1.95-0.14	0.53-0.65	6.50-0.001	1.33-0.27	1.46-0.24	1.46-0.24

*Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas (LSD Fisher, $\alpha \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Fc= F Calculada, Ft = F de Tablas.

Crecimiento de la Planta de Maíz Elotero

La adición exógena de *Azospirillum* afectó de forma diferente el crecimiento de la planta, aumentando el número de hojas, peso sin efecto en la altura y diámetro de tallo, como se puede observar en la Tabla 5. La planta de maíz tuvo 15.22 hojas hasta la hoja bandera donde se aplicó el tratamiento de la solución fertilizante completa más *Azospirillum*.

Tabla 5. Efecto de la adición exógena de *Azospirillum* en el Crecimiento de la planta de maíz Elotero.

Tratamiento	Altura Planta (cm)	Diámetro Tallo (mm)	Numero de Hojas
Sol Completa	253.22 a	25.14 a	14.33 ab
Sol Completa + <i>Azospirillum</i>	269.33 a	24.35 a	15.22 a
Sol Reducida	250.55 a	25.39 a	14.66 ab
Sol reducida + <i>Azospirillum</i>	272.00 a	24.55 a	13.22 b
P>0.05). Fc= Ft	2.11 – 0.11	0.153- 0.92	7.55 – 0.005

*Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas (LSD Fisher, $\alpha \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Fc= F Calculada, Ft = Ft de Tablas.

Por lo tanto la mayor acumulación de peso fresco en las hojas estuvo relacionado directamente al incremento en el número de hojas y no a un mayor desarrollo del área foliar. Al comparar los resultados del crecimiento de los cultivos, asociado a la adición de *Azospirillum*, con la información encontrada en la literatura, coincide en que *Azospirillum* no estimula el crecimiento en altura, en plantas en este caso de trigo duro, quizás porque la concentración 10^6 UFC (unidades formadoras de colonia) ml^{-1} no fue suficiente (Méndez *et al.*, 2008).

Calidad del Elote

En la tabla 6, se esquematiza los resultados de peso del elote sin hojas es decir meramente grano que para el caso del maíz elotero es en lo que los productores buscarían obtener un mejor resultado y en esta investigación los resultados fueron significativamente diferentes para el caso del testigo (S.C) donde se presenta el peso menor teniendo por encima el tratamiento 4, (S.R) seguido de S.R+A pudiendo comprobar la efectividad al suplir la fertilización nitrogenada por un biofertilizante como lo es la inoculación con *Azospirillum*.

Tabla 6.Efecto de la adición exógena de *Azospirillum* en la calidad del elote.

Tratamiento	Peso (g)	Longitud (cm)	Diámetro (mm)
Sol Completa	0.126 b	17.44 b	49.95 b
Sol Completa + <i>Azospirillum</i>	0.181 ab	19.72 a	54.39 a
Sol Reducida	0.228 a	19.93 a	52.75 ab
Sol reducida + <i>Azospirillum</i>	0.201 a	19.83 a	56.13 a
P>0.05). Fc= Ft	2.74 – 0.05	2.27 – 0.09	2.04 – 0.12

*Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas (LSD Fisher, $\alpha \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Fc= F Calculada, Ft = Ft de Tablas.

Las plantas desarrolladas con solución fertilizante reducida en nitrógeno mas *Azospirillum*, aumentaron el contenido de K en el xilema de las hojas y el tamaño del elote. Considerando que el K, es el nutrimento que esta asociado con el transporte de metabolitos de las hojas a los órganos en crecimiento y de reserva, y que el elote es un órgano de reserva, se puede decir que el aumento en tamaño y peso del elote esta asociado al mayor contenido de K en el xilema de las hojas.

CONCLUSIONES

La concentración de NO_3 en la solución del suelo decreció 107.42 mg.L cuando se adiciono *Azospirillum sp* y aumentó 71.24 mg.L en el xilema de las hojas. Esto indica que el uso de este microorganismo tiene un efecto positivo en la asimilación del NO_3 . El nivel de nitratos en el suelo fue de 166.14 mg.L y en el xilema de 1065 mg.L en maíz elotero . Asi mismo, la adición de *Azospirillum*, aumentó el peso fresco y numero de hojas, y el peso y calidad del elote.

Es factible reducir la fertilización nitrogenada en un 39.21 % sin detrimento del crecimiento y la calidad del cultivo del maíz elotero.

REFERENCIAS

- Acebo Y., N. Rives, M. Heydrich y A. Hernández. 2007, Cultivos tropicales 28 (3): 29-32.
- Aguado S., G.A. Q.R.Cruzy A.L. Bulbarela. 2012. Impacto económico y ambiental del empleo de fertilizantes químicos. Guanajuato, México. Pp.1.
- Aguado S., G.A. Q.R.Cruz y A.L.Bulbarela. 2012. Impacto económico y ambiental del empleo de fertilizantes químicos. Guanajuato, México. Pp.13.
- Askary M, A. Mostajeran, R. Amooaghaei, y M. Mostajeran. 2009. Influence of the Co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2,4-D on Grain Yield and N, P, K Content of *Triticum aestivum* (Cv. Baccros and Mahdavi). Revista Eviron ciencia. 5 (3): 296-307.
- Baca k, M. Sánchez, C. Carreño y G. Mendóza. 2010. Polyhydroxyalcanoates of strains of *Azospirillum* spp. isolated of roots of *Lycopersicon esculentum* Mill. "Tomato" and *Oryza sativa* L. "rice" in Lambayeque.
- Bashan y L.E. de Bashan. 2010. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. pp. 78.
- Bashan L.E., Holguin, G., Glick, B.R. and Bashan, Y. 2007. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo. Ferrera-Cerrato, R., and Alarcon, A. Chapter 8. Editorial Trillas, México. pp. 170.

Bashan L.E., Holguin, G., Glick, B.R. and Bashan, Y. 2007. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo. Ferrera-Cerrato, R., and Alarcon, A. Editorial Trillas. Chapter 8 México. pp. 167.

Bashan Y, G. Holguin, R. F. Cerrato. 1996. Interactions between plants and beneficial microorganisms. Revista. *Azospirillum*. Pp. 2.

Bashan, L.E., Holguin, G., Glick, B.R. and Bashan, Y. 2007. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo. Ferrera-Cerrato, R., and Alarcon, A. Chapter 8. Editorial Trillas, México. pp. 162.

BIOFABRICA. 2015. Resultados de pruebas en cultivos de cítricos en el estado de Veracruz 2015. Responsable: BIOFABRICA. Disponible en: <http://www.biofabrica.com.mx/blog/?tag=azospirillum>

Cano M.A. 2011. A review of interaction of beneficial microorganisms in plants: *mycorrhizae*, *trichoderma spp*, and *pseudomonas spp*. Revista. U.D.C.A. 14 (2): 15-31

Castillejo A.L.E. 2012. Aplicación de *Azospirillum* y su efecto en la calidad y rendimiento de fresa (*Fragaria x ananassa*) var. Albion cultivada en invernadero. Tesis de maestría. Instituto politécnico nacional. pp. 14.

Chavarria. 2006. Biofertilizantes y biocontroladores. Responsable: Morena Chavarria vega. Disponible en: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/biofertilizantes_biocontroladores.pdf

Ciampitti I.A.,M, Boxler y F,O, García. 2010. Nutrición de maíz: requerimientos y absorción de nutrientes. Revista. Requerimientos de nutrientes en maíz. Pp 1-5.

CONACYT. 2014. Maíz. Responsable: CONACYT. Disponible en: <http://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/index.php/maiz>

Dalla O.R.,R. F. Hernandez., G. L., M. Alvarez., P. Ronzelli and C.R. Soccol. 2004. *Azospirillum* sp. Inoculation in Wheat, Barley and Oats Seeds Greenhouse Experiments. pp. 884.

Deacon. 2000. The Microbial World: The Nitrogen cycle and Nitrogen fixation. Responsable: Jim Deacon. Disponible en: <http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/nitrogen.htm>

FAO. 2015. AGP - Soil biological management with beneficial microorganisms. Responsable: FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/spi/soil-biodiversity/case-studies/soil-biological-management-with-beneficial-microorganisms/en/>

Ferlini H. A., S.C. Díaz, C .O Traut. 2005. Beneficios del uso de inoculantes sobre la base de *Azospirillum brasilense* en cultivos extensivos de granos y forrajes.

Ferraris G.N. y L.A. Couretot. 2007. Evaluación de Formulaciones con Micronutrientes en Tratamientos Biológicos con *Azospirillum* de Trigo. Proyecto regional agrícola. Disponible en: <http://www.fertilizando.com/articulos/Evaluacion%20Formulaciones%20Micronutrientes%20Azospirillum%20Trigo.asp>

Fertiberia. 2014. Disponible en: http://acm2.fertiberia.es/ACM2_upload/2-Productos/pdfs/Fertilizantes_nitrogenados_simples.pdf

Fertiberia. 2014. Disponible en:
<http://www.fertiberia.es/templates/template1Det.aspx?MP=226yM=244yF=97yL=99yTipo=658yOp=31yC=634>

Fertiberia. 2014. Disponible en:
<http://www.fertiberia.es/templates/template1Det.aspx?MP=226yM=243yF=97yL=99yTipo=658yOp=30yC=633>

Fertiberia. 2014. Disponible en:
<http://www.fertiberia.es/templates/template1.aspx?M=226yF=97yL=99yTipo=658>

Fertilizer. 2014. Responsable: fertilizer. Disponible en: <http://www.smart-fertilizer.com/articulos/fertilizantes-nitrogenados>

Financiera Rural. 2014. Panorama del Maíz. Responsable: Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal, y Pesquero. Disponible en:
<http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Ma%C3%ADz%20%28may%202014%29.pdf>

Galarza C.V. Gudelj, P. Vallone. 2004. Evaluación de fertilizantes microbiológicos a base de *Azospirillum* sp. En el cultivo de maíz en siembra directa. Responsable: portal informativo para el productor agropecuario. pp.1

Google hearth. 2015. Coordinadas UAAAN. Disponible en:
<http://www.uaaan.mx/investigacion/comeaa/Campos Experimentales 2011.pdf>

Herschkovitz. Y., A. learner., Y. Davidov., M. Rothballer., A. Hartmann., Y. Okon, y E. Jurkevitch. 2005. Inoculation with the Plant-Growth-Promoting *Rhizobacterium*, *Azospirillum brasilense* Causes Little Disturbance in the Rhizosphere and Rhizoplane of Maize (*Zea mays*). pp. 27.

Ibáñez. J .J. 2007. Biodisponibilidad de los nutrientes por las plantas, ph del suelo y el complejo de cambio o absorbente. Responsable: Ibáñez J.J. disponible en: <http://www.madrimasd.org/blogs/universo/2007/05/09/65262>

James Hutton institute. 2010. Biological nitrogen fixation by legumes. Responsable: James Hutton institute. Disponible en: <http://livingfield.hutton.ac.uk/science/bnf>

Janssens. F.A. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. Revista FEMS Microbiol.24 (4): 487-506.

López. M. Martínez R.V. Brossard F.M. Bolívar A. Alfonso N. Alba A. y Pereira A. H. 2008. Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes venezolanos. Revista Agronomía Trop. 58 (4): 391-401.

Mellado .J.C. Lemus J.O. Villarreal A.W. González R. de los Santos P.E. Salazarl.R. Suárez R. Iturriaga G. y Aguilar L.M. .2009. uso de *Azospirillum* en México como biofertilizante y potencial de nuevas especies bacterianas como biofertilizantes, agentes de biorremediación y biocontrol de fitopatógenos. SIPAL. pp. 1.

Méndez R.B.A., Villareal M.R., Mellado K., Torres T.A., Vázquez S.M.L. 2008. Respuesta de trigo duro a la inoculación de *Azospirillum sp* en la germinación y vigor. Responsable : Méndez R.B.A. Disponible en: http://www.somas.org.mx/pdf/pdfs_libros/agriculturasostenible6/61/49.pdf

Nombre D.R.2010. Aplicación de microorganismos beneficiosos en la agricultura. Folleto. IFAPA. pp. 1.

Olivarez. J.P. 2008. Fijacion biológica de nitrógeno. Responsable: Olivarez J.P. Disponible en: <http://www.eez.csic.es/~olivares/ciencia/fijacion/>

Paredes M. C. 2013. Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas. Responsable: Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/fijacion-biologica-nitrogeno-leguminosas.pdf>

Parra Y., F. Cuevas 2001. Potencialidades de *Azospirillum* como inoculante para la agricultura, Revista cultivos tropicales.23 (3):31-41.

Pellicer C., A Pérez., Abadía A., Rincón L., Paredes A., Carrillo I.2008. Resultado del aporte de biofertilizantes a un cultivo de pimiento con fertilización ecológica.

Pedraza R.O., C. H. Bellone, S.C. de Bellone, P.M.F.B. Sorte, K.R.Teixeira. 2009. *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. pp. 36.

Pedraza R.O., K. R .S .Teixeira., A.F. Scavino, I. G. de Salmone., B.E. Baca ,R. Azcón., V.L.D. Baldoni., R.Bonilla. 2010. Revista corpoica- ciencia y tecnología agropecuaria. 11 (2): 155-164.

PNA. 2015. Responsable: PNA. Disponible en: <http://www.kno3.org/es/product-features-a-benefits/nitrate-no3-versus-ammonium-nh4>

Reis V.M., K. R. D. Teixeira., y R.O.Pedraza. 2011. What Is Expected from the Genus *Azospirillum* as a Plant Growth-Promoting Bacterium? Disponible en: <http://translate.google.com.mx/translate?hl=es-419ysl=enyt=esyu=http%3A%2F%2Fwww.bashanfoundation.org%2Fpedraza%2Fpedrazawhatgenus.pdfyanno=2>

- Reyes, I., A. Valery. 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento Del maíz (zea mays l.) Con *Azotobacter* spp. Responsable: *BIOAGRO*. 19 (3). Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttextpid=S1316
- Riedell. WE. 2010. Mineral nutrient synergism and dilution responses to nitrogen fertilizer in field grown maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173:869-874.
- Rodríguez S.R., Triana R., Romero F.J., Olvera W.M., Pérez J.P., Expósito I.G., González A.R., Pérez I.R., López G.M., López A.S., Loddó Z.V., Cabrera A.R., Castillo A. G. 2005. Efecto de *Azospirillum brasilense* sobre la cosecha y el desarrollo radical de plantas de caña de azúcar variedad C86-456 obtenidas por cultivo in vitro, en condiciones normales y bajo sobre humedecimiento del suelo.
- SAGARPA. 2008. Estudio de gran visión y factibilidad económica y financiera para el desarrollo de infraestructura de almacenamiento y distribución de granos y oleaginosas para el mediano y largo plazo a nivel nacional. Responsable: SAGARPA. Disponible en: http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/GRANOS.pdf
- SAGARPA-SIAP. 2014. Maíz Grano. Responsable: SAGARPA-SIAP. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/maiz-grano/>
- SIAP. 2014. Producción agrícola. Responsable: SIAP. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap/identidad/index.jsp
- Smart Fertilizer Management. 2016. Responsable: Smart Fertilizer Management. Disponible en: <http://www.smart-fertilizer.com/es/articles/sodic-soils>

Steiner .A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/BF01347224>.

Terry. E.A.,A., Leyva .A. Hernández. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes. Revista. Colombiana. 7(2): 47-54.

UNICORDOBA. 2011. Responsable: universidad de Córdoba. Disponible en:http://web.www3.unicordoba.edu.co/sites/default/files/Informe%20Final_FCB%2002-07%20Cecilia%20Lara%20Mantilla.pdf.