



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
DES CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V**



**Evaluación de biofertilizantes en la producción del cultivo de maíz
(*Zea mays* L.) en Villaflores, Chiapas.**

TESIS

presentada como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
TROPICAL**

por

Lucas Martínez Reyes

Director

DR. CARLOS ERNESTO AGUILAR JIMÉNEZ

Codirector de Tesis

M.C MOISÉS GRACIANO CARCAÑO MONTIEL

Villaflores, Chiapas, México

Noviembre de 2015.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V
DIRECCIÓN



VILLAFLORES, CHIAPAS
18 DE NOVIEMBRE DE 2015
OFICIO N° D/1276/15

C. LUCAS MARTÍNEZ REYES
MAESTRANTE EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
P R E S E N T E.

En atención a que usted ha presentado los votos aprobatorios del Honorable Jurado, designado para su evaluación profesional, de la tesis titulada: **“Evaluación de biofertilizantes en la producción del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) en Villaflores, Chiapas”**, por este conducto le comunico que se le autoriza la impresión del documento, de acuerdo a los lineamientos vigentes de la Universidad.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR”

M. C. JAIME LLAVEN MARTÍNEZ
DIRECTOR



C. c. p. Archivo

JLLM/ymc

AGRADECIMIENTOS

A la universidad Autónoma de Chiapas, Coordinación General de Investigación y Posgrado y a la Facultad de Ciencias Agronómicas, Campus V, por permitirme obtener conocimientos y experiencias durante mi estancia de grado.

A JEHOVÁ DIOS

Por darme la vida, salud y por derramar su bendición en mí persona. Por darme fe, fuerza y sabiduría, por la satisfacción de concluir mis estudios de grado, pero sobre todo te agradezco Señor, por darme la dicha de tener a mis padres.

ABEL MARTÍNEZ COUTIÑO y ROSARIO REYES LÓPEZ

Quienes siempre han sido mi prioridad para superarme y que ellos son un pilar fundamental para poder cumplir mis triunfos, gracias a esto

hicieron posible culminar el presente trabajo, les estaré eternamente agradecido por confiar siempre en mí hasta el último momento.

A MIS HERMANOS

Nehemías, Dulce María, Dina, Loida, Rebeca, Elizabeth y Marien

Por todos sus imperecederos consejos, sus momentos de alegría y de tristeza, además por el apoyo y comprensión que siempre me brindaron “gracias”.

A mis cuñados y sobrinos por su cariño, por su admiración hacia mí y que me dieron la fortaleza de seguir adelante.

A MIS AMIGOS (AS)

Por el apoyo moral que me brindaron durante la estancia de Grado, especialmente a: **Consuelo Margarita Molina Narcia, Carlos Alberto Velázquez Sanabria, Alexander López Velazco, Leonardo Baltazar Domínguez, Josefa del Carmen Castellanos e Isai Arellano Vicente, Óscar Miguel Galdámez** con quienes compartí momentos de alegrías y tristezas.

A mi director de Tesis Dr. Carlos Ernesto Aguilar Jiménez, que a pesar de su agenda tan ocupada le dedicó tiempo suficiente a este trabajo de investigación y con sus acertadas y minuciosas observaciones hicieron posible su realización.

A mi Codirector y Revisor de Tesis el MC. Moisés Carcaño Montiel, por sus correcciones y observaciones en la redacción del documento, así como su tutoría brindada en las pruebas de laboratorio, invernadero y de campo para la obtención de los biofertilizante. Y por encontrar en él un amigo incondicional.

A mi Asesor y Revisor de Tesis: Dr. José Galdámez Galdámez, por sus certeros consejos y su excelente amistad, su valioso apoyo moral que recibí en todo momento y le dedico tiempo suficiente a este trabajo de investigación y con sus acertadas y minuciosas observaciones hicieron posible su realización.

Al M.A.T. Santiago Mendoza Pérez, por su accesibilidad en la realización de este trabajo. Por su apoyo técnico en la recopilación de los datos de campo, así como su procesamiento, redacción y revisión. Un fuerte abrazo.

Al DR. Juan Francisco Aguirre Medina, por sus excelentes observaciones y aportaciones en la presente investigación así como su estímulo y motivación hacia mi persona.

Al M.A.T Franklin B. Martínez Aguilar, por su valioso apoyo moral, y su amistad que siempre me brindo en todo momento y con sus observaciones hicieron posible la realización de esta investigación.

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CYMMYT) a través de la Modernización Sustentable de la Agricultura Tradicional (MasAgro), por el objeto de colaborar en la implementación del proyecto de investigación denominado “Evaluación de biofertilizantes en el cultivo de maíz en la Villaflores Chiapas”

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla(BUAP), por abrirme sus puertas y poder ingresar a su laboratorio del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas (ICUAP) Laboratorio de microbiología de suelos, así como su espacios en las pruebas de laboratorio, invernadero y de campo para la obtención de los biofertilizantes: *Azospirillum brasilense* (BiofosfoBuap) y (*Chromobacterium violaceum* (BiofertiBuap).

Al Dr. Efraín Espinoza Méndez, por sus sugerencias y aportaciones en la realización de este trabajo y por aclarar mis dudas en cuanto a los aspectos estadísticos y financieros.

A la Dra. María de los Ángeles Rosales Esquinca, coordinadora de investigación y posgrado, quien además de coordinar las actividades de posgrado siempre se esforzó por motivarme y fomentar mi superación personal. Así como todas las facilidades prestadas en la realización y culminación de la presente investigación

Al M.C Jaime Llaven Martínez Director de la Facultad de Ciencias Agronómicas, por todas las facilidades prestadas en la realización y culminación de la presente investigación

AL Dr. José Galdámez Galdámez, secretario académico, por todas las facilidades prestadas en la realización y culminación de la presente investigación

AL Dr. Francisco Guevara Hernández, que con su manera positivista y constructivista me formo profesionalmente, además por su amistad desinteresada y por sus valiosas sugerencias en la redacción de este trabajo.

A todo el personal docente y administrativo de la Facultad de Ciencias Agronómicas. GRACIAS.

DEDICATORIA

A JEHOVÁ

Quién me suministro las fuerzas para seguir adelante y no derrocar en las dificultades que se presentaban, enseñándome afrontar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. GRACIAS PADRE.

A MIS PADRES

Quienes con sus desvelos, sacrificios y atenciones desinteresadas supieron hacer de mí una persona de éxito, porque siempre ellos estuvieron y estarán en las buenas y en las malas, me educaron y aconsejaron y me impartieron valores para conducirme correctamente. Quienes me enseñaron desde pequeño a luchar para alcanzar mis metas y me sirvieron de estímulo para culminar mis estudios de Grado.

A MIS HERMANOS:

Por todos los consejos que me brindaron y el apoyo incondicional en mi vida personal y profesional, que con su gran paciencia y cariño estuvieron siempre para apoyarme, compartiendo momentos de felicidad, tristeza y enojos, gracias por estar siempre a mi lado.

A Rubí Edith Díaz Sánchez:

Mi amiga y Novia incondicional, que estuvo conmigo en mis momentos de tristeza, enojos y felicidad demostrando esa actitud de paciencia y sus motivaciones para terminar el presente trabajo.

A Elizabeth Portillo Manzano, Guadalupe... Nohemí López Santamarina.
Oscar Pérez estaban a

Por su sencillez, amistad y comprensión que me brindaron durante mi estancia académica en la (BUAP).

A todas aquellas personas que me apoyaron y no solamente a los que me apoyaron, sino también para todo aquel que se pueda beneficiar de este trabajo. Que está hecho con todo mi amor y dedicación lo cual produce una gran satisfacción para poder servir a quien lo requiera.

¿Has contemplado a un hombre hábil en su trabajo? Delante de reyes es donde él se apostará; no se apostará delante de hombres comunes (Proverbios 22:29). T.N.M.S.E



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V



CUERPO ACADÉMICO EN AGRICULTURA SOSTENIBLE

Esta Tesis titulada: **“EVALUACIÓN DE BIOFERTILIZANTES EN LA PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.) EN VILLAFLORES, CHIAPAS”**, forma parte del proyecto de investigación: **Evaluación de Biofertilizantes para el cultivo de maíz en Villaflores, Chiapas**. Enmarcada dentro del programa: Desarrollo Sustentable con el Productor en el marco de la iniciativa Modernización Sustentable de la Agricultura Tradicional (MasAgro). Dicho proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Y está registrado en la Dirección General de Investigación y Posgrado el cual se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: **Indicadores de Sostenibilidad del Cuerpo Académico en “Agricultura Sostenible” (UNACH-CA-114)** además se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: Sistemas Integrados de Producción del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical (MCPAT).



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN SUPERIOR CIENCIAS
AGROPECUARIAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V**

Esta tesis Titulada: **“EVALUACIÓN DE BIOFERTILIZANTES EN LA PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE MAÍZ (ZEA MAYS L.) EN VILLAFLORES, CHIAPAS”**, fue realizada por el **ING. LUCAS MARTINEZ REYES**, bajo la dirección, codirección y asesoría del Comité Tutorial indicado, como requisito parcial para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**.

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTOR

DR. CARLOS ERNESTO AGUILAR JIMENEZ

CODIRECTOR

M.C MOISÉS GRACIANO CARCAÑO MONTIEL

ASESORES

DR. CARLOS ERNESTO AGUILAR JIMENEZ

DR. JOSE GALDÁMEZ GALDÁMEZ

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN SUPERIOR CIENCIAS
AGROPECUARIAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V**

Esta tesis Titulada: **“EVALUACIÓN DE BIOFERTILIZANTES EN LA PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE MAÍZ (ZEA MAYS L.) EN VILLAFLORES, CHIAPAS”**, fue realizada por el **ING. LUCAS MARTINEZ REYES**, bajo la dirección, codirección y asesoría del Comité Tutorial indicado, como requisito parcial para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**.

COMISIÓN REVISORA

DR. CARLOS ERNESTO AGUILAR JIMÉNEZ


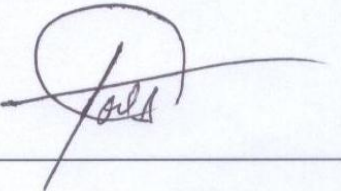
FCA. UNACH

M.C. MOISÉS GRACIANO CARCAÑO MONTIEL

BUAP. PUEBLA

DR. JOSE GALDÁMEZ GALDÁMEZ

FCA. UNACH

A large, stylized handwritten signature in black ink, written over a horizontal line. The signature is highly cursive and loops around itself.A smaller, more compact handwritten signature in black ink, written over a horizontal line. It features a prominent circular loop at the beginning.

CONTENIDO

	Página.
ÍNDICE DE CUADROS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
RESUMEN.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo general.....	2
1.2 Objetivos específicos	2
1.3 Hipótesis.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 El suelo.....	3
2.2 El cultivo de maíz.....	5
2.3 Los fertilizantes químicos.....	8
2.4 Los fertilizantes nitrogenados.....	10
2.4.1 Función del nitrógeno en las plantas.....	10
2.5 Los fertilizantes fosfatados	11
2.5.1 Función del fosforo en las plantas.....	12
2.6 Los fertilizantes potásicos.....	13

2.6.1 Función del potasio en las plantas.....	13
2.7 Los microorganismos.....	14
2.7.1 Microorganismos fijadores de nitrógeno y fosfolubilizadoras....	15
2.7.2 Bacterias solubilizadoras de fosfatos.....	16
2.8 Antecedentes de los biofertilizantes.....	17
2.8.1 Factores que afectan la simbiosis.....	22
2.8.2 Beneficios de los biofertilizantes.....	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1 Ubicación del área de estudio.....	27
3.2 Caracterización edáfica del área experimental.....	27
3.3 Diseño experimental y tratamiento.....	29
3.3.1 <i>Azospirillum brasilense</i> y <i>Chromobacterium violaceum</i>	29
3.4 Trabajo de campo.....	30
3.4.1 Preparación del terreno.....	30
3.4.2 Inoculación de la semilla.....	30
3.4.3 Siembra.....	31
3.4.4 Deshije.....	31
3.4.5 Fertilización edáfica.....	31

3.4.6 Manejo de arvenses.....	31
3.4.7 Manejo de plagas de follaje	31
3.4.8 Cosecha.....	32
3.5 Variables a evaluar.....	32
3.5.1 Variables agronómicas en la cosecha	32
3.5.2 Componentes del rendimiento.....	32
3.6 Análisis estadístico.....	34
3.7 Análisis económico.....	34
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1 Caracterización física y química del área experimental.....	35
4.2 Variables agronómicas.....	38
4.2.1 Porcentaje de emergencia.....	38
4.2.2 Altura de planta.....	40
4.2.3 Altura de mazorca	42
4.2.4 Número de plantas por parcela útil	45
4.2.5 Número de mazorcas por parcela útil.....	47
4.2.6 Peso de mazorcas con brácteas	49
4.2.7 Peso de mazorcas sin brácteas	51

4.2.8	Peso de 10 mazorcas.....	52
4.2.9	Diámetro y longitud de mazorcas	55
4.2.10	Número de hileras y granos por hilera.....	58
4.2.11	Granos por mazorca	62
4.2.12	Peso de 100 granos.....	64
4.2.13	Diámetro de olote.....	66
4.2.14	Peso de olote.....	68
4.2.15	Rendimiento de grano por parcela útil.....	70
4.2.16	Rendimiento de grano en toneladas	72
4.3	Análisis económico.....	73
4.3.1	Presupuesto parcial	74
4.3.2	Análisis de dominancia.....	76
5.	CONCLUSIONES.....	78
6.	LITERATURA CITADA.....	79
7.	APÉNDICE.....	110

ÍNDICE DE CUADROS

No	Página
1	Tratamientos evaluados en el área experimental, predio “La Unión” Municipio de Villaflores, Chiapas..... 29
2	Composición porcentual de los biofertilizantes BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP..... 29
3	Caracterización física y química del suelo del área experimental, predio “La Unión” municipio de Villaflores, Chiapas 2014..... 35
4	Efecto de los biofertilizantes sobre la emergencia de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas..... 39
5	Efecto de los biofertilizantes sobre la altura de planta de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas..... 41
6	Efecto de biofertilizantes sobre la altura de mazorca de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas..... 43
7	Efecto de biofertilizantes sobre el número de plantas de maíz por parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas..... 45
8	Efecto de biofertilizantes sobre el número de mazorcas de maíz en la parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas..... 47
9	Efecto de biofertilizantes en el peso de mazorcas de maíz con brácteas de la parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores,

Chiapas.....	47
10 Efecto de biofertilizantes en el peso de mazorcas de maíz sin brácteas, de la parcela útil predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.	51
11 Efecto de biofertilizantes en el peso de 10 mazorcas de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	63
12 Efecto de biofertilizantes sobre granos por mazorca de maíz predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	61
13 Efecto de biofertilizantes en el peso de 100 granos de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	65
14 Efecto de biofertilizantes en el diámetro de olote de maíz predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	67
15 Efecto de biofertilizantes en el peso de olote de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	69
16 Efecto de biofertilizantes en el rendimiento de grano de maíz de la parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	70
17 Efecto de biofertilizantes en el rendimiento de grano de maíz en t ha ⁻¹ , en el predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	72
18 Costos de producción en la evaluación de dos biofertilizantes en el cultivo de maíz.....	75
19 Beneficio neto y bruto en la evaluación de dos biofertilizantes en la producción de maíz.....	75

20	Análisis de dominancia en los tratamientos predio “La Unión” municipio de Villaflores Chiapas, 2013	76
----	---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

No		Página
1	Localización del área de estudio, predio “La Unión Municipio de Villaflores, Chiapas 2013.....	28
2	Diseño y distribución de los tratamientos en la parcela experimental predio “La Unión” Municipio de Villaflores, Chiapas 2013.....	30
3	Efecto de biofertilizantes sobre la longitud y diámetro de mazorcas de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	55
4	Efecto de biofertilizantes en el número de hilera y granos por hilera de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.....	59
5	Tasa marginal de retorno de los tratamientos no dominados.....	77

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto del uso de dos tipos de biofertilizantes (microorganismos benéficos inoculados) en la producción de maíz bajo dos dosis de fertilización química. El trabajo se realizó en condiciones de temporal de lluvias durante el ciclo Primavera-Verano de 2014, en el predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas, ubicado en el kilómetro 85 de la carretera Ocozocoautla Villaflores, propiedad de la señora Carmelita López Aguilar. Se realizó bajo un diseño experimental de bloques al azar con nueve tratamientos y cuatro repeticiones, conformando un total de 36 unidades experimentales. Los tratamientos evaluados fueron *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* con sus diferentes dosis de fertilización al 50 % y 100 de la dosis local.

El mayor rendimiento de grano del cultivo de maíz se encontró con el tratamiento *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 con 5.97 t ha^{-1} , en segundo lugar *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 con 5.87 t ha^{-1} y el menor rendimiento fue el Testigo absoluto con 4.30 t ha^{-1} . Los resultados obtenidos mostraron que cuando se utiliza *biofertilizantes a base de hongos* existe un incremento en el rendimiento de maíz por efecto de la aplicación de microorganismos benéficos, por lo que no se rechaza la hipótesis. En el análisis económico los tratamientos con mayores beneficios netos fueron los tratamientos *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30 y *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 con \$ 15,576 y \$ 15,226 respectivamente. La mayor Tasa Marginal de Retorno se dio al utilizar el tratamiento *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30.

ABSTRACT

The present study conducted was to evaluate the effect of use two types of biofertilizers (inoculated beneficial microorganisms) in the production of corn under two doses of chemical fertilizer. The work conducted was under conditions of rainstorm during the spring-summer cycle 2014, in the estate "La Union" the municipality of Villaflores, Chiapas, located at kilometer 85 of the highway Ocozocoautla Villaflores, Mrs. Carmelita Lopez Aguilar s property. It was conducted under an experimental randomized block design with nine treatments and four repetitions, making a total of 36 experimental units. The treatments were *Azospirillum brasilense* and *Chromobacterium violaceum* with different fertilization at 50% and 100% local dose. The highest grain yield of maize was found with treatment *Azospirillum brasilense* + chemical fertilizer 160-46-30 with 5.97 t ha⁻¹, second *Chromobacterium violaceum* + chemical fertilizer 80-23-15 with 5.87 t ha⁻¹ and the lowest yield was the absolute control with 4.30 t ha⁻¹. Results showed that when used biofertilizers based fungi there is an increase in corn yield due to the application of beneficial microorganisms, so the hypothesis is not rejected. In the economic analysis the treatment with higher net profits were *Chromobacterium violaceum* treatments 160-46-30 + chemical fertilizer and chemical fertilizer *Chromobacterium violaceum* + 80-23-15 with \$ 15.576 and \$ 15.226 respectively. Most Marginal Rate of Return was given treatment-using chemical fertilization *Azospirillum brasilense* + 160-46-30.

1. INTRODUCCIÓN

En México el maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo básico para la alimentación humana y animal, muchos productores dependen de esta actividad agrícola desarrollada fundamentalmente bajo condiciones de temporal de lluvias, su aportación es del 32.8% del valor de la producción del sector agrícola nacional, ocupando el primer lugar en superficie cultivada.

La importancia socio-cultural del cultivo de maíz y la difícil situación en la que se encuentra la agricultura campesina debido al incremento del costo de los fertilizantes, los cuales representan del 40 al 50 % del costo total de producción, la explotación intensiva de los suelos y su degradación ha traído como consecuencia la búsqueda de alternativas que puedan ayudar a obtener mejores cosechas, rentables y que puedan seguir produciendo el grano básico, una de ellas es el uso de fertilizantes biológicos que permitan incrementar la producción de granos esenciales como también a mejorar las condiciones del suelo, evitando su degradación y contaminación.

El uso de biofertilizantes surge como una tecnología alternativa sostenible que permite la inclusión de microorganismos benéficos a la semilla (inoculación), específicamente de bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias solubilizadoras de fosfatos, que al estar en contacto con los cultivos producen efectos importantes en el desarrollo y producción de los cultivos, en estas condiciones la planta es capaz de explorar mayor volumen de suelo, con lo cual mejora la captación y aprovechamiento de agua y nutrientes del suelo, además de permanecer más tiempo activo el sistema radical, a su vez protegen al cultivo contra el ataque de microorganismos patógenos .

El estudio de bacterias asociadas a las plantas es una línea que avanza muy lentamente en México, no obstante se han obtenido resultados satisfactorios al inocular diversos cultivos con *Azospirillum*, *Pseudomonas* y otros microorganismos, los cuales pueden alterar la velocidad de toma de nutrientes de las plantas por un efecto directo en las raíces, así como hacer más eficiente la absorción de los mismos

Además que permiten reducir hasta la mitad el uso de fertilizantes minerales como el nitrógeno, fósforo y potasio. Por lo que al reducir la fertilización química disminuirían los costos de producción en el cultivo de maíz, se aprovecha el fósforo y potasio nativo del suelo, y se reduciría el efecto acidificante de los fertilizantes nitrogenados amoniacales.

Los suelos de la región Frailesca Chiapas, son de naturaleza ácida, en parte debido a su origen de rocas ígneas ácidas, lixiviación de sus bases por precipitación pluvial, además de la extracción de calcio, magnesio y potasio por el monocultivo, el uso excesivo y sistemáticos de fertilizantes de reacción ácida como el sulfato de amonio, la presencia de hierro y aluminio en la solución del suelo a pH menores de 5.5 y al mal manejo del suelo que el productor ha llevado a cabo; ante esta situación, una de las estrategias agroecológicas de alta pertinencia local a seguir para ayudar a reducir

tales problemas, es la utilización de biofertilizantes, que ayudan a la fijación de nitrógeno y la solubilización de nutrientes como fósforo y potasio, que pueden reducir los costos de producción, que coadyuvan al incremento de los rendimientos y favorecen los factores ecológicos en los agroecosistemas tropicales.

1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del uso de dos tipos de biofertilizantes (microorganismos benéficos inoculados) en la producción de maíz bajo dos dosis de fertilización química.

1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de *Azospirillum brasiliense* asociado a dos dosis de fertilización química en la producción de maíz en Villaflores, Chiapas
- Valorar el efecto de *Chromobacterium violaceum* asociado a dos dosis de fertilización química en la producción de maíz en Villaflores, Chiapas

1.3 Hipótesis

Los biofertilizantes inoculados al cultivo del maíz incrementan la producción de grano y permiten reducir la dosis de fertilización química, y con su uso combinado se obtienen beneficios ecológicos, productivos y económicos en los sistemas de producción del municipio de Villaflores, Chiapas, México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El suelo

Se conoce como suelo la parte superficial de la corteza terrestre, conformada por minerales y partículas orgánicas producidas por la acción combinada del viento el agua y procesos de desintegración orgánica. El suelo está formado por varios componentes: rocas, arena, arcilla, humus o materia orgánica en descomposición, minerales y otros elementos en diferentes proporciones (Lynch y Brown 2001).

Para que se forme un suelo fértil es necesario que pasen millones de años. Sin embargo, puede perderse en poco tiempo, si no existe vegetación o materia orgánica que lo cubre, éste será arrastrado por el agua y el viento. El suelo se forma por la acción de diferentes fuerzas (químicas, físicas y biológicas) sobre la materia que le da origen, que es la roca basal. El suelo es un sistema dinámico que se encuentra en continua transformación (Bowen y Rovira, 1999).

Hay que destacar que son los microorganismos como hongos, entre ellos la Micorriza, y bacterias quienes ayudan en la formación del suelo, degradando las rocas y produciendo partículas que le dan estructura. Posteriormente, otros organismos como los líquenes y musgos colonizan la roca facilitando en el proceso la formación del suelo. Más adelante, otros organismos como lombrices, plantas arbustivas y árboles lo colonizarán y el suelo seguirá formándose (Kennedy y Smith, 1995).

Los suelos permiten que las formaciones vegetales naturales y los cultivos se fijen con sus raíces y así busquen los nutrientes y la humedad que requieren para vivir. El suelo es el sustrato sobre el que se sostienen todos los ecosistemas terrestres y el principal sostén productivo que mantiene la provisión de alimentos a las poblaciones humanas. Su calidad depende de sus propiedades físicas, químicas y de la actividad y diversidad de su biota. El suelo y su biota interactúan en la interfase raíz-suelo, en la zona conocida como rizósfera, que es un microcosmos dinámico con un ambiente químico y biológico claramente distinto al resto del suelo, (Lynch, 1990; Azcón-Aguilar y Barea, 1983; Kennedy y Smith, 1995 y Bowen y Rovira, 1999).

El suelo posee una infinidad de características, no obstante, algunas son más importantes para el desarrollo de los seres vivos: 1) La porosidad, la cual permite el paso de aire y agua en el interior del suelo, elementos esenciales para el desarrollo de los microorganismos y las plantas, 2) Su estructura, que depende del arreglo o configuración de sus partículas, compuestas por diferentes cantidades de arena, limo y arcilla, unidas entre sí, formando lo que se conoce como agregados. La importancia de los agregados radica en que determinan el grado de porosidad del suelo, necesaria para la infiltración de agua y para la aeración de las raíces (Wright y Upadhyaya, 1996), 3) La disponibilidad de nutrientes, necesaria para el crecimiento vegetal, 4) El contenido de materia orgánica, que mejora la fertilidad, y 5) La actividad microbiana, que intervienen en distintos procesos vitales para el ecosistema

como el ciclaje de nutrientes, la fertilidad del suelo, su estructura y el crecimiento vegetal (Tisdale, 1996).

Que el suelo se encuentre en buenas condiciones es uno de los condicionantes principales para la productividad agrícola. No obstante, sus prácticas provocan el deterioro del suelo a través del establecimiento de monocultivos que disminuyen la fertilidad, del arado que destruye las partículas del suelo, de la falta de una cubierta vegetal permanente, que favorece su erosión, del uso de pesticidas y agroquímicos, que provocan la salinización, la contaminación del suelo y del agua, además del uso de otros químicos nocivos que afectan a las poblaciones microbianas y a la producción de alimentos (Op.cit).

Uno de los requerimientos más importantes es el mantenimiento de la fertilidad del suelo. Tradicionalmente, la deficiencia de nutrimentos, especialmente la de N, es corregida a través de la adición de fertilizantes. Sin embargo, los altos costos limitan su uso, sobre todo en los países en desarrollo, donde la necesidad de incrementar la producción de alimentos es más urgente. Por otro lado, se estima que los cultivos absorben entre un 20 a 40% del fertilizante aplicado, el resto se pierde por diversos mecanismos, generando cuantiosas pérdidas económicas y contaminación ambiental, tal como la eutrofización de cuerpos de agua, lluvia ácida, destrucción de la capa de ozono estratosférica e incremento del efecto de invernadero (Duxbury, 1994).

En condiciones naturales, el suelo cuenta con una comunidad de microorganismos, que junto con las plantas y otros organismos (como insectos, arácnidos, anélidos, entre otros) mantienen al suelo con un adecuado balance para el desarrollo del ecosistema. En este sentido existen algunos grupos de microorganismos con una alta capacidad como restauradores del suelo. Entre estos microorganismos unos de los más importantes son los hongos formadores de micorriza, también llamados hongos micorrízicos (Simard y Durall, 2004).

Los hongos micorrízicos intervienen en la conservación del suelo mediante distintos mecanismos. Al mejorar la absorción de nutrimentos de las plantas aumentan la productividad vegetal, lo que permite que exista una mayor cantidad de materia orgánica, que cuando se descompone se integra en el suelo, mejorando entre otras propiedades la fertilidad, la capacidad de intercambio catiónico y la capacidad de retención de agua. Consecuentemente, los hongos micorrízicos, cambian la composición de los exudados de la raíz, que sirven de alimento para otros microorganismos rizosféricos esenciales para el crecimiento vegetal y para el ciclaje de nutrientes (González-Chávez *et al.*, 2004).

Se ha valorado que la fijación biológica de nitrógeno (FBN) contribuye con más N al crecimiento de las plantas que la cantidad total de fertilizantes nitrogenados aplicados a los cultivos. Alrededor de 1.75×10^8 Mg N^{a-1} se fijan biológicamente, lo que equivale a un poco más de la producción mundial de fertilizantes nitrogenados (8.9×10^7 Mg N^{a-1}). En contraste, la fertilización nitrogenada en cultivos no leguminosos es una de los insumos más costosos en la agricultura (FAO, 2008).

La importancia que tienen los microorganismos en la naturaleza y en sus relaciones con el hombre es cada día más evidente. Cuando la agricultura tiene la necesidad de adoptar medidas conservacionistas, los microorganismos utilizados como biofertilizantes tienen un papel sustancial (Op.cit).

Los organismos benéficos son conocidos por desempeñar papeles fundamentales en el suelo (Barea, 1997), particularmente el grupo de las bacterias entre los que destacan las rizobacterias y las bacterias fijadoras de nitrógeno, conocidas por su habilidad para colonizar a la raíz y promover el crecimiento vegetal. Este grupo de organismos desempeñan muchos papeles importantes, tales como el control biológico de patógenos, el ciclaje de nutrientes, el establecimiento de las plántulas y la mejora en la calidad del suelo (Weller y Thomashow, 1994; Barea *et al.*, 1998; Barea 2000 y Barea 2000).

Las bacterias fijadoras de nitrógeno y las solubilizadoras de fósforo mejoran la disponibilidad de dos de los nutrientes principales para las plantas el nitrógeno (N) y el fósforo (P). Las relaciones sinérgicas entre estos microorganismos y los hongos micorrízicos han sido ampliamente demostradas. La inoculación con hongos micorrízicos mejora la nodulación en leguminosas y la fijación de nitrógeno (Barea *et al.*, 1992). La bacteria del género *Azospirillum* influye sobre la morfología, geometría fisiológica del sistema radical, además de promover el crecimiento de la planta y la fijación de nitrógeno (Carcaño *et al.*, 2006)

Se ha demostrado que *Azospirillum* puede aumentar la formación de la simbiosis micorrízica y su respuesta, mientras que los hongos micorrízicos puede mejorar el establecimiento de *Azospirillum* en el suelo (Volpin y Kapulnik, 1994). Por lo tanto el manejo de dichas interacciones provee un enfoque prometedor para el desarrollo de tecnologías para la producción agrícola (Bethlenfalvay y Linderman 1992; Gianinazzi y Schüepp 1994 y Jeffries y Barea 2001) y para la restauración de suelos degradados, ya que además de promover el crecimiento vegetal, intervienen en el ciclaje de nutrientes, de vital importancia para el mantenimiento de la fertilidad del suelo (Perotti y Pidello, 2012).

2.2 El cultivo del maíz

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) pertenece a la familia botánica Poaceae o Gramineae, al igual que el trigo, el arroz, la cebada, el centeno y la avena. Este cultivo se originó mediante el proceso de domesticación que llevaron a cabo los antiguos habitantes de Mesoamérica, a partir de los “teocintles”, gramíneas muy similares al maíz, que crecen de manera natural principalmente en México y en parte de Centroamérica. Se considera que las poblaciones de teocintle del centro del México (Kato, 1984; Fernández *et al.*, 2013).

El proceso de domesticación del maíz inició hace aproximadamente 10,000 años, muy asociada a la invención y desarrollo independiente de la agricultura en Mesoamérica, y continua en el presente con el manejo, cultivo y selección que hacen año con año los agricultores y sus familias de sus variantes de maíces nativos (o criollos), asimismo con la interacción de este cultivo con sus parientes silvestres, los teocintles, en las regiones donde coinciden de manera natural (Vega *et al.*, 2004).

El maíz (*Zea mays* L.) es la especie cultivada con más amplia distribución en México, en donde cumple una función de gran importancia en el suministro alimentario familiar y se encuentra muy ligada a la cosmovisión de los pueblos indígenas. Esta especie ha sido catalogada como una planta micotrófica facultativa que responde a la presencia de Hongos micorrizicos arbusculares en suelos con bajo o moderado nivel de fertilidad (Gavito y Varela 1995 y Gavito y Miller 1990); aunque también se ha observado que el grado de dependencia micotrófica en suelos con bajo nivel de fósforo varía ampliamente entre variedades de maíz.

Entre los principales países productores de maíz se encuentran Estados Unidos (39%), China (21%), Brasil (7%), Argentina y México (3%), Canadá y Sudáfrica (1%) que aportaron 693.15 millones de toneladas de grano (SIAP¹, 2013) para satisfacer las demandas de la población la cual creció de 5.5 millones a 6.3 millones durante el periodo de 1992 al 2003.

En México, el maíz es el cultivo más importante por ser un producto básico en la alimentación de la población. Aunque se cultiva en todas las entidades federativas, los estados que aportaron el 70 % de la producción nacional durante el periodo de 1995 al 2000 fueron Jalisco, Sinaloa, Estado de México, Michoacán, Puebla, Veracruz, Guerrero y Chiapas (Vega *et al.*, 2004).

En México el cultivo de maíz se considera una de las actividades agrícolas más importantes de la población rural, con una superficie sembrada de 3.8 millones de hectáreas y producción promedio anual de 21.3 millones de toneladas. En el estado de Chiapas el 70% de su producción se exporta a otros estados no autosuficientes con la finalidad de conformar la dieta humana (FAOSTAT, 2011). Entre la regiones más productoras de maíz en el estado se encuentra La Frailesca, donde el cultivo ocupa alrededor del 17 % de la superficie agrícola y aporta el 22% de la producción (SECAM, 2012).

¹ Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera

El maíz es el cultivo de mayor presencia en el país, constituye un insumo para la ganadería y para la obtención de numerosos productos industriales, por lo que, desde el punto de vista alimentario, económico, político y social, es el cultivo agrícola más importante (Polanco y Flores 2008, SIAP, 2008).

Hasta el año 2007, La Frailesca reporto un incremento de la producción de maíz debido principalmente por el alto uso de insumos químicos, lo cual permitió obtener rendimientos por encima de las 4 t ha⁻¹, mientras que a nivel nacional el rendimiento oscilo en 2.82 t ha⁻¹ en el mismo año (Robles, 2010). A la fecha (2015) esta región produce alrededor de 1.7 millones de toneladas de maíz con rendimiento promedio de 3.2 t ha⁻¹. Aproximadamente el 90% de los productores cultiva para autoconsumo

con métodos tradicionales y mediante la implementación de diversas estrategias en la forma de producir, mientras que solo el 10 % vende los excedentes a comercializadores (Kassam, 2009).

La producción de granos responde a la demanda del mercado internacional y por ende al crecimiento y necesidades de la población. Por otro lado, el agotamiento de las reservas del petróleo promueve la generación y utilización de fuentes de energía alternas como los biocombustibles elaborados a base de algunos granos. Ambas situaciones obligan a incrementar los volúmenes de producción de alimentos cada año lo cual en gran parte depende de la utilización de fertilizantes y plaguicidas En la actualidad, el uso de agroquímicos, por su costo alto, reduce la rentabilidad de los cultivos, aumentan la degradación y erosión de los suelos, contaminan el agua y aire y traen consigo la pérdida de diversidad biológica (Op. cit).

El maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo con altas demandas nutricionales. Entre los elementos del suelo que utiliza en mayores cantidades cabe mencionar el nitrógeno (N), seguido del potasio (K) y el fósforo (P). Estos nutrientes forman parte de numerosos fertilizantes químicos, ya sea en forma individual o combinados en fórmulas. Además de N, P y K, las plantas necesitan de otros elementos del suelo, los cuales son requeridos en menor proporción. Entre ellos, los más utilizados son el calcio (Ca), el magnesio (Mg) y el azufre (S). El calcio y el magnesio pueden formar parte de materiales de encalado, los cuales se recomiendan para suelos ácidos. El magnesio y el azufre también pueden estar presentes en algunas fórmulas y en fertilizantes simples. En su conjunto constituyen los macroelementos (Polanco y Flores, 2008).

Existen algunos nutrientes también muy importantes, que la planta utiliza en cantidades mínimas. Estos últimos se denominan micro-elementos. Entre los más conocidos están el hierro, manganeso, zinc, cobre, boro, molibdeno y cloro. Algunos microelementos pueden estar presentes en fertilizantes comunes y en materiales de encalado como impurezas. Debido a las pequeñas cantidades que las plantas requieren de los mismos, los micro-elementos son muy populares como componentes de abonos foliares (Tisdale y Nelson, 1996).

La materia orgánica del suelo es un verdadero reservorio natural y es la fuente más equilibrada de elementos nutritivos, los cuales retiene y/o libera lentamente, por lo que es especialmente importante en el caso de los microelementos. Además, mejora la estructura del suelo, aumenta la retención del agua y es fuente de energía para la vida del suelo (Martínez, 2012).

Algunos elementos son más propensos a acumularse en el suelo, entre ellos el fósforo; otros, como el nitrógeno, se pierden fácilmente por diferentes vías. La pérdida o la inmovilización de elementos nutritivos están asociadas con algunas características del suelo y el clima. Entre ellas, deben mencionarse la pendiente del terreno, la textura, el tipo de arcilla, el pH, el contenido de materia orgánica y la cantidad e intensidad de las lluvias. El productor puede mejorar, en gran medida, la eficiencia de uso de los fertilizantes por el cultivo a través del empleo de tecnologías apropiadas, acordes con sus conocimientos y experiencia (Kato, 1984).

2.3 Los fertilizantes químicos

Después de que terminara la Segunda guerra mundial (finales de 1945) se buscó una manera de producir alimentos en suficiente cantidad para la población mundial. En 1940 surge en Estados Unidos un modelo de producción, llamado Revolución Verde. Este modelo de agricultura intensiva tenía la finalidad de aumentar los rendimientos de los cultivos, en el que se sembraban monocultivos y se usaban insumos agrícolas como los fertilizantes químicos, plaguicidas y herbicidas. Ahora se sabe que los agroquímicos tienen efectos nocivos tanto para la salud de las personas como para el ambiente (CIMMYT¹, 2002).

Es verdad que los fertilizantes químicos y en general, los insumos agrícolas, aumentan la productividad agrícola en los primeros años que se usan, sin embargo, se sabe que la productividad no se sustenta por mucho tiempo (Altieri, 1995).

El uso de fertilizantes nitrogenados en el mundo aumenta año tras año y su precio también se incrementa, esto debido a que el petróleo es fundamental para su elaboración, tanto como materia prima como la energía derivada de este. Hace 30 años México producía los fertilizantes químicos que usaba, sin embargo ahora se importan más de la mitad. Considerando que las reservas de petróleo se están agotando y que su precio se elevará cada año, y que la demanda de los fertilizantes aumenta cada año, se espera que también el precio de los fertilizantes aumente en un mediano y largo plazo (INEGI², 2009).

El nitrógeno en el suelo tiene un índice de asimilación muy bajo por los cultivos del total de nitrógeno que se incorpora al suelo, dependiendo del manejo y del tipo de fertilizante aplicado, más del 50% (hasta el 80%) se pierde por la lixiviación. Se lavan el nitrato orgánico o formas de nitrógeno orgánico que se pueden disolver en agua. El nitrógeno se pierde también por volatilización en forma de amonio, óxido nítrico y óxido nitroso (Tisdale y Nelson, 1996).

¹ Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo

² Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática

Parte del nitrógeno no utilizado termina en ríos, lagos y mares causando la eutrofización de los mantos de agua, lo que significa que aumentan las concentraciones de nutrientes. La eutrofización provoca que algunos tipos de organismos crezcan de más, como algunas algas que crecen tanto que no dejan pasar la luz a través del agua, lo que limita la producción en estuarios (sitio donde se une un río con el mar) y costas, el resultado es que hay poca o nula producción pesquera. En sistemas terrestres, los pastos invadirán la tierra pues no hay limitante de nutrientes como el nitrógeno (Pearson y Adams, 1967).

El consumo de agua con cantidades altas de nitratos tiene efectos en la salud de las personas. Los niños menores de 6 meses de edad desarrollan una enfermedad (metahemoglobinemia) que ocasiona que no puedan respirar y se vean de color azul. Algunos datos científicos han asociado el consumo de nitratos al desarrollo de algunos tipos de cáncer en humanos (FAO¹, 2010).

Los productos transformados de los fertilizantes nitrogenados que se liberan como gases, tienen efectos negativos en el ambiente. En el caso del óxido nítrico los efectos son locales, provocando por ejemplo, lluvias ácidas. Los efectos del óxido nitroso son globales, pues este es un gas de invernadero que causa un aumento de la temperatura global en el planeta y contribuye al cambio climático. Este gas también es responsable de romper el ozono que nos protege de los rayos ultravioleta (Tisdale y Nelson, 1996).

Los fosfatos de los fertilizantes químicos también son responsables de la contaminación ambiental y se han asociado a la proliferación de unas bacterias muy antiguas en el planeta tierra, las cianobacterias, que pueden producir toxinas de alto riesgo para la salud. El consumo de estas toxinas en el agua se ha asociado a enfermedades nerviosas de gravedad semejantes al Alzheimer (FAO, 2010).

El costo ecológico ha sido alto, ya que la ampliación de las superficies de cultivo ha resultado en grande extensiones de bosque reforestado, erosión y disminución de la fertilidad de los suelos, drenaje y relleno de humedales y pérdida de la biodiversidad. La demanda creciente de alimentos y el aumento de la producción agrícola y pecuaria conlleva una expansión constante de la frontera agrícola y a una elevación sostenida y sin precedentes de la productividad por hectárea (Turk *et al.*, 1976; Gabaldon, 1998).

La agricultura moderna tiende en general a la simplificación del ecosistema. El laboreo ha alterado los suelos por la adición o remoción de nutrientes, reducción de la acidez de cal, remoción de rocas para facilitar las operaciones agrícolas, nivelación de las superficies para facilitar el riego, y mecanización. Se ha modificado intensivamente la estructura de los suelos y los paisajes, todo justificado por la posibilidad de incorporar recursos agrícolas al sistema económico (Bifani, 1999).

¹ Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

Los avances tecnológicos más importantes aplicados a la actividad agrícola han sido en gran escala el suministro de nutrientes específicos al suelo y la mecanización. Desde su aparición la agricultura ha experimentado continuos avances que han sustentado su desarrollo; sin embargo nunca ha sido tan intensa y eficiente como ahora, tanto desde el punto de vista productivo como económico (Sandia *et al.*, 1999; Olymar, 2003).

Desde finales de la revolución verde se han planteado dudas sobre la sustentabilidad de los procesos agrícolas tal como se ha venido manejando hasta ahora, lo cual viene sustentado por elementos tales como la alta dependencia de los fertilizantes químicos, pesticidas y herbicidas, la destrucción de los hábitats naturales, la contaminación ambiental y los riesgos a la salud de los seres humanos. En este sentido muchos agricultores se plantean alternativas como la agricultura orgánica (López, 2000; Rigby *et al.*, 2001), agroecología, agricultura sostenible y tecnologías limpias aplicadas a la agricultura.

En función del uso de componentes tecnológicos y mano de obra. Esto ocurre porque depende en gran medida de combustibles para irrigación, maquinaria agrícola especializada (tractores, sembradoras, segadoras y recolectoras) abonos y fertilizantes que aumentan y mejoran las cosechas (el 50% de los insumos en la producción de cereales), transportes, almacenaje y procesamiento de alimentos insecticidas y pesticidas que contribuyen al control de plagas en el cultivo (Zhang, *et al.*, 2010) lamentablemente la tendencia actual de la agricultura convencional o moderna es la de amplificar los agroecosistemas y “*no crea menos sino diferentes problemas*” (Conway, 1998; Velázquez, 2010).

Dentro de los recursos con los que actualmente se cuenta para disminuir el uso de fertilizantes químicos están las compostas y los biofertilizantes fijadores de nitrógeno como *Azospirillum brasilense* y *Rhizobium étti* así como hongos Micorrizicos o Micorrizas que ayudan a la solubilización de nutrientes como fósforo y potasio, también existen productos orgánicos para el tratamiento de plagas de insectos y enfermedades al igual que prácticas de agricultura orgánica (Ahemad y Kibret, 2014).

2.4 Los fertilizantes nitrogenados

La planta de maíz utiliza el nitrógeno durante todo su ciclo biológico. En la absorción del mismo se distinguen tres fases fenológicas marcadas, estas son: Desde la emergencia hasta cerca de un mes antes de las inflorescencias femeninas. Al final de ese período se completa cerca de 10% de las necesidades totales del elemento. Este es el período de mayor demanda, de ahí la importancia de la incorporación de nitrógeno oportuno. Para la época de aparición de las pelos las plantas ya han extraído más de 60% de sus necesidades (Galdámez, 1989).

Fase posterior a la aparición de la inflorescencia. La absorción se hace más lenta, lo que depende, en parte, del material genético. Existen cultivares capaces de continuar la absorción del nitrógeno durante períodos más largos. La aplicación de fertilizantes

nitrogenados en forma fraccionada permite una mejor utilización del nitrógeno, particularmente en suelos con texturas gruesas, sujetos a pérdidas del elemento por lavado. Fuentes comunes de fertilizantes nitrogenados corresponden a la urea, el sulfato de amonio, el nitrato de amonio, los fosfatos monoamónico y diamónico, así como numerosas fórmulas compuestas (Tisdale y Nelson, 1996).

Los abonos nitrogenados aplicados sobre la superficie del suelo tienden a perderse por drenaje superficial o por volatilización; esto último es más grave en el caso de fuentes amoniacales en suelos con pH alto. Las tierras erosionadas requieren, en general, mayores cantidades de nitrógeno. La respuesta de la planta al fertilizante nitrogenado también depende del contenido de otros nutrimentos, particularmente del fosforo (Aguilar, 1991)

2.4.1 Función del nitrógeno en las plantas

El nitrógeno es necesario para la síntesis de la clorofila y como parte molecular de la clorofila, tiene un papel en el proceso de fotosíntesis. La falta de nitrógeno y clorofila significa que el cultivo no utilizará la luz del sol como fuente de energía para llevar a cabo las funciones esenciales como la absorción de nutrimentos y fotosíntesis. El nitrógeno también es un componente de las vitaminas y sistemas de energía de la planta (Yamada, 2000). Un suministro adecuado de nitrógeno produce hojas de color verde oscuro, por una alta concentración de clorofila. La deficiencia de nitrógeno produce clorosis, un amarillamiento de las hojas por una disminución de la clorofila, este amarillamiento inicia en las hojas más viejas, luego se manifiesta en las más jóvenes, a medida que la deficiencia se hace más severa

Los pigmentos verdes de la clorofila absorben la energía luminosa necesaria para iniciar la fotosíntesis. La clorofila ayuda a convertir el carbono, hidrógeno y oxígeno en azúcares simples. Estos azúcares y sus productos de conversión estimulan la mayor parte del crecimiento de las plantas. Cantidades inadecuadas de nitrógeno producen bajos niveles de proteína en la semilla y puntos vegetativos de la planta. Las plantas deficientes en nitrógeno tienden atrofiarse, crecen más lentamente y producen menos hijuelos que lo normal. Presentan también menor número de hojas y en algunos cultivos tales como el algodón producen madurez prematura comparada con las plantas nutridas con cantidades adecuadas de Nitrógeno (Goddijn- Smeekens *et al.*, 1998).

2.5 Los fertilizantes fosfatados

El fósforo es absorbido, mayormente, en las primeras etapas del ciclo biológico del maíz. Es por ello que se recomienda su aplicación total al momento de la siembra. Debe colocarse de manera que pueda ser interceptado con facilidad por las raíces, preferiblemente en forma de bandas enterradas, a un lado y por debajo de la semilla debido a que el fósforo es poco móvil. Por ser el maíz un cultivo de ciclo corto, se recomienda la utilización de fuentes de fósforo de alta solubilidad. Como fuentes de fertilizantes fosfatados se distinguen las rocas fosfóricas, los superfosfatos simple y triple, los fosfatos monoamónico y diamónico, y las fórmulas compuestas (Tisdale y Nelson 1996).

La efectividad de los fertilizantes fosfatados depende también de los niveles adecuados de otros nutrimentos, como el nitrógeno y el potasio. Existe una influencia positiva de las fuentes nitrogenadas amoniacales (urea y sulfato de amonio) sobre la asimilación del fósforo, especialmente cuando se colocan en bandas junto con el fertilizante fosfatado. El exceso de fósforo puede inducir deficiencias de zinc, por ser antagonicos, particularmente en suelos con pH alto (Pearson y Adams 1967).

El fósforo tiende a ser inmovilizado por diversos componentes del suelo, mayormente en suelos ácidos o alcalinos. En suelos ácidos se puede reducir la inmovilización

mediante aplicaciones de cal, que conllevan a la adición de calcio. Un efecto adicional del encalado es el de acelerar la mineralización de la materia orgánica, con aumento ulterior en la disponibilidad de nutrimentos. Las cales denominadas dolomíticas suministran, además del calcio, apreciables cantidades de magnesio al suelo (Aguilar, 1991).

2.5.1 Función del fósforo en la plantas

El fósforo está envuelto en varias funciones claves dentro de la planta que incluyen transferencia de energía, fotosíntesis, transformación de azúcares y almidones, transporte de nutrimentos a través de la planta y transferencia de las características genéticas de una generación a otra. El fósforo se clasifica como un macronutriente primario, esto significa que los cultivos requieren de él en cantidades relativamente altas (Yamada, 2000). El fósforo es un elemento móvil dentro de la planta, se trasloca de hojas viejas a tejido con crecimiento nuevo; así, los síntomas visuales de deficiencia se presentan en las hojas maduras. Ningún otro elemento puede sustituir sus funciones en la planta (Lauer, 1988).

El fósforo es muy importante para la generación de células nuevas; así, por ejemplo, la producción de raíces al inicio de los ciclos vegetativos es una función vital. Es esta la razón por la que el fósforo se aplica antes o al inicio de la siembra. La deficiencia de fósforo es común en suelos ácidos y alcalinos o calcáreos. Es importante saber que una planta puede tener deficiencia de fósforo o de cualquier otro nutriente y no mostrar síntomas visuales lo que comúnmente se le conoce como hambre oculta, por lo que es necesario hacer siempre un análisis foliar para un mejor diagnóstico de los niveles de fósforo en el tejido o planta de interés (Yamada, 2000).

El fósforo interviene en la formación de azúcares de cinco carbonos dentro del ciclo de las pentosas, así cuando hace falta este elemento los carbonos utilizados en este ciclo no pueden formar azúcares. Estos carbonos son desviados a la formación de antocianinas que son pigmentos de color morado, y es por eso, que uno de los síntomas visuales de la falta de fósforo en las plantas sea la aparición de bandas amarillentas en los bordes de las hojas maduras (Tisdale *et al.*, 1985).

2.6 Los fertilizantes potásicos

De las 4 fuentes de Potasio (K), el cloruro de potasio (KCl) o muriato de potasio tiene un papel dominante en agricultura. Este fertilizante representa alrededor del 95 por ciento de todo el potasio usado. Las razones de la dominancia del KCl son su alta concentración de nutriente (60-62% K₂O) y su abundancia. Investigación reciente ha demostrado que varios cultivos, notablemente coco y palma de aceite requieren cloro en grandes cantidades. Para muchos otros cultivos, especialmente los cereales, el cloro es a menudo benéfico para mejorar la resistencia a plagas y enfermedades y para mejorar la tolerancia al estrés de agua (Lauer, 1988).

Los otros fertilizantes de potasio pueden ser considerados como fertilizantes de especialidad como el sulfato de potasio utilizado abundantemente en cultivos como tabaco que son sensibles al cloro. El sulfato de potasio y magnesio es usado para

ciertos cultivos donde tanto el azufre (S) como el magnesio (Mg) son deficientes. El nitrato de potasio es frecuentemente un ingrediente en fertilizantes foliares y otros fertilizantes especiales (Pearson y Adams 1967).

Las principales fuentes de potasio son solubles en agua. Por esta razón, si existe adecuada humedad en el suelo, proveniente de lluvia y/o irrigación, el fertilizante de potasio añadido se disolverá en una solución del suelo permitiendo una absorción rápida por la plantas. Bajo condiciones de alta precipitación o riego excesivo el potasio puede perderse por escurrimiento superficial y en algunos suelos puede perderse de la zona radicular por lixiviación (Yamada, 2000).

El potasio no se volatiliza o pierde a la atmósfera como puede ocurrir con algunos fertilizantes de Nitrógeno bajo ciertas condiciones de suelo y ambiente. Sin embargo puede hacerse no disponible para las plantas debido a fijación en algunos tipos de arcillas (Pearson y Adams 1967).

En México no se producen fertilizantes potásicos, mas su importancia en la agricultura está comprobada y es cada día mayor el número de productores que se benefician usando estos fertilizantes al obtener mejores rendimientos (Op.cit).

2.6.1 Función del potasio en las plantas

La deficiencia de potasio retarda el desarrollo y crecimiento de la planta. Esto es debido, en parte, a que la velocidad relativa de crecimiento está relacionada con el transporte de potasio de la raíz al tallo y a las hojas. Lo anterior repercute en la presión de turgencia y en la alteración de la importante función del potasio en la regulación de la apertura y cerrado de los estomas (CSTPA, 1980).

En maíz, los síntomas de deficiencia de potasio se dan con la necrosis y amarillamiento de los bordes de las hojas inferiores. Si la deficiencia persiste los síntomas irán subiendo en la planta pero las hojas superiores se conservan verdes. Los tallos se tornan débiles y se hacen más susceptibles a enfermedades. La deficiencia de potasio retarda el llenado de grano por lo que las mazorcas cosechadas son pequeñas y sin grano en la punta de la mazorca. El maíz deficiente en potasio envejece rápidamente, las células mueren, los tejidos se deterioran induciendo pudrición del tallo y el rendimiento se ve afectado significativamente (Op.cit).

El potasio es absorbido intensamente durante la etapa juvenil de la planta de maíz. En la mayor parte de los suelos las pérdidas de potasio son relativamente pequeñas. A menos que se trate de suelos con texturas muy gruesas, se recomienda la aplicación de fertilizantes potásicos totalmente en la siembra, en forma de bandas enterradas a un lado y por debajo de la semilla. Fuentes comunes de fertilizantes potásicos incluyen el cloruro de potasio, el sulfato de potasio, el nitrato de potasio, y fórmulas compuestas (Pearson y Adams 1967).

2.7 Los microorganismos

Los microorganismos de la rizosfera han mantenido una relación estrecha con las plantas desde que estas últimas iniciaron la colonización de la tierra (Selosse y Le Tacón, 1998) y han mantenido el funcionamiento y la estabilidad de los ecosistemas a través de la influencia de la composición de las especies en las comunidades vegetales (Read, 1998).

Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Martínez, 2002). La efectividad en el uso de microorganismos se logra cuando se dan las condiciones óptimas para metabolizar los sustratos, como disponibilidad de agua, oxígeno (dependiendo de si son aerobios obligados o anaerobios facultativos), pH y temperatura, así como la disponibilidad de fuentes energéticas.

El estudio de bacterias asociadas a las plantas es una línea que avanza muy lentamente en México (Okon y Labandera, 1994) no obstante, se han obtenido resultados satisfactorios al inocular diversos cultivos con *Azospirillum*, *Pseudomonas* y otros microorganismos, los cuales pueden alterar la velocidad de toma de nutrientes de las plantas por un efecto directo en las raíces, así como hacer más eficiente la absorción de los mismos (Brown y Bethlenfalvay, 1988; Cruz *et al.*, 1988; Young *et al.*, 1988; Bashan *et al.*, 1993; Bethlenfalvay, 1993; Linderman, 1993; Aguirre-Medina y Velasco-Zevadua, 1994 y Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000).

Las bacterias y los hongos son capaces de proveer a la planta diferentes nutrientes en forma asimilable. Esto puede ocurrir mediante diferentes procesos, por ejemplo, la inoculación de plantas con micorrizas contribuye a incrementar la absorción de agua y a solubilizar los minerales mediante la fosfatasa ácida, y a transformar el fósforo que se encuentra en el suelo, formando compuestos estables, en formas disponibles para la planta (Shafir *et al.*, 1972; Bethlenfalvay, 1993 y Linderman, 1993). Los microorganismos se aplican al suelo para desempeñar funciones específicas que benefician a la productividad de las plantas como: fijación de nitrógeno, solubilización de minerales, producción de estimuladores del crecimiento vegetal y biocontrol de patógenos (Babalola, 2010).

2.7.1 Microorganismos fijadores de nitrógeno y fosfolubilizadoras

Las bacterias fijadoras de nitrógeno que se desarrollan de forma natural en el suelo, se conocen desde hace más de un siglo. representan un biofertilizante ecológico y se dividen en dos grandes grupos: Las simbióticas, específicas de las leguminosas,

como el *Rhizobium*, y las libres, que viven en el suelo y no necesitan la planta para su reproducción, como el *Azotobacter* y el *Azospirillum*, entre los más importantes en agricultura (Carcaño-Montiel, 2003).

Las bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum*, en concentraciones adecuadas, pueden sustituir al nitrógeno químico (Urea, amoníaco) sin merma de la producción y a menor coste. Otras ventajas comprobadas del uso de estas bacterias como biofertilizante es que Producen fitohormonas, como el ácido indolacético y las citoquininas, capaces de acelerar y potenciar el crecimiento de las plantas., al permanecer vivas durante años y reproducirse en el suelo, no sólo no lo degradan sino que contribuyen a su enriquecimiento en nitrógeno y a su regeneración de forma ecológica y gradual, incluso en terrenos de alta concentración salina (Okon y Labandera-Gonzalez, 1994)

Se ha comprobado que fertilizando los cultivos con estas bacterias y con nitrógeno químico en un porcentaje entre el 20 y 50% del utilizado normalmente, se consigue un aumento de producción sobre las cosechas obtenidas únicamente con fertilizante químico al 100% (Carcaño *et al.*, 2003). Esto es debido a que, al liberarse la bacteria de su función fijadora de nitrógeno, produce más factores de crecimiento vegetal, En cereales de secano, esto puede suponer el ahorro del abonado de cobertera, crea una barrera protectora contra hongos y bacterias patógenas en la raíz de la planta, por lo que ésta crece más sana y fortalecida, producen enzimas que solubilizan los fosfatos y los hacen más accesibles a la planta, así como factores que facilitan la absorción de oligoelementos.

Se ha demostrado que resisten mejor las condiciones de sequía y los climas áridos ya que se forman alginatos (sustancias químicas en forma de gel) en las raíces de las plantas, como consecuencia de todo lo anterior, es un mayor desarrollo de las raíces de las plantas, con el consiguiente beneficio general para ésta, así como el peso de los frutos, también se ha comprobado un mayor índice de germinación de semillas comparada con otros sistemas de abonado (Okon y Labandera-Gonzalez, 1994).

Las nuevas estirpes de *Azotobacter* y *Azospirillum* son capaces de fijar 72,64% más de nitrógeno atmosférico, que las estirpes originales. Hay pues un cúmulo de ventajas para el usuario, económicas, ecológicas, a corto, medio y largo plazo en la progresiva sustitución de la fertilización química por las bacterias naturales, totalmente inofensivas para el ambiente y el ser humano (FAO, 2010).

2.7.2 Bacterias solubilizadoras de fosfatos

El fósforo sin lugar a dudas es uno de los nutrientes más importantes y necesarios para la correcta nutrición vegetal, basta señalar que se requieren alrededor de 4 kilogramos de fósforo como elemento para producir 1000 kilogramos de maíz. A los requerimientos propios del nutriente por parte de los cultivos de maíz, debemos sumar la poca movilidad y disponibilidad del mismo para las plantas. Consecuentemente, la búsqueda de microorganismos rizosféricos que incrementen

la solubilización de los fosfatos del suelo y mejoren el desarrollo radicular permitiendo una mayor absorción

de nutrientes y una mejor nutrición de las plantas (Shafir *et al.*, 1972; Mosse, 1986; Bethlenfavay, 1993 y Linderman, 1993).

El fósforo es un nutriente que puede ser abundante en el suelo pero que no es fácilmente disponible para las plantas porque se encuentra en formas insolubles que no se pueden utilizar. Existen microorganismos llamados “solubilizadores de fosfatos” que tienen la habilidad de producir sustancias ácidas que liberan el fósforo de los minerales del suelo y así este nutriente ya puede ser absorbido por las plantas. Los microorganismos más conocidos que tienen esta capacidad son hongos llamados “micorrizas” pero también hay bacterias que viven asociadas a las plantas que pueden solubilizar fosfatos (Aguirre-Medina, 2010).

Entre los organismos y microorganismos solubilizadores del fósforo del suelo, se encuentran varios grupos como los hongos (*Penicillium*, *Sclerotium* y *Fusarium*) todos ellos con una gran capacidad solubilizadora pero paralelamente con una gran potencialidad patogénica. Otro grupo de microorganismos solubilizadores es el de los Actinomicetos entre ellos el género *Streptomyces* que presentan como característica distintiva la producción de antibióticos y su difícil cultivo y multiplicación a nivel industrial. Finalmente encontramos numerosos grupos bacterianos y entre ellos el género *Pseudomonas* sp. Es el que ha manifestado mayor capacidad solubilizadora del mineral y mayor producción de fitohormonas que inducen a un gran desarrollo radicular (Mosse, 1986).

El proceso por el que los microbios pueden asimilar el nitrógeno gaseoso de la atmósfera se llama fijación biológica de nitrógeno y es una versión natural de la producción industrial de fertilizantes. Los microbios que realizan este proceso se pueden ver como pequeñas fábricas de fertilizantes nitrogenados. Algunas de estas bacterias fijadoras de nitrógeno viven en estrecha relación con las plantas y pueden proporcionarles nitrógeno haciendo que estas dependan menos del nitrógeno del suelo o de los fertilizantes químicos con nitrógeno. Las bacterias más conocidas que tienen esta capacidad se asocian a plantas leguminosas y se llaman “rizobios” (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000).

El hierro es otro nutriente que también suele encontrarse en formas insolubles y no disponibles para los vegetales en el suelo. Algunos microorganismos producen y liberan unas sustancias llamadas “sideróforos” que unen muy fuertemente al hierro, luego estos complejos sideróforos son absorbidos por las raíces de las plantas (Tisdale y Nelson 1966).

Otra forma en la que los microorganismos pueden favorecer el crecimiento de las plantas es mediante la producción de hormonas vegetales, como las auxinas. Estas sustancias promueven el crecimiento de las raíces de las plantas, lo que permite que puedan absorber más agua y nutrientes del suelo (Carcaño *et al.*, 2006).

2.8 Antecedentes de los biofertilizantes

Aunque no se conocía la existencia de las bacterias, hasta que en 1683 Von Leewenhoek las describió, su utilización para estimular el crecimiento de las plantas. Teofrasto (287 a.C.) y Virgilio (30 a.C.) sugerían mezclar el suelo donde se habían cultivado leguminosas con suelo donde no se habían cultivado, para remediar sus defectos y adicionarle fuerza (Tisdale y Nelson, 1975).

Desde el siglo XVIII se inocularon hongos en plántulas de encino para incrementar la producción de trufas, que son hongos que tienen alto valor económico por su enorme importancia gastronómica. Las trufas eran colocadas en los "cajetes" donde las plántulas de los encinos eran sembradas. Esto ocurrió mucho antes de que en 1885 se acuñara el vocablo "micorriza" (Smith y Read, 1997).

A finales del siglo XIX, la práctica de mezclar suelo con semillas, se convirtió en un método recomendado para inocular leguminosas en Estados Unidos; poco después, Nitragin registró la primer patente para inocular plantas con bacterias del género *Rhizobium* spp. En los años 1930's y 1940's, la inoculación con bacterias rizosféricas asociativas con cepas de los géneros *Azotobacter* y *Bacillus* fue utilizada a gran escala en Rusia y Europa del Este. Sin embargo, estas prácticas no tuvieron éxito y fueron abandonadas durante la Segunda Guerra Mundial (Barea *et al.*, 2005; Bashan, 2008). Todo apuntaba que el futuro de los biofertilizantes era promisorio en el desarrollo de la agricultura del siglo XX. Sin embargo, la asombrosa industrialización y urbanización que surgió después de 1945, demandó una gran cantidad de materias primas y alimentos. Es aquí donde la demanda de los fertilizantes, que son capaces de generar una rápida respuesta productiva, tuvieron su extensa utilización (Duxbury, 1994).

Aunque por casi 100 años se han producido comercialmente inoculantes a base de *Rhizobium* spp., con las crisis energéticas en la década de 1970, el estudio de los biofertilizantes avanzó rápidamente en algunos países europeos y asiáticos; sin embargo, el avance fue menor en México y países latinoamericanos (Okon y Labandera-González, 1994).

Actualmente, existe una gran variedad de biofertilizantes con diversas funciones y atendiendo al tipo de cultivo. En general, los biofertilizantes más difundidos se componen de hongos micorrícicos y bacterias (All-Taweil *et al.*, 2009; Pooja *et al.*, 2007).

El término micorriza fue creado por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885, y procede del griego mykos que significa hongo y del latín rhiza que significa raíz, definiendo así la asociación simbiótica entre el micelio de un hongo y las raíces de un vegetal. De entre las diversas asociaciones benéficas planta-microorganismo, la micorriza es la que se encuentra más ampliamente extendida sobre la superficie terrestre, alrededor del 90% de las plantas terrestres la forman (Smith y Read, 1997),

también es la más antigua, se han encontrado fósiles con casi 4.0×10^8 años (Simon *et al.*, 1993).

Los medios por los cuales las micorrizas pueden mejorar el estado nutricional de las plantas son: 1) incrementan el volumen de exploración de las raíces, ya que las hifas del hongo actúan como una extensión, 2) incrementan la captación de agua y nutrimentos como P, N, K y Ca, 3) incrementan la tolerancia a los cambios de temperatura y acidez extrema del suelo causadas por la presencia de Al, Mg y S, 4) proveen protección contra ciertos patógenos, 5) las raíces permanecen activas más tiempo, y 6) mejoran la estructura del suelo ayudando a mantener unidos a los agregados gracias al micelio y secreción de glomalinas (Alarcón y Ferrara, 2000). Es por ello que a las micorrizas se les reconoce un gran potencial en el contexto de la agricultura sostenible.

Por otro lado, el hongo del género *Trichoderma* es habitante común en la rizosfera, tiene varios mecanismos a través de los cuales influye el desarrollo de las plantas tales como la producción de reguladores de crecimiento, la solubilización y absorción de P, Cu, Fe, Zn, y Mn, y capacidad antagónica contra ciertos hongos fitopatógenos de plantas de interés agrícola (Gravel *et al.*, 2007; Osman *et al.*, 2010).

Las BPCV¹ representan una amplia variedad de bacterias del suelo, las cuales cuando crecen en asociación con las plantas estimulan su crecimiento. Los medios por los cuales las BPCV pueden mejorar el estado nutricional de las plantas son: 1) fijación biológica de N₂, 2) producción de reguladores del crecimiento, vitaminas y otras sustancias, 3) disponibilidad de nutrimentos en la rizosfera, 4) incremento en el área superficial de la raíz y 5) control de microorganismos patogénicos (Lugtenberg y Kamilova, 2009).

En el grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), *Azospirillum* sp. es considerado un sistema modelo para el estudio de la asociación entre bacterias y plantas que no nodulan (Bashan y Holguín, 1997). Las bacterias pertenecientes a este género son muy promisorias como inoculantes para las plantas; pues tienen un número de características interesantes que las hace adaptables para establecerse ellas mismas en el extremadamente complejo medio competitivo de la rizosfera (Burdman, Jurkevitch y Okon, 2000).

Este resultado pone de manifiesto la eficiencia de la rizobacteria al permitir disminuir la dosis de fertilizante nitrogenado sin afectar la calidad de las plantas. Se demuestra, por otra parte, lo esencial del macronutriente nitrógeno en su efecto sobre el crecimiento de las plantas, ya que la no aplicación del mismo (testigo absoluto) produjo un efecto negativo en las variables evaluadas.

Con relación al efecto de diferentes rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, en Cuba varios autores

¹ Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

obtuvieron resultados positivos; en este sentido pueden citarse los trabajos realizados por Dibut (2000) y Pulido (2002) con la utilización de *Azotobacter chroococcum* en el cultivo de la cebolla y también Martínez (2002) con aplicaciones de este microorganismo en el cultivo del tomate.

Bashan y Levanony (1990) atribuyen el efecto de estas rizobacterias a lo que ellos denominan “hipótesis aditiva” en la que más de un mecanismo está involucrado en la asociación planta-rizobacteria, los cuales operan simultáneamente o en asociación.

En cuanto al mecanismo de acción mediante el cual *Azospirillum sp.* promueve el crecimiento vegetal, Bashan (1999) plantea que posiblemente más de un mecanismo de acción esté involucrado en la asociación y que estos operan simultáneamente o en sucesión; la suma de los diferentes mecanismos refleja los cambios observados en el crecimiento de las plantas, cuando son inducidos bajo condiciones ambientales propicias. Entre estos mecanismos se encuentra la producción de compuestos promotores del crecimiento vegetal, los cuales inducen un incremento en el número y longitud de los pelos radicales (Bacilio-Jiménez, 2001), a lo que se suma las contribuciones al aumento de la masa seca de las plantas, a través de la enzima nitrato reductasa, para una mejor asimilación de los nitratos presentes en el suelo, o por los aportados a través de la fertilización inorgánica (Fallik *et ál.*, 1994).

Diferentes autores encontraron respuesta positiva en el crecimiento de las plantas al inocular *Azospirillum sp.*; en la literatura existen trabajos publicados por Bashan (1989) que en experimentos realizados con *A. brasilense* Cd obtuvieron un incremento de la masa fresca y seca de plántulas de tomate y en la elongación de las raíces en otros cultivos. Este resultado expresa la especificidad entre los exudados radicales de este cultivo y la rizobacteria *A. brasilense* (cepa Sp-7) a partir del estímulo provocado sobre el crecimiento de las plántulas, lo cual constituye un importante resultado desde el punto de vista práctico para el manejo agronómico de este cultivo.

Con este resultado se demuestra que las plantas inoculadas con algún microorganismo que estimule su crecimiento y desarrollo, presentan una mayor capacidad para absorber más eficientemente el agua y los nutrientes del suelo a través del estímulo provocado en el sistema radical, que se evidencia en el estado nutricional de las plantas. Según Bashan (1998), *Azospirillum sp.* Provoca una absorción más efectiva de los nutrientes, lo que explica la acumulación de compuestos nitrogenados en las plantas sin existir una aparente fijación biológica de nitrógeno.

La capacidad de producir reguladores de crecimiento está ampliamente distribuida entre las bacterias que viven asociadas a las plantas y aproximadamente 80% son productoras de auxinas (Bowen y Rovira, 1999). La auxina más importante en términos cuantitativos es el ácido-3-indol-acético (AIA¹), la producción de este

¹ Ácido Indol Acético

regulador incrementa el sistema radical y se relaciona con la mayor absorción de nutrimentos (Babalola, 2010; Okon y Kapulnik, 1986).

A pesar de las intensas investigaciones sobre la FBN¹ en no-leguminosas a finales de 1970, hay poca evidencia de la inoculación de BPCV en no-leguminosas que alcancen niveles significantes de FBN. Por ejemplo, se creyó que los efectos benéficos de *Azospirillum brasilense* en plantas no-leguminosas era vía FBN, ahora se reconoce que el efecto en la estimulación del crecimiento se debe predominantemente a otros mecanismos i.e. producción de reguladores del crecimiento y sus efectos sobre la fisiología y morfología de la raíz (Bashan, 2008).

La producción de biofertilizantes se centra en países desarrollados donde es una práctica adoptada. Se fabrican por empresas gubernamentales o privadas e incluyen micorrizas, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y agentes de biocontrol como *Trichoderma*. Los inoculantes son inocuos y se requiere de un cuidadoso manejo para no menguar su efectividad. En muchos países en desarrollo no hay industrias de inoculantes, lo cual hace aún más difícil su popularización. Además, en muchas áreas rurales hay una renuencia básica a usar bacterias y hongos como microorganismos benéficos, en estas culturas los microbios están asociados con enfermedades humanas y de animales (Bashan, 2008).

En los diferentes países latinoamericanos, existe una amplia gama de factores tanto favorables como desfavorables que influyen en la calidad, producción y distribución de los biofertilizantes. En ocasiones, las empresas no cuentan con almacenes apropiados a gran escala o la estructura necesaria para su transportación. En otros, la tecnología e infraestructura para su producción no está desarrollada. Es evidente que se necesita un organismo regulatorio que ejerza un fuerte control de los inoculantes presentes en el mercado para evitar que el agricultor adquiera productos de baja calidad (Elliott y Lynch, 1995).

En México, la producción actual de biofertilizantes se realiza en pequeñas empresas, instituciones de educación e investigación y por el INIFAP², apoyada por el gobierno federal y/o por gobiernos estatales. A pesar de este desarrollo, la distribución y aplicación a gran escala ha tenido serias dificultades, principalmente por problemas de promoción y distribución.

Es común encontrar sólo aquellos reportes exitosos del uso de inoculantes. Por consiguiente, es difícil identificar los factores involucrados con la poca o nula respuesta de los cultivos. La aplicación eficaz de inoculantes a base de *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* (Sessitsch *et al.*, 2002); *Azospirillum* (Caballero-Mellado *et al.*, 1992; Okon y Labandera-González, 1994); *Azotobacter* (Lakshmanan, 2000; Somers *et al.*, 2004), *Pseudomonas* (Gravel *et al.*, 2007), microorganismos solubilizadores de fosfato (Lugtenberg y Kamilova, 2009) y *Trichoderma* (Gravel *et*

¹ Fijación Biológica del Nitrógeno

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias

al., 2007), para mejorar la nutrición de las plantas y la producción agrícola está bien documentado.

En países como Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, los biofertilizantes constituyen la base de su producción de leguminosas. Uno de los cultivos más importantes es la soya, ésta presenta una alta acumulación de proteínas en la semilla que la convierte en el cultivo con la mayor demanda de N. Se estima que se requieren entre 70 y 80 kg de N por Mg de grano. Un rendimiento promedio de 3 Mg ha⁻¹ equivale a una demanda de 240 kg de N, la soya puede fijar desde 0 a 450 kg N ha⁻¹ y abastecer hasta 90% de los requerimientos de N del cultivo.

En más de 300 ensayos realizados desde 1990 a 2006 en Argentina, inoculando la soya con cepas altamente eficientes, se determinó una respuesta positiva en el incremento del rendimiento en 11% de los casos (Agrositio, 2009 y INTA, 2010).

Castellanos *et al.*, (1995), en un análisis retrospectivo de ensayos experimentales de inoculación de frijol con cepas élite llevados en México en el periodo de 1980 a 1995, encontraron éxito sólo en el 11% de los 47 casos analizados, los tratamientos inoculados superaron a los testigos sin inocular y sin N. Estos datos indican que la vía de inoculación en nuestro país no ha sido exitosa para incrementar la FBN en frijol. La falla en la inoculación quizás se debe a la gran diversidad de cepas nativas, las cuales predominantemente son cepas inefectivas (Peña-Cabriales y Grageda-Cabrera, 1997). También se evaluaron los biofertilizantes a base de *Azospirillum brasilense*, *Glomus intraradices* y *Rhizobium etli* durante los ciclos agrícolas Primavera-verano y otoño-invierno 1999-2000 en 1.9 x 10⁶ ha en prácticamente todo el país. Los resultados mostraron que cuando se aplicaron biofertilizantes los rendimientos incrementaron en un 62% respecto al testigo absoluto y en 30% con relación a la aplicación de fertilizantes sintéticos (Aguirre-Medina, 2004). Actualmente, se estima que se aplican biofertilizantes en cerca de 2.5 x 10⁶ ha⁻¹.

A través del empleo de técnicas convencionales e isotópicas con 15N, se han encontrado grandes diferencias en cuanto a efectividad de fijar N₂ en diferentes especies de leguminosas y sus microsimbiontes. Estudios realizados en leguminosas cultivadas en El Bajío Guanajuatense, México, muestran tasas de fijación de N₂ muy contrastantes, desde 31 hasta 552 kg N₂ fijado ha⁻¹ (Peña-Cabriales y Grageda-Cabrera, 1997).

Diversos estudios han demostrado que la inoculación de cereales con *Azospirillum* spp. Promueve el crecimiento de las plantas, observándose un incremento en la emergencia, vigor, biomasa, desarrollo del sistema radical e incremento en el rendimiento en diferentes proporciones. En México, se han obtenido incrementos en el rendimiento de maíz entre el 30 al 70% y en cebada del 39% en comparación con el testigo sin inocular (Aguirre-Medina, 2004). Okon y Labandera-González (1994), citan resultados favorables en el rendimiento en el 70% de los resultados de investigación realizados de 1974 a 1994 en Latinoamérica. Por su parte, Dobbelaere *et al.*, (2001), reporta efectos positivos de la inoculación para el 62 al 95% de los casos.

Una de las pocas relaciones asociativas, en la cual se fijan cantidades considerables de N₂, es la simbiosis entre caña de azúcar y diazótrofos endofíticos, en los cuales comúnmente la caña obtiene de un 20 al 60% de su requerimiento de N a través de la fijación de N₂ (Boddey et al, 2001). Por su parte, Shamsuddin (1994) empleando la técnica isotópica de ¹⁵N, encontró que hasta un 89% del requerimiento de N de plantas de palma de aceite es suplido por la simbiosis con *Azospirillum*.

Al inocular con BPCV se ha observado un incremento en la calidad de los frutos de jitomate y chile. Además, cuando se inoculan hongos micorrízicos y BPCV los resultados son mejores. En Chile el rendimiento se incrementó 40% y se redujo el tiempo de cosecha. En pimiento morrón se incrementó la calidad en un 30% (Olalde y Serratos, 2004).

Por otro lado, varios estudios indican que la inoculación de cereales con BPCV y micorrizas permite reducir la dosis de aplicación de fertilizantes N, P y K sin que disminuya el rendimiento del cultivo. Se ha reportado que la principal tasa de retorno económico es cuando se fertiliza con el 75% de la dosis recomendada (Okon y Labandera-González, 1994; El-Sirafy *et al.*, 2006; Bashan, 2008).

2.9 Factores que afectan la simbiosis

La eficiencia de la simbiosis depende de los microorganismos, la planta hospedadora y las condiciones ambientales (Hardarson, 1993; Okon y Kapulnik, 1986; Kiely *et al.*, 2006).

Entre los factores agronómicos y ambientales que afectan la efectividad de la biofertilización se incluye la temperatura, humedad, acidez y otros componentes químicos del suelo, tales como el contenido de N, P, Ca, S, Mg, Mo, Fe y Co, estos pueden disminuir rápidamente la población de cualquier especie microbiana introducida (Abbott y Robson, 1991; Bowen y Rovira, 1999). Generalmente, la fertilización inhibe o disminuye la efectividad de la relación planta-microorganismo.

Uno de los factores que limita la fijación biológica del nitrógeno es la presencia de formas combinadas de N en el suelo. Los suelos fértiles con disponibilidad de formas inorgánicas de N afectan el establecimiento de la simbiosis ya que retardan el inicio de la nodulación e inhiben el funcionamiento del sistema fijador, para la planta es más económico tomar N del suelo y/o del fertilizante que a través de la fijación biológica del nitrógeno (Read, 1998).

En el caso de las micorrizas, la principal dificultad para que se produzca una adecuada colonización radica en que los hongos poseen una baja especificidad por la planta hospedera, a pesar de lo cual, se han observado diferencias en la efectividad de la simbiosis (Abbott y Robson, 1991). Cada cultivo tiene diferente grado de dependencia a las micorrizas. Por ejemplo, el maíz y el sorgo tienen alta dependencia micorrízica mientras que el trigo, la avena y la cebada poseen baja dependencia. Consecuentemente, el orden de la rotación de cultivos tiene un efecto significativo sobre la nutrición vegetal de fósforo y otros nutrimentos debido a que la

población de micorrizas decrece en el suelo cuando se cultivan especies de baja dependencia a las micorrizas (Afzal *et al.*, 2005). Los movimientos del suelo ocasionados por las labranzas rompen el entramado de micelio del hongo con lo cual destruyen el efecto

benéfico sobre la estructura del suelo. Una buena estrategia es cultivar, luego de barbechos prolongados, especies de alta dependencia a las micorrizas para incrementar la población de hongos en el suelo.

Los fungicidas y bactericidas aplicados en la semilla son extremadamente tóxicos para los biofertilizantes, principalmente aquellos de amplio espectro de control. Los herbicidas e insecticidas utilizados normalmente tienen un bajo impacto sobre las micorrizas. Puesto que los biofertilizantes necesitan oxígeno para vivir, las poblaciones disminuyen en suelos con pobre drenaje y anegables. También se ha observado que en suelos salinos y/o sódicos el porcentaje de infección radical es muy bajo (Abbot y Robson, 1991).

Los microorganismos involucrados en la asociación pueden influenciar el grado de efectividad. Otra característica importante de los inoculantes es su capacidad para sobrevivir en el soporte y en el suelo, para colonizar la rizosfera y para migrar en el suelo, ya que en algunas ocasiones hay una gran cantidad de capas nativas que son inefectivas. También, los cultivares de las plantas hospederas y las condiciones de producción varían grandemente en términos de efectividad de la simbiosis (Khalid *et al.*, 2004; Peña-Cabriales *et al.*, 1993).

El uso a gran escala de los biofertilizantes en cualquier sistema de producción agrícola traería grandes beneficios sin ejercer un impacto perjudicial sobre el ambiente. Sin embargo, resulta preocupante que en México la tecnología relativamente simple de la biofertilización no ha sido transferida a la mayoría de los productores.

A corto y mediano plazo, la investigación deberá enfocarse en el desarrollo de inoculantes de mejor calidad y más económicos (Díaz-Franco y Mayek-Pérez, 2008). En términos generales, se puede decir que los biofertilizantes tienen un costo para el productor de sólo 10% del costo de la fertilización química, y en la mayoría de los casos no debe representar más del 2 a 3% del costo de producción del cultivo. Además, es necesario desarrollar "tecnologías de punta" in situ, con las condiciones locales, ya que las desarrolladas en otros países y aplicadas al nuestro son la principal causa de la crisis económica y ecológica que agobia a la agricultura mexicana del presente. Es indispensable contar con asesoría, orientación y capacitación que debieran ofrecer las autoridades correspondientes.

El estudio de bacterias asociadas a las plantas es una línea que avanza muy lentamente en México (Okon y Labandera, 1994) no obstante, se han obtenido resultados satisfactorios al inocular diversos cultivos con *Azospirillum*, *Pseudomonas* y otros microorganismos, los cuales pueden alterar la velocidad de toma de nutrientes de las plantas por un efecto directo en las raíces, así como hacer más

eficiente la absorción de los mismos (Brown y Bethlenfalvay, 1988; Cruz *et al.*, 1988; Young *et al.*, 1988; Bashan *et al.*, 1993; Bethlenfalvay, 1993; Linderman, 1993; Aguirre-Medina y Velasco-Zebadua, 1994 y Alarcón y Ferrera–Cerrato, 2000).

Las bacterias y los hongos son capaces de proveer a la planta diferentes nutrientes en forma asimilable. Esto puede ocurrir mediante diferentes procesos, por ejemplo, la inoculación de plantas con micorrizas contribuye a incrementar la absorción de agua y a solubilizar los minerales mediante la fosfatasa acida, y a transformar el fósforo que se encuentra en el suelo, formando compuestos estables, en formas disponibles para la planta (Shafir *et al.*, 1972; Mosse, 1986; Bethlenfalvay, 1993 y Linderman, 1993).

Los microorganismos se aplican al suelo para desempeñar funciones específicas que benefician a la productividad de las plantas como: fijación de nitrógeno, solubilización de minerales, producción de estimuladores del crecimiento vegetal y biocontrol de patógenos (Babalola, 2010).

Las opciones técnicas para incrementar el desarrollo de los cultivos son diversas y algunas de ellas, como las hormonas, han tenido relevancia en la producción agropecuaria durante las últimas décadas. El Brassinoesteroide es un producto natural, con una estructura esteroideal que estimula el desarrollo vegetal. Este tipo de hormonas se ha evaluado en Japón para incrementar el rendimiento (Gregory, 1981); en trigo aumentó el peso de las espigas y el tallo principal, y en maíz las plantas aumentaron significativamente la producción entre 18 y 33% (Mandava, 1988). El uso de microorganismos y de hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas puede mejorar la eficiencia del uso de los fertilizantes fosfatados (Cruz *et al.*, 1988; Brown y Bethlenfalvay, 1988; Young *et al.*, 1988 y Werner, 1992).

Los biofertilizantes y bioestimuladores representan un componente vital de los sistemas agrícolas sustentables, constituyendo un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable, permitiendo reducir los insumos externos y mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos, mediante la utilización de microorganismos del suelo debidamente seleccionados, capaces de aportar a los cultivos nitrógeno fijado de la atmósfera, fósforo transformado a partir del que está fijado en el suelo y sustancias fisiológicamente activas que, al interactuar con la planta, ocasionan una mayor activación del metabolismo (Burdman *et al.*, 2000 y Bauer, 2001).

El desarrollo de biotecnologías alternativas como los biofertilizantes, requieren de estrategias y procesos de investigación e innovación a corto y mediano plazo, los cuales incluyen aislamientos de cepas, evaluación, selección, multiplicación y producción (Carcaño-Montiel, 2006).

2.8.2 Beneficios de los biofertilizantes

Los biofertilizantes son un producto a base de microorganismos benéficos (Bacterias y Hongos), que viven asociados o en simbiosis con las plantas y ayudan a su proceso natural de nutrición, además de ser regeneradores de suelo. Estos microorganismos se encuentran de forma natural en suelos que no han sido afectados por el uso excesivo de fertilizantes químicos u otros agroquímicos, que disminuyen o eliminan dicha población (Morales, 2012 y Carcaño-Montiel, 2006).

Los biofertilizantes tienen la capacidad de proteger a las plantas ante microorganismos patógenos del suelo, fijan el nitrógeno del medio ambiente para la alimentación de la planta, estimulan el crecimiento del sistema radicular de la planta, mejoran y regeneran el suelo, incrementan la solubilización y la absorción de nutrientes “como el fósforo, que de otra forma no son de fácil asimilación natural por la planta”, incrementan la tolerancia de la planta al estiaje y la salinidad, ahorrando en riego hasta 50 por ciento (Burdman *et al.*, 2000 y Bauer, 2001) (Ahemada y Kibret, 2014).

Los biofertilizantes también permiten un mayor aprovechamiento de fertilizantes químicos, por lo que se recomienda su disminución hasta en 50%, obteniendo mejores resultados productivos. Se tiene un incremento significativo en la productividad, ya que se disminuyen costos y existe una mayor respuesta productiva. De manera visual en diferentes parcelas visitadas la población de milpas y elotes era de mayor tamaño en comparación han recibido 100% de fertilizante químico. Y se calcula que usando biofertilizantes en una hectárea de maíz se obtienen resultados excepcionales (Morales, 2012).

El desarrollo y uso de los biofertilizantes se contempla como una importante alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes minerales. Los beneficios que presenta el uso de microorganismos en la agricultura pueden concretarse de la siguiente manera: a) Fitoestimulantes, estimulan la germinación de las semillas y el enraizamiento por la producción de reguladores del crecimiento, vitaminas y otras sustancias; b) Biofertilizantes, incrementan el suministro de los nutrimentos por su acción sobre los ciclos biogeoquímicos, tales como la fijación de N₂, la solubilización de elementos minerales o la mineralización de compuestos orgánicos; c) Mejoradores, mejoran la estructura del suelo por su contribución a la formación de agregados estables; d) Agentes de control biológico de patógenos, desarrollan fenómenos de antagonismo microbio-microbio; e) Biorremediadores, eliminan productos xenobióticos tales como pesticidas, herbicidas y fungicidas; y f) Mejoradores ecofisiológicos, incrementan la resistencia al estrés tanto biótico como abiótico (Bowen y Rovira, 1999).

La interpretación del término biofertilizante es muy amplia, representando desde microorganismos, abonos verdes y estiércoles, hasta extractos de plantas. De manera sintetizada, podemos decir que son productos que contienen microorganismos, que al ser inoculados pueden vivir asociados o en simbiosis con las plantas y le ayudan a su nutrición y protección (Vessey, 2003). Estos microorganismos se encuentran de forma natural en el suelo y abarcan diversos grupos; sin embargo, su población es afectada por el manejo de suelo y uso excesivo de agroquímicos (Caballero-Mellado *et al.*, 1992; Grageda- Cabrera *et al.*, 2003).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del área de estudio

El trabajo se realizó en condiciones de temporal de lluvias durante el ciclo Primavera-Verano de 2014, en el predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas, ubicado en el kilómetro 85 de la carretera Ocozocoautla Villaflores, propiedad de la señora Carmelita López Aguilar; el predio se encuentra localizado a los 16° 27' latitud norte y 93° 28' longitud oeste, el clima que predomina es cálido subhúmedo (Aw1) (w) (i) g, con precipitación pluvial media anual de 1200 mm, distribuidos en los meses de mayo a noviembre, con una temperatura promedio de 22 °C y una altitud de 591 msnm (INEGI¹, 2013).

3.2 Caracterización edáfica del área experimental

Se efectuó un muestreo de suelo, utilizando el método zig zag considerando a la unidad experimental como unidad de muestreo. Para determinar las características edáficas a una profundidad de 0-20 cm, para realizar el análisis físico y químico de interés agronómico; las propiedades a determinar fueron: textura, pH, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, capacidad de intercambio catiónico y densidad aparente, los cuales son factores determinantes que definen el grado de fertilidad del suelo (Alexander, 1980).

¹ Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática.



Figura 1. Localización del área de estudio, predio "La Unión" municipio de Villaflores, Chiapas.

3.3 Diseño experimental y tratamiento

Se realizó bajo un diseño experimental de bloques al azar con nueve tratamientos y cuatro repeticiones, conformando un total de 36 unidades experimentales, cada unidad experimental tuvo una dimensión de 5 por 5 m lineales (25 m²), con una separación entre tratamientos y repeticiones de 1.5 m. Cada unidad experimental estuvo constituida de 6 surcos de cinco metros de largo y 0.8 metros entre filas. El área experimental utilizada fue de 57 m de largo por 24.5 m de ancho (Figura 2).

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en el área experimental, predio “La Unión” municipio de Villaflores Chiapas.

Tratamientos evaluados	
T1	<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15 (50 % dosis local)
T2	<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15
T3	<i>A. brasilense</i> + <i>C. violaceum</i> + fertilización química 80-23-15
T4	<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30
T5	<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30 (100% dosis local)
T6	<i>A. brasilense</i> + <i>C. violaceum</i> + fertilización química 160-46-30
T7	Fertilización química 80-23-15
T8	Fertilización química 160-46-30
T9	Testigo absoluto

3.3.1 *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum*

Son bacterias fijadoras de nitrógeno (Cuadro 2). Estas viven sobre las raíces de las plantas y son capaces de beneficiar diversos cultivos de importancia agrícola como: maíz, trigo, sorgo, mijo, arroz, cebada, avena; también en cultivos perennes: café, cítricos o plantaciones establecidas como los viveros. Una de sus principales funciones es su capacidad para producir hormonas de crecimiento vegetal generando un crecimiento importante de la raíz de la planta (Carcaño *et al.*, 2010).

Cuadro 2. Composición porcentual de los biofertilizantes a base de *Azospirillum* y *Chromobacterium violaceum*

Ingrediente activo	Cantidad
<i>Azospirillum brasilense</i> (BFN)	500x10 ⁶ UFC g ⁻¹ de Inoculante
<i>Chromobacterium violaceum</i> (BSF)	230 x10 ⁶ UFC g ⁻¹ de inoculante

BFN = bacterias fijadora de nitrógeno; BSF = bacterias solubilizadoras de fosfatos. Fuente: Laboratorio de Microbiología de suelos de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla BUAP (2014).

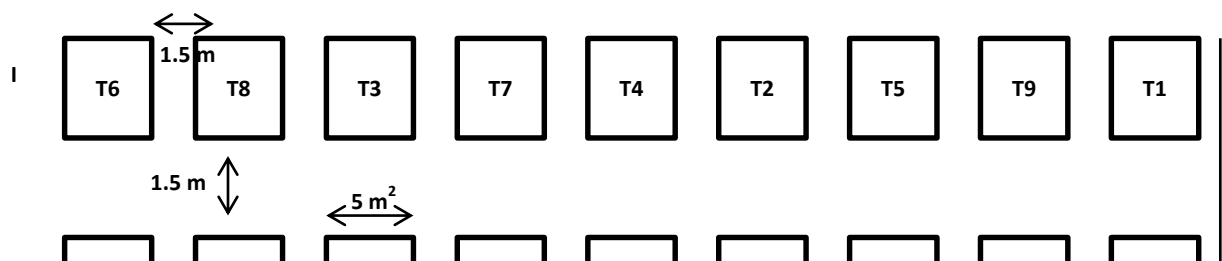


Figura 2. Diseño y distribución de los tratamientos en la parcela experimental predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas ciclo P-V 2013.

3.4 Trabajo de campo

3.4.1 Preparación del terreno

Consistió en un paso de arado y otro de rastra, con la finalidad de proporcionar una buena cama de siembra, eliminar las malezas presentes en el terreno e incorporar al suelo los residuos del ciclo anterior y exponer a la superficie plagas existentes en el suelo, posteriormente se aplicó herbicida a base de glifosato a dosis de un litro por hectárea para eliminar presencia de malezas anuales.

3.4.2 Inoculación a la semilla

Se inoculó la semilla con las diferentes cepas, siguiendo las instrucciones del fabricante en cuanto a dosis por hectárea y preparación.

Para los biofertilizantes *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* se mezclaron dos tazas de azúcar y se disolvió en un litro de agua, se adicionó la cantidad necesaria de adherente para humedecer la semilla del cultivo a sembrar, se agregó la bolsa de biofertilizante por separado de acuerdo a los tratamientos y se mezcló hasta

que la semilla quedo recubierta, se dejó secar a la sombra e inmediatamente se sembró de la forma acostumbrada (Alvarado, 2005).

3.4.3 Siembra

La siembra se realizó el día 10 de Julio de 2014, el genotipo de maíz que se utilizó fue P4083W, elegido por el productor y de acuerdo al tipo de suelo, con base a los resultados obtenidos en rendimientos en ciclos anteriores, la siembra fue en forma manual la distancia entre plantas fue de 40 cm y entre surcos de 80 cm, depositando dos semillas por punto para obtener una densidad de población de 62,500 plantas por hectárea.

3.4.4 Deshije

A los 10 días después de la siembra se realizó un aclareo para dejar dos plantas por punto obteniendo una densidad de población de 62,500 plantas por hectárea.

3.4.5 Fertilización edáfica

Se partió de la fórmula de fertilización básica de 160-46-30 de N-P-K, respectivamente, que es la fórmula que utilizan los productores regionalmente, esta fórmula se utilizó para el 100 % de la fertilización y en donde se redujo al 50 % la fórmula fue 80-23-15. Las aplicaciones de fertilizantes se realizaron de manera manual, la primera se efectuó el día 08 de agosto para el caso del nitrógeno, mientras que el fosforo y potasio se realizó todo en la primera aplicación, y la segunda fertilización se aplicó a los 30 días después de la primera aplicación, y se realizó en forma manual incorporado al suelo (INIFAP, 1999).

3.4.6 Manejo de arvenses

Para mantener libre de malezas al cultivo y evitar competencia por nutrimentos, humedad y espacio se aplicaron herbicidas preemergentes a base de atrazina equivalente a 900 g de i.a/kg, dosis de 1 kg por ha⁻¹, así como la utilización de herbicidas postemergentes a base de Paraquat más Diurón a dosis de 1.5 litros por ha⁻¹.

3.4.7 Manejo de plagas de follaje

Para el control de plagas principalmente de la familia lepidópteros (Gusano Cogollero *Spodoptera frugiperda* Smith,) se controló con una sola aplicación de Clorpirifos granulado a dosis de 5 kg por ha⁻¹.

3.4.8 Cosecha

La cosecha se realizó en forma manual, cuando el grano presentó una humedad entre 18 y 25%. Se cosecharon 4 surcos centrales de cuatro metros de longitud, se eliminaron las plantas de la cabecera para evitar el efecto de orilla.

3.5 Variables a evaluar

3.5.1 Variables agronómicas en la cosecha

a) Emergencia

Se consideró el número de días transcurridos desde la siembra hasta que se observó el 50 % de las plántulas emergidas sobre la superficie del suelo en la parcela útil de cada unidad experimental.

b) Altura de planta

En la etapa de llenado de grano, se tomaron 10 plantas al azar en los dos surcos centrales de la unidad experimental y se midió la altura con la ayuda de una cinta métrica, desde el nivel del suelo hasta el nudo de inserción de la hoja bandera.

c) Altura de mazorca

Se consideró 10 plantas al azar en los dos surcos centrales de la unidad experimental. Midiendo desde el nivel del suelo hasta el nudo de inserción de la mazorca principal.

d) Peso de mazorca con totomoxtle

Se obtuvo pesando las mazorcas cosechadas en cada unidad experimental, utilizando una balanza granataria.

e) Peso de mazorca sin totomoxtle

Después de eliminar las brácteas, jolochi o totomoxtle se pesaran las mazorcas de cada unidad experimental.

3.5.2 Componentes del rendimiento

Se tomó una muestra de diez mazorcas al azar y se determinaron los siguientes componentes del rendimiento.

a) Longitud de mazorca

Se midió el largo de cada una de 10 mazorcas tomadas al azar de cada unidad experimental, obteniendo el promedio de longitud.

b) Longitud de olote

Una vez desgranada las mazorcas tomadas al azar de cada unidad experimental, se midió la longitud del olote de un extremo a otro con una cinta métrica.

c) Diámetro de mazorca y olote

A las mazorcas y olote seleccionados al azar de cada unidad experimental se les determinó su diámetro con un vernier, para posteriormente obtener su promedio.

d) Hileras por mazorca

Se contó el número de hileras que presentaba cada mazorca, obteniendo el promedio de hileras por mazorcas.

e) Granos por hilera

Se contó el número de granos por hilera de cada mazorca, y se obtuvo el promedio.

f) Granos por mazorca

Se calculó multiplicando el número de granos por hilera por el número de hileras por mazorca.

g) Peso de 100 granos

Se determinó el peso de cien granos tomados al azar de cada unidad experimental.

h) Rendimiento de grano por parcela útil y hectárea

Se estimó el rendimiento, utilizando la propuesta del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, 1998).

Rendimiento de grano en el área cosechada ajustado a 14% de humedad (RG_P):

$$RG_P \text{ (kg)} = (PFM_T) \times CD \times [(100 - CHG)/86]$$

Dónde:

RG_P : Rendimiento de grano por parcela

CD-. Coeficiente de Desgrane

PFM_T : Peso fresco de mazorca con totomoxtle

CHG: contenido de humedad del grano

3.6 Análisis estadístico

Para determinar los efectos entre tratamientos se realizó un análisis de varianza para cada variable con el procedimiento PROC ANOVA. Posteriormente se aplicó una comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$) utilizando el programa computacional Statistical Analysis System (SAS 1999-2000, versión 8.1).

Las gráficas se realizaron con la ayuda del Programa Sigma Plot ver 10.0 para Windows.

3.7 Análisis económico

El análisis económico se realizó para todos los tratamientos evaluados, tomando en cuenta la metodología propuesta por el CIMMYT (1998), se estimó el rendimiento de grano de los tratamientos por hectárea; tomando en cuenta el precio de referencia del maíz del año 2013 y así se obtuvo:

Ingreso bruto = Rendimiento x precio del producto

Se consideró el costo de producción de los cultivos, correspondiente al año 2013 y con esto se determinó el beneficio neto:

Beneficio neto = Beneficio bruto - costos de producción

El cálculo de la tasa marginal de retorno se calculó con base a los incrementos de los beneficios netos sobre los costos totales que varían por 100.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Caracterización física y química del área experimental

Debido a la importancia que tiene el suelo para el crecimiento y desarrollo de los cultivos de interés agronómico, se determinaron las propiedades físicas y químicas a través de un análisis de laboratorio de una muestra compuesta tomada a la profundidad de 20 cm en el sitio experimental. Los resultados se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Caracterización física y química del suelo del área experimental predio “La Unión” municipio de Villaflores, 2014.

Determinación	Indicadores	Criterio
pH (H ₂ O) (Relación 1:2)	4.92	Fuertemente ácido (Letelier,1967)
Materia orgánica (%)	1.02	Medio (Tavera,1985)
N (%)	0.05	Pobre (Tavera,1985)
P Bray (mg kg ⁻¹)	5.5	Medio (CSTPA,1980)
K (Cmol kg ⁻¹)	0.2	Moderadamente bajo (Tavera,1985)
Ca (Cmol kg ⁻¹)	612	Bajo (CSTPA,1980)
Mg (Cmol kg ⁻¹)	98.7	Bajo (Tavera,1985)
B (mg kg ⁻¹)	0.26	Muy bajo (Tavera,1985)
Al	74.0	Moderadamente alto (Landon,1984)
CIC (Cmol kg ⁻¹)	5.23	Bajo (CSTPA,1980)
Da (g cm ³)	1.46	Medio (Doran y Parkin, 1994)
Textura	Franco arenoso	

Los resultados obtenidos en el análisis del suelo del sitio experimental, señalan una textura franco arenoso. La textura del suelo es una característica importante del mismo a partir del cual se derivan otras propiedades y características, tales como: densidad aparente, espacio poroso, capacidad de retención y disponibilidad del agua en el suelo. Las partículas de arcilla junto con el humus son los ingredientes activos del suelo, ya que forman el esqueleto del mismo. Los suelos que presentan las mejores condiciones tanto físicas como químicas para un buen crecimiento,

desarrollo y producción de las plantas son los de texturas más finas (Ortiz y Ortiz 1990).

Presenta una D_a de 1.46 g cm^{-3} , estos resultados concuerdan con (Doran y Parkin, 1994) en donde mencionan que la densidad aparente del suelo es un buen indicador de propiedades importantes como la compactación, porosidad, grado de aireación y capacidad de infiltración, lo que condiciona la circulación de agua y aire en el suelo, los procesos de establecimiento de las plantas (emergencia, enraizamiento) y el manejo del suelo, y que estas características se consideran adecuadas para el establecimiento de cultivos básicos, como el maíz, frijol y calabaza en las regiones tropicales (Aguilar, 1991).

El pH fue de 4.92 por lo que se considera un suelo fuertemente ácido para el cultivo del maíz (Letelier, 1967). Este cereal crece bien con un pH entre 5.5 y 7.8. Un pH en esos límites suele aumentar o disminuir la disponibilidad de elementos como el fósforo y se produce toxicidad o carencia (Landon, 1983 y Letelier, 1967). Con un pH inferior a 5.5, a menudo hay problemas de toxicidad por aluminio y magnesio y carencias de fósforo y manganeso (Landon, 1983). Este indicador señala la necesidad de incorporar en los sistemas de manejo, prácticas agroecológicas que busquen reducir la acidez que tienen los suelos agrícolas de la región Frailesca, lo cual es producto de su manejo sistemático con la agricultura tecnificada. Los biofertilizantes elaborados con base al uso de microorganismos benéficos, han enseñado beneficios en el mejoramiento de la acidez de los suelos agrícolas (Castellanos *et al.*, 2001).

El contenido de materia orgánica señaló un índice de 1.02 %, considerado como un nivel pobre para los suelos tropicales de origen no volcánico; esta proporción es considerada actualmente como baja para los suelos agrícolas de la región Frailesca, debido a su degradación generalizada (Landon, 1983 y Letelier, 1967), la cual es producto del manejo que se les ha dado en las últimas décadas, mismo que se fundamenta en el monocultivo de maíz bajo tecnología convencional, y que incorpora sistemáticamente productos sintéticos cuyas dosis pueden aumentar de manera progresiva con el tiempo y que se relacionan con el nivel de degradación de los recursos naturales en el sistema de producción.

En este sentido Ortiz y Ortiz (1984) señalan que la deficiencia de materia orgánica, tiene consecuencias en la estructura, aireación, capacidad de retención de agua, y la temperatura del suelo se incrementa pudiendo llegar arriba de los $35 \text{ }^\circ\text{C}$, mientras que cuando el porcentaje de materia orgánica es alto, favorece las condiciones de la humedad, reduce erosión hídrica, disminuye la temperatura en verano, existe menor evaporación, su descomposición favorece el desarrollo de las plantas, ayuda la capacidad amortiguadora de los suelos. Además de favorecer las propiedades físicas y químicas, la materia orgánica contribuye con la actividad biológica, componente directamente relacionado con el uso de los biofertilizantes, los cuales encuentran en ella un hábitad adecuado para su desarrollo.

Los resultados obtenidos en el presente estudio el contenido de materia orgánica y pH del suelo son menores, éstas diferencias se deben principalmente a que en los 80s y 90s, la forma de preparar los suelos para la siembra de maíz el productor lo realizaba eliminando los residuos de cosecha a través de las quemadas, estas diferencias también tienen que ver principalmente al manejo del suelo que el productor ha llevado a cabo, como son ausencia de la asociación y rotación de cultivos y la falta de incorporación de residuos de cosecha.

Respecto a los valores de pH, en los últimos años con el alto costo de los insumos para la producción de maíz los productores fueron dejando áreas marginales para la producción de maíz y siembran en terrenos de mejor calidad en cuanto a fertilidad de suelo para asegurar su cosecha.

Para el indicador de nitrógeno total es pobre ya que se encuentra dentro del rango de 0.05, es un elemento casi universal presentes en los suelos de cultivo, sin embargo sus características se deben principalmente al uso intensivo que le ha dado al suelo y al monocultivo maíz-maíz. El porcentaje de nitrógeno total raras veces es un buen indicador de la disponibilidad del nitrógeno en el suelo, pero se encuentra estrechamente relacionado con la materia orgánica. Echeverría y Sains (2001) mencionan que el nitrógeno es uno de los elementos principales para la vida de las plantas, por que estimula el crecimiento por encima del suelo, y contribuye al color verde característico de las plantas saludables. Por lo consiguiente el nitrógeno es esencial para el crecimiento de las plantas, forma parte de la célula viviente, las plantas requieren de grandes cantidades de nitrógeno para crecer normalmente, es necesario la síntesis de clorofila y como parte de la molécula de clorofila está involucrado en el proceso de la fotosíntesis (Ortiz *et al.*, 1990)

El contenido de fósforo señaló ser medio ya que se encuentra dentro del rango de 5.5 ppm de acuerdo con la clasificación de (CSTPA¹, 1980). La mayoría de los suelos cultivados presentan deficiencias en fósforo, esto se deriva del hecho que los minerales primarios que dieron formación al sustrato contiene una baja cantidad de este elemento. Su disponibilidad para el cultivo varía de acuerdo a la dinámica nutricional del suelo y está relacionada con los procesos de acumulación y desacumulación, producto de la relación entre la fertilización y absorción del cultivo sin embargo, un adecuado nivel de este macronutriente es necesario para obtener rendimientos rentables en el cultivo maíz (IPNI², 2007; Berardo, 2003). Los niveles altos de fósforo ayudan a mantener la absorción del mismo por las plantas de maíz aun con altas tensiones de humedad.

En el potasio se encuentra en un rango moderadamente bajo con 0.2 Cmol kg⁻¹, el potasio es vital en la síntesis de proteína para la fotosíntesis, ayuda a hacer un uso más eficiente del agua y a reducir el acame de las plantas. Cuando un suelo se seca y humedece alternativamente por que la distribución de la lluvia es errática, se fijan grandes cantidades de Potasio y cualquier práctica de conservación de humedad en forma más uniforme tal como el uso de la leguminosa como cultivo de cobertura,

¹ Council on Soil Testing and Plant Analysis

² International Plant Nutrition Institute

puede reducir la fijación de Potasio (Castellanos *et al.*, 2001). cuando es deficiente, la respiración aumenta y disminuye la capacidad fotosintética (IMPOFOS¹, 1988). Este elemento estimula el crecimiento de la raíz y mejora la resistencia de las plantas a las enfermedades. Mejora el tamaño, calidad de los frutos y aumenta la resistencia de las plantas al invierno (IMPOFOS, 1993).

El contenido de calcio (Ca) de acuerdo al análisis de suelo realizado fue de 612 Cmol kg⁻¹, lo que indica de acuerdo a la clasificación de CSTPA (1980) es alto en su contenido de calcio, lo cual está relacionada con el pH del suelo, estos resultados se deben principalmente por el material de origen de los suelos y fundamentalmente al manejo al que ha estado sometido el suelo. La capacidad de intercambio catiónico es de 5.23 Cmol kg⁻¹, la cual nos indica según la clasificación de CSTPA (1980), que es bajo, la capacidad de intercambio catiónico es un indicador de la fertilidad química del suelo, por que indica su capacidad para suministrar los nutrimentos a las plantas (Castellanos, 2001). Wooding (1987) menciona que la capacidad de intercambio catiónico de un suelo varia de horizonte a horizonte y en cada uno de ellos dependerá el contenido y tipo de minerales de arcilla y de componentes orgánicos.

Los micronutrientes son de gran importancia para el crecimiento y desarrollo de las plantas, la ausencia de cualquiera de estos en el suelo puede limitar el crecimiento aun cuando todos los demás nutrimentos esenciales estén presentes en cantidades adecuadas. Son considerados de esta manera, ya que la planta lo adquiere en pequeñas cantidades (Viets y Lindsay, 1973), con base a los resultados obtenidos indica que estos elementos se encontraron en bajas proporciones.

4.2 Variables agronómicas

4.2.1 Porcentaje de emergencia

En condiciones adecuadas de campo, la semilla sembrada absorbe agua y comienza su crecimiento. La radícula será la primera en alargarse a partir del grano hinchado. Luego la seguirá el coleoptilo que encierra a la plúmula y luego surgirán tres o cuatro raíces seminales. La emergencia (VE) se evidencia rápidamente por el alargamiento del mesocótilo, el cual empuja al coleoptilo en crecimiento hacia la superficie del suelo. Bajo condiciones de humedad y alta temperatura, la emergencia de la plántula puede ocurrir 4 ó 5 días después de la siembra, pero bajo condiciones de frío o sequía la emergencia puede demorarse dos semanas o más (Moran y Perezardon, 2000).

Al realizar el análisis de varianza para el porcentaje de emergencia se determinó diferencia estadística significativa para todos los tratamientos (Cuadro 1A), las pruebas de medias de Tukey se muestran en el Cuadro 4. Los resultados obtenidos indicaron que el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-

¹ Instituto de la Potasa y Fósforo

46-30, Fertilización química 80-23-15 y *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 obtuvieron 91.0, 90.7 y 90.7 % de germinación respectivamente, mientras que el de menor porcentaje de germinación fue el Testigo absoluto con 84.5%.

Cuadro 4. Efecto de los biofertilizantes sobre la emergencia de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Emergencia %
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química (fq) 160-46-30	91.0
Fertilización química 80-23-15	90.7
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	90.7
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	89.5
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	89.3
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	89.2
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	88.5
Fertilización química 160-46-30	86.2
Testigo absoluto	84.5

NS

Puede observarse el efecto estimulador de los biofertilizantes sobre la emergencia y la precocidad del desarrollo del maíz, pero también depende de la fertilidad del suelo. Estos resultados coinciden con los reportados por López *et al.*, (2008) quienes a partir de la inoculación de cepas fijadoras de nitrógeno observaron un incremento en los porcentajes de emergencia de 52 a 75 % en las plantas inoculadas. Así mismo Constantino (2010) realizó una investigación con el objeto de incrementar y acelerar el proceso de germinación de semillas de *Carica*, encontrando que el incremento obedeció al aporte de hormonas promotoras de crecimiento vegetal en este cultivo.

Según Kloepper *et al.*, (1989) *Azospirillum spp.* es una bacteria productora de auxinas y giberelinas puede incrementar la emergencia de semillas vegetales, por lo cual, también se conoce como bacteria promotora de emergencia. En estudios de invernadero con cepas fijadoras de nitrógeno de forma asociativa, se observó un alto porcentaje de germinación a los 4 días en el suelo con un 75% de las semillas germinadas en comparación con 52 % obtenido en el tratamiento sin inocular.

La respuesta del cultivo de maíz cuando se le inoculan los biofertilizantes, basados en hongos y bacterias específicamente del género *Azospirillum*, se debe fundamentalmente a que estos tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico que beneficia a su crecimiento y desarrollo (Hernández y Chailoux, 2001). Estos nutrientes son aprovechados directamente por las plantas, o a través de la simbiosis con hongos micorrizicos, cuyos micelios actúan como enlace entre la planta y el suelo (Trujillo, 2007), que contribuyen a la nutrición de las plantas explorando y absorbiendo un volumen mayor de agua y nutrientes, además de aumentar la actividad microbiana (Blanco y Salas, 1997). De esta manera ambos organismos

pueden complementar o sustituir parcial o totalmente el uso de fertilizantes sintéticos (Curá *et al.*, 2005).

Glick (1995) señala que este efecto actúa directamente sobre el desarrollo de las plantas y el conjunto de sustancias que son asimiladas a través de las raíces, permite que cada una de ellas actúe en el momento en que la planta lo requiera.

Efectos positivos sobre la germinación de semillas también fueron reportados por Canto *et al.*, (2004) en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin) inoculado con *Azospirillum* sp; y por Cassán *et al.* (2009) en semillas de maíz y soya inoculadas con *A. brasilense* Az39 y *Bradyrhizobium japonicum* E109. Esto puede atribuirse a la producción de fitohormonas, como el ácido indolacético, por *Azospirillum*, que al penetrar los tejidos de las semillas induce un rápido desarrollo del embrión y acelera el crecimiento de la raíz (Zambrano y Díaz, 2009 y Cassán *et al.*, 2009). Asimismo, estas bacterias inducen la producción de enzimas como alcohol deshidrogenasa, fosfatasa ácida, glutamina sintetasa, isocitrato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, piruvato kinasa y shikimato deshidrogenasa, que incrementan la tasa de respiración de las raíces emergidas (Dobbelaere *et al.*, 2001); y en este ambiente benéfico se estimula la proliferación de vellosidades de la raíz y por lo tanto el rápido desarrollo de la plántula por la absorción de agua y nutrientes (Esqueda *et al.*, 2002).

En la etapa de germinación puede no depender directamente de las bacterias, sino más bien puede implicar algunos reguladores del crecimiento presentes en el medio de cultivo como productos de excreción al observar la diferencia con los tratamientos inoculados y el control, lo que puede apoyar el potencial de los reguladores del crecimiento apoyando el papel potencial de las bacterias y los reguladores del crecimiento en la mejora de la tasa de germinación y principios de desarrollo de estructuras de la planta. Los datos mostrados coinciden con lo reportado por Cassan *et al.*, (2009) al inocular semillas de maíz y soya con cepas de *Azospirillum brasilense* y *Bradyrhizobium japonicum*, ya sea solas y en combinación, observando una mejora en la germinación hasta el día 7 para maíz y soya en el día 4 en comparación con el control que alcanzaron un bajo porcentaje de germinación.

4.2.2 Altura de planta

La altura de planta es un parámetro importante, ya que es un indicativo de la velocidad de crecimiento, está determinada por la elongación del tallo al acumular en su interior los nutrientes producidos durante la fotosíntesis, los que a su vez son transferidos al fruto. Las plantas de mayor tamaño tienden a presentar mejor desarrollo en campo, si bien es importante que exista un equilibrio entre la altura y el diámetro de la parte aérea. Las concentraciones de nutrientes minerales y azúcares de reserva son los atributos fisiológicos que más se relacionan con el desarrollo de las plantas en campo. Además, está fuertemente influenciada por condiciones ambientales (temperatura, humedad, luz solar, etc.) y manejo que se le dé al cultivo (Moran y Perezardon, 2000).

Al realizar el análisis de varianza para la altura de planta se determinó diferencia estadística significativa para todos los tratamientos (Cuadro 2A). Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 5, los cuales nos señalan que el mejor tratamiento fue la Fertilización química 160-46-30, con una altura promedio de planta de 2.32 m, mientras que el de menor altura fue el testigo absoluto con 1.90 m.

Cuadro 5. Efecto de los biofertilizantes sobre la altura de planta de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Altura de planta (m)
Fertilización química (fq) 160-46-30	2.32 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	2.22 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	2.17 abc
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium viol.</i> + fq 160-46-30	2.10 abc
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	2.10 abc
Fertilización química 80-23-15	2.10 abc
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	2.07 ab
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	2.02 bc
Testigo absoluto*	1.90 c

Las medias en la columna seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Se observó un mayor incremento en el crecimiento en todos los tratamientos inoculados con biofertilizantes en comparación al testigo absoluto. De esta manera se ha manifestado la importancia de la inoculación de microorganismos para incrementar el crecimiento vegetal y mejorar la productividad agrícola. En este caso *Azospirillum brasilense* además de suministrar el nitrógeno necesario, estimuló el crecimiento por la acción de las sustancias activas que es capaz de sintetizar (Dibut, 2003).

Resultados similares reporta Hungría *et al.*, (2004) quien en las mismas condiciones ambientales y edáficas, obtuvo con el tratamiento Fertilización Mineral al 100 % y *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* una altura de 2.30, 2.25 y 2.20 m respectivamente, mientras que para el Testigo cuantificó una menor altura de planta con 1.70 m. Además la altura de la planta es una característica que cuantifica el crecimiento y se reduce cuando hay presencia de condiciones ambientales desfavorables para dicho sistema. Esto concuerda con Melgar (1998) quien indicó que la altura de la planta es un carácter genético.

Peña y Reyes (2007) al inocular cepas de *Azospirillum* encontraron incrementos en el crecimiento de plántulas de lechuga, específicamente con las productoras de hormonas del crecimiento Así mismo, Vera y Valencia *et al.*, (2002) aislaron 18

hongos con capacidad de solubilizar fósforo no disponible, a partir de agregados de suelo de la rizósfera de *Eugenia stilapia*, encontrando incrementos en altura de planta.

Los resultados obtenidos muestran que los mayores crecimientos se observaron en plantas inoculados con las cepas fijadoras de nitrógeno con valores estadísticamente superiores ($P=0,05$) al resto de los tratamientos aplicados. La cepa fijadora de nitrógeno estimuló el crecimiento vegetal. Estos resultados obedecen a que las bacterias expresan su eficiencia de inoculación con un determinado material genético, por ello la necesidad de buscar la mayor compatibilidad cepa-cultivo y luego cepa-suelo-cultivo, ya que estos aspectos son determinantes en el éxito de procesos de inoculación, así como por su efectividad como fijadoras de nitrógeno atmosférico y solubilizadoras de fósforo. Landis (2000) señala que los niveles altos de nitrógeno promueven una rápida división y elongación celular, demostrándose así la importancia de la aplicación de éstas cepas para estimular el crecimiento de las plántulas, es por ello que la fertilización química al 100% tuvo un efecto en la altura de la planta.

Con respecto al tratamiento *Chromobacterium violaceum* que contienen bacterias solubilizadoras de fosfatos, se observó que promovieron un mayor crecimiento en comparación a la fertilización química en el cultivo de maíz; sin embargo, la altura de planta está relacionada con características genéticas y con el contenido de humedad del suelo. Glick (1995) menciona que la variación observada en este caso, el responsable de tales diferencias no es el tratamiento con fertilizante sino los factores edáficos y que por lo tanto, el efecto de las cepas evaluadas sobre el crecimiento del maíz fue diferente de acuerdo a la disponibilidad de nutrimentos del suelo, siendo más efectivas en el suelo de mayor fertilidad.

Se puede notar que la estimulación del crecimiento no se manifestó de inmediato en los tratamientos fertilizados químicamente, quizás porque sus características del suelo son de baja fertilidad por lo que se reduce la velocidad de absorción de los nutrimentos, lo cual hace que su acción beneficiosa no pueda ejercerse todavía en esta etapa.

Resultados similares fueron obtenidos por Naiman *et al.*, (2009) cuando inocularon *A. brasilense* en plantas de trigo y registraron un aumento en la biomasa aérea con respecto al control no inoculado, aunque no fue significativo. Asimismo, García *et al.*, (2007) encontraron un aumento no significativo en el peso fresco foliar de plantas de maíz inoculadas con *Azospirillum brasilense*. Sin embargo, en otras investigaciones en gramíneas como el maíz, se encontró un incremento significativo en el peso fresco foliar con la inoculación simple y combinada de *Azospirillum brasilense* y *Bradyrhizobium japonicum* (Cassán *et al.*, 2009); y en arroz con la inoculación de *Azospirillum* + Micorrizas arbusculares (Ruíz *et al.*, 2011).

4.2.3 Altura de mazorca

Baca en 1989 planteó que la altura de la mazorca es una variable de importancia desde el punto de vista de la realización mecanizada de la cosecha del maíz, esta característica agronómica es importante no solo porque facilita la cosecha si no porque también contribuye en el rendimiento.

Al realizar el análisis de varianza para altura de mazorca se determinó diferencia estadística significativa (Cuadro 3A). Los resultados obtenidos (Cuadro 6) señalan que el mejor tratamiento fue la Fertilización química 160-46-30 seguido de *Azospirillum brasilense* + fertilización química 80-23-15 con una altura de mazorca de 1.45 m y 1.22 respectivamente, mientras que la menor altura lo obtuvo el Testigo absoluto con 0.92 m.

Cuadro 6. Efecto de biofertilizantes sobre la altura de mazorca de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Altura mazorca (m)
Fertilización química 160-46-30	1.45 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	1.22 b
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	1.20 b
Fertilización química 80-23-15	1.15 bc
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	1.12 bc
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium viol</i> +fq 160-46-30	1.12 bc
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium viol</i> +fq 80-23-15	1.12 bc
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	1.00 cd
Testigo absoluto*	0.92 d

Las medias en la columna seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Se observó un mayor incremento en el crecimiento en todos los tratamientos inoculados con biofertilizantes en comparación al Testigo absoluto. Estos resultados obtenidos reafirman los estudios realizados por Camacho y Bonilla (1999), quienes afirman que la altura de inserción está determinada por el crecimiento de la planta y que la misma puede estar influenciada por el agua y la fertilización nitrogenada. Y además por algunos microorganismos capaces de solubilizar fosfatos (Alexander, 1980 y Illmer *et al.*, 1995). En el experimento se demostró que si hubo respuesta en la altura de mazorca, lo cual demuestra que hay una estimulación de crecimiento en la planta de maíz y por consecuencia una altura de mazorca por medio de la inoculación de bacterias capaces de solubilizar fosfatos orgánicos e inorgánicos y la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, lo cual es concordante con lo que menciona Rodríguez y Fraga (1999).

El fósforo después del nitrógeno, es el nutriente inorgánico más requerido por plantas y microorganismos y además, en el suelo es el factor limitante del desarrollo vegetal a pesar de ser abundante tanto en formas inorgánicas como orgánicas (Alexander 1980). Las plantas deben absorberlo del suelo, donde se encuentra en muy baja concentración, normalmente en niveles que varían entre 5 y 30 mg kg⁻¹. Estos índices bajos del nutriente se deben a que el fósforo soluble reacciona con iones como el calcio y magnesio en suelos con pH alcalinos, y con hierro y aluminio en

suelos con pH ácido, provocando su precipitación o fijación en complejos insolubles disminuyendo su disponibilidad para los vegetales (Rodríguez y Fraga, 1999).

Los fosfatos inorgánicos aplicados como fertilizantes químicos también son inmovilizados en el suelo y como consecuencia no son solubles para ser aprovechados por los cultivos (Peix *et al.*, 2001). Por lo tanto se considera que la solubilización de distintas rocas fosfatadas y de otras fuentes de fósforo inorgánico por los microorganismos del suelo es una alternativa fundamental para incrementar la cantidad de nutriente disponible para las plantas (Illmer y Schinner, 1992).

Sin embargo aunque el fosforo no está disponible en el suelo este se le considera como un nutrimento limitante para el crecimiento de la planta, pero cuando se utilizan bacterias solubilizadoras de fosfatos, los microorganismos juegan un papel importante en la movilización de fosfatos por medio de la producción de ácidos orgánicos, por lo que se pudo notar en el tratamiento inoculado con la bacteria *Chromobacterium violaceum* al observar incrementos en la altura de mazorca, (Alexander, 1980; Kumar y Narula, 1999; Carcaño-Montiel *et al.*, 2003).

Las bacterias del género *Azospirillum* spp.; las que, a menudo, ha sido utilizadas como inoculantes en gramíneas y otras especies vegetales (Bashan *et al.*, 1993; De Bashan y Holguin 1996). Su aplicación es tecnológicamente aceptable (Díaz Franco *et al.*, 2005), además de que son capaces de producir compuestos hormonales (fitohormonas vegetales) (Bashan *et al.*, 1993;) que pueden contribuir al buen desarrollo de las plantas, como se observó en este trabajo. *Azospirillum brasilense* es una bacteria fijadora de nitrógeno y una reguladora de crecimiento vegetal, según Kloepper *et al.*, (1991), es una bacteria productora de auxinas y giberelinas, estas hormonas, al igual que las citoquininas secretadas por la bacteria, producen el crecimiento apical de la planta, inducen el alargamiento del tallo, la formación y desarrollo de todos los órganos vegetativos, donde, la altura de inserción de mazorca tienen estricta relación con la altura de planta, es decir, a mayor altura de planta, mayor altura de inserción de mazorca (Baca, 1989).

En el maíz, una menor altura de inserción de mazorca facilita la cosecha al agricultor, sin embargo, al estar situada en la parte superior, se demuestra que la planta estuvo expuesta mayormente a la luz, donde la tasa de acumulación de materia seca incrementó y por tanto la calidad del grano (Ritchie *et al.*, 2003). En Amaguaña de Bolívar, la inoculación líquida de *Azospirillum* spp. a la semilla, incrementó la altura

de inserción de mazorca en la planta a 139,67 cm; y en Quinchuquí a 137,33 cm, en relación a los testigos y a los valores reportados por Silva, *et al.*, 2000.

Se han aislado microorganismos como *Azospirillum lipoferum* o *Azotobacter chroococcum* que además de ser fijadores libres de nitrógeno, son capaces de promover el crecimiento vegetal mediante la solubilización de fosfatos inorgánicos (Murty y Ladha, 1988. Además, distintas especies de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, bacterias del suelo que fijan nitrógeno en asociación simbiótica con distintas leguminosas, poseen capacidad de solubilización de fósforo inorgánico (Halder y Chakrabarty, 1993 y Surange y Kumar, 1993).

Esta respuesta favorable también podría estar asociada a una interacción positiva entre la bacteria y factores de clima y suelo, principalmente. García- Olivares *et al.*, (2007) comentaron que los factores como precipitación pluvial, temperatura, características físico-químicas del suelo, la presencia de microorganismos en la rizósfera, el genotipo del hospedante y la capacidad de la bacteria para establecerse y para competir con la microflora nativa, son los responsables de causar un efecto en el crecimiento vegetal. En algunos estudios de campo realizados con cereales se ha llegado a observar una promoción del crecimiento vegetativo (Kapulnik *et al.*, 1983). También se ha reportado un efecto a simple vista sobre el crecimiento de varios vegetales como tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), berenjena (*Solanum melongena* L.), pimiento (*Capsicum annum*) y algodón (*Gossypium barbadense*) (Bashan *et al.*, 1993).

4.2.4 Número de plantas por parcela útil

Al realizar el análisis de varianza para el número de plantas por parcela útil, se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 4A). Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 7, los cuales señalan que el mejor tratamiento fue *Azospirillum brasilense* + *Chromobacterium violaceum* + Fertilización química 160-46-30, seguido de *Azospirillum brasilense* + *Chromobacterium violaceum* + Fertilización química 80-23-15 con 37.7 y 37.2 plantas por parcela útil respectivamente, mientras que el de menor plantas por parcela útil fue el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + Fertilización química 160-46-30, con 32.7 plantas por parcela útil. Se observó un mayor incremento en el crecimiento en todos los tratamientos inoculados con biofertilizantes, superando a la fertilización química.

Cuadro 7. Efecto de biofertilizantes sobre el número de plantas de maíz por parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	NO.PI/PU
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	37.7 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	37.2 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	37.0 ab
Fertilización química 80-23-15	37.0 ab

Testigo absoluto	36.7 ab
Fertilización química 160-46-30	36.2 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	35.7 ab
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	35.5 ab
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	32.7 b

Las medias en la columna seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$) No. PI/P.U= Número de plantas por parcela útil.

La inoculación con bacterias promotoras del crecimiento en el cultivo de maíz específicamente *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* arrojaron aumentos en el número de plantas por parcela útil y, que resultan de importancia en la producción y en los ingresos del productor. Si bien estos aumentos en el número de plantas (3.03) con respecto a las plantas no inoculadas, resultaron no significativos desde un punto de vista estadístico, pero si constituyen unas 3.000 plantas por hectárea. Además, puede observarse una disminución en el número de plantas en el tratamiento no inoculado.

Las bacterias del género *Azospirillum* son conocidas como “bacterias promotoras del crecimiento de las plantas” o PGPB (por sus siglas en inglés: “Plant Growth Promoting Bacteria”; (Van de Broek *et al.*, 1993)). Se han descrito distintas especies, entre ellas: *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. lipoferum*, *A. irakense*, *A. halopraeferens*, *A. largimobile*, *A. dōbereineriae* y *A. oryzae* (Tarrand *et al.*, 1978). Numerosos estudios realizados en invernadero y en campo han demostrado que *Azospirillum* puede estimular el crecimiento de las plantas y asegurar una mayor población (Okon y Labandera-González, 1994). Esta PGPB es benéfica para el desarrollo vegetal, ya que la bacteria actúa promoviendo su crecimiento. Esto se refleja en un mayor desarrollo radicular, absorción de agua y nutrientes del suelo, y consecuentemente en un mayor cantidad y vigor de las plantas (Salazar *et al.*, 2007).

Existen distintos mecanismos por los cuales estas bacterias PGPB pueden estimular el crecimiento y una buena población de las plantas, entre ellos encontramos: mecanismos directos, cuando la bacteria produce un metabolito que es capaz de estimular el crecimiento de la planta como por ejemplo: la fijación de nitrógeno atmosférico (Saubidet *et al.*, 2002) y la producción de sustancias hormonales tales como auxinas, citoquininas, giberelinas y ácido abscísico (Bottini *et al.*, 1989 y Horemans *et al.*, 1986). O bien, mecanismos indirectos cuando la bacteria produce algún metabolito que a su vez afecta otros factores rizosféricos que estimulan o mejoran las características agronómicas de una planta como por ejemplo: la producción de sideróforos.

Estudios con plantas de sorgo demostraron que la inoculación combinada de *A. brasilense* y bacterias solubilizadoras de fosfatos, incrementó significativamente el número de plantas y la absorción de nitrógeno y fósforo al compararse con los resultados de la inoculación con un solo grupo de organismos o una fertilización química (Alagawadi y Gaur, 1992). Los pocos datos obtenidos hasta ahora son alentadores y estimulan la investigación hacia este tipo de interacción, además de

que la descripción de las propiedades elementales de esta interesante interacción bacterias-hongos-plantas es reciente.

Las inoculaciones dobles tuvieron un mejor efecto sobre las variables agronómicas principalmente el número de plantas en determinada área, aun cuando la concentración de nitrógeno combinado en el suelo era baja. Se concluye que la inoculación con mezclas bacterianas permite que las plantas tengan una alimentación más balanceada, mejorando la absorción del nitrógeno y fósforo presente en el suelo. Experimentos de campo con tres variedades de cebada confirmaron el hecho de que la inoculación mixta le ayuda a la planta a alcanzar un incremento y equilibrio nutricional al compararse con inoculaciones únicas (Belimov *et al.*, 1995).

Algunos reportes a la inoculación mixta de *Azospirillum* y el hongo micorrízico en plantas de sorgo, se encontró que incrementó todos los parámetros de crecimiento de las plantas, la concentración de fosfatasas en raíces así como la absorción de minerales, al compararse con inoculaciones únicas (Veerewswamy *et al.*, 1992). Al inocular trigo con *A. brasilense*, se incrementaron parámetros de crecimiento (Gori y Favilli, 1995).

4.2.5 Número de mazorcas por parcela útil

Al realizar el análisis de varianza para el número de mazorcas por parcela útil, se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 5A). Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 8, los cuales nos señalan que el mejor tratamiento fue *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30, seguido de la Fertilización química 160-46-30, con 39.2.7 y 38.0 mazorcas por parcela útil respectivamente, mientras que el de menor mazorcas por parcela útil fue el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + Fertilización química 160-46-30, con 32.7 mazorcas por parcela útil. Se observó un mayor incremento en el crecimiento en todos los tratamientos inoculados con biofertilizantes, superando a la fertilización química.

Cuadro 8. Efecto de biofertilizantes sobre el número de mazorcas de maíz en la parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	No. Mazorcas
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	39.2 a
Fertilización química 160-46-30	38.0 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	38.0 ab
Fertilización química 80-23-15	37.2 ab
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	37.2 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	36.7 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	36.2 ab
Testigo absoluto	36.0 ab

Las medias en la columna seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

En estudios de campo se demostró la factibilidad de mejorar el comportamiento agronómico del maíz mediante el uso de biofertilizantes (Fallik y Okon 1996a; Fulchieri y Frioni, 1994) desde la reducción del tiempo de germinación y aumento de los porcentajes de germinación y establecimiento de las plántulas hasta incrementos sustanciales en el rendimiento en este caso el número de mazorcas del cultivo.

Se menciona que del 13 al 20 % del contenido de nitrógeno en maíz puede ser atribuido a la actividad fijadora de nitrógeno de bacterias tales como *Azotobacter* (Gori y Favilli, 1995). Santillana (2006) encontró que plantas de maíces inoculados con diferentes bacterias, mostraron un mayor número y mejor desarrollo de mazorcas, además, las plantas biofertilizadas mostraron diferencias en estas variables con respecto a plantas fertilizadas químicamente (80-80-00). El cual se muestran incrementos en el número de mazorcas en plantas de maíz por efecto de la inoculación con *Azospirillum*.

Este efecto benéfico se potenció cuando las plantas de maíz se inocularon con bacterias reguladoras de crecimiento vegetal, y fijadoras de nitrógeno. El vigor de las plántulas (medido en términos del número de mazorcas) y diversas variables de productividad, también fueron mayores en las plántulas inoculadas con estos microorganismos (Hungria *et al.*, 2004). Por tanto refieren los beneficios que el empleo de esta bacteria puede tener en suelos con elevadas concentraciones de aluminio.

Las diferencias entre los tratamientos en el experimento se reflejaron en el número de mazorcas. Aunque las que recibieron la dosis de fertilización química completa mostraron resultados similares consistentemente, se observó que en las plantas inoculadas y adicionadas una dosis completa de fertilización respondieron favorablemente. Por otro lado, el testigo que no fueron tratadas con el biofertilizante y que tampoco recibieron dosis alguna de fertilizante químico los resultados para el número de mazorcas fueron bajos, contrariamente, aquellas plantas que recibieron al menos el biofertilizante lograron incrementar el número de mazorcas por parcela útil.

Al combinar las bacterias que fijan nitrógeno y las que solubilizan fosfatos para se hace una utilización efectiva de dos de los nutrientes más importantes para las plantas, observando cambios positivos en frutos de alto rendimiento, lo cual indica que estas bacterias son capaces de aumentar la producción de importantes cosechas en varios suelos y regiones climáticas (Okon y Vanderleyden, 2002).

Como se observa en todos los tratamientos que contemplan los biofertilizantes a bases de *Azospirillum* y *Chromobacterium violaceum*, superan al testigo desprovisto de aplicación de ambos microorganismos en relación a los diferentes indicadores del crecimiento y desarrollo de las plantas destacándose el aumento del número de

mazorcas por planta, parámetro éste estrechamente relacionado con el rendimiento del cultivo.

El uso de bacterias que solubilizan fosfatos es utilizado como inoculante y simultáneamente estimula el crecimiento de la planta, le da mejor vigor y una mayor cantidad de frutos porque estos microorganismos aumentan la cantidad de fosfato asimilable que es utilizado por las plantas (Rodríguez y Fraga, 1999).

Esto sostiene los resultados obtenidos en las evaluaciones de bacterias solubilizadoras de fosfatos en los incrementos sobre el número de mazorcas y es debido a que los microorganismos llevan a cabo cierto número de transformaciones del fósforo (Alexander, 1980). En experimentos de campo con tres variedades de cebada confirman el hecho de que las inoculaciones mixtas le ayudan a la planta a alcanzar un equilibrio nutricional, e incrementan significativamente el número de frutos al compararse con inoculaciones únicas (Belimov, *et al.*, 1995).

4.2.6 Peso de mazorcas con brácteas

El peso de mazorcas con bráctea es uno de los parámetros que utiliza el productor para la conservación del mismo durante los días de condiciones ambientales adversas, y permite que las mazorcas con brácteas no obtenga ningún daño durante su ciclo productivo (Peñas, 2011).

Al realizar el análisis de varianza para el peso de mazorcas con brácteas de la parcela útil, no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 6A). Los resultados numéricos obtenidos se muestran en el Cuadro 9, los cuales señalan que el mejor tratamiento fue *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, seguido de *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30, con 6.25 y 6.10 kilogramos respectivamente, mientras que el de menor peso de mazorcas fue el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + Fertilización química 160-46-30, con 4.60 kilogramos.

Cuadro 9. Efecto de biofertilizantes en el peso de mazorcas de maíz con brácteas de la parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Peso de mazorcas (kg)
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	6.25
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	6.10
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	5.87
Fertilización química 80-23-15	5.75
Fertilización química 160-46-30	5.67
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	5.67
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	5.65
Testigo absoluto*	5.22

NS

El mayor peso de mazorcas con los tratamientos de inoculación puede ser debido a la mayor exploración de suelo inducido por *Azospirillum* y a la solubilización de fósforo del suelo que promueve las bacterias. Para el peso de mazorca del maíz se observaron variaciones en cuanto al testigo y cuando el inoculante contenía cepas de ambas especies de bacterias los resultados fueron visibles (Cuadro 8). La inoculación con *Azospirillum* produce un aumento de la masa radicular, debido a la capacidad de producir fitohormonas, estas promueven la elongación radical e incrementan las ramificaciones laterales por lo que aumenta el área radicular. Se ha demostrado que las plantas inoculadas con esta bacteria absorben más rápido minerales de la solución y, consecuentemente, acumulan más materia seca, nitrógeno, fósforo y potasio en tallos y hojas. La asociación de *Azospirillum* planta da como resultados cambios importantes en diferentes parámetros del crecimiento (Bashan y Holguin, 1996); tales como: el incremento en el desarrollo radicular de la planta, mayor desarrollo de materia verde y mayor producción de materia seca (García *et al.*, 2005 y Díaz *et al.*, 2006).

De acuerdo a los resultados se logra comprobar el efecto de los biofertilizantes sobre los componentes del rendimiento y al comparar los tratamientos inoculados con el testigo se observa un incremento en el peso de la mazorca entre 16-18%, con la obtención de un kilogramo adicional, con el tratamiento de la inoculación mixta con relación al testigo sin inocular; con el consiguiente impacto socioeconómico, que representa el hecho de lograr un mayor volumen alimentario por unidad de área cultivada.

Igualmente, se debe destacar la mayor calidad de las mazorcas logradas, donde no sólo se limita al mayor peso de la mazorca, sino además al mayor tamaño y color más intenso de los granos, y a una menor afectación de éstas por plagas (Martínez, 1998). Por otra parte, se logra una mejor calidad de mazorcas y algo muy notable es el consecuente ahorro en el laboreo, herbicidas, y riego por mayor retención de la humedad, y granos de mayor calidad en cuanto a tamaño, peso y apariencia. En ambos estudios se observó que la fertilización mineral combinada con la inoculación con *Azospirillum* incrementó la producción de materia seca en diferentes órganos, debido a una mayor absorción de elementos nutritivos como el fósforo y al incremento en la superficie de la raíz y ser más activa para explorar y traslocar nutrimentos (Stancheva *et al.*, 1992).

Estos datos concuerdan con los de García *et al.*, (2007) y Pecina *et al.*, (2005), quienes encontraron un efecto significativo al utilizar esta bacteria en maíz y sorgo, lo que se atribuye a la diversidad de factores ambientales en la región de evaluación (características físicas y químicas del suelo, clima, genotipo y cepa) que produjeron respuestas a la biofertilización., otros autores reportan incrementos de fruto al inocular con *Azospirillum* en trigo (Döbbelaere *et al.*, 2001), algodón (Bashan *et al.*, 1989b).). Estos efectos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el

desarrollo de la raíz y al incremento subsecuente en la tasa de asimilación de agua y a la utilización de minerales del suelo (Döbbelaere *et al.*, 2001).

Al inocular *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* y por los diferentes comportamientos en los tratamientos con respecto al peso de mazorcas, los datos indican que las plantas utilizan dichos productos para incrementar el peso en mazorcas, parece ser que esta última característica es determinante en el rendimiento de grano. Así, la planta incrementó su peso cuando se usó *Chromobacterium violaceum*; y cuando se usó la mezcla de estas dos bacterias se obtuvo un incremento en el peso de la mazorca por parcela (Carcaño-Montiel *et al.*, 2003). Existen muchos reportes que indican la capacidad del género *Azospirillum* para promover el crecimiento en las gramíneas (Döbereiner, 1983); de la misma manera son múltiples los trabajos realizados sobre el papel de las micorrizas en la nutrición (mejorando la disponibilidad del P) y en la eficiencia en el uso del agua en un amplio rango de cultivos (Bethenfalvay *et al.*, 1993).

4.2.7 Peso de mazorcas sin brácteas

Al realizar el análisis de varianza para el peso de mazorcas sin brácteas de la parcela útil, no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 7A). Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 10, los cuales señalan que el mejor tratamiento fue *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 seguido de *Azospirillum brasilense* + *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, con 5.50 y 5.45 kilogramos respectivamente, mientras que el de menor peso de mazorcas sin brácteas fue el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30, con 4.20 kilogramos. Los tratamientos inoculados con las cepas de *azospirillum*, mostraron valores promedio más altos para peso de mazorcas sin brácteas, comparado con las otras cepas y el testigo, sin diferencia estadística.

Cuadro 10. Efecto de biofertilizantes sobre el peso de mazorcas sin brácteas de la parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	P.M S/B (kg)
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	5.50
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	5.45
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	5.37
Fertilización química 160-46-30	5.37
Fertilización química 80-23-15	5.25
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	5.15
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	5.07
Testigo absoluto	4.45
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	4.20

NS

P.M S/B: Peso de mazorcas sin brácteas

Estos resultados indican que las bacterias del género *Azospirillum spp.*; tienen efecto inoculantes en gramíneas y otras especies vegetales (Bashan *et al.*, 1993; Bashan *et al.*, 2010). Su aplicación es tecnológicamente aceptable (Díaz Franco *et al.*, 2005), además de que son capaces de producir compuestos hormonales (fitohormonas vegetales) y pueden contribuir al buen incremento en la biomasa producida (Bashan 1998 y Babalola, 2010).

El efecto de *Azospirillum* favorece la actividad promotora del crecimiento vegetal para el maíz, mismos que se demuestra en el peso de mazorca, esto se debe al grado de asimilación de triptofano y la producción de ácido indolacético (AIA), pues el triptofano es precursor de auxinas en *A. brasilense* (Van de Broek *et al.*, 1989) y su estrecha relación con la producción de auxinas ha sido consignada por Khawas y Adachi (1999) y por Martínez- Morales *et al.*, (2003) en donde indican que la síntesis de altas cantidades de auxinas se considera un parámetro útil para *A. brasilense* para promover el crecimiento vegetal (Van de Broek *et al.*, 1999; Ahemad y Kibret, 2014).

En trabajos similares se encontraron resultados similares en la productividad de cultivos con la inoculación de *A. brasilense* tanto en condiciones de invernadero como de campo (Fallik y Okon, 1996, en *S. itálica* y maíz; Burdman *et al.*, 200 e Irizar *et al.*, 2003, en frijol; Hamaoui *et al.*, 2001, en garbanzo y haba; Döbbelaere *et al.*, 2002, en trigo y maíz; O'Hara *et al.*, 1981, Jacoud *et al.*, 1998 e Irizar *et al.*, 2003, en maíz). Los efectos positivos de *A. brasilense* en diversos cultivos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz y al incremento subsecuente en la tasa de asimilación de agua y la utilización de minerales del suelo (Okon y Labandera-González, 1994; Fallik y Okon, 1996; Burdman *et al.*, 1997; Hamaoui *et al.*, 2001 y Döbbelaere *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos en este trabajo indicaron que la evaluación de cepas de *A. brasilense* con base en la producción de auxinas tienen efectos positivos en la producción de biomasa en maíz. El hecho de que la inoculación con cepas de *A. brasilense* no haya dado resultados significativos respecto al testigo no inoculado en cuanto al peso de mazorca, se atribuye a que diversos factores bióticos y abióticos afectaron el comportamiento de la bacteria y produjeron respuestas inconsistentes de la biofertilización (Bashan y Holguín, 1997 y Pecina-Quintero *et al.*, 2005). Entre tales factores están las condiciones físicas y químicas del suelo, la presencia de microorganismos en la rizósfera, el genotipo del hospedante y la capacidad de la bacteria para establecerse y para competir con la microbiota nativa (Okon y Labandera- González, 1994; Döbbelaere *et al.*, 2002; Ramírez y Luna, 1995 y Pecina-Quintero *et al.*, 2005).

A pesar de que los incrementos en peso de mazorca no fueron significativos con la aplicación del biofertilizante, su uso se perfila como una opción viable para incrementar la rentabilidad del cultivo en Villaflores Chiapas.

4.2.8 Peso de 10 mazorcas

Al realizar el análisis de varianza para el peso de 10 mazorcas, no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 8A). Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 10, los cuales señalan que el mejor tratamiento fue Fertilización química 160-46-30, seguido de *Azospirillum brasilense* + fertilización química 80-23-15, con 1.79 y 1.69 kilogramos respectivamente, mientras que el de menor peso de 10 mazorcas fue el Testigo absoluto con 1.31 kilogramos.

Las características de peso de mazorca dependen del híbrido, sin embargo diferentes autores señalan una alta influencia de la nutrición mineral. Según De la Fé *et al.*, (2003) la obtención del máximo rendimiento posible de un cultivar está directamente relacionado a dos componentes principales, el medio ambiente y el balance nutricional de la planta. A medida que estos dos componentes lleguen a optimizarse será posible que el cultivar pueda expresar su máximo potencial genético de rendimiento.

Cuadro 11. Efecto de biofertilizantes en el peso de 10 mazorcas en el predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Peso de 10 mazorcas
Fertilización química 160-46-30	1.79
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	1.69
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	1.66
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	1.66
Fertilización química 80-23-15	1.64
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	1.64
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	1.62
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	1.54
Testigo absoluto	1.31

NS

El peso de mazorcas también influyen en los rendimientos y lo corrobora lo citado por García *et al.*, (2009), que plantea que independientemente de haberse logrado incremento en el peso con la mayor atención de una densidad debido a la de un peso mayor de mazorcas en general, la calidad externa de las plantas y mazorcas es mayor, influye la fertilización nitrogenada realizada.

Piñuela (2003) expresa que los fertilizantes químicos intervienen en favorecer varios procesos fisiológicos de las plantas como son la brotación, la floración, la madurez y el color de las hojas, las flores y los frutos. Su acción incide favorablemente en la resistencia de las plantas al ataque de plagas y patógenos, como también, al proporcionarle al vegetal una dosis completa de macronutrientes que aumenta la resistencia.

Resultados similares fueron reportados por Álvarez *et al.*, (2011) y Arnesto y Benavides (2003) en cuyos estudios sobre fertilizantes sintéticos encontraron diferencias significativas evaluando rendimiento en los cultivos de cebolla y maíz. Castillo y Noboa (2007) estudiando el efecto de la fertilización orgánica e encontraron diferencias significativas evaluando rendimiento en el cultivo del maíz.

El rendimiento del maíz está determinado en cierto grado por el potencial genético de la variedad, sin embargo este potencial se llega a lograr con un máximo siempre que la planta logre recibir un buen manejo agronómico y una buena nutrición (Moraga y Meza, 2005). De igual forma, Gracia y Watson (2003) mencionan que el peso de mazorcas está altamente influenciado por las condiciones ambientales. Así mismo, Jugenheimer (1981), afirma que es el resultado de factores biológicos, ambientales y de manejo, que se relacionan para expresarse en kg ha^{-1} .

Ruiz *et al.*, (2007) afirman que el rendimiento de un cultivo incrementa con el uso de fertilizantes sintéticos. Así mismo, Ulloa y Zapata (2011), mencionan que con fertilización sintética el incremento del rendimiento se debe a una mayor disponibilidad del nitrógeno suministrado a través de este tipo de fertilizantes. También Matheus *et al.*, (2007), mencionan que los fertilizantes químicos son sales solubles altamente concentradas, disponibles en forma inmediata para la planta, pero de corta acción residual mientras que los tratamientos con hongos y bacterias se consideran como materiales de lenta liberación que aportan nutrientes a través del tiempo dependiendo de diversos factores como el tipo de material genético, sus características, condiciones biológicas y edáficas.

Acuña (2003) al igual que Matheus *et al.*, (2007) señalan que los biofertilizantes se consideran de lenta liberación cuya acción se prolonga en el tiempo contribuyendo a mejorar la calidad del ambiente y a la producción de los cultivos, y agrega que éstos ofrecen la ventaja de restablecer el equilibrio biológico, físico, químico y ecológico del suelo, incrementan la cantidad y diversidad de flora microbiana benéfica y menciona que este biofertilizante es capaz de suministrar los nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento de la planta en su fase inicial.

Aun cuando la fertilización química supero a los tratamientos inoculados con *Azospirillum* se observa el efecto que los biofertilizantes tuvieron sobre el peso de 10 mazorcas, los efectos positivos de esta bacteria en varios cultivos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz y al incremento subsecuente en la tasa de asimilación de agua (Döbbelaere *et al.*, 2001, García-Olivares *et al.*, 2007).

Azospirillum se establece y alimenta en la raíz vegetal (El- Tarabily *et al.*, 2009), suministra nitrógeno a la planta (Bashan y Bashan, 1993), y mejora el crecimiento o rendimiento de los cultivos bajo diversos ambientes y condiciones edáficas (Bashan *et al.*, 1993). Además, sintetiza fitohormonas que promueven el crecimiento y cambios morfológicos y fisiológicos en la planta (v.gr., resistencia a estrés), y microbiocontrol (Correa *et al.*, 2007). Esto resulta en un mejor aprovechamiento del agua y

los nutrientes, y un incremento en el rendimiento (Dobbelaere *et al.*, 2002) y productividad efectiva y consistente (Aravind *et al.*, 2009). Especies vegetales que han sido beneficiadas por la biofertilización de *Azospirillum* incluyen al maíz (Rangel-Lucio *et al.*, 2011); el trigo (Alamri y Mostafa, 2009), sorgo (Basaglia *et al.*, 2003), *Pennisetum americanum* (L.) K. Shum (Tien *et al.*, 1979), y la caña de azúcar (Sevilla *et al.*, 2001).

4.2.9 Diámetro y longitud de mazorcas

El diámetro de la mazorca, está determinado por factores genéticos e influenciado por factores edáficos, nutricionales y ambientales, es un parámetro fundamental para medir el rendimiento y está relacionado directamente con la longitud de la mazorca. Este forma parte de la etapa reproductiva de la planta, en la que se requiere de actividad fotosintética y gran absorción de agua y nutrientes, si esto es adverso afectará el tamaño de la mazorca en formación y por consiguiente se obtendrá menor diámetro de mazorca, que al final repercutirá en bajos rendimientos (Saldaña y Calero, 1991).

Al realizar el análisis de varianza para el diámetro de mazorcas, no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 9A). Los resultados obtenidos se muestran en la figura 3, los cuales nos señalan que el mejor tratamiento fue *A. brasilense* + *C. violaceum* + fertilización química 80-23-15, seguido de Fertilización química 160-46-30 y *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30, con 3.65, 3.57 y 3.55 respectivamente, mientras que el de menor diámetro de mazorcas fue el Testigo absoluto con 3.42 cm.

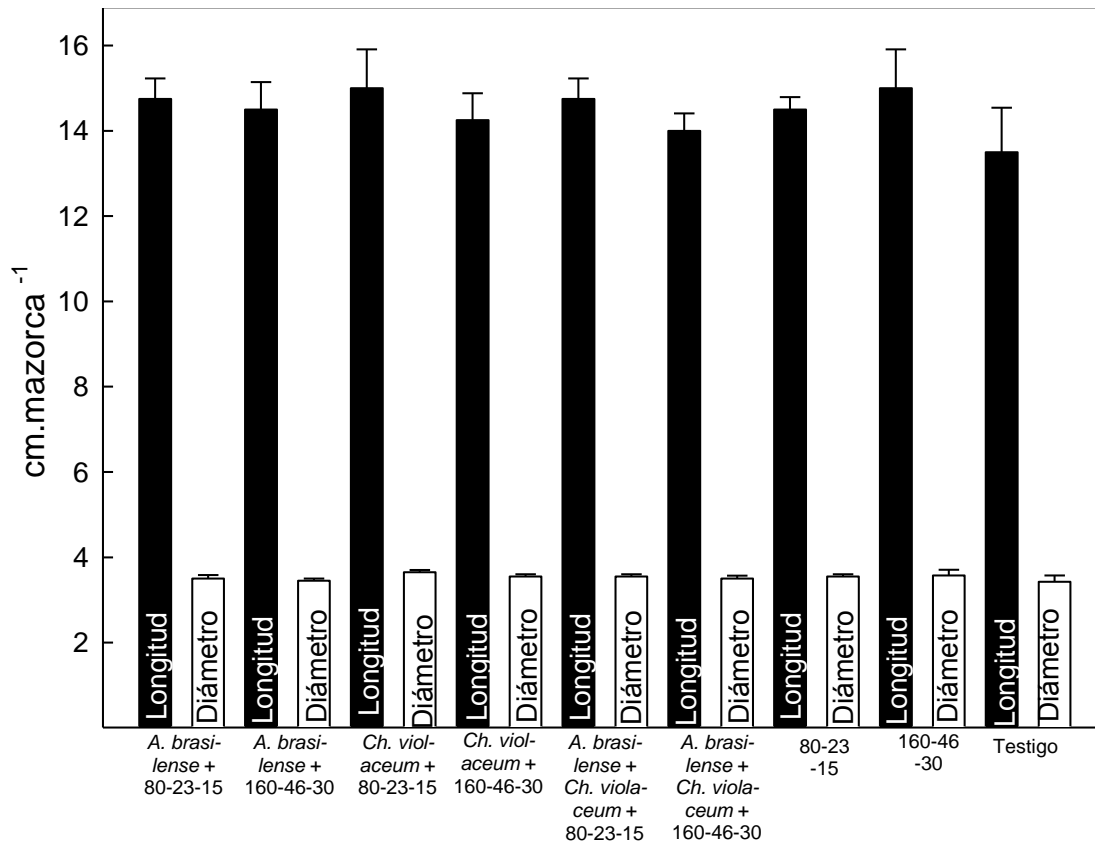


Figura 3. Efecto de biofertilizantes sobre longitud y diámetro de mazorcas de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Las diferencias de los promedios alcanzados por las cepas de *Azospirillum* versus testigo, pueden atribuirse al efecto de las cepas de *Azospirillum* (producción de giberelinas y su modo de acción en el aumento del tamaño de los frutos); además, del efecto del potencial de agua (concentración de O₂) y producción de giberelinas A3. Las giberelinas A3 utilizan agua en un 50 % para producir células con capacidad de producir altas cantidades de agua, formar resistencia a sequía y ayuda a una buena formación del fruto (Piccoli *et al.*, 1997).

Así también, los resultados expresados demuestran la efectividad de la bacteria *Chromobacterium violaceum* como solubilizadora de fosfatos insolubles, tiene la función de poner a disponibilidad de la planta el fósforo que está en el suelo. Estas bacterias permiten un mejor aprovechamiento de este nutriente, sobre todo cuando se combina con otros elementos como hierro, aluminio, calcio y magnesio. Cuando se incorporan al suelo bacterias solubilizadoras de fosfato, tienen la capacidad de producir ácidos orgánicos que liberan a éste elemento de los demás, para ser así asimilado por las raíces”. Estas bacterias producen unas enzimas llamadas fosfatasa, que liberan las formas orgánicas de fosfato en el suelo y las incorporan a la planta. Además son reguladoras del crecimiento porque producen hormonas (Carcaño-Montiel *et al.*, 2003).

La combinación de cepas presentó efectos similares a los alcanzados entre cepas y fertilización química. Los resultados pueden atribuirse a la acción de las cepas por las razones mencionadas en variables longitud de mazorca; además, los promedios de diámetro de mazorca de la presente investigación superan a los alcanzados por Yáñez, *et al.* (2000) en la variedad de maíz INIAP¹ 102 que presentó un promedio de 4.5 cm. La diferencia de diámetro de mazorca entre tratamientos, se puede atribuir a la acción conjunta de las cepas de *Azospirillum* con fertilizante químico. Al comparar el modo de acción entre cepas, se observó un incremento en el diámetro de mazorca versus el tratamiento testigo, pues el uso de *Azospirillum* ayudó a incrementar el tamaño y ancho de la mazorca, lo que realmente denota la eficiencia de la bacteria *Azospirillum* en el cultivo de maíz (Yáñez, 2007).

En un experimento de la evaluación del uso de biofertilizantes y fertilizante orgánico en maíz de alta calidad proteínica, variedad 'V-537C', en la Huasteca Hidalguense, México, los resultados obtenidos indicaron que el diámetro de mazorca tuvo valores mayores, cuando se utilizó *Azospirillum brasilense*, comparado a la fertilización química (Garza *et al.*, 2005). Además concluyeron que estos resultados se deben a la absorción de nutrimentos, particularmente de fósforo, que favorece el crecimiento de la planta a través de mejorar la eficiencia fotosintética y el transporte de fotosintatos destinados a tallos, flores y frutos.

En Amaguaña en la región del Chimborazo, con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. en el cultivo de maíz, se obtuvo el mayor diámetro en la variedad INIAP 102 con 4,71 cm; y en Quinchuquí de Bolívar con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. al suelo, la mazorca INIAP 122 alcanzó un diámetro de 4,89, que son valores superiores al testigo. Por lo tanto la inoculación de *Azospirillum* spp. Principalmente de la hormona auxina, al igual que las giberelinas y citoquininas secretadas por la bacteria, producen el crecimiento apical de la planta, inducen el alargamiento celular del tallo, la formación y desarrollo de todos los órganos vegetativos en este caso el diámetro de mazorca.

Los efectos benéficos están en la transformación de fosfatos del suelo a fosfatos asimilables para las plantas, la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, y la existencia de una mayor cantidad de fosfatos disponibles. Todo ello contribuye a que las plantas crezcan más vigorosas y tengan excelentes componentes de rendimiento. López (1991), afirma que al incrementar las densidades de siembra del maíz, disminuye la longitud y grosor de la mazorca. La longitud de la mazorca es uno de los componentes más importante del rendimiento del cultivo, debido a que a mayor longitud de mazorca, mayor número de granos por hileras y por lo tanto mayor rendimiento de granos (Adetiloye *et al.*, 1984, citados por Vázquez y Ruiz, 1993).

Al realizar el análisis de varianza para longitud de mazorca, se encontró diferencia estadística significativa. Véase el (cuadro 10A) Los resultados obtenidos se muestran en la figura 3, los cuales señalan que el mejor tratamiento fue *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, seguido de Fertilización química 160-46-

¹ Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias

30 %, con 15.0 cm, mientras que el de menor longitud de mazorcas fue el Testigo absoluto con 13,5.cm.

Este resultado muestra una posibilidad de reducción de las dosis de nitrógeno y fósforo de hasta 50%, sin disminuir la longitud de la mazorca, con lo cual se demuestra las bondades de la utilización de los biofertilizantes a base de bacterias solubilizadoras de fosfatos (*Chromobacterium violaceum*) en maíz. Tendencias similares fueron obtenidas durante el año 2010 en esta variable (Yáñez *et al.*, 2004)). La aplicación de todo el fertilizante al momento de la siembra no influyó negativamente en los resultados obtenidos, muy probablemente debido a las bajas pérdidas de nutrientes por la característica del suelo con altos contenidos de partículas finas y de materia orgánica y a la acción de las bacterias inoculadas.

Los mecanismos que estas bacterias utilizan pueden ser a través de su propio metabolismo (solubilizando fosfatos, produciendo hormonas o fijando nitrógeno), afectando directamente el metabolismo de la planta (incrementando la toma de agua y minerales), mejorando el desarrollo radicular, incrementando la actividad enzimática de la planta o “ayudando” a otros microorganismos benéficos para que actúen de mejor manera sobre las plantas (Bashan y Holguin, 1998). Los microorganismos con actividad solubilizadoras de fosfatos contribuyen considerablemente a incrementar la disponibilidad de este nutriente en el suelo, además permiten el crecimiento de las plantas y los nutrientes a incorporarse a los tejidos vegetales, lo que resulta en una mayor longitud en el fruto (Ahemad y Kibret, 2014).

Tomando en consideración estos resultados, la estrategia de fertilización debería ser la reducción de la aplicación del fertilizante inorgánico de hasta 50% del nitrógeno y el fósforo recomendado para el nivel de fertilidad del suelo, complementado con la aplicación de bacterias solubilizadoras de fósforo, siempre y cuando los niveles de fósforo disponible y totales permitan inducir una suplencia de fósforo suficientes para el buen desarrollo del cultivo de maíz, que permitan obtener componentes de rendimiento en este cultivo con la consecuente reducción de los costos de

producción y los daños colaterales por el uso de fertilizantes químicos (Sulbaran, 2010).

La inoculación de *Azospirillum* junto con bacterias solubilizadoras de fósforo ha demostrado tener efectos benéficos sobre la planta, así como un incremento en la nodulación por *Rhizobium*. Además conlleva a un incremento en la disponibilidad de fósforo y consecuentemente a un aumento de la absorción de este elemento por las plantas (Gyaneshwar *et al.*, 2002). De igual manera, los ácidos orgánicos participan en el suelo en fenómenos como la quimiotaxis microbiana y la detoxificación de metales. La inoculación a plantas con bacterias asociativas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de minerales fosfóricos incrementa significativamente la producción y biomasa de cultivos en campo (Govedarica *et al.*, 1997). La aplicación de biofertilizantes facilita la asimilación de Fosforo y Potasio por las plantas mediante la

producción de sustancias activas por los microorganismos tales como algunas vitaminas y ciertas hormonas, auxinas y giberelinas. Este efecto se observó en la inoculación de semillas de trigo con *Azospirillum* el cual mostró un efecto positivo en la longitud de espiga (7-30%) y la producción de espiguillas fértiles (12-25 %) (Díaz-Zorita y Fernández-Canigia, 2009).

Los promedios alcanzados se pueden atribuir al efecto de las cepas de *Azospirillum* en el incremento del tamaño de los frutos, debido a producción de giberelinas. Piccoli *et al*, (1977) destaca el efecto benéfico de *Azospirillum* benéficos, sobre la producción de giberelinas y su modo de acción en el tamaño de los frutos; además del efecto del potencial del agua concentración de CO₂ y producción de giberelinas A3. Las giberelinas A3 utilizan agua en un 50% para producir células con capacidad de producir altas cantidades de agua, formar resistencia a sequias y ayuda a la formación del fruto con buen tamaño.

Por otra parte la combinación de cepas de *Azospirillum* y fertilización química presento efectos en el incremento de la longitud de mazorcas. Los resultados presentados, pueden atribuirse a la acción de las cepas *Azospirillum* principalmente a la producción de giberelinas y con el fertilizante químico en el aporte de fósforo y potasio, contribuyeron a la producción de frutos con mayor longitud, los cuales, superan el promedio alcanzado por Yáñez, *et al*. (2000), en la liberación de la variedad INIA-102 en donde contabilizo 12.5 cm longitud de la mazorca.

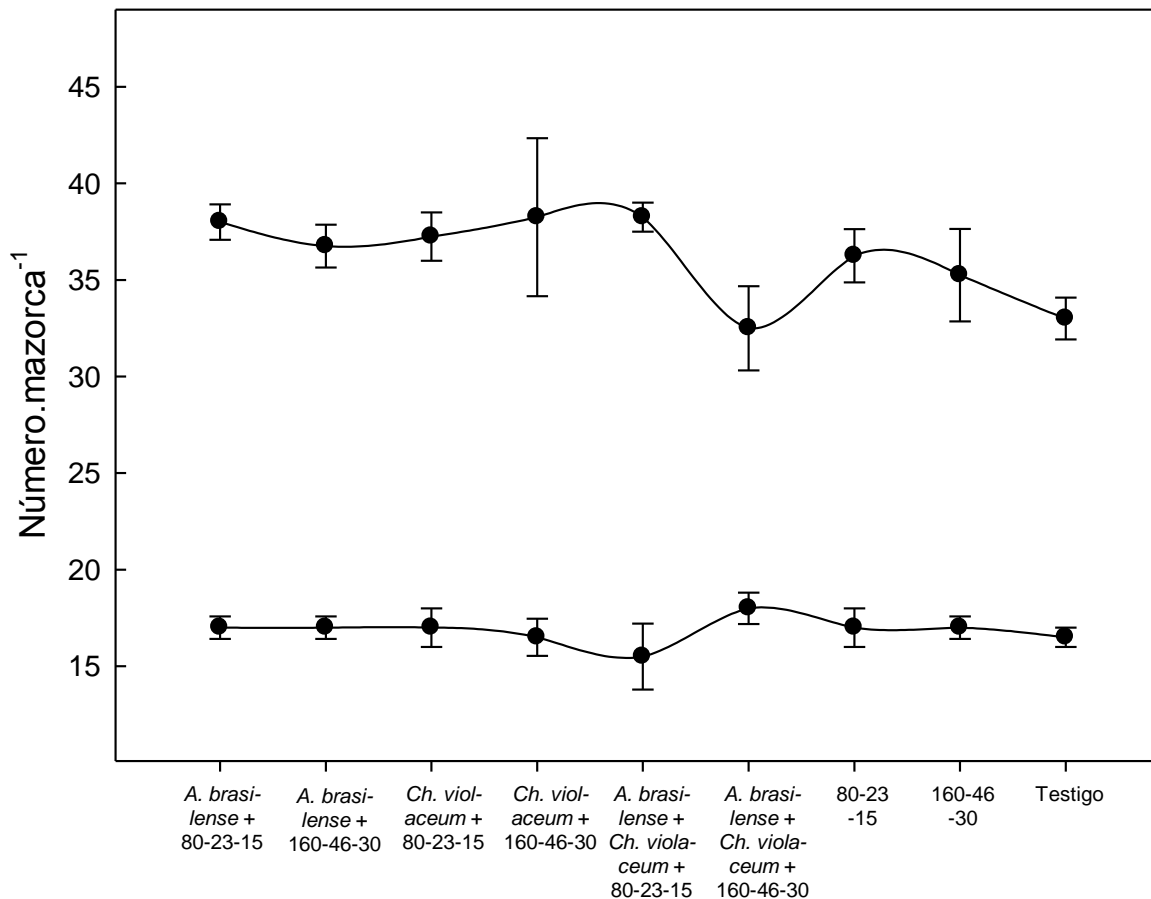
La diferencia de longitud de mazorca entre tratamientos, puede ser el resultado conjunto de la acción de las cepas de *Azospirillum* con fertilizante químico. Al comparar el modo de acción entre cepas de *Azospirillum*, se observó el efecto de las cepas de *Azospirillum* versus la cepa testigo, lo que realmente denota la eficiencia de las cepas de *Azospirillum* en el cultivo de maíz versus el testigo.

4.2.10 Número de Hileras y granos por hilera

Esta variable está relacionada con la longitud, diámetro de la mazorca y las variedades del cultivo, así mismo con una buena nutrición en el suelo, aumenta la masa

relativa de la mazorca y por ende el número de hileras por mazorca (Pastora, 1996).

Al realizar el análisis de varianza para el número de hileras por mazorca, no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 11A). Los resultados obtenidos se muestran en la figura 4, los cuales señalan que el tratamiento *Azospirillum brasilense* + *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30, contabilizó 18 hileras por mazorca, seguido de *Azospirillum brasilense* + fertilización química 80-23-15, *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, *Azospirillum brasilense* + *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30, fertilización química 80-23-15 y Fertilización química 160-46-30 con 17 hileras por mazorca, mientras que el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30, fue el de menor hileras con 15.5.



La línea vertical indica \pm el error estándar de cuatro repeticiones

Figura 4. Efecto de biofertilizantes sobre el número de hilera y granos por hilera en mazorca de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

La prueba estadística aplicada a los manejos en estudio indica que para la variable número de hileras por mazorca, no hubo diferencias significativas, comportándose así como una sola categoría estadística. Este resultado se debe a que el número de hileras por mazorca está influenciado por características propias de la variedad. Estos resultados concuerdan con estudios realizados por Celiz y Duarte (1996), Espinoza (1999), Larios y García (1999), Cantarero y Martínez (2002), Arnesto y

Benavides (2003) los cuales no encontraron diferencias significativas al evaluar esta variable en ensayos similares donde evaluaban los mismos parámetros en el cultivo.

Sin embargo hubo influencia de la bacteria *Azospirillum* y que en este caso ejerció efecto sobre la variable. La combinación de cepas de *Azospirillum* y *Chromobacterium violaceum* presentaron resultados similares a los alcanzados entre cepas de *Azospirillum* y fertilización química; sin embargo, los resultados alcanzados están directamente influenciados por el código genético del (hibrido de maíz P4083W).

Los promedios alcanzados, concuerdan con los estudios realizados por el programa de maíz de la Estación Experimental Santa Catalina, República del Ecuador, quien obtuvo un promedio de 10 hileras en liberación de la variedad de maíz (INIAP-102). Molina (2006) en Latacunga, Ecuador en el proyecto Desarrollo de un biofertilizante a partir de cepas de *Azospirillum* en el cultivo de maíz, encontró resultados similares, en donde el tratamiento *Azospirillum* no presentó diferencias estadísticas; sin embargo alcanzo un mayor número de hileras con 10.47, mientras los tratamientos con fertilización química obtuvieron el menor número de hileras con 10.03.

En el proyecto de evaluación de la biofertilización en el cultivo maíz en un suelo del estado Guárico, la variable medida en la mazorca en el caso del número de hileras, no mostraron diferencias estadísticas significativas, sin embargo se encontraron promedios de 16.7 hileras por mazorca para el caso del tratamiento inoculado con *Azospirillum* y como resultado de los tratamientos de fertilización química aplicados, se encontró un promedio de 13.8 hileras por mazorca, Los resultados coinciden con los obtenidos por López *et al.*, (2008 b), en suelos contrastantes venezolanos donde se probó el efecto de biofertilizantes bacterianos a base de *Azospirillum* sobre el crecimiento de un cultivar de maíz (cv INIA-SQ-1), mostrándose el potencial de la cepa fijadora de nitrógeno, para estimular el crecimiento vegetal, expresado en el número de hileras por mazorca (Yáñez *et al*, 2003).

El número de granos por hileras está influenciado por el número de óvulos por hileras y a su vez por la alimentación mineral e hídrica así como por la densidad y la profundidad de las raíces.

Al realizar el análisis de varianza, no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 12A). Los resultados obtenidos (Figura 4), señalan que los mejores tratamientos fueron *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30 y *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30, con 38.2 granos por hilera respectivamente que representa en ambos tratamientos un 29.5% de incremento, seguido de *Azospirillum brasilense* + Fertilización química 80-23-15 con 38.0 hileras por mazorca, mientras que el Testigo absoluto fue el de menor granos por hileras con 29.5.

Lemcoff y Loomis (1986) señalan que el número de granos por hileras en el maíz está fuertemente influenciado por el suministro de nitrógeno. Se sabe que adecuadas dosis de nitrógeno tienen influencias positivas sobre los componentes de los rendimientos, entre ellos el número de granos por hilera (Blandón y Smith, 2001). Se observa que no hay diferencia significativa para la variable granos por hilera, sin embargo se observa que al aplicar biofertilizantes, existe un incremento en el número de granos por hilera esto se debe a que el suministro de nitrógeno a través de los distintos biofertilizantes aplicados ayudan a la incorporación de nitrógeno a la planta, además del apropiado manejo del cultivo, cuyos promedios fueron 38 granos para tratamientos inoculados y 36 granos con fertilización química.

Este resultado coincide con los datos obtenidos por Moraga y Meza (2005), que no encontraron diferencia significativa al evaluar esta variable en sus diferentes tratamientos, donde hicieron aplicaciones de biofertilizantes y obtuvieron un valor de 30.36 para este descriptor, seguido del tratamiento químico que obtuvo un valor de 30.18. Según INTA¹ (1995), cuando se mantiene el maíz libre de malezas, se facilita la polinización y se desarrolla un mayor número de semillas por hileras.

La mineralización del fósforo orgánico es llevada a cabo por acción de fosfatasas, mientras que la producción de ácidos es el principal mecanismo por el cual las bacterias solubilizan fosfatos (Antoun, 2012). Estudios realizados por Chuang *et al.*, (2007) sobre la solubilización de fosfatos por parte de hongos en medios de cultivos, demuestran que estos microorganismos solubilizan fósforo insoluble, en otras han sido reportadas como solubilizadoras de fosfatos insolubles y de promover el crecimiento de las plantas, es por este caso que *Chromobacterium violaceum* tuvo efectos en el número de granos por hileras.

Hameeda *et al.*, (2008) reportaron que las bacterias solubilizadoras de fosfatos incrementan la producción de biomasa en plantas de maíz en condiciones de campo e invernadero, mediante la capacidad de estas de solubilizar fosfatos. Además estas bacterias tienen la capacidad de fijar nitrógeno en cada una de ellas, reduciendo de esta manera la aplicación de fertilizantes químicos (Prakamhang *et al.*, 2009). Asimismo las plantas utilizan menor cantidad de fertilizantes fosfatados que se aplican y el resto se convierte rápidamente en complejos insolubles en el suelo (Vassilev y Vassileva, 2003).

Son los microorganismos solubilizadores de fosfato, reconocidos promotores de crecimiento vegetal. Estas poblaciones microbianas realizan una actividad importante, ya que en muchos suelos se encuentran grandes reservas de fósforo insoluble, resultado de la fijación de gran parte de los fertilizantes fosforados aplicados, que no pueden ser asimilados por la planta. Estos microorganismos desarrollan un papel fundamental en la movilización de este elemento en el suelo ya que una insuficiencia de fósforo, puede retrasar la cosecha y disminuir el rendimiento de los cultivos (Chen *et al.*, 2006).

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

Cuando se aplican microorganismos mezclados, es decir, promotores de crecimiento y fijadores de nitrógeno tienen efectos importantes en el cultivo. González-Anta (2011) demostró que con la utilización de biofertilizantes con *Chromobacterium violaceum* se mejoran las características morfológicas de las plantas y aumenta el rendimiento del cultivo. Bravo *et al.*, (2011) concluyeron que la inoculación con *Azospirillum brasilense* influye sobre el cultivo de maíz y el efecto depende de las características de la cepa inoculada, en algunos casos el efecto es beneficioso y en otros neutro.

El sistema radical extenso generado mediante la inoculación con *A. brasilense*, favorece el transporte de minerales y agua (Kapulnik *et al.*, 1984, Lin *et al.*, 1983) y a la vez se induce mayor desarrollo del fruto. Este mismo hecho lo consignan Aguirre-Medina y Velasco (1994) en *Leucaena*; Aguirre-Medina y Kohashi (2002) en frijol e Irizar *et al.*, (1999) en maíz y frijol. Al parecer la hifa del hongo sustituye los pelos de la raíz y la planta transporta más fotosintatos a la parte aérea para una buena producción. El efecto benéfico de *A. brasilense* en las plantas se le atribuye a su capacidad de fijar N₂, producir fitohormonas, siderófos, solubilizar el P, y promover síntesis de enzimas que influyen en los niveles de fitohormonas (Loredo *et al.*, 2004). Esto se refleja en mejor calidad y cantidad de granos por hilera en el caso del maíz.

Las bacterias del género *Azospirillum* spp. mejoran el crecimiento vegetal, dada la producción y liberación de fitohormonas como auxinas, citocininas y giberelinas. Estas hormonas vegetales promoverán la capacidad de *Azospirillum* spp como fijadora de nitrógeno (Bashan *et al.*, 1993). La fitohormona más importante producida por *Azospirillum* spp. es la auxina ácido indol-3-acético (AIA). Las plantas presentan cambios morfológicos en las raíces, así como también una mejor absorción de minerales después de inocularse con *Azospirillum* spp; estos cambios se atribuyen a la liberación del ácido indolacético (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000). Por lo tanto este aumento de la superficie de absorción de nutrientes mejora algunas características morfofisiológicas de las plantas, tales como número de hileras y número de granos por hilera lo que incide en el rendimiento del cultivo.

4.2.11 Granos por mazorcas

Reyes (1990) considera que las hojas superiores y las del medio son las principales contribuyentes de carbohidratos de la mazorca y llenado de grano, esta variable está fuertemente influenciada por el suministro de nitrógeno del suelo y está determinada por la longitud, número de hileras por mazorca y número de granos por hilera. El número y tamaño de los granos contribuyen en el rendimiento de grano (Jugenheimer, 1981).

Al realizar el análisis de varianza, no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 13A). Los resultados obtenidos (Cuadro 12), señalan que los tratamientos *Azospirillum brasilense* + fertilización química 80-23-15 y *Azospirillum brasilense* +

Chromobacterium violaceum + Fertilización química 80-23-15 se obtuvo 644 y 630 granos por mazorca, presentando incrementos de 32,5 % y 29.6 % respectivamente, mientras que el Testigo absoluto 486 granos por mazorca. Cabe destacar que el tratamiento con menos incremento fue *Azospirillum brasilense* + *Chromobacterium violaceum* + Fertilización química 160-46-30 con 20.2%.

Cuadro 12. Efecto de biofertilizantes sobre granos por mazorca de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Granos por mazorca
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	644
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	630
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	624
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	620
Fertilización química 160-46-30	619
Fertilización química 80-23-15	598
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	591
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	584
Testigo absoluto	486

NS

En los resultados se aprecia que no hubo diferencia significativa, pero si se observan diferencias numéricas con porcentajes de incremento aceptables, los mayores valores corresponden al manejo con *Azospirillum* y la combinación entre *Azospirillum* y *Chromobacterium violaceum*, mientras que el testigo obtuvo valores inferiores en granos por mazorca.

El comportamiento a lo largo del desarrollo de la planta indica la translocación de nutrientes desde el tallo hacia la mazorca. Este resultado coincide con los encontrados por Moraga y Meza (2005), quienes no encontraron diferencia significativa para esta variable cuando compararon los resultados en sus tratamientos, a los cuales aplicaron dosis de biofertilizantes.

Así también Ferraris y Couretot (2007) en Pergamino Paraná, no encontraron respuesta significativa al agregado de biofertilizantes, aunque sí una tendencia positiva en granos por mazorca. En otros trabajos realizados en el país con este mismo producto algunos autores han citado respuestas significativas en sus componentes, principalmente el número de granos por mazorca al agregado de este producto (Bolletta y Rodríguez, 2002; Ferraris y Couretot, 2006).

En maíz, el número de hileras por mazorca y el número de granos por hilera (los que determinan la formación del número total de granos por mazorca) se definen durante las etapas vegetativas comprendidas entre la hoja (V6) y la hoja (V12) (Ritchie *et al.*,

2002). Es por eso que cuando se inoculó el maíz con *Azospirillum* y diferentes niveles de fertilización nitrogenada, utilizando urea como fuente, se obtuvo un mayor número de granos por mazorca. Esto parece corroborar lo encontrado por Stewart (s.f.), quien afirma que la eficiencia del nitrógeno está estrechamente relacionada con las aplicaciones de fertilizantes fosfatados al incrementar hasta en 18% el número de granos por mazorca. Moreno *et al.*, (2008) encontraron que la combinación de un biofertilizante regulador del crecimiento vegetal más la fertilización de Fosforo y potasio al momento de la siembra aumentó el número de granos por mazorca

Por su parte Aguirre *et al.*, (2009) mencionan que los biofertilizantes elaborados con hongos del genero *Glomus* sp. son productos benéficos que se asocian a las raíces de las plantas y favorecen su nutrición. Están presentes en todos suelos agrícolas y su asociación con las plantas es benéfica tanto para la planta como para la micorriza debido al intercambio de sustancias nutritivas. La micorriza permite a la planta incrementar la exploración de la raíz con un aumento en la absorción y transporte de nutrientes como fósforo, nitrógeno, cobre, zinc y agua del suelo, proporcionándole mayores ventajas para su desarrollo y productividad. Este efecto benéfico se puede deber a un incremento en la absorción de nutrientes con baja movilidad como P, Zn y Cu y a una mejora en las relaciones hídricas (Ruiz-Lozano y Azcón- Aguilar 1995; Al-Karaki y Al-Raddad, 1997 y Al-Karaki y Clark, 1998). Además, Sharifi *et al.*, (2007) determinaron un mayor número de granos y una mayor absorción de fosforo de las plantas inoculadas.

En la zona valle del Cauca Palmira en un experimento aplicando *Azospirillum brasilense* se encontraron resultados similares, el efecto de la inoculación de *Azopirillum* cuantifico 598.2 granos por mazorca, mientras que el testigo 566.4 granos por mazorca. Por ejemplo en Tucupido, Municipio Ribas del estado Guárico, durante el período de lluvias del año 2010. En un experimento de campo se encontró que con la aplicación de un biofertilizantes a base de *Azospirillum* y 50 % de la dosis de N y P, se cuantifico 527.88 mientras que el biofertilizante por sí solo, cuantifico 515.20 granos por mazorca. Estos resultados permiten demostrar las bondades de la utilización de los biofertilizantes a base de bacterias nativas de los géneros *Azospirillum*, fijadores de nitrógeno.

La inoculación con hongos micorrízicos arbusculares ha mejorado la productividad de diversos cultivos en condiciones de estrés hídrico (Al-Karaki y Clark 1998; Kaya *et al.*, 2003; Al-Karaki *et al.*, 2004 y Díaz-Moreno *et al.*, 2007). El impacto de la colonización de hongos micorrízicos se ha manifestado en un mejor aprovechamiento de agua y de los nutrimentos inmóviles del suelo como fósforo, zinc y cobre, en el incremento de longitud y profundidad radical y el desarrollo de hifas externas. Además, la colonización de hongos micorrízicos arbusculares ha favorecido la acción protectora contra algunos patógenos del suelo (Alarcón y Ferrera-Cerrato 2000 y Jeffries *et al.*, 2003).

4.2.12 Peso de 100 granos

Al realizar el análisis de varianza, para el peso de 100 granos no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 14A). Los resultados obtenidos (Cuadro 13), señalan que la Fertilización química 80-23-15 obtuvo 26.2 gramos, así también los tratamientos inoculados y fertilizados químicamente respondieron favorablemente con un peso de 26.2 gramos, mientras que el Testigo absoluto fue el de menor peso con 25.0 gramos.

Cuadro 13. Efecto de biofertilizantes sobre peso de 100 granos de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Peso de 100 granos (g)
Fertilización química 80-23-15	26.2
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	26.0
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	26.0
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	26.0
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	26.0
Fertilización química 160-46-30	25.7
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	25.2
Testigo absoluto	25.2
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	25.0

NS

En relación con *Azospirillum brasilense*, los efectos fueron característicos en peso de 100 granos, así también para *Chromobacterium violaceum* y sus combinaciones. Las diferencias numéricas que se detectaron entre tratamientos principalmente al testigo, están relacionadas con los efectos positivos de las bacterias, en varios cultivos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz y al incremento subsecuente en la tasa de asimilación de agua y a la utilización eficiente de minerales del suelo (Döbbelaere *et al.*, 2001). También se ha considerado que la síntesis de altas cantidades de auxinas in vitro se considera un parámetro útil para la identificación y elección de cepas nativas de *A. brasilense* para la producción de biofertilizantes en la agricultura, debido a que promueven el crecimiento vegetal (García-Olivares *et al.*, 2007).

Los resultados alcanzados, se pueden atribuir a la acción de cepas de *Azospirillum* por su capacidad de incrementar el peso de granos (Novo, 2002) y la acción del fertilizante en suministrar carbohidratos al momento del llenado del grano; además, los resultados alcanzados, coinciden con los resultados obtenidos por Novo (2002) en el incremento de peso de granos y con los resultados de Yáñez, *et al.*, (2002) en la liberación de la variedad de maíz INIAP-102 que obtuvo un promedio de 690 gramos. Las cepas de *Azospirillum* con fertilizante químico, también alcanzaron igual peso, estos resultados también fueron influenciados por las acción de las cepas de *Azospirillum* y por el aporte del fertilizante químico (fosforo y potasio). Al comparar el

modo de acción entre cepas, se observó que las cepas de *Azospirillum* tienen un efecto directo en el incremento del peso de grano versus la cepa testigo.

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal se asocian a las raíces de la gramínea, debido a la presencia de compuestos orgánicos producto de los exudados radicales, como: carbohidratos, ácidos orgánicos y factores de crecimiento microbiano (Omay *et al.*, 1993 y Chelius y Triplett, 2000) atractivos para estas bacterias (Bashan y Holguin, 1996), por la naturaleza química de los exudados radicales. Las Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, los utilizan como fuente de energía y los transforman en sustancias promotoras de crecimiento vegetal o SPCV (Jacoud *et al.*, 1999). Este efecto se debe a que las rizobacterias pueden transformar los exudados radicales del maíz en compuestos tipo auxina que actúan como promotoras de crecimiento vegetal (Bashan y Holguin, 1998; Riggs *et al.*, 2001); y se refleja, en el número de raíces primarias, de secundarias y en general de pelos radicales, (Jacoud *et al.*, 1999; Bashan, 1998) el crecimiento en el patrón radical, influye directamente en su capacidad de absorción de la urea (Riggs *et al.*, 2001).

(Omay *et al.*, 1993 y Chelius y Triplett, 2000) encontraron, por su parte, incrementos en el peso de grano de maíz inoculado con diversas cepas de *Azospirillum*. El vigor de las plántulas medidas en términos de las variables de productividad, tales como peso de 100 granos también fue mayor en las plántulas inoculadas con estos microorganismos. Por último, refieren los beneficios que el empleo de esta bacteria puede tener en suelos con elevadas concentraciones de sal, problema que día a día cobra más importancia en nuestro país por el abatimiento de los mantos acuíferos.

Azospirillum brasilense es una rizobacteria fijadora del nitrógeno del aire que promueve el crecimiento cuando es inoculada especialmente en gramíneas y los efectos benéficos directos que tienen las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Aguirre-Mediana, 2004). Los resultados obtenidos por Rodríguez Cáceres *et al.*, (1996) mostraron que la respuesta a la inoculación varía en función del grado de fertilidad y la disponibilidad de agua de los suelos, observando la gran importancia que puede adquirir la relación cepa- cultivar, además concluyeron que la inoculación con diferentes cepas de fijadores libres de nitrógeno lograba incrementos en el cultivo de maíz, en especial con *Azospirillum*.

4.2.13 Diámetro de olote

El olote del maíz (*Zea mays* L.) se encuentra entre las fuentes de recursos no maderables con un alto contenido de xilanas (Córdoba *et al.*, 2010, Samanta *et al.*, 2012, Oliveira *et al.*, 2010). El olote es un residuo o subproducto agrícola que se genera en grandes cantidades en el proceso de separación del grano de la mazorca y se estima que por cada tonelada de maíz se obtienen 170 kg de olote (CIMMYT, 1998).

Al realizar el análisis de varianza, para diámetro de olote no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 15A). Los resultados obtenidos (Cuadro 14), señalan que los tratamientos *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, *Azospirillum brasilense* + fertilización química 80-23-15, y fertilización química 80-23-15, registraron un diámetro de 1.3 cm, mientras que los tratamientos inoculados con *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* y las fertilizaciones químicas se comportaron de igual manera con un diámetro de 1.2 cm.

Cuadro 14. Efecto de biofertilizantes sobre diámetro de olote de maíz predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Diámetro (cm)
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	1.3
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	1.3
Fertilización química 80-23-15	1.3
Fertilización química 160-46-30	1.3
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	1.2
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	1.2
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	1.2
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	1.2
Testigo absoluto	1.2

*Sin diferencia estadística

A partir de los resultados fue posible observar que las inoculaciones con *Chromobacterium violaceum* aunado a la fertilización química 80-23-15, produjeron incrementos en el parámetro de diámetro de olote. Por lo tanto las bacterias solubilizadoras de fosfatos tienen un efecto importante, sobre todo porque la baja disponibilidad del fósforo es atribuida a que, el fósforo soluble reacciona con iones de calcio, hierro o aluminio lo que provoca su precipitación o fijación (Goldstein, 1986). A ello se suma que más del 75% de los fertilizantes fosforados aplicados son rápidamente inmovilizados, sin embargo, las bacterias solubilizadoras de fosfatos fueron capaces de ejercer un efecto benéfico para las plantas y algunas estuvieron involucradas en procesos que afectaron la transformación del fósforo del suelo (Carcaño- Montiel, *et al.*, 2003).

Estos microorganismos con actividad solubilizadoras de fosfatos (*Chromobacterium violaceum*) contribuyen considerablemente a incrementar la disponibilidad de este nutriente en el suelo, permitiendo que el mismo se incorporara a los tejidos vegetales y/o incremente el diámetro de olote (Op.cit).

Es conocido que las bacterias solubilizadoras de fosfatos tienen la capacidad de sintetizar altas cantidades de sustancias activas reguladoras del crecimiento (Martínez-Viera *et al.*, 2007). Según Glick (1995), este efecto actúa directamente

sobre el desarrollo de las plantas y el conjunto de sustancias que son asimiladas a través de las raíces permite que cada una de ellas actúe en el momento en que la planta lo requiera. Como por ejemplo en el incremento del diámetro de tallo en maíz.

En cepas tropicales de esta bacteria se ha demostrado su capacidad para sintetizar cantidades elevadas de sustancias activas (Dibut, 2001).

Los microorganismos con actividad solubilizadoras de fosfatos contribuyen considerablemente a incrementar la disponibilidad de este nutriente en el suelo, permitiendo que el mismo se incorpore a los tejidos vegetales y/o incremente el diámetro de olote. El uso de estas bacterias solubilizadoras de fosfatos resulta interesante para incrementar los niveles de fósforo asimilable por las plantas en el suelo y que se expresan en el aumento del diámetro del olote (Aguirre-Medina, 2004).

Por su parte para la bacteria *Azospirillum* tuvo efectos en el diámetro de olote, estos resultados indican que la inoculación tuvo éxito y por tanto se realizó la asociación de la bacteria con las raíces de la planta de maíz y por tanto la multiplicación y colonización en la rizósfera. Demostrándose en el diámetro de olote, debido a su versatilidad metabólica y su capacidad para adaptarse al medio rizosférico. Además *Azospirillum* es una bacteria productora de auxinas y giberelinas y citoquininas secretadas por la bacteria, que producen el crecimiento apical de la planta, inducen el alargamiento del tallo, la formación y desarrollo de todos los órganos vegetativos y por ende el diámetro de olote (Carcaño-Montiel, *et al.*, 2003).

La presencia de ácido indol acético y compuestos derivados de los exudados vegetales, fue suficiente para que *Azospirillum* incremente la expresión del gen con el consecuente aumento de la síntesis de ácidos indolacéticos, Carcaño-Montiel, *et al.*, 2006), que dio inicio a la respuesta celular y permitió el incremento en la longitud y volumen de raíces (Aguirre-Medina, 2004). Lo que mejoró la absorción de nutrientes que luego se acumularon en tallos y hojas, induciendo un cambio significativo en varios parámetros de crecimiento, en este caso diámetro de olote.

4.2.14 Peso de olote

El olote del maíz (*Zea mays* L.) se encuentra entre las fuentes de recursos no maderables con un alto contenido de xilanas, por lo que ha sido considerado de interés como fuente alternativa de diferentes compuestos químicos de interés comercial o industrial, entre otras fuentes de biomasa (Córdoba *et al.*, 2010, Samanta *et al.*, 2012, Oliveira *et al.*, 2010). El olote es un residuo o subproducto agrícola que se genera en grandes cantidades en el proceso de separación del grano de la mazorca y se estima que por cada tonelada de maíz se obtienen 170 kg de olote (CIMMYT, 1995).

Al realizar el análisis de varianza, para el peso de olote se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 16A). Los resultados obtenidos (Cuadro 15), señalan

que los tratamientos inoculados con *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* y las fertilizaciones químicas se comportaron de igual manera con un peso de olote de 34.0 gramos mientras que *Azospirillum brasilense* + fertilización química 80-23-15 registró un peso de olote de 32.5 gramos.

Cuadro 15. Efecto de biofertilizantes en el peso de olote de maíz, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Peso de olote (g)
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	34.0 a
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	34.0 a
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	34.0 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	34.0 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	34.0 a
Fertilización química 80-23-15	34.0 a
Fertilización química 160-46-30	34.0 a
Testigo absoluto	33.7 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	32.5 b

Las medias en la columna seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Los resultados de peso de olote ponen de manifiesto que tal rendimiento va acorde al diámetro, longitud, variedad del maíz, y el efecto de la bacteria *Azospirillum* ya que mejoran el crecimiento vegetal, dada la producción y liberación de fitohormonas como auxinas, citocininas y giberelinas. Estas hormonas vegetales promovieron la capacidad de *Azospirillum* spp. como fijadora de nitrógeno y por ende el peso de materia seca. Al respecto, Gregorio *et al.*, (2005) exhibió rendimientos de materia seca de 19.0 ± 2.5 t ha⁻¹, en híbridos evaluados en Coahuila, valores que son superiores a los encontrados en el presente trabajo.

Por ejemplo, Rodríguez y Solís (1997), concluyeron que el peso de olote está altamente correlacionado con el diámetro del olote. Dicha variable es de suma importancia debido a que está relacionada con el número de granos por mazorca (Loaisiga, 1990). Por otro lado, Bolaños *et al.*, (1995) aseguran que las altas densidades reducen el peso promedio del olote. Pecina *et al.*, (2005) encontró los mismos resultados para peso de olote, con la aplicación de la bacteria *Azospirillum brasilense*.

Los efectos positivos observados en el peso del olote del cultivo del maíz sugieren que posiblemente existió un sinergismo entre el hospedante y las bacterias, que junto con las fitohormonas que excretan las raíces provocaron el mayor desarrollo de la parte aérea de las plantas señaladas. Así lo reportaron Gutiérrez-Zamora y Martínez-Romero (2001), Mayak *et al.*, (2004) quienes al inocular rizobacterias promotoras del crecimiento, encontraron mayor desarrollo de olote en plantas de maíz.

En maíz y frijol, el desarrollo de las raíces, favorecido por efecto de la inoculación de *Azospirillum* se manifestó en mayor crecimiento de la parte aérea del cultivo, así

como el peso de olote. Estos resultados concuerdan con los reportados por Pereira *et al.*, (1988) y Santillana (2001) quienes observaron incrementos en el desarrollo radicular de diferentes plantas como sorgo, arroz y trébol cuando fueron inoculadas

Con rizobacterias, lo que repercute directamente en el peso de materia seca del cultivo.

Las plantas presentan cambios morfológicos en las raíces, así como también una mejor absorción de minerales después de inocularse con *Azospirillum* spp.; estos cambios se atribuyen a la liberación de ácido indolacético de esta bacteria (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000). Las bacterias del género *Azospirillum* spp. mejoran el crecimiento vegetal, dada la producción y liberación de fitohormonas como auxinas, citocininas y giberelinas. Estas hormonas vegetales promoverán la capacidad de *Azospirillum* spp. como fijadora de nitrógeno (Bashan *et al.*, 1993). La fitohormona más importante producida por *Azospirillum* spp. es la auxina ácido indol-3-acético (AIA) (Carcaño-Montiel, *et al.*, 2006). La asociación de *Azospirillum* en planta da como resultados cambios importantes en diferentes parámetros del crecimiento (Bashan y Holguin, 1996); tales como: el incremento en el desarrollo radicular de la planta y como consecuencia mayor producción de materia seca (García *et al.*, 2007 y Díaz *et al.*, 2006).

4.2.15 Rendimiento de grano por parcela útil

Al realizar el análisis de varianza, para rendimiento por parcela útil no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 17A). Los resultados obtenidos (Cuadro 16), señalan que con el tratamiento *Azospirillum brasilense* + Fertilización química 160-46-30 se obtuvo un rendimiento de 4.77 kg por parcela útil, seguido de *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, con 4.68 kg, que representaron incrementos de 39.06% y 36.44% respectivamente, mientras que el de menor rendimiento por parcela útil fue el Testigo absoluto con 3.43 kg por parcela útil.

Cuadro 16. Efecto de biofertilizantes en el rendimiento de grano de maíz de la parcela útil, predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Rendimiento grano (kg/PU)
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	4.77
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	4.68
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	4.56
Fertilización química 160-46-30	4.49
Fertilización química 80-23-15	4.45
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	4.40

<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	4.40
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	3.50
Testigo absoluto	3.43

NS

Puede observarse el efecto que la bacteria *Azospirillum* tiende al incrementar el rendimiento. Los resultados obtenidos en esta variable de respuesta concuerdan con los observados por Fuchieri y Frioni (1994); Rao *et al.*, (1983) y Watanabe y Lin (1984) quienes indican que el incremento en rendimiento por efecto de la inoculación con *Azospirillum* puede variar entre un 10 y 30%, que se obtuvieron cuando se compararon con el testigo absoluto (Okon y Labandera, 1994). Bashan y Holguín (1996) establece que incrementos en rendimiento con la inoculación de *Azospirillum* del 20% se consideran comercialmente valiosos para una agricultura moderna.

La inoculación con *Azospirillum* puede afectar positiva o negativamente el rendimiento, mismos que están atribuidos a efectos positivos en la absorción de minerales por parte de la planta. Se ha indicado que la absorción de NO_3^- y NH_4^+ , inducida por *Azospirillum* es el factor responsable en la acumulación de minerales en tallos, hojas y por consecuencia incrementar el rendimiento (Barton *et al.*, 1986; Lin *et al.*, 1983, Murty y Ladha, 1988; Sarig *et al.*, 1988). El incremento en el rendimiento efecto de la inoculación con *Azospirillum* spp. es de 10 al 30% y se estima que incrementos del rendimiento por encima del 20% son considerados aceptables, siempre y cuando los resultados sean consistentes (Novo, 2002; Carcaño-Montiel, *et al.*, 2003).

Por ejemplo, en la ciudad de Bolívar, cuando se inoculo *Azospirillum* spp. a la semilla, incrementó el rendimiento de la variedad (INIAP 102) y de la variedad (INIAP 122), cuyos valores son mayores a los testigos y a los valores reportados por Silva, *et al.*, (2000). Estos datos indican que la bacteria tienen un efecto estimulador en el rendimiento debido a la presencia del Ácido indolacético y compuestos derivados de los exudados vegetales, y esto es suficiente para que la bacteria *Azospirillum* incremente la expresión del gen *ipdC*¹ con el consecuente aumento de la síntesis de AIA, que da inicio a una respuesta celular y permite la germinación de la semilla de maíz, el incremento en la longitud y volumen de raíces, lo que mejora la absorción de nutrientes y finalmente una gran cantidad de estos minerales fueron transferidos a las panículas y espigas incrementando así el rendimiento (Bashan, *et al.*, 1993).

Los buenos rendimientos obtenidos pueden atribuirse al buen desempeño de las cepas de *Azospirillum*, pues los resultados coinciden con los resultados alcanzados por Rosello (2001), quien evaluó un biofertilizante a base de *Azospirillum* y obtuvo rendimientos de 5.6 kg, mientras que en los lotes sin biofertilizantes, obtuvo 1.88 kg, comprobándose las propiedades de *Azospirillum* en el incremento del rendimiento.

¹ Indole-3-pyruvate decarboxylase

Los buenos rendimientos alcanzados por las cepas de *Azospirillum* con fertilizantes químicos, coinciden con los resultados alcanzados por Elein Terry *et al.*, (1994) en Cuba quien evaluó cepas de *Azospirillum* con fertilización química y redujo el 50 % de la fertilización nitrogenada en el cultivo de maíz con el empleo de *Azospirillum*. Similares resultados obtuvieron Medina y Pino (1992) al inocular *Azospirillum brasilense*; además los resultados obtenidos coinciden con los resultados presentados en el estudio realizado por el Programa de Maíz de la Estación química, además de los reportados en México (Okon y Labandera, 1994; Carcaño-Montiel, *et al.*, 2003).

4.2.16 Rendimiento de grano en toneladas

Al realizar el análisis de varianza, para rendimiento de grano en toneladas no se encontró diferencia estadística significativa (Cuadro 18A). Los resultados obtenidos (Cuadro 17), señalan que el tratamiento *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 presentó un rendimiento de 5.97 t ha⁻¹ seguido de *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, con 5.87 tha⁻¹, estos rendimientos equivalen a incrementos de 38.83% y 36.51% respectivamente, mientras que el de menor rendimiento en toneladas fue el Testigo absoluto con 4.30 t ha⁻¹.

La variabilidad de efectos observados con los biofertilizantes en el presente trabajo, coinciden con lo que reportan Díaz *et al.* (2006) en cultivo de Cártamo, Martínez y Peña (2006) en trigo y, Uribe *et al.*, (2006) en maíz, quienes mencionan no haber encontrado diferencias para el componente de rendimiento utilizar biofertilizantes y su combinación con fertilización química.

Cuadro 17. Efecto de biofertilizantes en el rendimiento de grano de maíz en t ha⁻¹ en el predio “La Unión” del municipio de Villaflores, Chiapas.

Tratamiento	Rendimiento de grano (tha ⁻¹)
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 160-46-30	5.97
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 80-23-15	5.87
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 160-46-30	5.67
Fertilización química 160-46-30	5.62
Fertilización química 80-23-15	5.57
<i>Azospirillum brasilense</i> + fertilización química 80-23-15	5.55
<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Chromobacterium violaceum</i> + fq 80-23-15	5.52
<i>Chromobacterium violaceum</i> + fertilización química 160-46-30	4.37
Testigo absoluto	4.30

* Sin diferencia estadística.

Sin embargo, los resultados obtenidos mostraron que cuando se utilizó *Azospirillum brasilense* existe un incremento en el rendimiento de maíz por efecto de la aplicación de microorganismos benéficos y el efecto puede ser atribuido a la estimulación del crecimiento de la raíz (Romani *et al.*, 1983), lo que permitió lograr un efecto positivo sobre el rendimiento del maíz (Mitchell y Gregory, 1972), después de ser tratado con microorganismos benéficos. Estos datos coinciden con los reportados por otros autores como: Okon y Labandera, (1994), Aguilera *et al.*, (2008), Batten *et al.*, (2008), Charlon *et al.*, (2008) y Colin *et al.*, (2007).

autores como: Okon y Labandera, (1994), Aguilera *et al.*, (2008), Batten *et al.*, (2008), Charlon *et al.*, (2008) y Colin *et al.*, (2007).

Cabe resaltar que aunque estadísticamente no se encontraron diferencias, es conveniente mencionar que los tratamientos con *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 se encontró un 38% de incremento sobre el testigo absoluto, y que se repite los resultados con la aplicación de *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, el cual presenta 36.5%. Por su parte García *et al.*, (2007) mencionaron aumento del rendimiento en maíz de 8% con *A. brasilensis* sobre el testigo fertilizado químicamente; Irizar *et al.*, (2002) reportan un 60% en maíz, 85% en trigo, 74% en cebada utilizando *A. brasilensis*, *Glomus intraradices* y *Rhizobium etli* sobre la fertilización química.

Díaz *et al.*, (2003) indicaron aumento de 236 kg ha⁻¹ del tratamiento inoculado con *A. brasilense* sobre el testigo (no inoculado). Hernández y Pereyra (1994) señalan que la biofertilización con *Azospirillum* spp. en trigo, arroz, cebada y pastos ha incrementado el rendimiento hasta en 25 % y disminuido la aplicación de fertilizante químico (Carcaño-Montiel, *et al.*, 2003). García *et al.*, (2007) mencionaron aumento del rendimiento en maíz de 8% con *A. brasilense* sobre el testigo fertilizado químicamente; Irizar *et al.*, (2002) reportan un 60% en maíz, 85% en trigo, 74% en cebada utilizando *A. brasilense*, *Glomus intraradices* y *Rhizobium etli* sobre la fertilización química.

(Okon y Labandera (1994) concluyeron que se obtuvieron efectos positivos en el rendimiento de la cosecha en aproximadamente 65% de los experimentos realizados en el campo. En 75% de los experimentos con cereales de verano, se obtuvieron incrementos en el rendimiento; con trigo de primavera se obtuvo incremento significativo sólo en 50% de los experimentos (Schank y Smith, 1984). En 70-75% de los experimentos realizados en macetas con algodón y varios vegetales se obtuvo un incremento significativo en el rendimiento desde 23% hasta 72% (Bashan, 1989; Mitchell y Gregory, 1972; Galston, 1983; Takematsu *et al.*, 1983; Hamada, 1986 y Mandava, 1988).

4.3 Análisis económico

El análisis económico se efectuó con la finalidad de conocer los costos de producción, beneficios brutos y netos de los tratamientos evaluados, partiendo del

presupuesto parcial. Se tomó en cuenta el costo de los insumos y el precio de garantía del maíz correspondiente al ciclo agrícola de temporal primavera-verano 2013, cuyo valor local fue de \$ 3.50 kg. Debido a que en condiciones experimentales se tiene mayor control en el manejo, tamaño de la parcela, fecha de cosecha y método de cosecha, se procedió a realizar un ajuste del rendimiento de maíz del 15 % de acuerdo con la metodología del CIMMYT (1988).

4.3.1 Presupuesto parcial

Para poder determinar los costos que varían en cada uno de los tratamientos considerando los factores evaluados y conocer los beneficios netos unitarios se realizó el presupuesto parcial mismo que se muestra en el Cuadro 18.

Los mayores costos de producción se generaron con los tratamientos *Azospirillum brasilense* + *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30, *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 y *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30 con \$ 5894, 5774 y 5774 respectivamente; mientras que los menores costos de producción se obtuvieron con los tratamientos *Azospirillum brasilense* + fertilización química 80-23-15, *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 y fertilización química 80-23-15, con 5319, 5439 y 5199 respectivamente.

Los mayores beneficios netos se obtuvieron con los tratamientos *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 160-46-30 y *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 con \$ 15,576 y \$ 15,226 respectivamente. Los resultados anteriores señalan mayores beneficios netos cuando se aplica un biofertilizante adicional a la fertilización química (Cuadro 19).

Sin embargo, es importante destacar que los mayores beneficios netos se obtuvieron cuando se inoculó biofertilizante y se disminuyó la dosis de fertilización química, tomando en consideración estos resultados, la estrategia de fertilización debería ser la reducción de la aplicación del fertilizante inorgánico hasta un 50% del nitrógeno y el fósforo recomendado para el nivel de fertilidad del suelo, complementado con la aplicación de bacterias fijadoras de nitrógeno (FNVL) y solubilizadoras de fósforo (SF), siempre y cuando los niveles de fósforo disponible y totales permitan inducir una suplencia de fósforo suficientes para el buen desarrollo del cultivo de maíz, que permitan obtener altos rendimientos en este cultivo con la consecuente reducción de los costos de producción y los daños colaterales por el uso de fertilizantes químicos. De esta manera, podría lograrse mayor simplicidad en el momento de la fertilización obteniendo adecuados rendimientos sin afectar negativamente la sostenibilidad de los agroecosistemas (Barea *et al.*, 1992 y Aguirre *et al.*, 2010).

Aunque existió una variación en cuanto a los tratamientos, pero al realizar la conversión costo-beneficio, la aplicación de la bacteria *Azospirillum brasilense* fue el tratamiento donde más beneficio económico se obtuvo. Considerando el aspecto económico con el uso de biofertilizantes tipo *Azospirillum brasilense*, podría ser una excelente opción en los agrosistemas de temporal o secano para mejorar y recuperar la fertilidad de los suelos y para disminuir las cantidades de nitrógeno que el maíz requiere para producir rendimientos de grano comercialmente redituables. (Bashan *et al.*, 1993). Adicionalmente, la sustitución parcial de los fertilizantes inorgánicos por biofertilizantes podría disminuir significativamente la contaminación del ambiente y del agua del subsuelo.

Cuadro 18. Costos de producción en la evaluación de biofertilizantes de la producción del cultivo de maíz (*Zea mays* L.).

	§ unitario	Tratamientos								Testigo
		Azos b + fq 80-23-15	Chro v + fq 80-23-15	Azos b + Chro v + fq 80-23-15	Azos b + fq 160-46-30	Chro v + fq 160-46-30	Azos b + Chro v + fq 160-46-30	fq 80-23-15	fq 160-46-30	
Insumos										
Semilla P4082W (20 kg)	100	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800
Inoculantes										
Azos b- Chro v (350 g)	120, 120	120	120	240	120	120	240	---	---	---
Fertilizantes										
Urea (46% N)	3.58	455	455	455	910	910	910	455	910	---
Fosfato diam.(18-46)	5.65	339	339	339	339	339	339	339	339	---
Herbicida										
Glifosato (L) Paracuat(L)	70,55	125	125	125	125	125	125	125	125	125
Insecticida										
Ipermetrina (bolsa)	230	230	230	230	230	230	230	230	230	230
Labores de cultivo										
Siembra [4]	100	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Aplic. de fertilizantes[4]	100	400	400	400	400	400	400	400	400	---
Aplic. de herbicida [4]	100	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Aplic. de insecticida [3]	100	300	300	300	300	300	300	300	300	300
Cosecha de maíz [5]	100	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Acarreo (Viaje)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Costo total		5319	5319	5439	5774	5774	5894	5199	5654	4005

Azos b = *Azospirillum brasilense*, fq= Fertilización química, Chro v = *Chromobacterium violaceum* Fosfato diam= Fosfato diamonico, []= Numero de jornales

Cuadro 19. Beneficio neto y bruto en la evaluación de biofertilizantes en la producción del cultivo de maíz (*Zea mays* L.).

	Tratamientos								Test
	Azos b + fq 80-23-15	Chro v + fq 80- 23-15	Azos b + Chro v + fq 80-23-15	Azos b + fq 160-46-30	Chro v + fq 160- 46-30	Azos b + Chro v + fq 160-46-30	fq 80-23-15	fq 160-46-30	
Maíz 3500/t	5.550	5.870	5.550	5.970	4.370	5.670	5.570	5.620	4.300
Beneficio bruto	19.425	20.545	19.425	20.895	15.295	19.845	19.495	19.670	15.050
Costo total	5319	5319	5439	5774	5774	5894	5199	5654	4005
Beneficio neto	14106	15226	13986	15576	9976	14406	14296	14471	11445
RBC	2.65	2.86	2.57	2.69	1.72	2.44	2.74	2.55	2.85

4.3.2 Análisis de dominancia

El análisis de dominancia señala a los tratamientos que en condiciones parecidas fueron dominados por otros tratamientos con costos de producción igual o menores. Para esto primero se ordenaron los tratamientos de menores a mayores costos económicos totales de producción. Un tratamiento es dominado cuando tienen beneficios netos menores o iguales a los tratamientos de más bajos de costos totales.

Cuadro 20. Análisis de dominancia en los tratamientos, predio “La Unión” Municipio de Villaflores, Chiapas 2013.

Tratamientos	Costos totales por ha (\$)	Beneficios netos por ha (\$)
Testigo Absoluto	4005	11445
Fertilización química 80-23-15	5199	14296
<i>Azospirillum b.</i> + fertilización química 80-23-15	5319	14106D
<i>Chromobacterium v</i> + fertilización química 80-23-15	5319	15226
<i>Azospirillum b</i> + <i>Chromobacterium viol</i> + fq 80-23-15	5439	13986D
Fertilización química 160-46-30	5654	14471D
<i>Chromobacterium v</i> + fertilización química 160-46-30	5774	9976D
<i>Azospirillum b</i> + fertilización química 160-46-30	5774	15576
<i>Azospirillum b</i> + <i>Chromobacterium viol</i> + fq 160-46-30	5894	14406D

El análisis marginal es el procedimiento por el cual se calculan las tasas de retorno marginales entre los tratamientos no dominados (comenzando con los tratamientos de menor costo y procediendo paso a paso al que le sigue en escala ascendente) y se comparan esas tasas de retorno con la tasa de retorno mínimo aceptables para el agricultor. Los tratamientos no dominados fueron el testigo absoluto, la fertilización química 80- 23- 15, *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 y *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30. Es importante mencionar que este tipo de análisis es la última etapa para formular recomendaciones para el agricultor cuando se tienen suficientes bases experimentales.

Encontrándose que para pasar de fertilización química 80-23-15 a el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 se recupera el peso invertido más 7 pesos con 75 centavos adicionales, y cambiar del tratamiento *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 a *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 se recupera el peso más 78 centavos agregados.

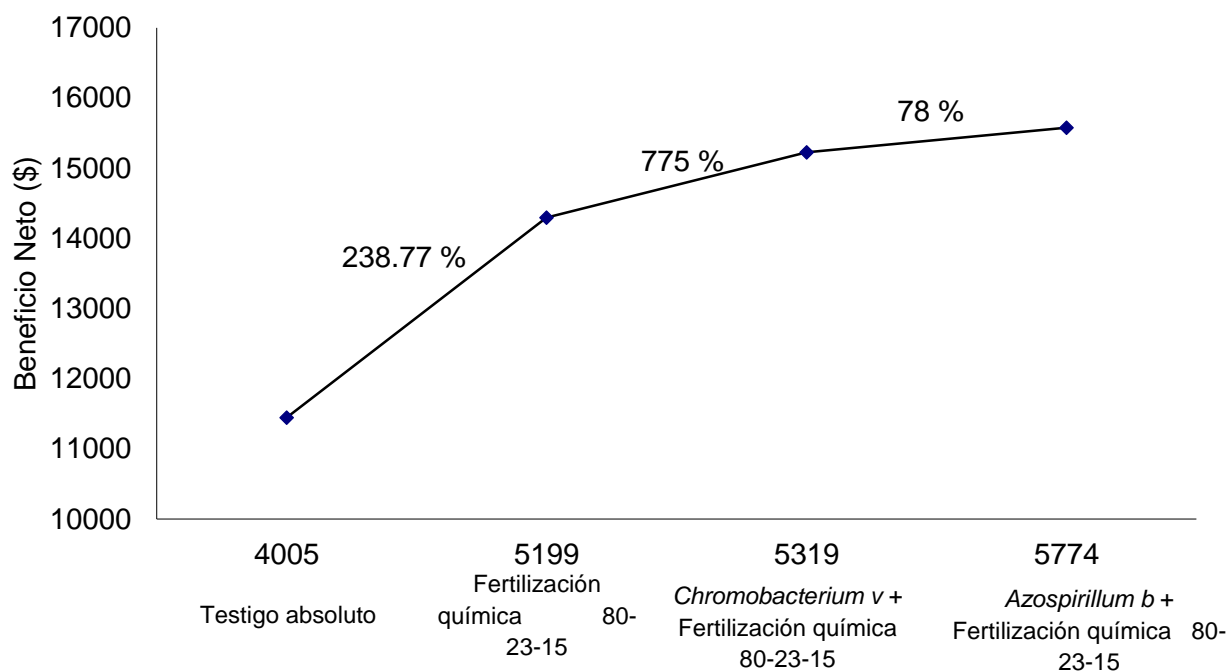


Figura 5. Tasa marginal de retorno de los tratamientos no dominado

5.- CONCLUSIONES

1. El mejor rendimiento de grano se obtuvo con el tratamiento *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30 con 5.97 t ha⁻¹ seguido por el tratamiento *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15, con 5.87 t ha⁻¹, Los mecanismos involucrados pueden ser la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y la producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal.
2. Todos los tratamientos se comportaron estables a excepción del *testigo absoluto* por lo que en base al rendimiento el mejor tratamiento fue *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30.
3. Los mayores beneficios netos se obtuvieron con los tratamientos *Azospirillum brasilense* + fertilización química 160-46-30, *Chromobacterium violaceum* + fertilización química 80-23-15 y la fertilización química 160-46-30 con \$ 15,576 \$ 15,226 y 14,471 respectivamente.

6. - LITERATURA CITADA

- Abbott, L. K. and Robson, A. D. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Agric. Ecosystems Environ.* 35: 121-150.
- Acuña, O. 2003. El uso de biofertilizantes en la agricultura. Centro de investigaciones agronómicas de la universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, San José; Costa Rica. 75 p. Alemán, F. 1991. Manejo de las malezas, Texto básico. 1 ed, ESAVE/UNA. Managua, NI. 164 p.
- Afzal, A.; Ashraf, M.; Saeed, A.; Asad, A. and Farooq, M. 2005. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on phosphorus uptake, yield and yield traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) in rainfed area. *Int. J. Agri. Biol.* 7: 206-209.
- Ahmed H., Labuschagne N. & Korsten L. 2007. Screening rhizobacteria for biological control of Fusarium and crown rot of sorghum in Ethiopia. *Biological Control.* 40: 97–106.
- Aguilar, M. A. G. 1991. La acidez del suelo y su fertilidad. Memorias del primer seminario sobre suelos tropicales en Chiapas. Centro de investigaciones ecológicas del sureste San Cristóbal de las Casas Chiapas. Pp 27-33.
- Aguilera G., L. I., V. Olalde P., M. Rubí A., y R. Contreras A. 2008. Micorrizas arbusculares. *CIENCIA ergo sum.* Vol. 14-3. Noviembre 2007-febrero 2008 Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. Pp.300-306.
- Aguirre–Medina, J. F. y Velasco-Zebadúa, E. 1994. Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento en *Leucaena leucocephala* Lam. (De Wit) al inocularse con micorriza VA y/o *Rhizobium loti*. *J. Agric. Téc. Méx.* 20(1):43–54.
- Aguirre-Medina J F. 2004. Biofertilizantes microbianos: Antecedentes del programa y resultados de validación en México. In: Memoria del Simposio de Biofertilización. A Díaz-Franco, N Mayek-Pérez, A Mendoza, N Maldonado-Moreno (eds). 25 de noviembre de 2004. Río Bravo, México. pp: 71-87.
- Aguirre M., J. F., M. B. Irizar G., Ma de los A. Peña del R., A. Durán P., O. A. Grageda C. y F.J. Cruz. Chávez. 2009. MICORRIZA INIFAP. Biofertilizante para la Agricultura - Mejor nutrición-Mayor crecimiento de raíz. Hoja desplegable. ww.inifap.gob.mx. (Consulta 22 de Mayo del 2009).
- Aguirre M., J. F., M. B. Irizar G., A. Durán P., O. A. Grageda C., M. de los A. Peña del R., C. Loreto O., y M. C. A. Gutiérrez B. 2010. Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. Folleto Técnico Núm. 5. INIFAP-CIR-PACÍFICO SURCE- Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México.

Agrositio.com. 31/08/2009 INTA 23/03/2010.

Ahemad, M. y M. Kibret. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University Science* 26:1-20.

Antoun, H. 2012. Beneficial microorganisms for the sustainable use of phosphates in agriculture. *Procedia Eng.* 46:62-67.

Alarcón, A. y Ferrera- Cerrato, R. 2000. Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. *Agric. Téc. Méx.* 26(2): 191–203.

Alagawadi, A.R. y A.C. Gaur. 1992. Inoculation of *Azospirillum brasilense* y phosphate-solubilizing bacteria on yield of sorghum [*Sorghum bicolor* L.) Moench] in Azospirillum dry land. *Trop. Agric.* 69: 347-350.

Altieri, M.A. 1995. *Agroecology: the scientific basis of alternative agriculture*, 2nd Ed. Westview Press, Boulder, CO.

Altieri, M.A. 2001. *Agroecology: the scientific basis of alternative agriculture*, 2nd Ed. Westview Press, Boulder, Cope.

All-Taweil, H. I.; Osman, M. B.; Hamid, A.A. and Yusoff, W. M. W. 2009. Development of microbial inoculants and the impact of soil application on rice seedlings growth. *Am. J. Agric. Biol. Sc.* 4:79-82.

Alvarado S., R. Jaramillo, F. Valverde y R. Parra 2011. Manejo de nutrientes por sitios específicos en el cultivo de maíz bajo labranza de conservación para la provincia de Bolívar. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, International Plant Nutrition Institute. Boletín técnico n° 150. Quito Ecuador. 27 pp.

Álvarez, J.; Vanegas, S.; Soto, C.; Chávez, A.; Zabala, L. 2011. Uso de fertilizantes químicos y orgánicos en cebolla (*Allium cepa* L.). (En línea). México, MX. *Revista de investigación y difusión científica agropecuaria*. Consultado el 1 de may. 2012. Disponible en <http://www.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2011/mayo/3.pdf>

Alvarado R. M. 2005. Selección de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos para formulaciones de biofertilizantes mixtos. Tesis Químico Biólogo. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 58 pp

Alexander, M., 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT (Eds.) México, p 491.

- Aravind, R., A. Kumar, S.J. Eapen y K.V. Ramana (2009). Endophytic bacterial flora in root and stem tissues of black pepper (*Piper nigrum* L.) genotype: isolation, identification and evaluation against *Phytophthora capsici*. *Letters of Applied Microbiology* 48: 58-64.
- Arnesto, G.; Benenavides, A. 2003. Evaluación del efecto de fertilización mineral y orgánica (Gallinaza) en el crecimiento y rendimiento del cultivo del maíz (*Zea mays* L.) var. NB-6. Tesis, Ing. Agro. UNA. Managua, NI. 12 p.
- Azcón-Aguilar, C. 1983. Mycorrhiza and their significance on nodulating nitrogen fixing plants. *Adv. Agron.* 36: 1-54.
- Babalola, O.O. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett.* 32:1559-1570.
- Baca, P., B., 1989. Influencia de cuatro niveles y cuatro formas de fraccionamiento de nitrógeno, sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo del maíz. (*Zea mays* L) var. NB-6. Managua, Nicaragua.
- Bacilio-Jiménez, F. J. 2001. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. *Soil Biology and Biochemistry.* 33(2):167-172.
- Barea JM, Azcón R & Azcón-Aguilar C (1992) Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing systems. In: Norris JR, Read DJ & Varma AK (Eds) *Methods in Microbiology* (pp 391-416). Academic Press, London.
- Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C. (1983). Mycorrhiza and their significance on nodulating nitrogen fixing plants. *Adv. Agron.* 36: 1-54.
- Barea, J.M. 1994. Mycorrhizae in sustainable agriculture: I. Effects on seed yield and soil aggregation. *American Journal of Alternative Agriculture* 9: 157-161.
- Barea JM. 1997. Mycorrhiza/bacteria interactions on plant growth promotion. In: Ogoshi A, Kobayashi L, Homma Y, Kodama F, Kondon N & Akino S (Eds) *Plant Growth-promoting Rhizobacteria, Present Status and Future Prospects* (pp 150-158). OECD, Paris.
- Barea JM, Azcón-Aguilar C & Azcón R (1997) Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems. In: Gange AC & Brown VK (Eds) *Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems* (pp 65-77). Blackwell Science, Oxford.

- Barea JM, Andrade G, Bianciotto V, Dowling D, Lohrke S, Bonfante P, O’Gara F & Azcón-Aguilar C (1998) Impact on arbuscular mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for the biocontrol of soil-borne plant fungal pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2304-2307.
- Barea JM. 2000. Rhizosphere and mycorrhiza of field crops. In: Toutant JP, Balazs E, Galante E, Lynch JM, Schepers JS, Werner D & Werry PA (Eds) *Biological Resource Management: Connecting Science and Policy* (OECD) (pp 110-125) INRA, Editions and Springer.
- Barea, J. M.; Pozo, M. J. Azcon, R. and Azcon-Aguilar, C. 2005. Microbial cooperation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56:1761-1778.
- Barton, L. L, Johnson G. V. y Orbock Miller, S. 1986. The effect of *Azospirillum brasilense* on iron absorption and translocation by sorghum. *J. Plant Nut.* 9:557-565.
- Basaglia, M., S. Casella, U. Peruch, S. Poggiolini, T. Vamerali, G. Mosca, J. Vanderleyden, P. de Troch y M.P. Nuti (2003). Field release of genetically marked *Azospirillum brasilense* in association with *Sorghum bicolor* L. *Plant and Soil* 256: 281-290.
- Bashan, Y. 1986. Enhancement of wheat roots colonization and plant development by *Azospirillum brasilense* Cd following temporary depression of the rhizosphere microflora. *Appl. Environ. Microbiol.* 51:1067-1071.
- Bashan, Y.; Levanony, H. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* (36): 591-608.
- Bashan, Y. 1989. Nonespecific responses in plant growth, yield and root colonization of noncereal crops plants to inoculation with *Azospirillum brasilense* Cd. *Canadian Journal of Botany.* 67(5): 1317-1324.
- Bashan, y.; Holguín, G.; Puente M., E.; Carrillo, A.; Alcaraz-Méndez, L.; López-Cortes, A. and Ochoa J., L. 1993. Critical evaluation of plant inoculation with beneficial bacteria from the genus *Azospirillum*. In: Ferrera-Cerrato, R. y Quintero L., R. (eds.). *Agroecología, sostenibilidad y educación*. Colegio de Posgraduados. Centro de Edafología. Montecillos, Estado de México, p 115-126.
- Bashan Y, G Holguín, y R Ferrera-Cerrato. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos *Azospirillum*. *Terra* 14:159- 183.

- Bashan Y, G Holguín (1997) *Azospirillum*-plant relationships: Environmental and physiological advances. *Can. J. Microbiol.* 43:103-121.
- Bashan Y (1998) Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnol. Adv.* 16:729–770.
- Bashan, Y. 1999. Interaction of *Azospirillum* spp. in soil: a review. *Biol. Fert. Soil.* 29: 246-256.
- Bashan, Y.; Vazquez, P. 2000. Effect of calcium carbonate, sand, and organic matter levels on mortality of five species of *Azospirillum* in natural and artificial bulk soils. *Biol. Fertil. Soil.* 30: 450-459.
- Bashan, Y. 2008. El uso de inoculantes microbianos como una importante contribución al futuro de la agricultura mexicana. In: Díaz-Franco, A. y Meyek-Pérez, N. (Eds.). *La biofertilización como tecnología sostenible*. Plaza y Valdéz. México. 17-24 pp.
- Batten, K., K. Scow, K Davies, and S. Harrison. 2008. Two invasive plants alter soil microbial community composition in serpentine grasslands. *Biological Invasions* 8: 217-230.
- Bauer, T. 2001. Microorganismos fijadores de nitrógeno. (<http://www.microbiologia.com/nf/suelo/rhizobium.html>).
- Blandon G., E.J. y Smith M., A.Z. 2001. Efectos de diferentes niveles de nitrógeno y densidades de siembra sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo del maíz (*Zea mays* L.) var. NB-6. Tesis UNA. Managua, Nicaragua. 50p.
- Blanco, F. A. y A. Salas E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial. *Rev. Agronomía costarricense.* 21(1):55-67.
- Belimov, A. A, A. P. K. Kojemiakov y C.V. Chuvarliyeva, 1995. Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil.* 237: 225-237.
- Bethlenfalvai G.J. & Linderman RG. 1992. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA Special publication No. 54, Madison, Wisconsin.
- Bethlenfalvai, G. J. 1993. The mycorrhizal plant–soil system in sustainable agriculture. In: Ferrera-Cerratos, D. y Quintero, L. R. (eds.). *Agroecología, sostenibilidad y educación*. Colegio de Posgraduados. Centro de Edafología. Montecillo, Estado de México, México, p 127-137.

- Berardo, A. 2003. Manejo del fósforo en los sistemas de producción pampeanos. In Simposio "El fósforo en la agricultura Argentina". INPOFOS. Rosario, 8 y 9 de mayo del 2003.
- Bifani P. 1999. Medio ambiente y Desarrollo Sostenible. IEPALA. Madrid. España. 593 pp.
- Boddey, R. M.; Polidoro, J. C.; Resende, A. S. Alves, B. J. R. and Urquiaga, S. 2001. Use of the ^{15}N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N_2 fixation to sugar cane and other grasses. *Aust. J. Plant Physiol.* 28:889-895.
- Bolaños, T.; G. Saín: R. Urbina y H. Barreto. 1995. Síntesis de resultados Experimentales del PRM 1995. Vol. 4, CIMMYT-PRM, México 65 pp.
- Bolleta A. y C. Rodríguez 2002. Efecto de la inoculación conjunta bacteria-micorriza sobre los componentes del rendimiento de trigo bajo siembra directa INTA Ediciones. CERBAS, INTA EEA Bordenave. Disponible en: www.inta.gov.ar/bordenave/contactos/autores/bolleta/andrea8.pdf (Fecha de consulta 05/04/2010).
- Bottini, R., M. Fulchieri, D. Pearce y R.P. Pharis. 1989. Identification of gibberellins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. *Plant Physiol.* 90: 45-47.
- Bowen, G. D. and Rovira, A. D. 1999. The rizhosphere and its management to improve plant growth. *Adv. Agron.* 66: 1-102.
- Burdman, S., E. Jarkevicht, Y. Okón. 2000. Recent advances in the use of PGPR in Agriculture. En *Microbial Interactions in Agriculture and Forestry*. Science Publishers Inc., Plymouth, UK. 229-250 p.
- Brown, M. S. and Bethlenfalvay, G. J. 1988. The *Glycine- Glomus-Rhizobium* symbiosis. VIL Photosynthetic nutrient use efficiency in nodulate mycorrhizal soybeans. *Plant Physiol.* 86:1292-1297.
- Caballero-Mellado, J.; Carcaño-Montiel, M. G. and Mascarúa-Esparza, M. A. 1992. Field Inoculation of Wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum brasilense* under temperate climate. *Symbiosis.* 13: 243-253.
- Camacho, J., R. & Bonilla, 1999. Efecto de tres niveles de nitrógeno, y tres densidades poblacionales sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento en el cultivo de maíz (*Zea mays* L) Var. NB-6 Tesis de Ing. Agr. Universidad Nacional Agraria. (UNA) Managua, Nicaragua. Cantarero R., J. y Martínez O.,

- A. 2002. Evaluación de tres tipos de fertilizantes (gallinaza, estiércol vacuno y un mineral) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Tesis EPV-UNA. Managua, Nicaragua. 52p.
- Canto, J., Medina, S., Morales, D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* spp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). Revista Tropical and Subtropical Agroecosystems. Vol 4: 21 – 27. Yucatán, México.
- Carcaño-Montiel, M.G. 1989. Fertilización biológica con *Azospirillum* el cultivo de trigo var. Cleopatra. Tesis profesional, Facultad de Ciencias Químicas de la UAP. P. 32.
- Carcaño-Montiel, M.G. 2003. Aislamiento y selección e inoculación de las bacterias diazótropas promotoras del crecimiento, *Azospirillum* ssp y *Klebsiella* spp. en maíz (*Zea maíz* L). Tesis de Maestría, Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Posgraduados. Montecillo, edo de México. P 105.
- Carcaño-Montiel, M.G., M.A. Mascarúa-Esparza y L. López Reyes. 2003. Producción y comercialización de inoculantes bacterianos en México. En: Suelos: un enfoque holístico para su manejo y conservación. Memorias del XXI Curso-Diplomado Internacional de Edafología “Nicolás Aguilera”. BUAP, UNAM, CSIC-ESPAÑA. Teziutlan, Puebla, México.
- Carcaño-Montiel, M.G., L. López-Reyes, A. Martínez-Cruz. y J.C. Patrín-Ibarra, 2003. Biofertilización del maíz con bacterias solubilizadoras de fósforo, p22-26 Memorias I. En: Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología y Fundación PRODUCE Puebla A.C. Primer Encuentro de Investigación y Transferencia de Tecnología del Sector Agropecuario en el Estado de Puebla. México.
- Carcaño-Montiel, M.G., R. Ferrera-Cerrato, J. Pérez-Moreno, J.D. Molina-Galán y Y. Bashan. 2006. Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. Terra *Latinoamericana* 24:493-502.
- Cassán, F., D. Perrig, V. Sgroy, O. Masciarelli, C. Penna and V. Luna. 2009. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). European Journal of Soil Biology 45: 28-35.
- Castellanos, R. J. Z.; Peña-Cabriales, J. J. y Rojas-Martínez, I. 1995. Análisis retrospectivo del uso de inoculantes con cepas élite en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. Turrialba. 45: 89-99.

- Castellanos J., Z.; Uvalle-Bueno, J. X. y Aguilar-Santelises, A. 2000. Manual de interpretación de análisis de suelo y agua. 2a. ed. Colección Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola (INCAPA). San Miguel de Allende, Guanajuato, México. 226 p.
- Castillo, S.; Noboa, M. 2007. Efecto de la fertilización orgánica e inorgánica en el rendimiento de grano en el cultivo del maíz. (En línea). Universidad Técnica de Babahoyo. Consultado el 24 de set. 2012. Disponible en <http://repositorio.utb.edu.ec:8080/handle/123456789/346>.
- Celiz G., F. A. y Duarte C., R. J. 1996. Efecto de arreglos topológicos (doble surco) sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento del maíz (*Zea mays* L.) como cultivo principal, en asocio con leguminosas (*Vigna unguiculata* L. Walph.). Tesis UNA Managua, Nicaragua. 37p.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, 1995. Manejo de los ensayos e informes de los datos para el Programa de Ensayos Internacionales de Maíz, México DF, ISBN: 970-648-045-5, 20 p.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, 1998. La formación de recomendaciones a partir de datos agronómicos. Un Manual Metodológico de Evaluación Económico. Edición completa y revisada, México D. F. 79 pp.
- Colin, R. M., V.V.M. Zamora, R. A. J. Lozano, Z. G. Martínez, T. M. A. Torres. 2007. Caracterización y selección de nuevos genotipos imberbes de cebada forrajera para el norte y centro de México. Tec. Pecu. Méx. 45(3):249-262.
- Constantino, M; Gómez- Álvarez, R; Álvarez- Solís, J; Fernández, J; Espín, G. 2010. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. Effect of biofertilization and bioregulators on germination and growth of *Carica papaya* L. Rev.Colom. Biotecnol 12 (2):103-115.
- Correa, O.S., A.M. Romero, M.S. Montecchia y M.A. Soria (2007). Tomato genotype and *Azospirillum* inoculation modulate the changes in bacterial communities associated with roots and leaves. Journal of Applied Microbiology 102: 781-786.
- Conway, G. 1998. The doubly green revolution: food for all in the 21st Century. Cornell University Press. Ithaca, N.Y. 335 p.
- Córdoba, A., Delgado, F. & Toriz, G. 2010. Generación de compuestos orgánicos en el olote, mediante la oxidación en húmedo. Investigación, Biodiversidad y Desarrollo, 29, 186 -200.

- Charlon V., L. Romero, A. Cuatrin y M. Taverna. 2007. Utilización de residuos orgánicos en el rendimiento y la calidad de un cultivo de avena. *Revista Argentina de Producción Animal*. Vol. 27 Supl.1 pp: 214-215.
- Chelius, M.K., and Triplett, E.W. 2000. Prokaryotic Nitrogen Fixation; Model system for the analysis of a biological process. Ed Horizont Scientific Press. Hwitts Lane Wymondahm NR18. England. pp: 1-20.
- Chen Y., Rekha P., Arun A., Shen F., Lai W., Young C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*. 34:33-41.
- Chuang, C., Y.L. Kuo, C. Chao, y W. Chao. 2007. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biol. Fert. Soils* 43:575-584.
- Council on Soil Testing and Plant Analysis (CSTPA). 1980 Handbook on reference methods for soil testing. Council on Soil Testing and Plant Analysis. Athens, Georgia. EEUU. 459 pp.
- Curá, J. A. C. Ribaldo M., M. Gaetano A. y O. Ghiglione H. 2005. Utilidad de las bacterias promotoras del crecimiento y fijadoras de nitrógeno en el cultivo de arroz durante las primeras etapas del desarrollo. 4 pp.
- Cruz R., E. de la; Manalo, M. Q.; Aggangan, N. S. and Tábalo, J. D. 1988. Growth of three legume trees inoculate, with VA mycorrhizal fungi and *Rhizobium*. *Plant and Soil* 108:111–115.
- Dashti N., Zhang R., Hynes R. & Smith D. 1997. Application of plant growth-promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) increases protein and dry matter yield under short-season condition. *Plant Soil*. 188: 33-41.
- De la Fé, C.; Ríos, H. y Ortiz, R. (2003) Las ferias de agrobiodiversidad. Guía metodológica para su organización y desarrollo en Cuba. La Habana: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 24 p.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J.; Dutto, P.; Labandera-González, C.; Caballero-Mellado, J.; Aguirre, J. F.; Kapulnik, Y.; Brener, S.; Burdman, S.; Kadouri, D.; Sang, S. and Okón, J. 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust. J. Plant Physiol*. 28:871-879.

- Doran, J.W. and T.B. Parkin. 1994. Defining and assessing soil quality. In J.W. Doran, D. C. Coleman, D.F. Bezdicek and B.A. Stewart, eds. Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Díaz-Franco A, Alvarado-Carrillo M, Cantú-Almaguer M, Garza-Cano I (2005) Fertilización biológica y producción de maíz en la región semiárida del norte de Tamaulipas, México. Agr. Téc. Méx. 31: 153-163.
- Díaz-Franco A, Ortegón-Morales A, Garza-Cano I (2006) Biofertilización del cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) en condiciones limitadas de humedad en el suelo. Rev. Fitotec. Mex. 29: 175-180.
- Díaz M. R, Díaz F. A, Garza C. I, Ramírez de L. A. 2007. Brassinoesteroides e inoculación con micorriza arbuscular (*Glomus intraradices*) en el crecimiento y la producción de sorgo en campo. Terra Latinoamericana. 25 pp. 77-83.
- Díaz-Franco, A. y Mayek-Pérez, N. 2008. La biofertilización como tecnología sostenible. Plaza y Valdés, S.A. de C.V. México. 260 pp.
- Díaz-Zorita, M. and Fernández-Canigia, M.V. 2009. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. Eur. J. Soil Biol. 45:3-11.
- Dibut, B. 2000. Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento para el beneficio de la cebolla (*Allium cepa*, L). Tesis de Doctorado. INIFAT. La Habana. Cuba. 100.
- Dibut, B. 2003. Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento para el beneficio de la cebolla. Tesis de Doctorado, La Habana. 104 p.
- Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Ptacek D, Labandera G, Caballero M, Aguirre J, Burdman S, Sang S, Okon J. 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. Austr. J. Plant Physiol. 28: 871-879.
- Döbereiner, J. 1992. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous- plants. Symbiosis 13: 1-13.
- Duxbury, J. M. 1994. The significance of agricultural sources of greenhouse gases. Fert. Res. 38: 151-163.

- Echeverría, HE & HR Sainz Rozas. 2001. Eficiencia de recuperación del nitrógeno aplicado al estadio de seis hojas del maíz bajo riego en siembra directa y labranza convencional. *Ciencia del Suelo* 19: 57-66.
- Elliott, L. F. and Lynch, J. M. 1995. The international workshop on establishment of microbial inoculant in soils: Cooperative research project on biological resource management of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). *Am. J. Alt. Agric.* 10:50-73.
- El-Sirafy, Z. M., Woodard, H. J., and El-Norjar, E. M. 2006. Contribution of biofertilizers and fertilizer nitrogen to nutrient uptake and yield of Egyptian winter wheat. *J. Plant Nutr.* 29:587-599.
- El-Tarabily KA 2004. Suppression of *Rhizoctonia solani* diseases of sugar beet by antagonistic and plant growth-promoting yeasts. *Journal of Applied Microbiology* 96, 69-75.
- Esqueda, M.H., R.L. Carrillo, M. Sosa, A. Melgoza, M.H. Royo y J. Jiménez. 2002. Emergencia y sobrevivencia de gramíneas inoculadas con biofertilizantes en condiciones de invernadero. *Técnica Pecuaria en México* 43(3): 459-475.
- FAO. 2008. Tendencias y perspectivas mundiales de los fertilizantes hasta 2011/2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Italy, Rome. 171 p.
- FAOSTAT, 2011. Estadísticas de FAO. Fuente: www.fao.org/faostat. Consultado 25 abril 2013.
- Fallik, E. K; Sarg, S, F.; Okon, Y. 1994. Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum* in wheat. In: *Azospirillum* plant association. Okon, Y. (ed.). Boca Ratón: CRC Press, pp. 77-85.
- Ferraris G. y L. Couretot 2007. Respuesta a la inoculación con micorrizas en trigo bajo dos niveles de nutrición fosforada. INTA Ediciones. Publicaciones Regionales. Área de Desarrollo Rural, Proyecto Regional Agrícola, CERBAN, INTA EEA Pergamino.
- Fernández, S. R., L. A. Morales Ch. y A. Gálvez M. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 275-283.
- Ferrera-Cerrato, R. y A. Alarcón. 2000. Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. En: *Memorias del Simposio de Biofertilización*. Díaz, F. A. /et al/. (eds). Rio Bravo, Tamaulipas, pillo, México.

- Food And Agriculture Organization Of The United Nations. 2002. Informe sobre agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Italy, Rome. 241 p.
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations. 2008. Tendencias y perspectivas mundiales de los fertilizantes hasta 2011/2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Italy, Rome. 171 p.
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations. 2010. Committe on forest development in the Tropics. Report of the 1st. Sessiun Rome. 170 pag.
- Fulchieri, M. Y Frioni, L. 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays* L.): effect on yield in a field experiment in central Argentina. Soil. Biol. Biochem. 26:921-923.
- Gabaldon A. 1998. La Agricultura Tropical Sostenible: una necesidad. Taller Internacional: Agricultura Tropical Sostenible. Experiencias y desafíos para el tercer milenio. Fundación Polar. CIARA. Caracas. Pp 25-32.
- Gabino de Alba. 2010. El Presente y el futuro de la Agricultura en México. <http://www.itesm.mx/va/deptos/ci/articulos/Elpresente%20y%20elfuturodela.htm>.
- Galdámez, G. J. 1989. Respuesta del maíz (*Zea mays* L.) a siete fechas de siembra en Villaflores, Chiapas. Tesis de Licenciatura. UACH. Chapingo, México. 382 p.
- Galston, A. W. 1983. Polyamines as modulators of plant development. Bio Science 33:382-83.
- García, J y J. Espinosa (2009). Efecto del fraccionamiento de nitrógeno en la productividad y en la eficiencia agronómica de macronutrientes en maíz. Informaciones agronómicas. No 72. Enero.
- García, M.; Watson, C. 2003. Herencia de la resistencia al acame de raíces en maíz dulce (*Zea mays* L.). (En línea). Revista UDO Agrícola. 3(1): 24-33.
- Gardner, J.H. & Malajczuk, N. (1988). Recolonisation of rehabilitated bauxite mine sites in Western Australia by mycorrhizal fungi. For. Ecol. Man. (24)1: 27- 42.

- García, O. J. G, V. R. Moreno M., C. I. Rodríguez L., A. Mendoza H. y N. Mayek P. 2005. Efecto de cepas de *A. brasilense* en el crecimiento y rendimiento de grano de maíz. Rev. Fitotecnia Mexicana. 30(3): 305-310.
- Gavito, E. M., and L. Varela. 1995. Response of "criollo" maize to single and mixed species inocula of arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil 176: 101-105.
- Grageda-Cabrera, O. A.; Esparza-García, F. and Peña-Cabriales, J. J. 2000. Environmental impact of nitrogen fertilizers in the region known as "Bajío" in México. 45-54 pp. In: Sánchez G. and Olguín G. (eds.). Environmental biotechnology and cleaner processes. Taylor and Francis, London, U. K.
- Grageda-Cabrera, O. A., Mora, M., Castellanos, R. J. Z., Follet, R. F., and Peña-Cabriales, J. J. 2003. Fertilizer nitrogen recovery under different tillage treatments and cropping sequences in a vertisol in central México. IAEA-TECDOC. 1354:39-55.
- Gravel, V., Antoun, H., and Tweddell, R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of green house tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biol. Biochem. 39:1968-1977.
- Gianinazzi S & Schüepp H. 1994. Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. ALS, Birkhäuser Verlag, Basel.
- Glick B.R. 1995. The enhancement of plant growth by freeliving bacteria. Canadian Journal of Microbiology. 41: 109-117.
- Gliessman, S.R., ed. 2001. Agroecosystem sustainability: developing practical strategies. Book Series Adv. in Agroecology, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Goddijn O.J.M. & S. Smeekens.1998. Sensing threolose biosynthesis in plants. Plant.4: 43-46.
- Gómez, R. 1996. Aplicación conjunta de hongos micorrizógenos MVA y bacterias rizosféricas mediante la técnica de recubrimiento de las semillas. Informe del trabajo anual de 1994 sobre biofertilizantes del INCA. La Habana. INCA. 21 p.
- González-Anta, G. 2011. Bacterias Fijadoras de nitrógeno. Biotecnología aplicada a la nutrición de cultivos. Tercer Foro del Negocio Global de la Biotecnología Vegetal Argentina-Biotech.

- González-Chávez, M.C.A., M.C. Gutiérrez-Castorena y S. Wright. 2004. Hongos micorrizicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana* 22:507-514.
- Goldstein, A.H. 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. *Amer. J. Alternat. Agric.* 1, 51-57.
- Gori, A. y F. Favilli. 1995. First results on individual and dual inoculation with *Azospirillum - Glomus* on wheat. In: *VI and Related Microorganisms, Genetics -Physiology- Ecology*, eds. I Fendrik , M Del Gallo, J Vanderleyden, M De Zamaroczy. G37: 245- 249. NATO ASI Series, Series G: Ecological Sciences, Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Govedarica, M., Milosevic, N., Jarak, M., Milosev, D. and Djuric, S. 1997. Diazotrophs and their activity in pepper. *Acta Hort.* 462:725-732.
- Gutiérrez-Zamora A. & Martínez-Romero E. 2001. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). *Journal of Biotechnology*. 91: 117-126.
- Gregorio, N. H.; F. C. González; A. R. Peña y C. A. Jiménez. 2005. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz *Revista Fitotecnia Mexicana*. 28(4):393-397.
- Gyaneshwar P, Naresh K G, Parekh L J. 1998. Effect of buffering on the phosphate-solubilizing ability of microorganisms. *World J. Microbiol. Biotech.* 14:669-673.
- Gyaneshwar, P., G. N. Kumar, L. J. Parekh, and P. S. Poole. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* 245: 83-93.
- Hamada, K. 1986. Brassinolide: some effects for crop cultivations. *Cnf. Proc. Int. Seminar Plant Growth Regul. Tokyo, Japan. Oct. 15. 1985.*
- Hameeda, B., G. Harini, O.P. Rupela, S.P. Wani, y R. Gopal. 2008. Growth promotion of maize by phosphate solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiol. Res.* 163:234-242.
- Hardarson, G. 1993. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. *Plant and Soil* 152:1-17.
- Hernández D., M.I.; Chailloux L., M. 2001. La nutrición mineral y la Biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Temas de Ciencia y Tecnología* 5(13): 11-27.

- Horemans, S., K. De Koninck, J. Neuray, R. Hermans y K. Vlassak. 1986. Production of plant growth substances by *Azospirillum* sp. and other rhizosphere bacteria. *Symbiosis* 2: 341-346.
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2004). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant*.
- Illmer P, Schinner F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 24:389-395.
- Illmer, P., A. Barbato y F. Schinner. 1995. Solubilization of hardly- soluble $AlPO_4$ with P-Solubilizing microorganisms. *Soil Biol Biochem.* 27: 265-270.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) 2009. XI Censo General de Población y Vivienda, Resultados definitivos, tabulados básicos, "Banco de Información Económica" en: <http://dgcnesyp.inegi.gob.mx/cgi-win/bdieintsi.exe/NIVA100120007000020100#ARBOL>.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI).2013. Anuario estadístico y geográfico de los estados unidos mexicanos en <http://www.inegi.org.mx/>.
- Instituto de la Potasa y el Fosforo (INPOFOS). 1988. Cono Sur (Oficina Regional para el Cono Sur del Potash y Phosphate Institute y el Potash and Phosphate Institute of Canada).Planilla de cálculo para estimar requerimientos nutricionales de cultivos de grano y forrajeros.
- Instituto de la Potasa y el Fósforo (INPOFOS). 1993. Diagnóstico del Estado Nutricional de los Cultivos. Western Diversification Program. Quito, Ecuador.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 1999. Manual de Diagnostico Prescripción para el cultivo del maíz en el Estado de Chiapas, Fundacion Produce, Tuxtla Gutiérrez Chiapas. pp. 10-19.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2005. Guía para la asistencia técnica agrícola. Área de influencia del campo experimental "Valle del Guadiana" SAGARPA-INIFAP-CIRNOC-CEVAG. Durango, Dgo., México. 26 p.
- International Plant Nutrition Institute. 2007. South East-USA. <http://www.ipni.net/ppiweb/usams.nsf>.

- Irizar GM, Vargas P, Garza D, Tut C, Rojas M, Trujillo A, García R, Aguirre M, Martínez J, Alvarado S, Grageda O, Valero J, Aguirre J. 2003. Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la región central de México. *Agr. Téc. Méx.* 29: 213-225.
- Jacoud, C., Job, D., Wadoux, P. and Bally, R. 1999. Initiation of root growth stimulation by *Azospirillum lipoferum* CRTI during maize seed germination. *Can J. Microbiol.* 45: 339-342.
- Jaime M; Martín G O (h); Fernández R R; Nasif A y Martínez Pulido L. 1999. Incremento de productividad en maíz, mediante inoculación con microorganismos fijadores libres de nitrógeno. II Reunión Científico Técnica-Biología del Suelo- Fijación biológica del Nitrógeno. Universidad Nacional de Catamarca. Facultad de Ciencias Agrarias. Pag. 197-199.
- Jeffries P & Barea JM (2001) Arbuscular Mycorrhiza – a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: Hock B (Ed) *The Mycota. Vol. IX Fungal Associations* (pp 95–113). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Kapulnik, Y., S. Sarig, I. Nur y Y. Okon. 1983. Effect of *Azospirillum* inoculation on yield of field-grown wheat. *Can. J. Microbiol.* 29: 895- 899.
- Kassam A. y Hodgking T. 2009. Rethinking agriculture: agrobiodiversity for sustainable production intensification. Platform for agrobiodiversity. Research (<http://agrobiodiversity Platform. org/climatechange /2009/05/14/rethinking-agriculture agrobiodiversity-for sustainable production intensification/>).
- Kato Y (1984). Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evol. Biol.* 17:219-253.
- Khalid, A., Arshad, M., and Zahir, Z.A. 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* 96: 473-480.
- Kennedy, A.C. and Smith, K.L. 1995. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and Soil* 170:75-86.
- Kiely, P. D., Haynes, J. M., Higgins, C. H., Franks, A., Mark, G. L., Morrissey, J. P., and O'Gara, F. 2006. Exploiting new systems based strategies to elucidate plant-bacterial interactions in the rhizosphere. *Microb. Ecol.* 51:257-266.
- Kloepper JW, Zablotowick RM, Tipping EM & Lifshitz R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers In: Keister DL & Cregan PB (Eds)

The Rhizosphere and Plant Growth (pp 315-326). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

- Kumar, V., y N. Narula. 1999. Solubilization of inorganic phosphates and grow emergence of wheats as affected by *Azotobacter chroococcum* mutans. Biol. Fertil. Soils 28: 301-305.
- Landon, J.R. 1984. Manual de suelos tropicales. Brooker Agriculture International LTD/Logman, Harlow, Inglaterra. 14 p.
- Landis TD. 2000. Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedor. In Landis TD, RW Tinus, SE McDonald, JP Barnett. Manual Agrícola. Volumen N° 4. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. p. 1-67.
- Larios., R. C. y Garcia C., M. 1999. Evaluación de tres dosis de gallinaza, compost y un fertilizante mineral en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) var. NB-6. Tesis UNA. Managua, Nicaragua. 92p.
- Lauer, D.A. 1988. "Vertical Distribution in soli of Sprinkler-Applied Phosphorus". Soil Science Society of America Journal. 52:862-868.
- Letelier AE 1967. Manual de fertilizantes para Chile. Banco del Estado. Santiago, Chile. 138 pp.
- Lemcoff J., M. y Loomis R., S. 1986. Nitrogen influences on yield determination on maize. Crops Science, vol. 26. 15-17p.
- Lynch J.M. 1990. The rhizosphere. Willey-Interscience, Chichester, (Inglaterra). : 55-66.
- Lynch JP, Brown KM (2001) Topsoil foraging: an architectural adaptation of plants to low phosphorus availability. Plant Soil 237: 225-237.
- Linderman, R. G. 1993. Effect of microbial interactions in the mycorrhizosphere on plant growth and health. In: Agroecología, sostenibilidad y educación.
- Lin, W., Okon, Y. Hardy, R. W. F. 1983. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. Appl. Environ. Microbiol. 45:1775-1779.
- Loaisiga, C. H. 1990. Caracterización y evaluación de treinta cultivares de maíz (*Zea mays* L.). Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias (ISCA), Tesis de Ingeniero Agrónomo. Managua, Nicaragua. 63 pp.

- López B., L. 1991. Cultivos herbáceos, cereales. Volumen I. Ediciones Mundi prensa, España 391p.
- López. F. 2000. Desarrollo Agrario Sostenible. En Reforma de la PAC y Agenda 2000, Nuevo tiempos, nueva agricultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación Madrid España. Pp. 209-217.
- López, M., I. López de Rojas, M. España, A. Izquierdo y L. Herrera. 2007. Efecto de la fertilización inorgánica sobre la disponibilidad de nutrimentos en el suelo, nivel nutricional de la planta y hongos micorrícicos arbusculares en plantaciones de *Theobroma cacao* L. *Agronomía Trop.* 57(1):31-43.
- López, M.; Martínez-Viera, R.; Brossard, M.; Bolívar, A.; Alfonso, N.; Alba, A. y Abreo, H. 2008. Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes Venezolanos. *Agron. Trop.* 58(4):391-401.
- Loredo O C, L López R, D Espinosa V (2004) Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoam.* 22:225-239.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F. 2009. Plant-Growth-Promoting rhizobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 63: 541-556.
- Mandava, N. 1988. Plant growth-promoting brassinoesteroids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 39:23-52.
- Martínez, M. J. y M. A. Peña del R. 2006. Efecto de la biofertilización en el rendimiento de grano de trigo bajo temporal en la región central de Nuevo León. INIFAP. Congreso Nacional de Ciencias de los Suelos. Cartel. En http://www.agronomíayciencias.uat.edu.mx/Eventosanteriores/Agronomía/Congreso_nacional_ciencia_suelo/Contenido/biología%20delsuelo/carteles/Juan%20C3%ADnez%20medina.pdf. Consultado: Agosto 2008.
- Martínez, R. L. 2012. Respuesta del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) a los biofertilizantes en el municipio de Villaflores, Chiapas; México. Proyecto de investigación en colaboración con la iniciativa CIMMYT-Mas Agro.
- Martínez-Viera, R., M. López, B. Dibut A., C. Parra Z. y J. Rodríguez S. 2007. La fijación biológica de nitrógeno atmosférico en condiciones tropicales. Publicación especial del Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierra. 172 p.
- Martínez-Viera, M. Brossard, A. Bolívar A Alfonso, A. alba, Y H. Abreo. 2008. Efecto de Biofertilizantes Bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de Maíz en dos suelos contrastantes venezolanos. *Agronomía Tropical* 58 (4): 391-401.

- Martínez, V. R. 2002. Biofertilización y producción agrícola sostenible. Retos y perspectivas. XIII Congreso Científico del INCA. Programa y resúmenes. La Habana.
- Matheus, J.; Caracas, J.; Mantilla, F.; Fernández, O. 2007. Eficiencia Agronómica relativa de tres abonos orgánicos (vermicompost, compost, y gallinaza) en plantas de maíz (*Zea mays* L.). *Agricultura Andina*. 27(12): 27-38.
- Mayak S., Tirosh T. & Glick B. 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42: 565-572.
- Medina, N., Pino, M, A. 1992. Evaluación de diferentes especies de bacterias y hongos MVA y sus combinaciones como biofertilizantes para el tomate cultivado fuera de época. VIII Seminario Científico del INCA. P38.
- Medina, S., López, M. y J. Vilorio, (2011). Evaluación de la biofertilización en el cultivo maíz en el estado Guárico. En: Memorias XIX Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo. Calabozo, Noviembre, 2011.
- Mendoza-Herrera A, Cruz-Hernández A, Jacques-Hernández C. 2008. Aislamiento, selección y evaluación de un inoculante basado en cepas nativas de *Azospirillum* en el norte de Tamaulipas 257 pp.
- Mendoza P. S. 2011. Evaluación de Biofertilizantes para el cultivo de maíz en Villaflores, Chiapas, PV-2012 en memoria del 3^{er}. Simposio de la Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible. Puebla.
- Miller R. H. 1990. Soil microbiological inputs for sustainable agricultural systems In: Sustainable Agriculture Systems: C.A. Edwards, R.P. Madden, R. H. Miller (eds.), Gar House, 614- 623.
- Miller G.T. 1994. Ecología y Medio Ambiente: Introducción a la Ciencia Ambiental, el Desarrollo Sustentable y la Conciencia de Conservación del Planeta Tierra. Iberoamericana, México.
- Mitchell, J. W. y Gregory, L. E 1972. Enhancement of overall growth, a new response to brassins. *Nature* 239-54.
- Molina, S. 2006. Desarrollo de un biofertilizante a partir de cepas de *Azospirillum* spp. para el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), variedad INIAP-102 con dos fertilizaciones químicas y dos fertilizaciones orgánicas. Universidad Técnica de

Cotopaxi. Ciencias Agrícolas, Ambientales y Veterinarias. Tesis Ingeniero Agrónomo.

- Moraga, N.; Meza, I. 2005. Evaluación de dos dosis de fertilizantes orgánicos (gallinaza, estiércol vacuno y un mineral sobre la dinámica del crecimiento y rendimiento del maíz (*Zea mays* L.) variedad NB-6. Tesis, Ing. Agro. UNA, Facultad de agronomía, Managua, NI. 45 p.
- Morán, E., J., & Pérez Ardon, M., A. 2000. Efecto de diferentes arreglos topológicos de maíz (*Zea mays* L) y frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el crecimiento desarrollo y rendimiento de los cultivos. Trabajo de Diploma. Universidad Nacional Agraria, CENIDA, Managua, Nicaragua. 45 p.
- Moreno, B.A.M., Narro, L.L.A., Vanegas, A.H., Molina, G.C.E., Ospina, R.J.G. & Agudelo, M. 2008. Respuesta del maíz a la fertilización química en la zona cafetera central de Colombia. *Cenicafé*, 59(1):75-80.
- Murty. M. G. y Ladha, J. K. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponics conditions. *Plant Soil* 108:281-285.
- Naiman DA, Latrónico A, García DSIE 2009 Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *Eur. J. Soil Biol.* 45:44-51.
- Nieuwkoop, M. V. W. López Báez, A. Zamarripa Morán, P. Cadena Iñiguez, B. Villar Sánchez y R. de la Piedra Constantino. 1992. Uso y conservación de los recursos naturales en la Frailesca, Chiapas: Un diagnóstico. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. México, DF.
- Novo, R. 2002. Memorias curso internacional de Microbiología de Suelos, los biofertilizantes y la biofertilización. Quito - Ecuador. ASOINCO.
- Omay, S. H, Schmidt, W. A. Martín P.1993. Indolaetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd. under in vitro conditions. *Can J. Microbiol.*39:187-192.
- Okon, J. y Vanderleyden. 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biol. Fert. Soils* 36:284–297.
- Okon, Y. and Kapulnik, Y. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant Soil.* 90:3-16.

- Okon, Y. and Labandera, C. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum* evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26 (12): 1591–160.
- Olalde, P.V. y Serratos, R. 2004. Biofertilizantes: Micorrizas y bacterias promotoras del crecimiento vegetal. In: Simposio de Biofertilización. INIFAP/Centro de Biotecnología Genómica-IPN. Campo Experimental Río Bravo-INIFAP. Río Bravo, Tamaulipas.
- Olalde, P. V, y Serratos R. (2008), Biofertilizantes: Micorrizas y bacterias promotoras del crecimiento En: Díaz Franco A, Mayek-Pérez N (eds). La biofertilización como tecnología Sostenible. Plaza y Valdez- CONACYT. Distrito Federal. 257 pp.
- Oliveira, E. E., Silva A, A. E., Nagashima, T. J., Salgado, G. M. C., Aguiar, L. M., Rodríguez, M. H., Batista, A. I., Bayer, M. P., Ricardo, M. P. S. N., Gomes, O. A. &
- Olymar L. Brown M. y Reyes G. R. E. 2003. Tecnologías limpias aplicadas a la agricultura. Interciencia. Versión impresa ISSN 0378-1844. INCC v.28 n.5. Caracas.
- Ortiz V., G. B. y C. A. Ortiz S. 1984. Edafología. 4a ed. Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 371 p.
- Ortiz V., B. y C. A. Ortiz S. 1990. Edafología 5° edición. Departamento de suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 371 p.
- Osman, M. B.; Abdulhamid, A.; Mohammad, N. and Wan, M. W. Y. 2010. Comparison of different delivery system of *Trichoderma* and *Bacillus* as biofertilizer. *Adv. Environ. Biol.* 4: 31-33.
- Paredes- Cardona, E., M. Carcaño Montiel, M. A. Mascarua Esparza y J. Caballero Mellado. 1998. Respuesta del maíz a la inoculación con *Azospirillum brasilense*. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 30:351-355.
- Pastora., R. 1996. Evaluación de arreglos de siembra de Fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.), sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos y su uso equivalente de la tierra Tesis. UNA. Managua-Nicaragua 43p.
- Pearson, R.W. y Adams, F., 1967. eds. Soil acidity and liming. Madison, Wisc., American Society of Agronomy, 274 pg.

- Pecina, Q. V.; Hernández, M. L.; Moreno, M. N.; Simpson, J.; Martínez, V. O. and Gil, V. K. C. 2005. Diversidad genética en soya del trópico húmedo de México determinada con marcadores AFLP. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:63–69.
- Peix A, Rivas-Boyer A A, Mateos P F, Rodríguez-Barrueco C, Martínez-Molina E, Velazquez E. 2001. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem.* 33:103-110.
- Peña-Cabriales, J. J.; Grageda-Cabrera, O. A.; Kola, V. and Hardarson, G. 1993. Time course of N₂ in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Soil.* 152:115-121.
- Peña-Cabriales, J. J. y Grageda-Cabrera, O. A. 1997. Dinámica del nitrógeno en el ecosistema agrícola. 345-366 pp. In: Ruiz-Herrera, J. (Ed.). *La Microbiología en México*. IPN. México. 371pp.
- Peña H. E y Reyes. L. 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) *Interciencia* 32 (8): 560-564.
- Pereira J., Cavalcante V., Baldani J. & Dobereiner J. 1988. Sorghum and rice inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum seropedicae* in field. *Plant Soil.* 110: 269-274.
- Perotti, E. B.R. y A. Pidello. 2012. Plant-soil-microorganism interactions on nitrogen cycle: *Azospirillum* inoculation. pp 189-208. G. Montanaro y B. Dichio (Eds.). *Advances in Selected Plant Physiology Aspects*. In Tech. Europa. www.intechopen.com.
- Piccoli, P., Lucangeli, C., Achneider, G., Bottini, R. 1997. Hydrolysis of gibberellins to glucoside by *Azospirillum lipoferum* culture in a nitrogen free biotin based chemically defined medium. *Plant Growth Regulator*. Pp. 179-182.
- Piñuela, J. (2003). El humus de lombriz. Disponible jp_m0+_k@hotmail.com. Fecha 4 de diciembre del 2009.
- Pooja, S.; Dudeja, S. and Neeru, N. 2007. Development of multiple co-inoculants of different biofertilizers and their interaction with plants. *Archives of Agron. Soil Sci.*53: 221-230.
- Polanco-Jaime, A. y Flores M. T. 2008. Bases para una política de I&D e innovación de la cadena de valor del maíz, Foro Consultivo y Científico, A.C., México.
- Pulido, L. 2002. Manejo integrado de biofertilizantes para la producción de posturas de alta calidad en los cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y cebolla (*Allium cepa* L.) sobre suelos ferralíticos rojos de Ciego de Ávila. Tesis

presentada en opción al grado científico de Dr. en Ciencias Agrícolas. La Habana. 97.

- Rangel-Lucio, J.A., R. Ferrera-Cerrato, J.D. Molina-Galan y N. Rodríguez-Mendoza. 1991. Influencia de la variabilidad genética del maíz (*Zea mays* L.) sobre la actividad de *Azospirillum* sp, In: La investigación Edafológica en México 1990-1991. eds. JL Tovar, R. Quintero- Lizaola. Memorias XXIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, Pachuca, Hidalgo, México.
- Rangel-Lucio, J.A., M.N. Rodríguez-Mendoza, R. Ferrera-Cerrato, J.Z. Castellanos-Ramos, R.M. Ramírez-Gama y E. Alvarado-Bárceñas (2011). Afinidad y efecto de *Azospirillum* sp. en maíz. *Agronomía Mesoamericana* 22: 269-279
- Read, D. 1998. Plants on the web. *Nature* 396:22–23.
- Reyes C., P. 1990. El maíz y su cultivo. AGT. Editorial México. Tercera Edición. México D.F. p 320-350.
- Rigby D. Woodhouse P, Young T, Burton M. 2001. Constructing a Farm Level Indicator of Sustainable Agricultural Practice. *Ecological Economics* 39:463-478.
- Ritchie, S., Hanway, J., Benson. G. 2002. Cómo se desarrolla una planta de maíz. Spanish edition. Iowa State University.
- Robles B.H. 2010. The long-term view: Comparing the Result of Mexico's 1991 and 2007 Agricultural Censuses. *Subsidizing Inequality: Mexican Corn Policy Since NAFTA*. J. Fox and L. Haight. México, Woodrow Wilson International Center For Scholars; Centro de Investigación y Docencia Económicas; University of California Santa Cruz.
- Rodríguez Cáceres E A, Di Ciocco C, Pacheco Basurco J C. 1996. Influencia de la inoculación con *Azospirillum brasiliense* en trigo cultivado en suelos de la provincia de la Pampa, Argentina. *Ciencia del Suelo* 14: 110-112.
- Rodríguez, H. y R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17. 319-339.
- Rodríguez, L. y Solís, T. 1997. Evaluación de cuatro tipos de biofertilizantes, sobre el crecimiento, desarrollo y rendimiento en el cultivo del maíz (*Zea mays* L). Tesis de Ing. Agr. Managua, Nicaragua. 45 p.

- Romani, G.; Marre, MT; Bonetti, A.; Apis Cerana, R.; Lado, P. y Marre, E. 1983. Efectos de brassinoesteroides sobre el crecimiento y la extrusión de protones electrogénico en segmentos de raíz de maíz. *Physiol Plant*. 59:528-532.
- Rosello, R. 2001. Ensayo fertilizante orgánico AMINOFERT en maíz (en línea) Buenos Aires, AR. s.e. Consultado 5 may. 2003. Disponible <http://www.aminofert.com>.
- Ruiz, C.; Russián, T.; Tua, D. 2007. Efecto de la fertilización orgánica en el cultivo de la cebolla (En línea). *Agronomía Tropical*. Consultado 10 may. 2012. Disponible en <http://www.scielo.org.ve/pdf/at/v57n1/art02.pdf>
- Ruiz-Lozano JM & Azcón R 1993. Specificity and functional compatibility of VA mycorrhizal endophytes in association with *Bradyrhizobium* strains in *Cicer arietinum*. *Symbiosis* 15: 217– 226.
- Ruíz, M., E. Armada, Y. Muñoz, I. García, R. Aroca, J.M. Ruíz and R. Azcón. 2011. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology* 168(10): 1031- 1037.
- SAGARPA. 2010, <http://www.siap.gob.mx>.
- Shamsuddin, Z. H. 1994. Microbial inoculants for increased crop production. Research UPM. Malaysia. 156 p.
- Saldaña, F. y Calero, M. 1991. Efectos de rotación de cultivos y control de malezas sobre las cenosis de las malezas en los cultivos de maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) y pepino (*Cucumis sativus* L). Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 63 pp.
- Samanta, A. K., Seniana, S., Kolte, A. P., Sridhara, M., Sampatha, K. T., Jayapala, N. & Devia, A. 2012. Production and in vitro evaluation of xylo oligosaccharides generated from corn cobs. *Food Bioprod. Process.*, 90, 466-474.
- Sánchez de la C., R. y A. Díaz F. 2005. Influencia de la biofertilización en trigo en condiciones sequía y humedad limitada en el suelo. In. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible, A.C. VIII Simposio Internacional y III Congreso Nacional de Agricultura Sostenible. Libro de Artículos Científicos Breves. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Instituto de Ecología y Alimentos. Cd Victoria, Tamps, México. 121 p.

- Sandia L, Cabeza M. Arandia J. Bianchi G. 1999. Agricultura, salud y Ambiente. CIDIAT. FUNDACION Polar. Caracas. Venezuela. 243 pp.
- Santillana N., Freire J.R.J., Sá, E.L.S. & Sato M. 1998. Avaliação de estirpes de Rizóbio para a produção de inoculantes para trevo vermelho. R. Bras. Ci. Solo. 22(2): 231-37.
- Santillana N. 2006. Efecto de la Biofertilización en el crecimiento de *Trifolium repens* y *Lolium multiflorum* en condiciones de invernadero. En: Vilca, J. (Edit). 2001. Investigación. (9). ISSN 1684-0089.
- Sarig, S., Blum, A. y Okon, Y. 1988. Improvement of the water status and yield of field-grown grain sorghum (*Sorghum bicolor*) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. J. Agric. Sci. Camb. 110:271-277.
- Stancheva, I., I. Dimitrov, N. Kaloyanova, A. Dimitrova y M. Angelov. 1992. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on photosynthetic enzyme activities and grain yield in maize. Agronomie 12: 319-324.
- Statistical Analysis System (SAS). (1999-2000). SAS/STAT user's Guide: Ver 8.1. Cary NC, USA: SAS Institute Inc.
- Steenhoudt, O. y Vanderleyden, J. (2000). *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. FEMS Microbiol. Reviews 24: 487 – 506.
- SECAM, 2012 Secretaria del Campo del Estado de Chiapas. Informe del congreso del estado de Chiapas sobre el año 2011. Publicado en www.sexenio.com consultado 25 abril 2013.
- Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2008. Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACÓN) 1980–2003. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Sessitsch, A.; Howieson, J. G.; Perret, X.; Antoun, H. and Martinez-Romero, E. 2002. Advances in Rhizobium research. Crit. Rev. Plant Sci. 21:323-378.
- Saubidet, M.I., Fatta, N., and Barneix, A.J. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. Plant Soil 245: 215-222.
- Shafir, G. R.; Boyer, J. S. and Gerdeman, J. W. 1972. Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. Plant Physiol. 49:700-703.

- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 1997. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen/03_suelos/cap3.html> (consultado 11 de agosto de 2015)
- Selosse, M. A. and Le Tacón, F. 1998. The land flora: a phototroph-fungus partnership? *Tree* 13 (1): 15-20.
- Sevilla, M., R.H. Burris, N. Gunapala y C. Kennedy (2001). Comparison of benefit to sugarcane plant growth and $^{15}\text{N}_2$ incorporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus* wild-type and Nif₂ mutant strains. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 14: 358-366.
- Steenhoudt, O. y Vanderleyden, J. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Reviews* 24: 487-506.
- Silva, E., Dobronsky, J., Heredia, J. 2000a. Variedad de Maíz Blanco Harinoso para la provincia de Chimborazo. "Blanco Blandito mejorado". INIAP 102. Boletín divulgativo No. 181. Programa de Maíz. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador.
- Silva, E., Dobronsky, J., Heredia, J. 2000b. Variedad de Maíz Amarillo Harinoso Precoz para la provincia de Imbabura. "Chaucho mejorado" INIAP 122. Boletín divulgativo No. 159. Programa de Maíz. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador.
- Simard S.W. y Durall D.M. 2004. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany* 82:1140-1165.
- Simon, L.; Bousquet, J.; Lévesque, R. C. and Lalonde, M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*. 363:67-69.
- Somers, E.; Vanderleyden, J.; and Srinivasan, M. 2004. Rhizosphere bacterial signaling: A love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol.* 30: 205-240.
- Sulbaran, J. (2010). Evaluación de biofertilizantes nativos en el cultivo de cebolla en el Sombrero, estado Guárico. Trabajo de pasantías, como requisito para optar al título de ingeniero agrónomo en la Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos. 40 p.
- Surange S, Kumar N. 1993. Phosphate solubilization under varying pH by *Rhizobium* from tree legumes. *Indian J. Exp. Biol.* 31:855-857.

- Smith, S. E. and Read, D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd Edition. Academic Press. San Diego.
- Schlöter, M.; Hatmann, A. 1998. Endophytic and surface colonization of wheat roots (*Triticum aestivum*) by different *Azospirillum brasilense* strains studied with strain-specific monoclonal antibodies. *Symbiosis*. 25 (1-3): 159-179.
- Tabosa, E. E. S. (2010). Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: Production and characterization. *Bioresource Technol.*, 101, 5402-5406.
- Takematsu, T.; Takenchi, Y. and Koguchi, M. 1983. Reguladores de crecimiento de nuevas plantas, análogos brasinolida: sus efectos biológicos y la aplicación a la agricultura y la producción de biomasa. *Plantas* 18:2-15.
- Tarrand, J.J., N.R. Krieg y J. Döbereiner. 1978. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. *Can. J. Microbiol.* 24: 967-980.
- Tavera G. G. 1985. Criterios para la interpretación y aprovechamiento de los reportes de laboratorio para las áreas de asistencia técnica. Publicación 3. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, Delegación de la Laguna, Matamoros, Coahuila. 258 pp.
- Terry, Elein María de los A. Pino y N. Medina 1994. Uso de biofertilizantes y bioestimuladores en el cultivo del tomate en época temprana. / En: Seminario Científico (La Habana) Programa y Resúmenes. La Habana: INCA, 1994. p.65.
- Tien, T.M., M.H. Gaskins y D.H. Hubbell (1979). Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology* 37: 1016-1024.
- Tisdale, S. L. and Nelson, W. L. 1975. *Soil Fertility and Fertilizers*. 3rd Ed. Macmillan Pub. New York, USA. 694 pp.
- Tisdale, S. L., W. L. Nelson, and J. D. Beaton. 1996. "Soil fertility and Fertilizers." Fourth Edition. Mac Millan Publishing Company, New York, N. Y.
- Turk A, Turk J, Wittes R. 1976. *Tratado de Ecología*. Interamericana. México 453 pp.

- Trujillo, C. C. 2007. Las micorrizas como procesos simbióticos. Universidad Viña del Mar. 1-8 pp. <http://www.uvm.cl/educación/publicaciones/integra/10trujillo.pdf>. Consultado julio de 2008.
- Uribe Valle, Gabriel, & Dzib Echeverría, Roberto. 2006. Micorriza arbuscular (*Glomus intraradices*), *Azospirillum brasilense* y Brassinoesteroide en la producción de maíz en suelo luvisol. Agricultura técnica en México, 32(1), 67-76.
- Vanden Broek, A., A. van Gool y J. Vanderleyden. 1989. Electroporation of *Azospirillum brasilense* with plasmid DNA. FEMS Microbiol. Lett. 61:177-182.
- Vanden Broek, A., J. Michiels, A. Van Gool y J. Vanderleyden. 1993. Spatial-temporal colonization patterns of *Azospirillum brasilense* on the wheat root surface and expression of the bacterial NifH genes during association. Mol. Plant Microbe Inter. 6: 592-600.
- Vásquez G., J. y Ruiz G., O. M. 1993. Influencia de cultivos antecesores y métodos de control de malezas sobre la cenosis de las malezas, crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos de maíz (*Zea mays* L.), Sorgo (*Sorghum bicolor* L.), Moench) y Pepino (*Cucumis sativus* L.). Tesis. UNA Managua-Nicaragua. P 75.
- Vassilev, N., y M. Vassileva. 2003. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. Appl. Microbiol. Biot. 61:435-440.
- Vega, J. 2004. Aplicaciones de micorrizas arbusculares (MA) sobre plataneras micropropagadas. Memorias del taller internacional sobre producción del banano orgánico y ambientalmente amigable. 106-107 pp.
- Velázquez, M. Dora. 2010. La biodiversidad. LEISA. Revista de Agroecología. Fuente: [http://lacionomaerica.leisa.info/index.php?url=article details. Tpl&p \[_id\]=242240](http://lacionomaerica.leisa.info/index.php?url=article%20details.Tpl&p[_id]=242240).
- Vera, D; Pérez, y H; Valencia, H. 2002. Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizosfera de razas (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). Acta Biológica Colombiana. 7(1):33-40.
- Veeraswamy, J., T. Padmavathi and K. Venkateswarlu. 1992. Interaction effects of *Glomus intraradices* and *Azospirillum lipoferum* on sorghum. Indian J. Microbiol. 32: 305-308.
- Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil. 255:571-586.

- Viets, F.G. y Lindsay, W.L. 1973. Testing soils for zinc, copper, manganese and Iron. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin.
- Volpin H & Kapulnik Y 1994. Interaction of *Azospirillum* with beneficial soil microorganisms. In: Okon Y (Ed) *Azospirillum/Plant Associations* 111-118. CRC Press, Boca Raton.
- Watanabe, I. y Lin, C. 1984. Response of wetland rice to inoculation with *Azospirillum lipoferum* and *Pseudomonas* sp. *Soil Sci. Plant Nutr.* 30:117.
- Weller DM and Thomashow LS. 1994. Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere. In: O'Gara F, Dowling DN and Boesten B (eds) *Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms. Biotechnology and the Release of GMOs.* VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, pp 1-18.
- Werner, D. 1992. Physiology of nitrogen-fixing legume nodules. Compartments and functions. In: Stacey, G.; Burris, R. H. and Evans, H. J. (eds.). *Biological nitrogen fixation.* Chapman & Hall. New York, USA. P 399-431.
- Wooding R., G. 1967. Los suelos, su origen, constitución y clasificación e introducción a la edafología. Trad por Dr. Luis Amorós Ediciones Omega, Barcelona 512 Pág.
- Wright Sf & A Upadhyaya .1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science* 161: 575-586.
- Yamada, T. 2000. Función del boro y proceso fisiológico afectados por su deficiencia y síntomas en la planta. Römheld, Comunicación personal POTAFOS: informaciones agronómicas 90:15, pp 8-10.
- Yáñez, C.; Zambrano, J.; Caicedo, M.; Sánchez, H.; Heredia, J. 2003. Catálogo de Recursos Genéticos de Maíces de Altura Ecuatorianos (Programa de Maíz. EESC-INIAP, Quito, Ecuador. p 2.
- Yáñez, C., Zambrano, J., Caicedo, M., Sánchez, H. y Heredia, J. 2004. Informe Técnico Final del Proyecto IQ-CV_102, Programa de Maíz. Estación Experimental Santa Catalina; INIAP, Quito, Ecuador. Pp. 41-49
- Yáñez, C. 2007. Manual de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras. Proyecto de emergencia para la rehabilitación agro productiva de la Sierra del Ecuador. FAO/TCP/ECU/3101. Quito -Ecuador. Pp: 5, 10-17.

Young, C. C; Juang, T. C. and Chao, C. C. 1998. Effects of *Rhizobium* and vesicular arbuscular mycorrhiza inoculations on nodulation, symbiotic nitrogen fixation and soybean yield in subtropical–tropical fields. *Biol. Fertil. Soils* 6:165-169.

Zambrano, J.A. y L. Díaz. 2009. Efecto de la inoculación de *Azospirillum brasilense* y *Glomus* sp. en *Gmelina arborea* durante su germinación y manejo en vivero. *Universitas Scientiarum* 13(2): 162-170.

Zhang T. Huang J. y Yu G. 2011. “Influence of pesticides contamination on the emission of PCDD/PCDF to the land from open burning of corn straws”, *Environmental Pollution*, Num. 159, vol 6, pp 1744-1748.

APÉNDICE

Cuadro 1 A. Porcentaje de Emergencia (P.E)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	461.222222	57.652778	0.75	0.6467
ERROR	27	2071.000000	76.703704		
TOTAL	35	2532.222222			

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (P.E)
0.182141	9.977542	8.758065	87.77778

Cuadro 2A Altura de Planta (A.P)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	0.41888889	0.05236111	3.75	0.0046
ERROR	27	0.37750000	0.01398148		
TOTAL	35	0.79638889			

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (A.P)
0.525985	5.578977	0.118243	2.119444

Cuadro 3A Altura de Mazorca (A.M)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
--------	----	----	----	---------	------

MODELO	8	0.70722222	0.08840278	19.48	<.0001
ERROR	27	0.12250000	0.00453704		
TOTAL	35	0.82972222			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (A.M)
0.852360	5.871359	0.067358	1.147222

Cuadro 4A. Número de Plantas por Parcela Útil (N.P.P.U)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	70.7222222	8.8402778	2.45	0.0390
ERROR	27	97.5000000	3.6111111		
TOTAL	35	168.2222222			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (N.P.P.U)
0.420410	5.246206	1.900292	36.22222

Cuadro 5A. Número de Mazorcas por Parcela Útil (N.M.P.U)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	118.5000000	14.8125000	2.27	0.0536
ERROR	27	176.5000000	6.5370370		
TOTAL	35	295.0000000			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (N.M.P.U)
0.401695	6.879183	2.556763	37.16667

Cuadro 6A. Peso de Mazorcas con Brácteas (P.M. c. B)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	118.5000000	14.8125000	2.27	0.0536
ERROR	27	176.5000000	6.5370370		

TOTAL	35	295.0000000		
-------	----	-------------	--	--

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (P.M.c.B)
0.204332	16.43362	0.931695	5.669444

Cuadro 7A. Peso de Mazorca sin Brácteas (P.M.s.B)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	4.92000000	0.61500000	0.88	0.5459
ERROR	27	18.88000000	0.69925926		
TOTAL	35	23.80000000			

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (P.M.s.T)
0.206723	16.18485	0.836217	5.166667

Cuadro 8A. Peso de 10 Mazorcas (P.T 10 M)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	0.16135556	0.02016944	0.38	0.9217
ERROR	27	1.43130000	0.05301111		
TOTAL	35	1.59265556			

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de P.T 10 M
0.101312	13.81909	0.230241	1.666111

Cuadro 9A. Diámetro de Mazorcas (D.M)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
--------	----	----	----	---------	------

MODELO	8	0.14722222	0.01840278	0.65	0.7297
ERROR	27	0.76500000	0.02833333		
TOTAL	35	0.91222222			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (D.M)
0.161389	4.771420	0.168325	3.527778

Cuadro 10A. Longitud de Mazorcas (L.M)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	4.55555556	0.56944444	0.68	0.7083
ERROR	27	22.75000000	0.84259259		
TOTAL	35	27.30555556			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (L.M)
0.166836	5.687680	0.917928	16.13889

Cuadro 11A. Número de Hileras por Mazorcas (N.H.p.M)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	14.0000000	1.7500000	0.51	0.8396
ERROR	27	93.0000000	3.4444444		
TOTAL	35	107.0000000			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (N.H.p.M)
0.130841	11.02528	1.855921	16.83333

Cuadro 12A. Número de Granos por Hileras (N.G.p. H)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	151.5000000	18.9375000	1.24	0.3165
ERROR	27	413.5000000	15.3148148		
TOTAL	35	565.0000000			

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (N.G.p.H)
0.268142	10.82050	3.913415	36.16667

Cuadro 13A. Número de Granos por Mazorca (N.G.p. M)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	29118.2222	3639.7778	0.63	0.7452
ERROR	27	155907.0000	5774.3333		
TOTAL	35	185025.2222			

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (N.G.p.M)
0.157374	12.53370	75.98903	606.2778

Cuadro 14A. Peso de 100 Granos (P.100 G)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	0.00000622	0.00000078	2.33	0.0476
ERROR	27	0.00000900	0.00000033		
TOTAL	35	0.00001522			

R-cuadrado	Coefficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (P.100 G)
0.408759	2.244558	0.000577	0.025722

Cuadro 15A. Diámetro de Olote (D. O)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
--------	----	----	----	---------	------

MODELO	8	0.14583333	0.01325758	1.97	0.0802
ERROR	27	0.16166667	0.00673611		
TOTAL	35	0.30750000			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (D.O)
0.474255	6.699903	0.082074	1.225000

Cuadro 16A. Peso de Olote (P. O)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	0.00080000	0.00010000	9.00	<.0001
ERROR	27	0.00030000	0.00001111		
TOTAL	35	0.00110000			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de P.O
0.727273	0.985222	0.003333	0.338333

Cuadro 17A. Rendimiento por Parcela Útil (R.P .U)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	4.25892522	0.53236565	0.83	0.5839
ERROR	27	17.31228375	0.64119569		
TOTAL	35	21.57120897			

R-cuadrado	Coficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (R.P.U)
0.197436	18.11019	0.800747	4.421528

Cuadro 18A. Rendimiento por Hectárea (R.H)

FUENTE	DF	SC	CM	F-VALOR	PR>F
MODELO	8	6.65096472	0.83137059	0.83	0.5843
ERROR	27	27.05131825	1.00190068		
TOTAL	35	33.70228297			

R-cuadrado	Coeficiente de Varianza	Raíz MSE	Media de (R.H)
0.197345	18.11028	1.000950	5.526972