

Efecto de *Azospirillum* sp., *Trichoderma harzianum* y micorrizas en la producción de pasto Marandú (*Brachiaria brizantha*) y pasto Guinea (*Panicum maximum*)

Magalis Ailyn Núñez Serracín

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Honduras

Noviembre, 2018

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Efecto de *Azospirillum* sp., *Trichoderma harzianum* y micorrizas en la producción de pasto Marandú (*Brachiaria brizantha*) y pasto Guinea (*Panicum maximum*)

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera Agrónoma en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Magalis Ailyn Núñez Serracín

Zamorano, Honduras


Noviembre, 2018


Efecto de *Azospirillum* sp., *Trichoderma harzianum* y micorrizas en la producción de pasto Marandú (*Brachiaria brizantha*) y pasto Guinea (*Panicum maximum*)

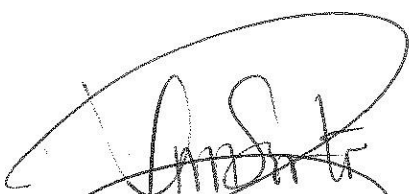
Presentado por:

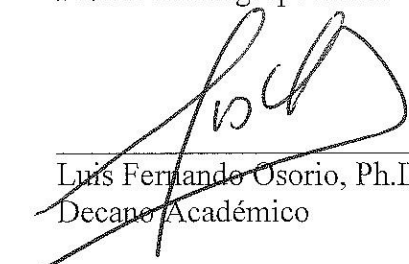
Magalis Ailyn Núñez Serracín

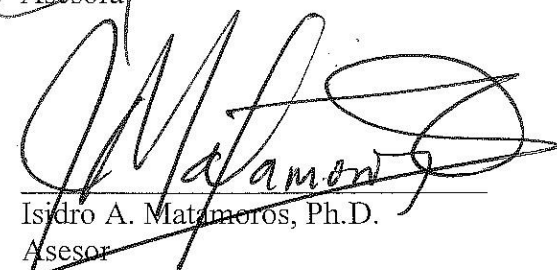
Aprobado:


Carlos Rogelio Trabanino, M.Sc.
Asesor Principal


Rogel Castillo, M.Sc.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria


Rufina Yuliana Sorto, Ing.
Asesora


Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Decano Académico


Isidro A. Matamoros, Ph.D.
Asesor

Efecto de *Azospirillum* sp., *Trichoderma harzianum* y micorrizas en la producción de pasto Marandú (*Brachiaria brizantha*) y pasto Guinea (*Panicum maximum*)

Magalis Ailyn Núñez Serracín

Resumen: Los pastos son considerados como la fuente más importante de forraje para la alimentación del ganado. El uso indiscriminado de fertilizantes como urea para mantener su productividad contribuye a la contaminación ambiental, por lo que se busca una alternativa a través del uso de microorganismos que permitan mejorar la eficiencia del uso de nitrógeno en los pastos *Brachiaria brizantha* y *Panicum maximum*. Los tratamientos utilizados fueron *Azospirillum* sp. (5.2×10^8), mezcla de *Azospirillum* sp. + micorrizas (5.2×10^8 y 100 g/m), *Azospirillum* sp. + *T. harzianum* (5.2×10^8 y 1.2 g/L), *Azospirillum* sp. + Urea (5.2×10^8 y 3.6 g/m²), Urea (7.3 g/m²) y un tratamiento control sin aplicación. Se utilizaron bloques completos al azar y se evaluaron el desarrollo radicular, proteína cruda, materia seca y porcentaje de nitrógeno, nitrato y amonio presentes en el follaje al día 50 después de la siembra. Los resultados más altos para desarrollo radicular en ambos pastos fueron obtenidos por el tratamiento de *Azospirillum* sp. + Micorrizas, mientras que la mayor producción de materia seca fue dada por el tratamiento *Azospirillum* sp. Finalmente, *Azospirillum* sp. mostró los valores más altos para porcentaje de proteína cruda, nitrógeno, nitrato y amonio presente en el follaje para *P. maximum*. En cambio, para *B. brizantha* los mayores valores para estas variables fueron obtenidos en los tratamientos *Azospirillum* sp. + Urea y Urea.

Palabras clave: Desarrollo radicular, materia seca, microorganismos del suelo, nitratos, proteína cruda.

Abstract: Pastures are considered as the most important source of forage for livestock feed. The indiscriminate use of fertilizers such as urea to maintain their productivity contributes to environmental pollution, which is why the implementation of microorganisms that allow improving the efficiency of nitrogen use in *Brachiaria brizantha* and *Panicum maximum* pasture can be an environmentally responsible alternative. The treatments used for this experiment were *Azospirillum* sp. (5.2×10^8), mixture of *Azospirillum* sp. + mycorrhizae (5.2×10^8 and 100 g / m), *Azospirillum* sp. + *T. harzianum* (5.2×10^8 and 1.2 g / L), *Azospirillum* sp. + Urea (5.2×10^8 and 3.6 g / m²), Urea (7.3 g / m²) and a control treatment. Random complete blocks was the experimental design to evaluate root development, crude protein, dry matter and percentage of nitrogen, nitrate and ammonium present in the foliage at day 50 after planting. The highest results for root development in both pastures was the block with *Azospirillum* sp. + Mycorrhizae treatment, while the *Azospirillum* sp. application presented the highest production of dry matter, it also showed the highest values for crude protein and percentage of nitrogen, nitrate and ammonium present in the foliage for *P. maximum*. In contrast, the highest values for these variables in *B. brizantha* were obtained in the treatments with *Azospirillum* sp. + Urea and Urea alone.

Key Words: Crude protein, dry matter, nitrates, root development, soil microorganisms.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. METODOLOGÍA	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
4. CONCLUSIONES	11
5. RECOMENDACIONES	12
6. LITERATURA CITADA	13
7. ANEXO	17

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXO

Cuadros	Página
1. Tratamientos, dosis y método de aplicación utilizados <i>Brachiaria brizantha</i> y <i>Panicum maximum</i>	4
2. Desarrollo radicular de los pastos Marandú (<i>Brachiaria brizantha</i>) y Guinea (<i>P. maximum</i>) al día 50 después de siembra.....	8
3. Materia seca de los pastos Marandú (<i>Brachiaria brizantha</i>) y Guinea (<i>Panicum maximum</i>) al día 50 después de siembra.....	9
4. Cantidad de Nitrógeno, nitrato y amonio presente en el follaje de Marandú (<i>Brachiaria brizantha</i>) y Guinea (<i>P. maximum</i>) al día 50 después de siembra....	10
5. Porcentaje de proteína cruda en los pastos Marandú (<i>Brachiaria brizantha</i>) y Guinea (<i>Panicum máximum</i>) al día 50 después de siembra.....	10
Figuras	Página
1. Distribución de tratamientos en campo para <i>B. brizantha</i> y <i>P. maximum</i>	5
2. Raíz escaneada de pasto Marandú.....	6
Anexo	Página
1. Análisis de suelo, previo a la siembra	17

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas ganaderos y la alimentación de bovinos dependen casi de manera exclusiva de forrajes, durante los períodos de sequías la calidad de éstos disminuye drásticamente, lo cual se ve reflejado en la baja producción de carne o leche, incluso afecta los factores reproductivos como intervalos entre parto, lo cual repercute de manera directa en los ingresos económicos de los productores (Cajas *et al.* 2012). Uno de los factores fundamentales que influye de manera directa sobre la producción de pasturas son las condiciones del suelo, debido a su pérdida de fertilidad y baja disponibilidad de nutrientes como el nitrógeno, los productores se ven obligados a recurrir al uso de fertilizantes nitrogenados, lo cual en algunos casos no es viable por los altos costos en los que se incurre (Garrido *et al.* 2010).

Dentro de las prácticas agronómicas, la fertilización se considera como una de las más importantes, esta se enfoca principalmente en la aplicación de nitrógeno para un buen establecimiento de la pastura, en ocasiones esta aplicación de nitrógeno puede no ser tan efectiva, debido a la volatilización o pérdida que sufre (Proaño 2017). El nitrógeno es considerado como un elemento esencial en la nutrición de las plantas, es uno de los factores limitantes más importantes en el suelo. Este macronutriente participa en la síntesis de proteínas y es vital para toda la actividad metabólica de la planta, su deficiencia provoca reducciones severas en el crecimiento del cultivo, básicamente por una menor tasa de crecimiento y expansión foliar, que reducen la captación de la radiación fotosintéticamente activa (Paredes 2013).

El uso de fertilizantes nitrogenados se considera una parte fundamental en el manejo de cultivos, por lo que su uso indiscriminado provoca grandes impactos negativos sobre el medio ambiente como el aumento en la emisión de gases de efecto invernadero, la contaminación de fuentes hídricas y el deterioro del suelo. Su uso está regulado por consideraciones económicas ya que los fertilizantes sintéticos representan 20-30% de los costos de producción y el aumento en los costos de fertilizantes como la urea, reducen las posibilidades de uso del nitrógeno, Los agricultores de Norte América utilizan hasta la fecha más de 300,000 toneladas de fertilizantes nitrogenados, lo que indica un aumento del 0.5% anual desde el año 2014 (FAO 2015). Es aquí donde cobra importancia la fijación biológica de nitrógeno con ayuda de microorganismos (Rodríguez 2009).

La fijación de nitrógeno atmosférico a través de microorganismos se considera una alternativa para proveer dicho elemento a las plantas y de esta manera disminuir el uso de fertilizantes químicos, aumentando el rendimiento de cultivos, acortando ciclos y reduciendo la contaminación ambiental (Lara *et al.* 2011). Dentro de las bacterias más

estudiadas y que presenta mejor relación con raíces de gramíneas está *Azospirillum* con la cual se han realizado experimentos con gramíneas forrajeras como *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha* (Reis-Junior *et al.* 2004) *Panicum maximum* (Cárdenas *et al.* 2014).

Azospirillum pertenece al grupo de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, es capaz de fijar nitrógeno y producir de fitohormonas. Produce ácido indol-3-acético (AIA), un tipo de auxinas que inducen cambios morfológicos en el sistema radical de las plantas, además pueden actuar como moléculas de señalización en la interacción planta-bacteria (Méndez 2014). Es capaz de adherirse al sistema radicular de las plantas, donde establece una relación de mutuo beneficio, ésta se alimenta mediante los azúcares producidos por la planta durante el proceso de fotosíntesis, a cambio toma el nitrógeno presente en la atmósfera y lo transforma en nitratos y amonio, los cuales deposita en el suelo para que sean aprovechados por las plantas a través de las raíces (Cortez 2012). Se encuentra presente en suelos arcillosos debido a su capacidad de adherirse a las partículas de arcilla y tiene capacidad de crecer en pH ácidos (Pazos *et al.* 2003). Posee potencial para incrementar los rendimientos de gramíneas de importancia económica en diferentes regiones climáticas (Rangel *et al.* 2011). Se han realizados diversos ensayos en cultivos como arroz, trigo y maíz, evaluando la respuesta a la inoculación de *Azospirillum* sp., tomando como referencia el incremento en la biomasa vegetal y el contenido de nitrógeno (López *et al.* 2015).

Debido a la gran importancia de los pastos en la alimentación animal, las posibles relaciones simbióticas de las raíces de los pastos con micorrizas y *Trichoderma harzianum* presentan una oportunidad para mejorar el establecimiento, producción y calidad de los forrajes (Castillo 2006). Las micorrizas reciben directamente de la planta los azúcares que necesitan para su desarrollo, a cambio le permiten a la planta una mejor captación de agua y nutrimentos minerales, fosforo y nitrógeno con baja disponibilidad en el suelo, también les ofrece otros beneficios como estimulación de sustancias reguladoras de crecimiento, incrementa la tasa fotosintética, aumenta la resistencia a plagas y aumento en la fijación de nitrógeno por bacterias simbióticas. Por su parte *Trichoderma* spp., es un hongo que se puede encontrar en diferentes materiales orgánicos y suelos, se adapta a diferentes condiciones ambientales, esto facilita su amplia distribución, frecuentemente utilizado en la agricultura como un organismo biofertilizante (Zambrano *et al.* 2015), que en condiciones de laboratorio y de suelo muestra ser un antagonista eficiente contra muchos hongos habitantes del suelo, la presencia de éste estimula el crecimiento o desarrollo radicular, tamaño de planta y biomasa (Donoso *et al.* 2008).

Los objetivos del presente estudio fueron:

- Evaluar la capacidad de fijación de nitrógeno, amonio y nitratos por parte de *Azospirillum* sp., *Trichoderma harzianum* y micorrizas en los pastos *Brachiaria brizantha* y *Panicum maximum*.
- Determinar el efecto que tienen estos microorganismos sobre el desarrollo radicular de *B. brizantha* y *P. maximum*.
- Evaluar el efecto que tienen estos microorganismos en la producción de materia seca y proteína cruda.

2. METODOLOGÍA

Localización del estudio.

El estudio se llevó a cabo durante los meses de julio y agosto de 2018 en la estación experimental de control biológico de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, a 30 km de Tegucigalpa, ubicado a 14°0'9.29" latitud norte y 86°59'49.69" longitud oeste. El sitio se encuentra a 800 msnm presentó una precipitación y temperatura promedio de 158.5 mm y 24 °C respectivamente, durante el período del estudio.

Previo a la siembra se realizó un análisis de suelo para determinar niveles de nitrógeno, amonio y nitratos existentes en el suelo, para luego realizar las comparaciones necesarias.

Preparación del suelo. Se levantaron 6 surcos de 60 cm de ancho y 15 m de largo cada uno, con aproximadamente 20 cm de altura y drenajes de 50 cm de ancho entre surco para los tratamientos.

Siembra. El establecimiento se realizó a través de reproducción con semillas de *Brachiaria brizantha* y *Panicum maximum*, en una parcela 15 × 6.6 m.

Desmalezado. Se realizó un control manual 2 veces por semana.

Riego. Se colocó una cinta de riego por cama de la marca Chapin-Drip®, con un distanciamiento de 15 cm entre gotero y caudal de 0.5 L/min, se regó diariamente por un período de 30 minutos.

Inóculos de microorganismos.

Azospirillum sp. Se utilizó cepas aisladas del cultivo de maíz.

Mycoral®. Se utilizó las micorrizas producidas por la unidad de Suelos, Vesículo-arbuscular (MVA) compuesta por 3 géneros *Glomus spp.*, *Acaulospora spp.* y *Entrophospora spp.*, de la familia endogonacea de la clase de los Zygomycetos.

Trichoderma harzianum. Se utilizó el que se produce comercialmente por la unidad experimental de Control biológico de Zamorano.

En el Cuadro 1 se describen los tratamientos utilizados y su método de aplicación.

Cuadro 1. Tratamientos, dosis y método de aplicación utilizados *Brachiaria brizantha* y *Panicum maximum*.

Tratamiento	Dosis	Descripción de la aplicación
<i>Azospirillum</i> sp.	5.2x10 ⁸ UFC/mL	Se impregnó las semillas con un atomizador 24 horas previo a la siembra. 1000 mL/kg de semilla.
<i>Azospirillum</i> sp. + <i>T. harzianum</i>	5.2x10 ⁸ UFC/mL y 3x10 ¹¹ UFC/240g	Se utilizó la semilla previamente impregnada con <i>Azospirillum</i> sp. y el <i>T. harzianum</i> fue colocado al momento de la siembra, sobre las semillas, disuelto a una concentración de 1.2 g/L de agua por unidad experimental.
<i>Azospirillum</i> sp. + Mycoral [®]	5.2x10 ⁸ UFC/mL y 20 esporas/g	Se utilizó semilla previamente impregnada con <i>Azospirillum</i> sp. y la micorriza se colocó en el suelo previo a la siembra, 100 g/m y las semillas se colocaron sobre las micorrizas.
<i>Azospirillum</i> sp + 50% Urea	5.2x10 ⁸ UFC/mL y 36.5 kg/ha	Se utilizó semilla impregnada con <i>Azospirillum</i> sp. y se colocó 3.65 g/m de urea al momento de la siembra, por ambos lados del surco.
Urea	73 kg/ha	Se colocó 7.3 g/m al momento de siembra a ambos lados del surco.
Testigo		Las semillas se colocaron en la cama sin ningún tratamiento.

Diseño en campo.

Se utilizó semillas de los pastos *B. brizantha* y *P. máximum*, se establecieron seis bloques de 15 m × 0.60 m, con seis unidades experimentales de 2 m² las cuales se sembraron manualmente a chorro corrido y doble hilera, las camas con un largo de 2 m y 0.6 m de ancho con 0.5 m de separación entre ellas y 0.5 cm entre cama, se colocaron aproximadamente 7 kg de semillas/ha para una densidad poblacional de 42,000 macollas/ha.

Diseño experimental y análisis estadístico.

Se evaluaron seis tratamientos distribuidos en un diseño de Bloques Completo al Azar (BCA), utilizando 6 repeticiones, el experimento constó de 36 unidades experimentales

(Figura1). El paquete estadístico utilizado fue Statistical Analysis System (SAS 9.4). Se realizó un análisis de varianza y una separación de medias con prueba Duncan, exigiendo un nivel de significancia de ($P \leq 0.05$).



Figura 1. Distribución de tratamientos en campo para *B. brizantha* y *P. maximum*

Variables medidas.

Producción de materia seca. Se cosecharon 10 plantas con raíz de cada unidad experimental, se les eliminó las raíces con una tijera de podar, inmediatamente la muestra sin raíz fue pesada para obtener el peso fresco, posteriormente el follaje de cada unidad experimental fue colocado en bolsas de manila y se colocaron en un horno de convección a 70° C por un período de 48 horas, finalmente se procedió a sacar las muestras del horno y se pesó la muestra para obtener peso de materia seca.

Desarrollo radicular. El desarrollo radicular se evaluó al día 50 después de siembra, para la cual se extrajeron 10 plantas al azar de cada unidad experimental, se eliminó el follaje y las raíces fueron lavadas para ser analizadas utilizando el programa WinRHIZO® que consiste en tomar un scan de la raíz y posteriormente utilizar el programa para obtener mediciones de longitud, área y volumen de las raíces.

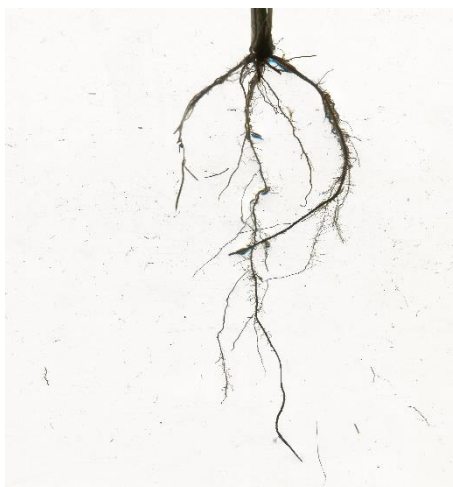


Figura 2 . Raíz escaneada de pasto Marandú.

Análisis de nitrógeno, nitrato, amonio y proteína cruda presente en el tejido foliar. 50 días después de siembra se recolectaron 33 g de follaje de cada unidad experimental y se homogenizaron para un total de 200 g de follaje por tratamiento y se envió al laboratorio de suelos, para analizar el porcentaje de nitrógeno, amonio y nitrato. El porcentaje de proteína cruda en un alimento es calculado como el porcentaje de nitrógeno multiplicado por 6.25. Debido a que en promedio en proteínas el contenido de nitrógeno es 16%. $(100/16) = 6.25$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los tratamientos sobre el desarrollo radicular al día 50 después de siembra; para los pastos *Brachiaria brizantha* y *Panicum maximum*.

Al evaluar el efecto que tuvieron los tratamientos en el desarrollo radicular en el pasto *B. brizantha* (Marandú) se observó que la variable longitud total que el tratamiento *Azospirillum* sp. + Mycoral[®] y *Azospirillum* sp. tuvieron raíces más largas que los tratamientos *Azospirillum* + Urea, Urea y el testigo (Cuadro 2).

Reyes Padilla (2001) reportó que el uso de Mycoral[®] aumenta el crecimiento radicular mejorando la absorción de fósforo y otros nutrientes, también aumenta el desarrollo de hormonas estimulantes de crecimiento. Mientras que Castellanos Becerra (2006) encontró un incremento significativo en el desarrollo radicular de los cultivos sorgo y maíz al ser inoculados con Trichozam[®] en comparación con los cultivos sin ningún tipo de tratamiento. Todos los tratamientos presentaron una longitud mayor que el testigo.

Para la variable área total se observa que todos los tratamientos presentaron un área radicular mayor ($P \leq 0.05$) que el testigo, sin embargo, no existe diferencia entre el resto de los tratamientos (Cuadro 2). Ojeda *et al.* (2014) describieron que los consorcios de microorganismos funcionan mejor cuando se incluyen bacterias y hongos micorrizico-arbusculares, debido a que el efecto sinérgico de ellos aumenta la disponibilidad de nutrientes.

El volumen total de las raíces de todos los tratamientos fue significativamente mayor ($P \leq 0.05$) que el testigo sin tratar (Cuadro 2). Castellanos Becerra (2006) determinó que la aplicación de *T. harziamun* puede aumentar el crecimiento radicular de un cultivo en comparación a uno sin tratamiento. *Azospirillum* por su parte es conocida por ser una bacteria con grandes beneficios en cuanto al crecimiento radicular y desarrollo de raíces secundarias y laterales, de esta manera tiene un mejor anclaje y por ende la absorción de nutrientes es mejor como lo indica Marin (2017).

Cuadro 2. Desarrollo radicular de los pastos Marandú (*Brachiaria brizantha*) y Guinea (*P. maximum*) al día 50 después de siembra.

Tratamiento	<i>B. brizantha</i>			<i>P. maximum</i>		
	Longitud (cm)	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)	Longitud (cm)	Área (cm ²)	Volumen (cm ³)
<i>Azospirillum</i> + Mycoral [®]	297a	18.9a	1.74a	330.6a	38.2a	0.36a
<i>Azospirillum</i> sp.	270ab	18.4a	1.71a	228.4b	24.6ab	0.19b
<i>Azospirillum</i> + <i>T. harzianum</i>	257bc	17.3ab	1.53a	271.6ab	24.7ab	0.18b
<i>Azospirillum</i> + 50% Urea	221cd	16.3ab	1.59a	240.3ab	25.2b	0.22b
Urea	234cd	16.4ab	1.50a	195.4b	16.3b	0.11b
Testigo	177e	14.0c	1.14b	186.3b	16.7b	0.12b
Probabilidad	0.0001	0.0001	0.02	0.04	0.03	0.02
R ²	0.84	0.72	0.41	0.66	0.71	0.73
CV	6.45	4.43	9.37	11.63	13.54	17.8

abcde: Medias en cada columna con diferente letra en la columna presentan diferencias significativas según prueba de Duncan ($P \leq 0.05$)

Al comparar el desarrollo radicular de *Panicum maximum* se aprecia para la variable longitud de las raíces, los tratamientos *Azospirillum* sp + Mycoral[®], *Azospirillum* sp. + *T. harzianum* y *Azospirillum* + Urea presentaron las raíces con mayor longitud que *Azospirillum* sp., Urea y Testigo, Cano (2011) indica que tanto las micorrizas como el *Trichoderma* aumentan el desarrollo radicular e incrementa los pelos radiculares por lo cual hay un aumento en la superficie de absorción. Para la variable área, el tratamiento *Azospirillum* + Mycoral[®] fue mayor al resto de los tratamientos y es mayor ($P \leq 0.05$) que los tratamientos con Urea y el testigo. Cárdenas *et al.* (2014) encontraron un aumento significativo en el desarrollo radicular del pasto Guinea con inoculación de *Azospirillum*. Para la variable Volumen radicular el tratamiento *Azospirillum* + Mycoral[®] presentó el volumen radicular más elevado 0.36 cm³ en comparación con todos los tratamientos.

Producción de Materia seca de los pastos *B. brizantha* y *P. maximum* al día 50 después de siembra.

Se compararon los porcentajes de materia seca proporcionada por cada tratamiento a los 50 días después de siembra para *B. brizantha* se observó que el tratamiento *Azospirillum* sp., produjo significativamente mayor ($P \leq 0.05$) porcentaje de materia seca que el testigo, sin embargo, no es diferente del tratamiento *Azospirillum* sp., + Urea (Cuadro3).

El porcentaje de materia seca más bajo lo produjo el tratamiento testigo ($P \leq 0.05$), no existe una diferencia entre los tratamientos *Azospirillum* sp., + *T. harzianum* y *Azospirillum* sp., + Mycoral[®] (Cuadro 3). Esto mismo fue reportado por Westermann Leigue (2004) quien no encontró diferencia en la producción de materia seca para las parcelas tratadas con *T. harzianum* y Mycoral[®]. Para el día 50 el tratamiento *Azospirillum* sp., produjo un 4.48% más de materia seca que el testigo.

Cuadro 3. Materia seca de los pastos Marandú (*Brachiaria brizantha*) y Guinea (*Panicum maximum*) al día 50 después de siembra.

Tratamiento	Materia seca en Kg/ha	
	<i>B. brizantha</i>	<i>P. maximum</i>
<i>Azospirillum</i> + mycoral®	1290b [¥]	1270ab
<i>Azospirillum</i> sp.	1470 ^a	1460a
<i>Azospirillum</i> + <i>T. harzianum</i>	1270b	1220b
<i>Azospirillum</i> + 50% Urea	1330ab	1270ab
Urea	1220b	1300ab
Testigo	1030c	990c
Probabilidad	0.001	0.01
R ²	0.64	0.76
CV	9.79	8.96

^{abc}= Medias en cada columna con diferente letra presentan diferencias significativas según prueba de Duncan ($P \leq 0.05$)

Al comparar la producción de materia seca para el pasto guinea (*P. maximum*), se observó que los tratamientos que tenían *Azospirillum* sp., produjeron mayor porcentaje de materia seca que el testigo (Cuadro 3). Como lo reportado por Ojeda *et al.* (2016) quienes encontraron mayor producción de materia seca de *P. maximum* al ser inoculado con *Azospirillum* en comparación con un testigo y proponen la utilización de esta bacteria como alternativa de biofertilización ante la carencia de fertilizantes minerales que sufren los pastos. El tratamiento *Azospirillum* sp., presentó mayor porcentaje de materia seca que cuando se mezcla con *T. harzianum* y no fue diferente estadísticamente del resto de los tratamientos que contenían *Azospirillum*.

También se puede observar que el tratamiento de *Azospirillum* sp. + Mycoral® tuvo un 2.85% más de materia seca en comparación con el testigo (Cuadro 3). Esto coincide con lo encontrado por Avelar Lizama y Vásquez Guillén (2001) quienes hallaron diferencias significativas en la producción de materia seca de las unidades experimentales aplicadas con Mycoral® en comparación con el tratamiento testigo.

Nitrógeno, nitrato y amonio en el follaje de *B. brizantha* y *P. maximum* al día 50 después de siembra.

Los tratamientos con urea presentan mayor absorción de nitrógeno, nitrato y amonio para el pasto *B. brizantha*, sin embargo, para el pasto *P. maximum* el tratamiento con *Azospirillum* sp. y la mezcla de *Azospirillum* sp. + Urea presentaron una mayor absorción de estos elementos (Cuadro 4). Estudios realizados por Rodríguez *et al.* (2005) indican que *Azospirillum* inoculado en trigo aumenta el contenido de nitrógeno foliar con respecto a un testigo sin inocular, mientras que Reyes *et al.* (2008) mostraron un aumento significativo en el porcentaje de nitrógeno foliar, en los tratamientos inoculados con *Azospirillum*, con respecto a los no inoculados o aquellos tratamientos con fertilización nitrogenada en los cultivos de tomate y maíz.

Cuadro 4. Cantidad de Nitrógeno, nitrato y amonio presente en el follaje de los pastos Marandú (*Brachiaria brizantha*) y Guinea (*P. maximum*) al día 50 después de siembra.

Tratamiento	<i>B. brizantha</i>			<i>P. maximum</i>		
	Nitrógeno %	Nitrato Mg/kg	Amonio Mg/kg	Nitrógeno %	Nitrato Mg/kg	Amonio Mg/kg
<i>Azospirillum</i> + Mycoral®	2.08	129	166	1.97	108	102
<i>Azospirillum</i> sp.	2.10	205	157	2.18	273	140
<i>Azospirillum</i> + <i>T. harzianum</i>	2.36	173	302	2.00	207	133
<i>Azospirillum</i> + 50% Urea	2.90	535	162	2.14	263	137
Urea	2.96	582	205	1.99	111	116
Testigo	2.50	173	152	2.00	97	127

Porcentaje de proteína cruda en *B. brizantha* y *P. maximum* al día 50 después de siembra.

La información sobre el valor nutritivo de pastos y forrajes está basada en su contenido de proteína (Juárez *et al.* 2009), para *B. brizantha* los mayores rendimientos de proteína cruda fueron presentados por los tratamientos con urea (Cuadro 5), lo que confirma la investigación de Jiménez *et al.* (2010) donde se afirma que los tratamientos con fertilizantes nitrogenados aumentan el porcentaje de proteína cruda. En este caso los microorganismos no aumentaron el porcentaje de proteína cruda debido a la fisiología de la planta y que el suelo donde se realizó el ensayo se ha utilizado durante muchos años para la producción de canavalia, lo que les permitió a los otros tratamientos desarrollarse de manera adecuada.

Para *P. maximum* los valores mayores fueron presentados por los tratamientos *Azospirillum* sp. y la mezcla *Azospirillum* sp. + Urea (Cuadro 5), los cuales se encuentran dentro del rango de producción de proteína cruda según Coauro *et al.* (2004) el cual indica que esta puede variar de 8-22%.

Cuadro 5. Porcentaje de proteína cruda en los pastos Marandú (*Brachiaria brizantha*) y Guinea (*Panicum maximum*) al día 50 después de siembra.

Tratamiento	<i>Brachiaria brizantha</i>	<i>Panicum maximum</i>
<i>Azospirillum</i> + mycoral®	13.0	12.3
<i>Azospirillum</i> sp.	13.1	13.6
<i>Azospirillum</i> + <i>T. harzianum</i>	14.8	12.5
<i>Azospirillum</i> + 50% Urea	18.1	13.3
Urea	18.5	12.4
Testigo	15.6	12.5

4. CONCLUSIONES

- Para el pasto *Brachiaria brizantha* los tratamientos con urea presentaron porcentajes mayores de los elementos nitrógeno, nitrato y amonio en el follaje, sin embargo, para el pasto *Panicum maximum* los tratamientos *Azospirillum* sp. y la mezcla de *Azospirillum* sp. + Urea presentaron mayor absorción de dichos elementos.
- Los tratamientos *Azospirillum* sp, *Azospirillum* sp. + *T harzianum* y *Azospirillum* sp. + Mycoral® aumentan el desarrollo radicular de *B. brizantha* y *P.maximum* en comparación con el uso de urea y el testigo.
- El tratamiento *Azospirillum* sp. presentó una mayor producción de materia seca para ambos pastos y aumentó el porcentaje de proteína cruda en *P. maximum*.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de *Azospirillum* sp. a diferente etapa del cultivo.
- Realizar el ensayo utilizando un medio o sustrato sin nitrógeno debido a que los suelos utilizados para el ensayo han sido utilizados por varios años para sembrar Canavalia, la cual es considerada como una excelente fuente de nitrógeno, esto pudo inferir sobre los resultados obtenidos de nitrógeno presente en el follaje, por ende, afectar el porcentaje de proteína cruda.
- Realizar un análisis de costo beneficio para determinar la rentabilidad de utilizar *Asospirillum* sp.

6. LITERATURA CITADA

- Avelar Lizama P A, Vásquez Guillén J A. 2001. Evaluación biológica y económica del uso de micorrizas (Mycoral[®]) en cuatro pastos [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano- Honduras. 45p.
- Cajas Y, Barragán W, Arreaza L, Cárdenas J, Amézquita E, Abuabara Y, Tapia B, Lascano C. 2012. Efecto sobre la producción de carne de la aplicación de tecnologías de renovación de praderas de *Bothriochloa pertusa* (L.) A. Camus en la costa norte de Colombia. Revista Carpoica- Ciencia y Tecnología Agropecuaria. [Consultado 2018 Oct 02]. 13 (2): 213-218. <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v13n2/v13n2a13.pdf>
- Cano M. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. una revisión. Revista U.D.C.A. & divulgación científica. [Consultado 2018 Sep 19]. 14 (2): 15-31. <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n2/v14n2a03.pdf>
- Cárdenas D, Garrido M, Roncallo B, Bonilla R. 2014. Inoculación con *Azospirillum* sp y *Enterobacter agglomerans* en Pasto Guinea (*Panicum Maximum* Jacq.) en el Departamento de Cesar (Colombia). Revista Facultad Nacional de Agronomía. [Consultado 2018 Jul 01]. 67 (2): 70-76. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v67n2/v67n2a03.pdf>
- Castellanos Becerra P A. 2006. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* en el rendimiento de los cultivos de maíz y sorgo para ensilaje en Zamorano [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 30p.
- Castillo M S. 2006. Producción y composición de los cultivares Mulato I y II de *Brachiaria* híbridos inoculados con micorrizas y *Trichoderma harzianum* [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 25p.
- Coauro M, González B, Araujo O, Vergara J. 2004. Composición química y digestibilidad in vitro de tres cultivares de guinea (*Panicum maximum* jacq.) a tres edades de corte en bosque seco tropical. Pastos y Forrajes. [Consultado 2018 Sep 23]. 3(1): 112. http://www.avpa.ula.ve/congresos/memorias_xiicongreso/pdfs/07_pastos/07_pastos_gramineas_pag121.pdf

- Cortez M. 2012. “Evaluación de la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de *Azospirillum* sp. en las plantas de maíz (*Zea Mays L.*)” [Tesis]. Pontificia Universidad Católica de Ecuador, Quito-Ecuador. 104p.
- Donoso E, Lobo G, Rojas N. 2008. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. Bosque (Valdivia). [Consultado 2018 Jul 1]. 29 (1): 54. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/bosque/v29n1/art06.pdf>
- FAO (Organización de naciones unidas para la agricultura y alimentación) 2015. Uso de fertilizante sobrepasará los 200 millones de toneladas en el 2018. [Consultado 2018 Sep 09]. <http://www.fao.org/news/story/es/item/277654/icode/>
- Garrido M, Cárdenas D, Bonilla R, Vera B. 2010. Efecto de los factores edafoclimáticos y la especie de pasto en la diversidad de bacterias diazotróficas. Pastos y Forrajes. [Consultado 2018 Oct 02]. 33 (4): 3-9. <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v33n4/pyf06410.pdf>
- Jiménez O, Granados M, Oliva J, Quiros J, Barron M. 2010. Calidad de *Brachiaria humidicola* con fertilización orgánica e inorgánica en suelos ácidos. Pastos y Forrajes. [Consultado 2018 Sep 18]. 59(228): 562-568. <http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v59n228/art9.pdf>
- Juárez A, Cerrillo M, Gutiérrez E, Romero E, Colín J, Barragán H. 2009. Estimación del valor nutricional de pastos tropicales a partir de análisis convencionales y de la producción de gas invitro. Revista técnica pecuaria en México. [Consultado 2018 Sep 24]. 47(1). 55-67. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61312109004>
- Lara C, Oviedo L, Alemán A. 2011. Aislados nativos con potencial en la producción de ácido indol acético para mejorar la agricultura. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial. [Consultado 2018 Oct 01]. 9(1): 18-22. <http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotecnologia/article/view/175/148>
- López V, Cruz M, Fernández S, Mendoza A. 2015. Diversidad bacteriana en las raíces de maíz híbrido y genéticamente modificado. Revista internacional de botánica experimental. [Consultado 2018 Sep 23]. 84(1). 233-243. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572015000100030
- Marin F. 2017. Evaluación de la fijación de nitrógeno y su influencia en el crecimiento foliar y radicular de *Rosa* spp. mediante la interacción de la bacteria nitrificante *Azospirillum* sp [Tesis]. Facultad de ingeniería y ciencias agropecuarias-Ecuador. 73p.
- Méndez M, Castro E, García E. 2014. *Azospirillum* una rizobacteria con uso potencial en la agricultura. Revista de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias. [Consultado 2018

- Jun 27]. 16(1): 1.
<https://www.biologicas.umich.mx/index.php/biologicas/article/viewFile/172/pdf>
- Ojeda L, Toledo L, Hernandez C, Machado Y, Furrázola E. 2014. Influencia de la aplicación de *Azospirillum lipoferum* en *Megathyrus maximus* vc. Guinea tobiatá en un suelo pardo grisáceo. Pastos y Forrajes. [Consultado 2018 Sep 16]. 39(1): 18-30. <http://www.redalyc.org/pdf/2691/269145163003.pdf>
- Paredes M. 2013. Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas [tesis]. Universidad Católica, Argentina. 7y 62.
- Pazos M, Hernandez A, Paneque M, Santander J. 2003. Caracterización de cepas del genero *Azospirillum* aisladas de dos tipos de suelos de la localidad de San Nicolás de Bari. Cultivos Tropicales. [Consultado 2018 Oct 02]. 21 (3): 19-23. <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215152003.pdf>
- Proaño V, Bohórquez T, Dueñas D, Molina V, Chávez R. 2017. Efectos de la fertilización nitrogenada sobre la producción de biomasa en los pastos Piata y Marandú (*Brachiaria Brizantha*) en la zona de Babahoyo. Agro U-T-B. [Consultado 2018 Jul 02]. 1 (2): 14. <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/agroutb/article/view/387/283>
- Rangel J, Rodriguez M, Ferrera R, Zaragoza J, Ramírez R, Bárcenas E. 2011. Afinidad y efecto de *Azospirillum* sp. en maíz. Agronomía Mesoamericana. [Consultado 2018 Sep 09]. 22 (2): 269-279. http://www.mag.go.cr/rev_mesov22n2_269.pdf
- Reis-Junior F, Silva M, Teixeira K, Urquiaga S, Reis V. 2004. Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* asociados a *Brachiaria spp.*, en diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* [Consultado 2018 Sep 23]. 28(1): 103-113. <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v28n1/a11v28n1.pdf>
- Reyes Padilla B A. 2001. MYCORAL® biofertilizante y bioprotector que favorece el desarrollo de las plantas [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 24p.
- Reyes L, Alvarez L, Ayoubi H, Valery A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras de crecimiento en pimiento y maíz. *Bioagro.* [Consultado 2018 Sep 30] 20 (1): 37-48. [http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev20\(1\)/5.%20Selecci%C3%B3n%20y%20evaluaci%C3%B3n%20de%20rizobacterias.pdf](http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev20(1)/5.%20Selecci%C3%B3n%20y%20evaluaci%C3%B3n%20de%20rizobacterias.pdf)
- Rodríguez V, Santos S, Polon V, Guilherme J, Boller P, Dias A. 2005. Presencia y efecto de las bacterias fijadoras de nitrógeno en el fenotipo del trigo. *Revista Brasileña de ciencia del suelo.* [Consultado 2018 Sep 30] 29 (3). 345-352. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832005000300004

- Rodríguez M. 2009. Rendimiento y valor nutritivo del pasto *Panicum maximun* CV. Mombaza a diferentes edades y altura de corte [Tesis]. Instituto tecnológico de Costa Rica-Costa Rica. 41p.
- Westermann R L. 2004. Respuesta del pasto *Brachiaria* híbrido cv. Mulato a la inoculación con los hongos benéficos *Trichoderma harzianum* y micorrizas [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 21p.
- Zambrano D, Rodríguez L, Pérez M, Bonilla R. 2015. Industrias De Bioinsumos De Uso Agrícola En Colombia. U.D.C.A Revista Y Divulgación Científica. [Consultado 2018 Jul 01].18(1). 60. [Http://Www.Scielo.Org.Co/Scielo.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0123-42262015000100008 /icode/](http://Www.Scielo.Org.Co/Scielo.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0123-42262015000100008 /icode/)

7. ANEXO

Anexo 1. Análisis de suelo, previo a la siembra.



LABORATORIO DE SUELOS ZAMORANO
INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE SUELOS

LSZ-F126-1

VERSIÓN V04

Sistema de Gestión de Calidad ISO 17025

Solicitante	Fecha Ingreso Muestra	Fecha Envío Informe	Procedencia de la muestra	Página			
Magalis Nuñez Tesis	2018-07-16	2018-07-30	Zona 1, EAP	1 de 1			
Dirección del cliente	N° Lote de Análisis	Cultivo	Informe N°	Anexo Recomendación			
EAP, Zamorano	2018-13	----	2018-193	Sí:		No:	x

	Bajo
	Medio
	Alto

Código Interno Lab.	Muestra	pH* (H ₂ O)	g/100g			mg/Kg (extractable)				
			C.O.	M.O.	N _{total}	P	K	Ca	Mg	Na
18-S-1277	Magalis Nuñez	5.57	1.55	2.67	0.13	110	562	2666	223	ND
ND: NO DETECTADO										
Rango Medio			2.00	0.20	13	Por: Saturación de bases				
			4.00	0.50	30					