

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria
Ingeniería Agronómica



Proyecto Especial de Graduación
Evaluación del efecto de *Azospirillum lipoferum* en el cultivo de maíz
con dos métodos de aplicación y tres tiempos de inoculación

Estudiantes

Daniel Humberto Durán Lara

Victor Javier Fiallos Arias

Asesores

Rogelio Trabanino

Miguel Cocom

Honduras, octubre 2024

Autoridades

SERGIO ANDRÉS RODRÍGUEZ ROYO

Rector

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

CELIA TREJO RAMOS

Directora Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

JULIO NAVARRO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros	5
Índice de Figuras	6
Índice de Anexos	7
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
Materiales y Métodos	13
Ubicación	13
Tratamientos	13
Material Genético	15
Presencia o Ausencia de la Bacteria.....	15
Variables Medidas.....	15
Rendimiento de Cultivo de Maíz.....	15
Evaluación de Altura y Grosor de Tallo del Cultivo de Maíz	16
Evaluación de Clorofila del Cultivo de Maíz.....	16
Evaluación Económica.....	16
Diseño Experimental	17
Análisis Estadístico	17
Resultados y Discusión.....	18
Efecto de la Aplicación de <i>Azospirillum lipoferum</i> en las Variables Altura de Planta, Grosor de Tallo y Clorofila	18
Efecto de <i>Azospirillum lipoferum</i> en el Rendimiento del Cultivo de Maíz.....	20
Conclusiones	23

Recomendaciones..... 24

Referencias..... 25

Anexos..... 27

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Tratamientos utilizados en el cultivo de maíz inoculados con <i>Azospirillum lipoferum</i> . Zamorano, Honduras, 2024	14
Cuadro 2 Fertilización y cantidades aplicadas por hectárea en el tratamiento testigo del cultivo de maíz inoculado con <i>Azospirillum lipoferum</i> . Zamorano, Honduras, 2024.....	14
Cuadro 3 Fertilización y cantidades aplicadas por hectárea en los tratamientos inoculados con <i>Azospirillum lipoferum</i> en el cultivo de maíz. Zamorano, Honduras, 2024.....	15
Cuadro 4 Evaluación de la influencia de los modos y diferentes días de aplicación de <i>Azospirillum lipoferum</i> en las variables (altura, grosor y clorofila) en el cultivo de maíz. Zamorano, Honduras, 2024	20
Cuadro 5 Efecto de los modos de aplicación de <i>Azospirillum lipoferum</i> en diferentes etapas del cultivo de maíz para la variable rendimiento. Zamorano, Honduras, 2024	21
Cuadro 6 Costos por hectárea de los distintos métodos y días de aplicación de <i>Azospirillum lipoferum</i> en el cultivo de maíz híbrido HAZ 1. Zamorano, Honduras, 2024.....	21
Cuadro 7 Beneficio neto por hectárea de los distintos métodos y días de aplicación de <i>Azospirillum lipoferum</i> en el cultivo de maíz híbrido HAZ 1. Zamorano, Honduras, 2024.....	22

Índice de Figuras

Figura 1 Distribución de las unidades experimentales utilizadas en el cultivo de maíz inoculado con <i>Azospirillum lipoferum</i> . Zamorano, Honduras, 2024.....	17
--	----

Índice de Anexos

Anexo A Datos estación climatológica campus central Zamorano en el año 2023.....	27
Anexo B Aplicación mediante un rociador, el inoculo de Azospirillum a la semilla de maíz.....	28
Anexo C Aplicación de karate y cerrojo mediante el uso del dron agras T20	29
Anexo D Recolección de las muestras de raíces.....	30
Anexo E Acondicionamiento de raíces para muestras de laboratorio	31
Anexo F Fórmula para la determinación de rendimientos.....	32
Anexo G Resultados del medio NFB por tratamiento y repeticiones.....	33
Anexo H Medio rojo Congo, para identificación de bacterias con afinidad por estructuras de polisacáridos en cepas de Azospirillum.	34
Anexo I Recolección de 10m ² por unidad experimental	35
Anexo J Selección de 5 mazorcas representativas a la muestra	36
Anexo K Pesado de 5 mazorcas con grano y desgrano para toma de peso del grano	37

Resumen

La agricultura intensiva provocada por un aumento de la población ha traído consigo el aumento del uso de agroquímicos, causando contaminación de suelo, eutroficación, resistencia a plagas y enfermedades, por lo que el ser humano se ha planteado la idea de sistemas más sostenibles. Para mitigar estos daños se ha propuesto la utilización de bacterias promotoras de crecimiento, como la bacteria *Azospirillum*. El objetivo de estudio fue evaluar el efecto de *Azospirillum lipoferum* en el cultivo de maíz. El estudio se realizó en Zamorano, Honduras. Se evaluaron 7 tratamientos: inoculación de semilla, inoculación de semilla + aplicación al drench 7 DDS (Días después de siembra), inoculación de semilla + aplicación al drench a los 15 DDS, aplicación al drench a los 7 DDS, aplicación al drench a los 7 y 15 DDS, aplicación al drench a los 15 DDS y un testigo químico. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 4 repeticiones. Se evaluaron las variables de altura, grosor, clorofila y rendimiento. Para la variable altura, la inoculación única a la semilla fue el único tratamiento más alto significativamente que el testigo, para el grosor los tratamientos con inoculación única fueron los que presentaron mayores valores significativamente que el testigo, en términos de rendimiento todos los tratamientos fueron significativamente iguales a diferencia del tratamiento al drench a los 7 y 15 DDS que fue significativamente menor, la variable clorofila no presentó diferencias significativas entre tratamientos.

Palabras claves: biofertilizantes, fijación de nitrógeno, promotores de crecimiento, simbiosis, sideróforos.

Abstract

Intensive agriculture driven by population growth has led to increased use of agrochemicals, causing soil contamination, eutrophication, and resistance to pests and diseases. As a result, humans have considered the idea of more sustainable systems. The use of growth-promoting bacteria, such as *Azospirillum*, has been proposed to mitigate these damages. This study aimed to evaluate the effect of *Azospirillum lipoferum* on maize cultivation. The study was conducted in Zamorano, Honduras. Seven treatments were: seed inoculation, seed inoculation of bacteria, + reinforcement with a drench at 7 DAS (Days After Sowing), seed inoculation + drench application at 15 DAS, drench application at 7 DAS, drench application at 7 and 15 DAS, drench application at 15 DAS, and chemical control. A completely randomized block design with four replications was used. The variables of height, thickness, chlorophyll, and yield were evaluated. For the height variable, single seed inoculation was the only treatment significantly taller than the control. For thickness, the treatments with single inoculation were significantly thicker than the control. In terms of yield, all treatments were significantly equal except for the drench treatment at 7 and 15 DAS, which was significantly lower. The variable of chlorophyll showed no significant differences between treatments.

Keywords: Biofertilizers, Nitrogen fixation, Growth promoters, Symbiosis, Siderophores

Introducción

La agricultura ha experimentado un aumento en el uso de insumos químicos a partir del año 1940 con la llamada revolución verde, la cual le dio un enfoque intensivo a la producción de alimentos, trayendo consigo consecuencias como la contaminación de los suelos, eutrofización del agua, resistencia a plagas y enfermedades, además, de dependencia a insumos químicos, por lo cual el ser humano se ha planteado el trabajar con sistemas más sostenibles (Bejarano, 1997).

Para ayudar a mitigar estos daños, se ha buscado trabajar con alternativas biológicas para reducir esta dependencia de insumos químicos. El uso de bacterias promotoras de crecimiento ha experimentado un interés de investigación por sus beneficios, los cuales según Vessey (2003) han sido asociados al aumento y disponibilidad de nutrientes en las plantas, mediante la fijación o solubilización de minerales, además de la producción de fitohormonas que promueven el crecimiento vegetal, e influencia contra factores bióticos y abióticos.

Dentro de este grupo de bacterias se pueden encontrar los géneros *Azospirillum*, *Rhizobium* y *Pseudomonas*, los cuales son organismos de vida libre que realizan simbiosis asociativas con las plantas, adhiriéndose a las raíces de las plantas mediante estructuras como las fimbrias o expulsión de exopolisacáridos. Según Rothballer et al. (2008) menciona que esta simbiosis se da mediante la atracción de un proceso denominado quimiotaxis, el cual se da mediante la liberación de exudados en las raíces de las plantas, que sirven como atrayentes y alimento para las bacterias. La colonización se da en los espacios entre la epidermis y la corteza de la raíz, sin provocar ningún tipo de alteración física en su hospedero, unión que no puede ser alterada por el agua (Okon y Itzigsohn, 1986).

Azospirillum es una bacteria perteneciente a las gram negativas, la cual se desarrolla en condiciones microaerófilas, ha sido ampliamente estudiada a partir de los años 70, debido principalmente a su mecanismo fijación de nitrógeno atmosférico, el cual según Aguilar (2020) se logra mediante la utilización de la enzima nitrogenasa, que transforma el nitrógeno atmosférico en amoníaco para ser oxidado en amonio y nitratos, que son formas más asimilables para las plantas.

El nitrógeno absorbido por las plantas es transformado en glutamina y aminoácidos, formas utilizables para la síntesis principalmente de proteínas estructurales, que representan alrededor del 90% del uso del nitrógeno en las plantas (Ribaudó, 2013). El nitrógeno es esencial, por lo que una deficiencia puede generar bajos rendimientos, además de plantas con poco vigor y amarillamiento de las hojas por falta de clorofila, por lo que se han diseñado instrumentos para su medición y determinaciones rápidas del nivel de nitrógeno en la planta, como el SPAD 502, el cual mide la luz roja reflejada por la hoja para determinar el nivel de clorofila en las hojas, es cual está estrechamente relacionada a niveles de nitrógeno en la planta.

Azospirillum también está asociada al aumento de la disponibilidad de fósforo en el suelo, que es necesario para la formación de compuestos orgánicos como los ácidos nucleicos, fosfolípidos, enzimas y compuestos fosfatados como el ATP. Este organismo tiene la capacidad de solubilizar el fósforo, según Chung et al. (2005) esto se debe a la quelación de metales como el hierro, que forman complejos insolubles con el fósforo, además de la liberación de ácidos orgánicos y la secreción de fosfatasas extracelulares.

Azospirillum también cuenta con la capacidad de la producción de fitohormonas, como las auxinas, citoquininas y giberelinas, que tienen una influencia importante en el desarrollo vegetal, también de mejorar la respuesta de resistencia sistémica adquirida con la producción de ácido salicílico y jasmónico, además de presentar un mejor comportamiento ante el estrés hídrico con la producción de ácido abscísico, que tiene influencia en la apertura y cierre de estomas (Ping y Boland, 2004).

Esta bacteria al ser ampliamente estudiada se ha encontrado que la inoculación de esta puede representar en algunos casos la reducción de hasta un 50% de la fertilización nitrogenada, debido a que ha sido asociada a la fijación de entre 30 y 50 kg / ha de nitrógeno, lo que representaría para Brasil una disminución de aproximadamente 1,200 millones de dólares al año (Domingues et al., 2020).

En este estudio se pretende evaluar el impacto de la inoculación de *Azospirillum lipoferum* en el cultivo de maíz comparando la eficiencia entre una única inoculación con respecto a doble inoculación, en términos de rendimiento y variables fisiológicas, además, de determinar el impacto que tiene la reducción de fertilizantes nitrogenados y fosforados, aplicando *Azospirillum lipoferum*, en términos de, nutrición mineral, crecimiento y rendimiento.

Materiales y Métodos

Ubicación

El experimento se llevó a cabo desde el 25 de julio del 2023 hasta el 30 de noviembre del 2023. Fue realizado en la Unidad de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, departamento de Francisco Morazán, municipio San Antonio de Oriente, Honduras. Localizado a 800 msnm. Durante el periodo del experimento se tuvieron temperaturas promedio máximas de 34.5 y mínimas de 16.1, contando con una precipitación de 500mm en los meses del experimento.

Tratamientos

Se realizaron dos métodos de aplicación, inoculación a la semilla, aplicando una solución de 250 mL de *A. lipoferum* con una concentración de 1×10^7 UFC por mL atomizado directamente a la semilla, esperando un tiempo de 30 minutos para posteriormente se sembrada directamente en campo, y la aplicación líquida a la base de la planta (Drench) con una aplicación de 1 L/ha de *A. lipoferum* a una concentración de 1×10^7 UFC por mL. La aplicación al drench se realizó en horas tempranas de la mañana (Cuadro 1).

Se aplicaron los tratamientos el día de la siembra, siete días después y 15 días después de germinación (Cuadro 1). Para el tratamiento testigo no se inoculó con *A. lipoferum*, sin embargo, se comprobó mediante pruebas bioquímicas la ausencia de la bacteria en las repeticiones del tratamiento testigo.

Cuadro 1

Tratamientos utilizados en el cultivo de maíz inoculados con *Azospirillum lipoferum*. Zamorano, Honduras, 2024

Tratamiento	Dosis <i>A. lipoferum</i>	Dosis fertilizante	Tratamientos
Testigo	-	100% fertilización	T1
Inoculación a la semilla	Semilla: (1x10 ⁷ UFC/mL)	-50% (N y P)	T2
Inoculación a la semilla + refuerzo drench 7 DDS	Semilla: (1x10 ⁷ UFC/mL) Drench: (1x10 ⁷ UFC/mL)	-50% (N y P)	T3
Inoculación a la semilla + Refuerzo drench 15 DDS	Semilla: (1x10 ⁷ UFC/mL) Drench: (1x10 ⁷ UFC/mL)	-50% (N y P)	T4
Aplicación al drench 7 DDS	Drench: (1x10 ⁷ UFC/mL)	-50% (N y P)	T5
Aplicación al drench 15 DDS	Drench: (1x10 ⁷ UFC/mL)	-50% (N y P)	T6
Aplicación al drench 7 y 15 DDS	Drench: (1x10 ⁷ UFC/mL)	-50% (N y P)	T7

Nota. DDS: Días después de siembra

Para la fertilización del cultivo de maíz, el testigo fue aplicado con un 100% de la necesidad nutricional de maíz para la producción de 8 t/ha la cual fue fragmentada en tres aplicaciones, la primera a los 12 DDS, la segunda a los 35 DDS y la tercera a los 60 DDS (Cuadro 2).

Cuadro 2

Fertilización y cantidades aplicadas por hectárea en el tratamiento testigo del cultivo de maíz inoculado con *Azospirillum lipoferum*. Zamorano, Honduras, 2024.

Macronutriente	Aplicación 100%		
	1 fertilización (30%)	2 fertilización (35%)	3 fertilización (35%)
	Kg/ha	Kg/ha	Kg/ha
Nitrógeno	60	70	70
Fosforo	27.9	32.55	32.55
Potasio	46.5	54.25	54.25

La cantidad de fertilizantes aplicados en los tratamientos que contenían bacterias fue fragmentada en 3 aplicaciones. Primera aplicación a los 12 DDS, segunda a los 35 DDS y tercera a los 60 DDS, presentado en el Cuadro 3.

Cuadro 3

Fertilización y cantidades aplicadas por hectárea en los tratamientos inoculados con *Azospirillum lipoferum* en el cultivo de maíz. Zamorano, Honduras, 2024

Mineral	Aplicación -50% (N y P)		
	1 fertilización (30%)	2 fertilización (35%)	3 fertilización (35%)
	Kg/ha	Kg/ha	Kg/ha
Nitrógeno	30	35	35
Fosforo	13.95	16.27	16.27
Potasio	46.5	54.25	54.25

Material Genético

Se utilizó la semilla certificada del híbrido de maíz HAZ 1 tratada con el fungicida Maxin XL (fludioxonil) y el insecticida K-Obiol (deltametrina). Este material fue sembrado a 16 cm entre plantas y 80 cm entre surcos, para lograr una densidad de 75,000 plantas por hectárea. Cada unidad experimental consistía en 761 plantas, sembradas en un área de 97.5 m², haciendo un uso total para el experimento de 2800 m².

Presencia o Ausencia de la Bacteria

Para determinar la presencia o ausencia de *A. lipoferum* en el ensayo, se tomó una muestra de 5 plantas al azar a los 20 días después de la siembra, para determinar la presencia o ausencia de la bacteria de los tratamientos. Las muestras se analizaron con pruebas bioquímicas, catalasa, oxidasa, KOH, rojo Congo, ureasa, indol, glucosa y de movilidad.

VARIABLES MEDIDAS

Rendimiento de Cultivo de Maíz

Se estimó el rendimiento a los 130 días después de siembra, una vez alcanzado la madurez fisiológica. Se cosecharon 10 metros lineales de cada unidad experimental para estimar el rendimiento por tratamiento. El rendimiento se ajustó al 13% de humedad para todos los tratamientos.

Evaluación de Altura y Grosor de Tallo del Cultivo de Maíz

Se midieron a los 130 días después de siembra. Se utilizó el pie de rey para determinar el diámetro del tallo e 15 plantas completamente al azar por unidad experimental, a una altura de un metro del suelo. Para la toma de altura se evaluó la altura de 15 plantas completamente al azar, por cada unidad experimental, donde se midió desde la base de la planta hasta la base de la espiga, con la ayuda de una cinta métrica.

Evaluación de Clorofila del Cultivo de Maíz

Se determinó la cantidad de clorofila utilizando el SPAD 502. La medición de la cantidad de clorofila se realizó a partir del día 32 después de la siembra, tomando 15 plantas por cada unidad experimental, realizando toma de datos cada 2 semanas hasta el día 88 del cultivo.

Evaluación Económica

Se llevó a cabo un análisis para evaluar el impacto económico de la aplicación de *Azospirillum lipoferum* en el cultivo de maíz híbrido HAZ 1, utilizando una dosis de 250 mL por kg de semilla y 1 L/ha en aplicación mediante drench. Para el análisis de costos, solo se consideraron los gastos de fertilización y del inoculo, ya que el resto de los costos fueron iguales en los distintos tratamientos, debido a que se llevó a cabo el mismo manejo agronómico en cada uno. El aumento en los ingresos se estimó considerando el precio del maíz en el mercado nacional, obtenido a través del Sistema de Información de Mercados de Productos Agrícolas de Honduras (SIMPAH) y el aumento de rendimiento mediante la aplicación de *Azospirillum lipoferum*. Para la estimación del beneficio neto se utilizó la ecuación 1.

Beneficio neto: Ingreso – Costos (Fertilización + *Azospirillum lipoferum*) [1]

Al llevar a cabo el análisis de costos de fertilización, considerando los precios de los sacos de 43 kg, que para urea es de 650 HNL el DAP de 880 Lps y el KCL de 750 HNL según (SIMPAH), así como las cantidades aplicadas por hectárea (Cuadro 2). Al momento de llevar a cabo el análisis de costos de

la aplicación de *Azospirillum Lipoferum*, se consideró un precio de 250 HNL por litro, según la Unidad de Control Biológico de Zamorano. Considerando nuestra densidad de siembra de 75,000 plantas/ha, siendo que por cada kg de semilla se obtendrían 4,000 semillas de la variedad HAZ1.

Diseño Experimental

Para el diseño del experimento se utilizó bloques completamente al azar, 7 tratamientos y cuatro repeticiones, para un total de 28 unidades experimentales, la cual contó con la distribución que se representa en la figura 1.

Figura 1

Distribución de las unidades experimentales utilizadas en el cultivo de maíz inoculado con Azospirillum lipoferum. Zamorano, Honduras, 2024

T1R4	T5R4	T6R4	T4R4	T3R4	T2R4	T7R4
T6R3	T3R3	T1R3	T2R3	T7R3	T5R3	T4R3
T5R2	T2R2	T4R2	T6R2	T1R2	T3R2	T7R2
T7R1	T5R1	T4R1	T3R1	T2R1	T6R1	T1R1

Análisis Estadístico

Para las variables rendimiento, grosor de tallo y altura de la planta se realizó una ANDEVA y una separación de medias con una prueba Duncan, con una probabilidad ($P < 0.05$). La variable de clorofila fue analizada con un análisis de medidas repetidas en el tiempo, con una probabilidad ($P < 0.05$).

Resultados y Discusión

Efecto de la Aplicación de *Azospirillum lipoferum* en las Variables Altura de Planta, Grosor de Tallo y Clorofila

Para la variable altura, el tratamiento en el que solo se realizó inoculación a la semilla, fue el que presento mayor altura significativamente frente a todos los tratamientos, mientras que los tratamientos inoculación de semilla + aplicación a los 7 (DDS) mediante drench y el tratamiento aplicación a los 7 + 15 (DDS) mediante drench presentaron plantas más bajas significativamente que el testigo y tratamientos con única aplicación, presentados en el cuadro 4. Esto resultados concuerdan con los mencionados por Ortíz (2010), donde realizaron inoculaciones con *Azospirillum* a concentraciones de 1×10^9 UFC por mL y obtuvieron que en los tratamientos mediante inoculación única a la semilla y drench fueron superiores significativamente al testigo químico, con promedios de altura de 2.42 m y 2.44 m respectivamente.

Para la variable grosor, todos los tratamientos de aplicación única presentaron significativamente mayor grosor en comparación a los tratamientos con doble inoculación y el testigo químico, el tratamiento de aplicación doble a los 7 + 15 DDS al drench y el tratamiento inoculación a la semilla más un refuerzo al drench a los 7 días presentaron los menores valores con respecto al resto de tratamientos, presentados en el cuadro 4. Estos valores concuerdan con los encontrados por Piscoya y Ugaz (2016) donde el grosor del tallo medido a los (90 DDS) en los tratamientos inoculadas con *Azospirillum spp* a una concentración de 9×10^8 UFC por mL, obtuvieron los mejores resultados, con una reducción del 50% de la fertilización química en comparación con el tratamiento testigo, con un 100% de la fertilización, con resultado de 2.41 cm de grosor.

Se pudo observar una tendencia que en los tratamientos con inoculaciones más tempranas se obtuvieron mejores resultados, esto concuerda con lo reportado por Bally et al. (1999) demostraron que la inoculación temprana (24 h después de la imbibición) fue más eficiente que la tardía (20 días después de la siembra) para obtener un mayor crecimiento radicular en el cultivo de maíz se utilizó

una concentración 1.3×10^7 UFC de *Azospirillum lipoferum*. Además, según Ping y Boland (2004) menciona que este organismo tiene diferentes rutas de fabricación de fitohormonas para lograr una mejor simbiosis asociativa, produciendo giberelinas y citoquininas que son necesarias para el aumento de elongación y división celular respectivamente.

Los valores de clorofila no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que cualquier método y tiempo de aplicación de *A. lipoferum*, resulta ser beneficioso para mantener la salud vegetativa del cultivo maíz y del contenido de nitrógeno, presentado en el cuadro 4. en el estudio se obtuvieron rangos de clorofila de 43 a 45 entre los tratamientos, lo cual se asemeja con lo encontrado por Moreira et al. (2019) donde no encontraron diferencias significativas en el contenido de nitrógeno de la planta en el cultivo de maíz entre fertilización al 100%, en comparación con aplicación de *Azospirillum* a la semilla y mediante drench con una reducción del 50% de fertilización, usando concentraciones de 2×10^8 UFC por mL, 500 mL por hectárea y 150 mL por semilla donde obtuvieron valores promedios de 43 unidades y según Martínez et al. (2020) lecturas alrededor de 45 unidades se consideran adecuadas para obtener buenos niveles de clorofila para una buena producción.

Estos valores pueden ser el resultado de un aumento de las vellosidades, que según Rai et al. (2020) menciona que *Azospirillum* mediante la producción de auxinas se puede tener una incidencia directa en el desarrollo radicular, lo que mejoró la capacidad de absorción de nutrientes y agua por parte de la planta, lo que ayuda a mantener niveles estables de vigor y contenido de nutrientes en los tratamientos inoculados.

Cuadro 4

*Evaluación de la influencia de los modos y diferentes días de aplicación de *Azospirillum lipoferum* en las variables (altura, grosor y clorofila) en el cultivo de maíz. Zamorano, Honduras, 2024*

Tratamientos	Altura(m)	Grosor(cm)	Clorofila
Testigo	2.48bc	2.45c	43.71 a
Inoculación de semilla	2.58 a	2.65 a	45.43 a
Inoculación de semilla + aplicación a los 7 (DDS) al drench	2.31 d	2.42 cd	45.59 a
Inoculación de semilla + aplicación al drench a los 15 (DDS)	2.41 cd	2.48 bc	44.38 a
Aplicación al drench a los 7 (DDS)	2.51 ab	2.60 a	45.07 a
Aplicación al drench a los 7 y 15 (DDS)	2.35 d	2.31 d	45.43 a
Aplicación al drench a los 15 (DDS)	2.39 cd	2.58 ab	45.74 a
Pr < F TRT	< 0.0001	< 0.0001	
R ²	0.75	0.77	0.86
C.V	2.26	2.96	6.82

Nota. Valor con diferente letra (abcd). Representa diferencias significativas entre tratamientos según la prueba DUNCAN (P<0.05).

CV = coeficiente de variación. R² = ajuste al modelo estadístico

Efecto de *Azospirillum lipoferum* en el Rendimiento del Cultivo de Maíz

Los resultados indican que todos los tratamientos fueron capaces de presentar valores iguales significativamente de rendimiento en comparación con el tratamiento testigo, a excepción del tratamiento aplicación a los 7 + 15 (DDS) mediante drench, el cual fue el único que si presentó valores menores de rendimiento significativamente que el tratamiento testigo, destacando que todos los tratamientos con una única aplicación de *A. lipoferum* presentaron mayores rendimientos con respecto a los tratamientos de doble inoculación, presentados en el cuadro 5. Esto concuerda con los datos obtenidos por Contreras et al. (2024) donde la aplicación única con una concentración de inoculo de 1×10^8 UFC por mL y reducción del 50% de la fertilización nitrogenada presentaron mayores valores con respecto a dobles aplicaciones de *Azospirillum*. La mejora de rendimiento a una única aplicación puede ser el resultado de una óptima inoculación de la bacteria, debido a que estudios por Ribaudó (2013) menciona que una inoculación óptima por planta debe rondar una concentración de 1×10^6 UFC para un óptimo establecimiento en la raíz, esto debido a que concentraciones arriba de 1×10^{10} UFC en una sola planta pueden representar inhibición del desarrollo radicular, Ya que según Cassán et al. (2015) menciona que existe una fase de unión en la colonización la cual es irreversible y

ocurre hasta 16 h después de la inoculación y está mediada por polisacáridos de la superficie bacteriano, por lo que puede que exista una limitante de espacio para poder llevar a cabo una adecuada colonización por las bacterias de *Azospirillum* al realizar doble inoculaciones y según Rivera (2008) la competencia por sustrato es uno de los principales factores que limita la colonización debido a la alta energía que es demandada para realizar la fijación biológica de nitrógeno, por lo cual la competencia de nutrientes será mayor al realizar dobles inoculaciones.

Cuadro 5

Efecto de los modos de aplicación de Azospirillum lipoferum en diferentes etapas del cultivo de maíz para la variable rendimiento. Zamorano, Honduras, 2024

Tratamientos	Rendimiento (t/ha)
Testigo	5.57 ab
Inoculación de semilla	5.70 a
Inoculación de semilla + aplicación a los 7 (DDS) mediante drench	5.34 b
Inoculación de semilla + aplicación a los 15 (DDS) mediante drench	5.31 b
Aplicación al drench a los 7 (DDS)	5.70 a
Aplicación al drench a los 7 y 15 (DDS)	5.04 c
Aplicación al drench a los 15 (DDS)	5.62 a
Pr < F TRT	< 0.0002
R ²	0.74
C.V	3.08

Nota. Valor con diferente letra (abcd). Representa diferencias significativas entre tratamientos según la prueba DUNCAN (P<0.05).

CV = coeficiente de variación. R² = ajuste al modelo estadístico

Cuadro 6

Costos por hectárea de los distintos métodos y días de aplicación de Azospirillum lipoferum en el cultivo de maíz híbrido HAZ 1. Zamorano, Honduras, 2024

Tratamientos	Costos (HNL) (fertilización)	Costos (HNL) (Inóculo)	Costos Totales (HNL)
Testigo	7,629.98	0	7,629.98
Inoculación de semilla	5,166.73	1,171.875	6,338.605
Inoculación de semilla + aplicación a los 7 (DDS) mediante drench	5,166.73	1,421.875	6,588.605
Inoculación de semilla + aplicación al drench a los 15 (DDS)	5,166.73	1,421.875	6,588.605
Aplicación al drench a los 7 (DDS)	5,166.73	250	5,416.73
Aplicación al drench a los 7 y 15 (DDS)	5,166.73	500	5,666.73
Aplicación al drench a los 15 (DDS)	5,166.73	250	5,416.73

Considerando el precio de venta del maíz nacional es de 1,050 HNL por carga (200 lb) según los datos obtenidos de (SIMPAH) y los rendimientos obtenidos en el cuadro 5.

Cuadro 7

Beneficio neto por hectárea de los distintos métodos y días de aplicación de Azospirillum lipoferum en el cultivo de maíz híbrido HAZ 1. Zamorano, Honduras, 2024

Tratamientos	Costos Totales (HNL)	Ingresos Totales (HNL)	Beneficio Neto (HNL)
Testigo	7,629.98	64,468.6	56,838.62
Inoculación de semilla	6,338.605	65,973.25	59,634.645
Inoculación de semilla + aplicación a los 7 (DDS) mediante drench	6,588.605	61,806.52	55,217.915
Inoculación de semilla + aplicación al drench a los 15 (DDS)	6,588.605	61,459.29	54,870.685
Aplicación al drench a los 7 (DDS)	5,416.73	65,973.25	60,556.52
Aplicación al drench a los 7 y 15 (DDS)	5,666.73	58,334.24	52,667.51
Aplicación al drench a los 15 (DDS)	5,416.73	65,047.31	59,630.58

El análisis costo beneficio nos demuestra que solo los tratamientos donde se realizó una única aplicación, independientemente del método y día de aplicación fueron los que obtuvieron un beneficio neto mayor promedio de 3,101.96 HNL en comparación con el tratamiento testigo.

Conclusiones

La aplicación de *A. lipoferum* demostró ser tan eficiente en los rendimientos y parámetros fisiológicos de las plantas, en combinación con la aplicación de un 50% de fertilización nitrogenada y fosforada recomendada convencionalmente.

Las inoculaciones únicas de *A. lipoferum* independientemente del modo de aplicación demostró ser la forma más efectiva para mejorar rendimientos, en comparación de los tratamientos realizados con una doble inoculación.

Recomendaciones

Evaluar la aplicación de *A. lipoferum* mediante el uso de riego por goteo, utilizando diferentes concentraciones y tiempos de inoculación.

Evaluar la duración de viabilidad de colonización de *A. lipoferum* en rizosfera de maíz bajo condiciones de estrés abiótico.

Compara la aplicación de *A. lipoferum* en diferentes condiciones físicas o químicas del suelo.

Referencias

- Aguilar, L. (2020). *Producción masiva de Azospirillum spp., formulación, control de calidad y su uso en la agricultura: Revisión de Literatura* [Proyecto especial de graduación]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/b300293e-14dd-4b8d-9a08-60578e467891/content>
- Bejarano, J. (1997). Un marco institucional para la gestión del medio ambiente y para la sostenibilidad agrícola. *Ensayos de Economía*, 7(13), 142–195. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/ede/article/view/23830>
- Cassán, F., Okon, Y. y Creus, C. (Eds.). (2015). *Handbook for Azospirillum: Technical Issues and Protocols* (1st ed. 2015). Springer International Publishing; Imprint: Springer.
- Chung, H., Park, M., Madhaiyan, M., Seshadri, S., Song, J., Cho, H. y Sa, T. (2005). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(10), 1970–1974. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.02.025>
- Contreras, S., Villadeza, C., Rodriguez, P., Palomares, E. y Arbizu, C. (2024). Yield and Agronomic Performance of Sweet Corn in Response to Inoculation with Azospirillum sp. under Arid Land Conditions. *International Journal of Plant Biology*, 15(3), 683–691. <https://doi.org/10.3390/ijpb15030050>
- Domingues, C., Cecato, U., Trento, T., Mamédio, D. y Galbeiro, S. (2020). *Azospirillum spp. en gramíneas y forrajeras. Revisión*. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242020000100223#B24
- Martínez, D., Rossato, X., Bongiovanni, M., Odetti, J. y Bologna, Camiolo, Florencia. (2020). *El contenido de clorofila en hoja y su relación con el rendimiento, el híbrido y la densidad poblacional del cultivo de maíz*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13460.12162>
- Moreira, R., Valadão, F. y Valadão, D. (2019). Desempenho agrônômico do milho em função da inoculação com Azospirillum brasilense e adubação nitrogenada. *Revista De Ciências Agrárias*, 62. <https://doi.org/10.22491/rca.2019.2865>
- Okon, Y. y Itzigsohn, R. (1986). *Nitrogen Fixation with Non-Legumes: The Third International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-legumes, Helsinki, 2-8 September 1984* (1986 edition). *Developments in Plant and Soil Sciences Ser: v.21*. Springer. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/kxp/detail.action?docID=6556174>
- Ortiz, G. (2010). *Evaluación del efecto de cuatro métodos de inoculación de dos cepas de Azospirillum spp., en el cultivo de maíz (Zea mays L.), variedades INIAP 122 y 102, en las provincias de Imbabura y Pichincha* [, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica]. [repositorio.uta.edu.ec. https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/823](https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/823)
- Ping, L. y Boland, W. (2004). Signals from the underground: Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 9(6), 263–266. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.04.008>
- Piscoya, E. y Ugaz, Z. (2016). *Efecto de Azospirillum, Azotobacter y Enterobacter spp. nativas con 50 % de fertilizante químico en el desarrollo vegetativo y rendimiento de Zea mays L. "maiz"*

amarillo duro en Lambayeque, 2013 [, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; PE]. repositorio.unprg.edu.pe. <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/497>

Rai, P., Singh, M., Anand, K., Saurabh, S., Kaur, T., Kour, D., Yadav, A. y Kumar, M. (2020). Role and potential applications of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. En A. Hartmann y J. Baldani (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 49–60). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820526-6.00004-X>

Ribaudo, M. (2013). "Mecanismos bioquímicos y moleculares desencadenados en la interacción bacterias promotoras de crecimiento vegetal y plantas de interés agronómico". https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n5372_Ribaudo.pdf

Rivera, D. (2008). *Optimización de un medio de cultivo para la producción de un inoculante con base en Azospirillum brasilense C16* [, Universidad Francisco de Paula Santander; Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente; Plan de Estudios de Ingeniería de Producción Biotecnológica; Universidad Francisco de Paula Santander]. repository.agrosavia.co. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/18647>

Rothballer, M., Eckert, B., Schmid, M., Fekete, A., Schloter, M., Lehner, A., Pollmann, S. y Hartmann, A. (2008). Endophytic root colonization of gramineous plants by *Herbaspirillum frisingense*. *FEMS Microbiology Ecology*, 66(1), 85–95. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00582.x>

Vessey, K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>

Anexos

Anexo A

Datos estación climatológica campus central Zamorano en el año 2023

mes	Tem promedio	Tem MIN	Precipitación	Tem MAX
Enero	21.48	10.10	5.63	34.00
Febrero	22.81	11.90	1.31	34.60
Marzo	23.88	12.90	15.87	37.50
Abril	25.38	14.90	36.71	38.50
Mayo	25.71	17.60	107.22	36.10
Junio	24.65	17.10	269.91	36.30
Julio	24.16	16.60	58.61	35.20
Agosto	24.60	17.50	30.77	35.00
Septiembre	23.63	17.60	254.83	34.20
Octubre	23.84	14.80	113.96	34.30
Noviembre	23.07	14.80	100.11	34.50
Diciembre	21.59	11.30	11.37	33.20
Grand Total	23.71	10.10	1,006.30	38.50

Anexo B

Aplicación mediante un rociador, el inoculo de Azospirillum a la semilla de maíz



Anexo C

Aplicación de karate y cerrojo mediante el uso del dron agras T20



Anexo D*Recolección de las muestras de raíces*

Anexo E

Acondicionamiento de raíces para muestras de laboratorio



Anexo F*Fórmula para la determinación de rendimientos*

$$\text{Factor de corrección} = \frac{100 - \text{Humedad del grano}}{100 - \text{humedad deseada}} \quad [1]$$

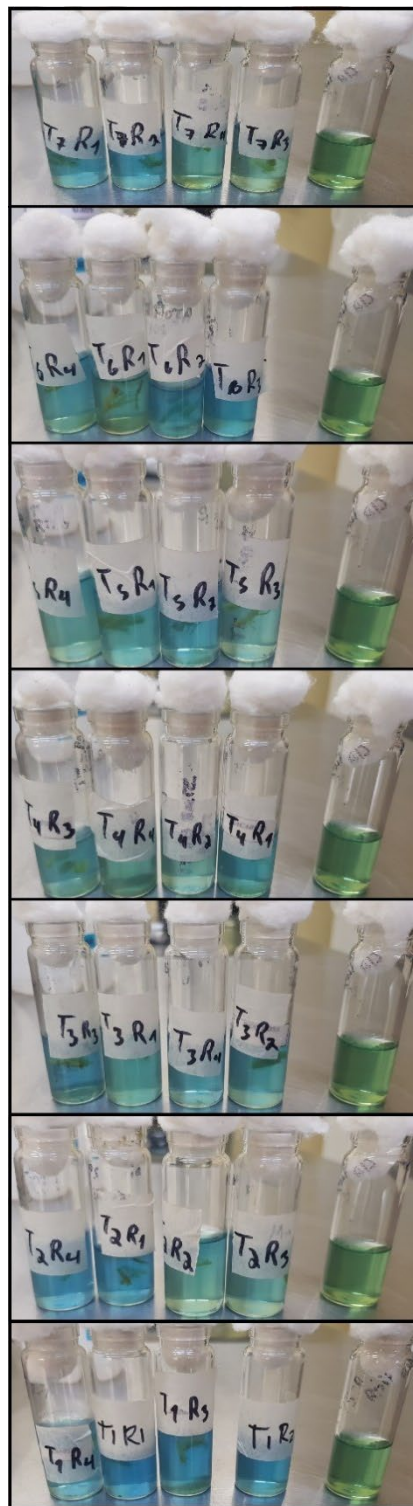
$$\text{Factor desgrane} = \frac{\text{Peso del grano}}{\text{Peso de mazorcas}} \quad [2]$$

$$\text{Rendimiento} = \text{Peso campo} * \text{FC} * \text{FD} * \frac{1000}{\text{distancia entre surco}} \quad [3]$$

FC: Factor de corrección, FD: factor desgrane, peso campo: el factor obtenido del peso de todas las mazorcas en 10 metros lineales, la distancia entre surcos utilizadas es 0.80

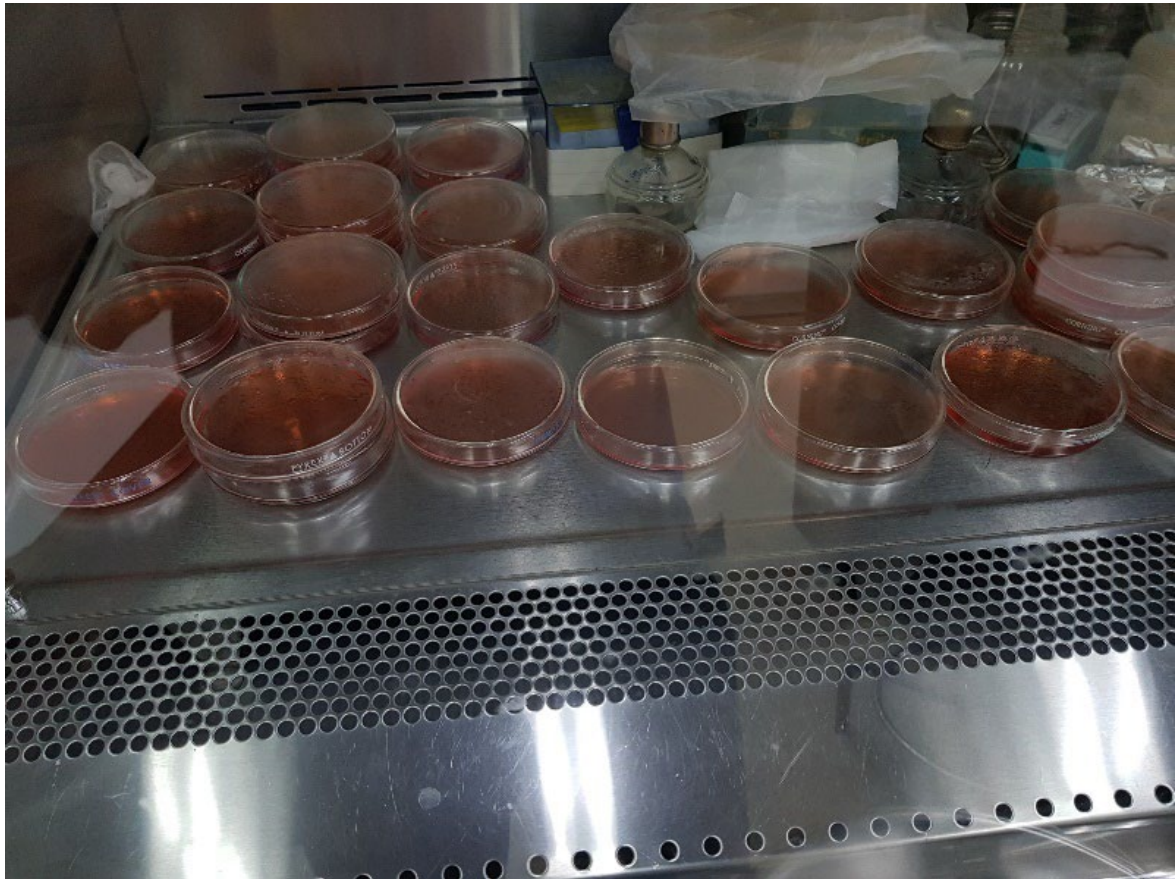
Anexo G

Resultados del medio NFB por tratamiento y repeticiones



Anexo H

Medio rojo Congo, para identificación de bacterias con afinidad por estructuras de polisacáridos en cepas de Azospirillum.



Anexo I

Recolección de 10m² por unidad experimental



Anexo J

Selección de 5 mazorcas representativas a la muestra



Anexo K

Pesado de 5 mazorcas con grano y desgrano para toma de peso del grano

