

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

Ingeniería Agronómica



Proyecto Especial de Graduación

**Efecto de las bacterias promotoras de crecimiento *Azospirillum* sp y
Pseudomonas fluorescens en el cultivo de maíz**

Estudiante

Oscar Roberto Nolasco Cantarero

Asesores

Rogelio Trabanino M. Sc.

Rufina Yuliana Sorto Villalobos. MQC

Honduras, agosto 2022

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

CELIA O. TREJO RAMOS

Directora Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Resumen	7
Introducción.....	9
Localización.....	13
Preparación de Suelo	13
Siembra.....	13
Control de Malezas	13
Riego.....	13
Variables Evaluadas	14
Concentración de Nitrógeno, Nitratos (NO_3^-), Nitritos (NO_2^-), Amonio (NH_4^+) y Fósforo, en el Suelo y Tejido Vegetal	14
Grosor Promedio de Tallo	14
Altura de la Planta	14
Días a Floración.....	14
Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada (55 días/DS)	15
Rendimiento	15
Tratamientos	16
Diseño Experimental y Análisis Estadístico	17
Resultados y Discusión.....	18

	4
Altura, Floración y Grosor	18
Rendimiento	20
Análisis de Suelo 10 Días Antes de Siembra	21
Análisis de Suelo 80 Días Después de Siembra	22
Recomendaciones.....	25
Anexos	28

Índice de Cuadros

Cuadro 1	Tratamientos evaluados en el cultivo de maíz utilizando las bacterias Azospirillum y Pseudomonas.	16
Cuadro 2	Distribución de los tratamientos en campo, donde se evaluó el efecto de las bacterias promotoras de crecimiento Azospirillum sp y P. fluorescens.	17
Cuadro 3	Características agronómicas de cultivo de maíz Tuxpeño a los 55 días después de la siembra. Zamorano 2022.....	18
Cuadro 4	Rendimiento Kg/Ha de maíz Tuxpeño cosechado a 85 días después de la siembra en mazorca al 14%.	21
Cuadro 5	Cantidad de Nitrógeno, nitrato, nitritos y fósforo presentes en el suelo 10 días antes de la siembra.	21
Cuadro 6	Cantidad de nitrógeno, nitrato, nitritos y fósforo presentes en el suelo o follaje al día 80 después de siembra.	22

Índice de Anexos

Anexos A Establecimiento del cultivo de maíz	28
Anexos B Inoculación de las bacterias <i>Azospirillum</i> sp y <i>Pseudomonas fluorescens</i>	29
Anexos C Pruebas de laboratorio para observar presencia de la bacteria <i>Azospirillum</i> sp. en la rizosfera, raíz, tallo y hoja de la planta.	30
Anexos D Prueba de laboratorio para observar presencia de la bacteria <i>Pseudomonas fluorescens</i> en la rizosfera, raíz tallo y hoja de la planta.....	31

Resumen

En la producción de maíz es necesario satisfacer los requerimientos nutritivos de la planta para obtener buenos resultados en la cosecha, estos nutrientes han sido proveídos a la planta de forma inorgánica, lo cual puede causar efectos adversos en el medio ambiente y mayor costo de producción. Actualmente se ha dado énfasis a los biofertilizantes como alternativa para contrarrestar los efectos al medio ambiente causados por los fertilizantes inorgánicos. El estudio tuvo por objetivos: evaluar características fenológicas de la planta en respuesta a la aplicación de *Azospirillum* sp. y *P. fluorescens*, el efecto de las bacterias *Azospirillum* sp y *P. fluorescens* sobre el rendimiento del cultivo de maíz y Determinar el contenido de NO₃, NO₂, NH₄ y fósforo en suelo y follaje, con la aplicación de *Azospirillum* sp. y *P. fluorescens*. Los tratamientos utilizados fueron: *Azospirillum* sp., *Azospirillum* sp.+ *P. fluorescens*, *Azospirillum* sp. + Urea 50%, *P. fluorescens*, Fertilización completa, *Azospirillum* sp, + *P. fluorescens* + Urea 50% y testigo sin fertilizar. Se evaluó la altura de la planta, porcentaje de floración al día 55, grosor del tallo, rendimiento y cantidad de nitrógeno, nitratos, nitritos, amonio y fósforo en el suelo a 80 días después de siembra. El tratamiento *Azospirillum* sp + 50 % Urea, mostró los mismos resultados que el tratamiento fertilización química en cuanto al porcentaje de floración a 55 días, grosor del tallo y altura de la planta. El rendimiento fue mayor en el tratamiento fertilización completa, sin embargo, estadísticamente no hubo diferencia con los tratamientos *Azospirillum* sp + *Pseudomonas* y *Azospirillum* sp. + Urea 50%. En el nitrógeno disponible en forma de nitratos, nitritos y amonio, *Azospirillum* sp. + *P. fluorescens*. + Urea 50% y *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* mostraron los mejores resultados, en cuanto al fósforo *P. fluorescens* y *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* + Urea presentaron mejor resultado.

Palabras clave: *Azospirillum*, bacterias promotoras de crecimiento, fijación de nitrógeno, *Pseudomonas fluorescens*, solubilización de fósforo.

Abstract

In the production of corn, it is necessary to satisfy the nutritional requirements of the plant to obtain good results in the harvest, these nutrients have been provided to the plant in an inorganic way, which can cause harmful effects on the environment and higher production costs; Currently, emphasis has been placed on biofertilizers as an alternative to counteract the effects of inorganic fertilizers. The study had the following objectives: to evaluate the phenological characteristics of the plant in response to the application of *Azospirillum* sp. and *P. fluorescens*, the effect of the bacteria *Azospirillum* sp and *P. fluorescens* on the yield of the corn crop and determine the content of NO₃, NO₂, NH₄ and phosphorus in soil and foliage, with the application of *Azospirillum* sp. and *P. fluorescens*. The treatments used were: *Azospirillum* sp., *Azospirillum* sp.+ *P. fluorescens*, *Azospirillum* sp. + Urea 50%, *P. fluorescens*, Complete fertilization, *Azospirillum* sp, + *P. fluorescens* + Urea 50% and control without fertilization. Plant height, flowering percentage at day 55, stem thickness, yield and amount of nitrogen, nitrates, nitrites, ammonium and phosphorus in the soil at 80 days after sowing were evaluated. The *Azospirillum* sp + 50% Urea treatment showed the same results as the chemical fertilization treatment in terms of flowering percentage at 55 days, stem thickness and plant height. The yield was higher in the complete fertilization treatment, however, statistically there was no difference with the *Azospirillum* sp + *Pseudomonas* and *Azospirillum* sp treatments. + Urea 50%. In the nitrogen available in the form of nitrates, nitrites and ammonium, *Azospirillum* sp. + *P. fluorescens*. + Urea 50% and *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* showed the best results, in terms of phosphorus *P. fluorescens* and *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* + Urea presented better results.

Keywords: *Azospirillum*, growth promoting bacteria, nitrogen fixation, *Pseudomonas fluorescens*, phosphorus solubilization.

Introducción

El maíz, es uno de los cereales más importantes del mundo, suministra elementos nutritivos a los seres humanos, a los animales y es una materia prima básica de la industria. El maíz tiene la particularidad de ser sembrado en una gran cantidad de países. Todas estas características convierten al maíz como: materia prima, productos de su transformación, tecnología para la producción del cereal y sus derivados, en elementos centrales en las negociaciones entre países y bloques del mundo (Maizar 2011). El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) estimó que la producción mundial de maíz 2021/2022 sería de 1,210.45 millones de toneladas, cerca de 4.31 millones (United States Department of Agriculture 2022).

Alrededor del 78% de la atmósfera de la tierra está formada por nitrógeno gaseoso o N_2 ; sin embargo, a pesar de ser abundante en la atmósfera es el nutriente más escaso en prácticamente todo tipo de suelo en las formas metabolizadas por las plantas: nitrato y amonio. González (2019) destaca que la fertilización nitrogenada aporta el macronutriente más requerido y limitado para la producción.

La mayoría de los suelos están deficientes de fósforo y la disponibilidad de este elemento para las plantas es escasa, por lo que se requiere la aplicación de fertilizantes para mantener los altos niveles de productividad (Fernández et al. 2005). La contribución de los fertilizantes minerales, sobre todo los nitrogenados y fosfatados en el aumento de la producción agrícola ha sido comprobada, ya que el nitrógeno, interviene en la división celular, producción de clorofila, sin la cual la fotosíntesis no es posible. Resulta también un componente básico de proteínas y aminoácidos, así como de gran cantidad de enzimas. Además, juega un papel importante en la producción de azúcares, almidón y lípidos, para la nutrición. Por otra parte, el fósforo es indispensable en la fotosíntesis, estimula la germinación, la floración, vigoriza y mejora la calidad de la planta del maíz.

Bajo el sistema productivo agrícola actual, los fertilizantes inorgánicos son esenciales para mantener e incrementar los rendimientos de los cultivos. Sin embargo, la síntesis y aplicación de fertilizantes nitrogenados implica una serie de efectos negativos, entre ellos, destaca la producción

de contaminantes como el óxido nitroso (N_2O), el amoníaco (NH_3) o los óxidos de nitrógeno (NO_2). (Rodríguez 2019), eutrofización, toxicidad de las agua, contaminación de aguas subterráneas, degradación del suelo y de los ecosistemas, desequilibrios biológicos y reducción de la biodiversidad (González 2019).

La necesidad de búsqueda de alternativas que ayuden a minimizar el efecto adverso de los fertilizantes al medio ambiente y la poca disponibilidad de fósforo y nitrógeno para las plantas es de gran interés hoy en día para la agricultura; por ello, el uso de microorganismos que solubilizan fósforo y fijan nitrógeno a través de diferentes mecanismos y su inoculación en altas concentraciones con relación a las que normalmente se encuentran en el suelo constituyen una ventaja para su uso como biofertilizantes, mejorando las condiciones de crecimiento en las plantas (Fernández et al. 2005)

Biológicamente la fijación del nitrógeno es un proceso que implica la transformación del N_2 atmosférico relativamente no reactivo en sus compuestos más reactivos (nitratos, nitritos o amoníaco) por medio de bacterias. Estas formas reactivas son adecuadas para los cultivos y favorecen su crecimiento (EARTH OBSERVING SYSTEM 2022).

En la actualidad se conocen numerosos géneros de bacterias de vida libre o asociativa con plantas, capaces de realizar fijación biológica del nitrógeno, solubilización de fosfatos y producción de fitohormonas, pero solo algunas destacan por su potencial biofertilizante. Entre estos géneros de bacterias promotoras del crecimiento (BGPR) se encuentran las bacterias del género *Azospirillum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium*, *Bacillus subtilis*.

Las bacterias del género *Azospirillum* spp. son bacterias Gram negativas que pertenece al filo de las alfa-proteobacterias. Tienen forma de bastón y su movilidad es en espiral. Son estrictamente aerobias y diazótrofes endófitas facultativas ya que colonizan tanto el interior como la superficie de las raíces de las (Infoagro 2017). La fijación biológica del nitrógeno por estas bacterias es llevada a cabo, gracias a la nitrogenasa, sistema enzimático que cataliza la reducción de nitrógeno a amoníaco, con liberación de hidrógeno. La enzima requiere de la colaboración de otras dos proteínas:

ferrodoxina y flavodoxina, que actúan como donadores de electrones y reductores naturales de la nitrogenasa. Los electrones son transportados a la nitrogenasa por la ferrodoxina y llegan a la hierroproteína, ésta activa a la Mo-Fe-proteína y se produce la reducción de nitrógeno, siendo luego fijado como compuesto aminado (Lara et al. 2007). Entre las bacterias promotoras de crecimiento, el género *Azospirillum* es el más estudiado y ganó relevancia mundial en la década de los 70. Algunos resultados demostraron un aumento en la absorción de agua y nutrientes, mayor tolerancia a la sequía y productividad. Estudios en cultivo de maíz donde se aplicó la bacteria *Azospirillum* observaron, un incremento de 17 % en la longitud de las espigas y productividad con respecto al testigo; esta bacteria se asocia a las raíces de las plantas y tienen la capacidad de producir auxinas, giberelinas y citoquininas; traduciéndose en un mayor desarrollo de la planta y reduciendo de esta manera el uso de fertilizantes (Duarte et al. 2020).

La bacteria *Pseudomonas fluorescens* es una bacteria que tiene forma de bacilo recto y ligeramente curvado, es una bacteria Gram negativa, es incapaz de formar esporas y se desplaza en medios acuosos a través del movimiento activo de sus flagelos polares (Huerta 2015). Sus principales mecanismos de acción incluyen la producción de ácidos orgánicos, como ácido glucónico el cual libera fosfatos y cationes al suelo, la quelación de los elementos responsables de la insolubilidad de los fosfatos presentes y asimilación directa de fosfatos insolubles, lo que está relacionado con la fuente de fósforo disponible. Microorganismos solubilizadores de fosfato como *P. fluorescens*, pueden mostrar otras actividades de promoción de crecimiento vegetal como producción de ácido indol acético (AIA), ácido giberélico, citoquininas, etileno, ácido cianhídrico (HCN), fijación asimbiótica de nitrógeno y resistencia a patógenos del suelo; estas características son necesarias para que un microorganismo sea considerado un potencial y eficiente bioinsumo (Fernández et al. 2005).

Con base en lo anterior, se desarrollaron tres objetivos: evaluar características fenológicas de la planta en respuesta a la aplicación de *Azospirillum sp.* y *P. fluorescens*, determinar el efecto de las bacterias *Azospirillum sp.* y *P. fluorescens* sobre el rendimiento del cultivo de maíz y determinar el

contenido de NO_3 , NO_2 , NH_4 y fósforo en suelo y follaje, con la aplicación de *Azospirillum sp.* y *P. fluorescens*.

Materiales y Métodos

Localización

El estudio se llevó a cabo de marzo a junio del 2022, en la unidad de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP) Zamorano, localizada en el Valle de Yegüare, Departamento de Francisco Morazán, 30 km al Este de Tegucigalpa, Honduras. La EAP se encuentra localizada a 800 msnm, con precipitación de 279 mm distribuidos durante los meses de marzo a junio y una temperatura promedio de 24°C (COPECO, 2022).

Preparación de Suelo

Se levantaron camas a 20 cm de alto, 50 cm de ancho, con 80 cm entre las mismas y se preparó un área total de 1,344 m² para el establecimiento del ensayo.

Siembra

Se utilizó semilla de maíz no tratada con plaguicidas de la variedad Tuxpeño y se sembró a un distanciamiento de 20 cm entre planta y 80 cm entre surco, para una densidad de 62,500 semillas por hectárea. Cada unidad experimental tuvo un total de 300 plantas.

Control de Malezas

15 días antes de la siembra se aplicó herbicida glifosato (Round up) a la dosis de 4 L/ha. El día de siembra se aplicó herbicida pre emergente Atrazina, a una dosis 900 g/ha.

Riego

Se instaló un sistema de riego por goteo, con cintas de polietileno de 5 goteros por metro lineal, a una descarga de 0.9 L/hora/ gotero, aplicando un riego dos horas diarias, 112,500 L por metro hectárea/día.

Variables Evaluadas

Concentración de Nitrógeno, Nitratos (NO_3^-), Nitritos (NO_2^-), Amonio (NH_4^+) y Fósforo, en el Suelo y Tejido Vegetal

Se realizaron dos análisis de suelo para determinar el contenido de nitrógeno, nitratos, nitritos, amonio y fósforo antes de la siembra y al momento de la cosecha. El primero se realizó 7 días antes de la siembra, tomando 10 sub muestras de suelo al azar en el área total del experimento, a una profundidad de 25 cm, recolectando un total de 2 Kg de suelo en los 1,344 m². El segundo análisis se realizó 80 días después de siembra, tomando la misma cantidad de submuestras en el experimento.

Con el propósito de conocer la cantidad de nitratos, nitritos, amonio y fósforo en el tejido vegetal del ensayo, se realizó un análisis de follaje 70 días después de siembra; tomando una muestra de 5 hojas, las mas cercanas a la mazorca, de diferentes plantas por cada unidad experimental, las cuales se enviaron al laboratorio de suelos para su análisis.

Grosor Promedio de Tallo

La medición del grosor del tallo se llevó a cabo 60 días después de la siembra y para esto se eligieron 10 plantas al azar de cada unidad experimental, en esta medición se determinó la circunferencia del tallo con una cinta métrica, a una altura de 30 cm del suelo.

Altura de la Planta

La altura de la planta se midió a los 55 días después de germinada la planta, se midieron 10 plantas aleatoriamente por unidad experimental, a partir de la base del tallo hasta la base del pedúnculo de la flor.

Días a Floración

De cada unidad experimental se contaron las plantas que habían llegado a la formación de antesis al día 55, luego se cálculo el porcentaje de floración conforme al número de plantas (ecuación 1).

$$\% \text{ de floración} = \frac{\text{Plantas floreadas por unidad experimental} * 100\%}{\text{Plantas totales por unidad experimental}} = \frac{60 * 100\%}{122} = 49.1\%$$

Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada (55 días/DS)

De cada unidad experimental se estimó la calidad y desarrollo de la vegetación en 10 plantas consecutivas, con ayuda del Greenseeker, instrumento que provee un índice de vegetación, cuya interpretación puede contribuir al diagnóstico rápido y dirigido, de las condiciones nutricionales, especialmente de nitrógeno (Gutiérrez, 2011).

Rendimiento

Se realizó la cosecha de las mazorcas en 10 metros lineales de cada unidad experimental al día 85, al momento de la cosecha se contabilizó el número de plantas y mazorcas por unidad experimental, posteriormente las mazorcas fueron destuzadas y pesadas, se determinó el porcentaje de humedad del grano en el laboratorio de semillas de Zamorano. Datos de rendimiento fueron corregidos a 14% de humedad (ecuaciones 2 y 3).

$$\text{Factor Corrección} = \frac{100 - \text{humedad inicial medida}}{100 - \text{humedad deseada}} \quad [2]$$

$$FC = \frac{100 - 52.5}{100 - 14} = \frac{47.5}{86} = 0.55 \quad [3]$$

Peso kg mazorca al 14% humedad = FC * peso kg mazorca (52.5 % humedad)

Tratamientos

Cuadro 1

Tratamientos evaluados en el cultivo de maíz utilizando las bacterias *Azospirillum* y *Pseudomonas*.

Tratamiento	Dosis
<i>Azospirillum</i> sp.	1×10 ⁹ UFC/ mL semilla: (250 mL/ kg de semilla) Drench: (1,000 mL/Ha)
<i>Azospirillum</i> sp. + <i>P. Fluorescens</i>	-(<i>Azospirillum</i>) 1×10 ⁹ UFC/ mL semilla: (250 mL/ kg de semilla) Drench: (1,000 mL/Ha)
	-(<i>P. fluorescens</i>) 1×10 ⁹ UFC/ mL semilla: (250 mL/ kg de semilla) Drench: (1,000 mL/Ha)
<i>Azospirillum</i> sp. + 50 % Urea	-1×10 ⁹ UFC/ mL semilla: (250 mL/ kg de semilla) Drench: (1,000 mL/Ha)
	-50 kg/ ha Urea
<i>P. fluorescens</i>	1×10 ⁹ UFC/ mL semilla: (250 mL/ kg de semilla) Drench: (1,000 mL/Ha)
Testigo Fertilización completa	100 kg/Ha (Urea) + 154 kg/Ha (DAP) + 412 kg/Ha (KCL)
<i>Azospirillum</i> sp. + <i>P. Fluorescens</i> + Urea 50%	-(<i>Azospirillum</i>) 1×10 ⁹ UFC/ MI semilla: (250 mL/ kg de semilla) Drench: (1,000 mL/Ha)
	-(<i>P. Fluorescens</i>) 1×10 ⁹ UFC/ mL semilla: (250 mL/ kg de semilla) Drench: (1,000 mL/Ha)
Testigo sin fertilización	- 50 kg/ ha Urea -

Para la aplicación de los tratamientos con las bacterias *Azospirillum* sp. y *P. fluorescens*, en la semilla de maíz (*Azospirillum* sp. , *Azospirillum* sp.+ *P. fluorescens*, *Azospirillum* sp. + 50% urea, *Azospirillum* + *P. fluorescens* + 50% urea y *P. fluorescens*), se mezcló 1.2 kg (4,800 semillas de los tratamientos 1,2,3 y 6) en 300 ml de *Azospirillum* por 10 minutos, posteriormente de las semillas inoculadas con *Azospirillum*, se mezcló 0.9 kg (3,600 semillas, tratamientos 2,4 y 6) en 225 mL de

P. fluorescens, cada bacteria tenía una concentración de 1×10^9 UFC (Unidades formadoras de colonias) / mL (250 mL/ kg de semilla), una vez impregnadas las semillas se dejó secar a sombra por aproximadamente 30 minutos antes de la siembra. Al momento de la siembra se realizó una aplicación base de Urea 20 kg/ha y 15 días después de siembra se realizó una segunda aplicación de las bacterias al drench (1,000 mL/1,600 L agua/ ha).

Para la aplicación de los tratamientos con fertilizante químico al 50% (Azospirillum + 50% urea, Azospirillum + *P. fluorescens* + 50% urea), se aplicó urea 50 kg/ha, inicialmente el día de siembra se aplicó: urea 20 kg/ha (Fertilización base) y 4 aplicaciones posteriores cada 15 días, con Urea 12.5 kg/ha.

El tratamiento Fertilización completa, se aplicó urea 100 kg/ha, DAP 154 kg/ha y KCL 412 kg/ha, inicialmente el día de siembra se aplicó: urea 20 kg/ha (Fertilización base), DAP 30.8 kg/ha y KCL 82.4 kg/ha; Y 4 aplicaciones posteriores cada 15 días, con urea 25 kg/ha, DAP 30.8 kg/ha y 82.4 kg.

Todos los tratamientos menos el testigo tuvieron una fertilización base el día de siembra con Urea 20 kg/ha.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se evaluaron siete tratamientos distribuidos en un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA), se utilizaron cuatro repeticiones, para un total de 28 unidades experimentales. Cada unidad experimental fue de 48 m².

Cuadro 2

Distribución de los tratamientos en campo, donde se evaluó el efecto de las bacterias promotoras de crecimiento Azospirillum sp y P. fluorescens.

Repetición	Tratamientos						
	4	5	6	3	2	1	7
R1	4	5	6	3	2	1	7
R2	1	2	3	6	5	4	7
R3	3	6	4	5	1	2	7
R3	2	3	1	4	6	5	7

Resultados y Discusión

Altura, Floración y Grosor

El Cuadro 3 muestra la altura de la planta, indicando que todos los tratamientos presentaron estadísticamente la misma altura con excepción del tratamiento sin fertilizar que presentó una altura menor. El crecimiento óptimo de la planta de maíz se ve reflejado en la absorción de nutrientes durante el ciclo vegetativo, para una absorción ideal, es necesario que los nutrientes en el suelo se encuentren disponibles para poder ser asimilables por la planta. En todos los tratamientos donde se aplicaron las bacterias *Azospirillum sp.*, *P. fluorescens* y 50 kg/ha urea, se observó que la planta mostro un crecimiento favorable para la producción, igual que el tratamiento fertilización completa 100 kg/ha, el testigo sin fertilización las plantas fueron de menor tamaño. Aguilar C et al. (2015) afirma que la tasa de crecimiento del cultivo es considerada un índice de la productividad agrícola.

Estos resultados están relacionados con los de Rodríguez (2019) afirmando que la mayor altura de planta de maíz se consiguió con la aplicación de *Azospirillum sp. + Pseudomonas fluorescens* con 2.10 m, estadísticamente igual al uso de Testigo Químico 135 kg/ha Urea.

Serna et al. (2020) en su investigación afirma que la fertilización química + biofertilizantes en híbrido de maíz blanco promovió la mayor altura de las plantas (3.2 m); mientras que, en las plantas tratadas solo con fertilizantes químicos, se obtuvieron 2.88 m de altura. Estos resultados indican que, en las condiciones edafoclimáticas de la zona de estudio, el híbrido de maíz blanco posee el mayor potencial de crecimiento.

Cuadro 3

Características agronómicas de cultivo de maíz Tuxpeño a los 55 días después de la siembra.

Zamorano 2022.

Tratamiento	Altura (cm)	Floración (%)	Grosor tallo (cm)
<i>Azospirillum sp.</i>	2.14 a	0.40 a	9.6 c
<i>Azospirillum sp</i> + <i>P. fluorescens</i> .	2.12 a	0.22 bc	9.8 bc
<i>Azospirillum sp.</i> + Urea 50%	2.19 a	0.34 ab	10.02 ab
<i>P. fluorescens</i>	2.07 a	0.12 c	9.8 bc
Fertilización completa NPK	2.13 a	0.29 ab	10.27 a
<i>Azospirillum sp.</i> + <i>P. fluorescens.</i> + Urea 50%	2.20 a	0.14 c	9.1 d
Testigo sin fertilización	1.56 b	0.22 bc	8.2 e
Probabilidad	0.0001	0.0005	0.0001
R2	0.87	0.75	0.91
CV	5.17	32.37	2.480

Nota. abcde: Media en cada columna con diferente letra presentan diferencia significativas según prueba Duncan ($P \leq 0.05$).

Cuando se evaluó el porcentaje de floración a 55 días se observó que el tratamiento, *Azospirillum sp.* mostró mayor porcentaje de plantas floreadas sin mostrar diferencia significativa con los tratamientos *Azospirillum sp.* + Urea 50 % y fertilización completa, quienes, sí presentaron un porcentaje significativamente mayor que los tratamientos, *P. fluorescentes* y *Azospirillum sp.* + *P. fluorescens.* + Urea 50% a excepción el testigo sin fertilizar.

Como podemos observar los tratamientos *Azospirillum sp.*, *Azospirillum sp* + 50% Urea y fertilización completa urea 100 kg/ha, presentaron mayor floración a los 55 días después de siembra. Estos nos indica que, si aplicamos la bacteria *Azospirillum sp* con o sin fertilizante 50 kg/ha urea, obtendremos el mismo porcentaje de floración que fertilización química con 100kg/ha urea, estos resultados concuerdan con los de Uribe V. et al. (2009) afirmando que en su estudio existió un aumento de floración y aparición de espigas temprana con la aplicación de *Azospirillum* en el cultivo de maíz, sin presentar diferencia significativa con el tratamiento fertilizante químico 90 kg/ha Urea.

En cuanto al grosor del tallo las plantas del tratamiento con fertilización completa presentaron mayor grosor del tallo significativamente que el resto de los tratamientos a excepción de *Azospirillum* sp.+ urea. Los tratamientos *Azospirillum* sp., *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* y *P. fluorescens* presentaron el mismo grosor del tallo, significativamente mayor que los tratamientos *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* + urea 50% y el testigo sin fertilización.

Se observó que al aplicar *Azospirillum* sp. + 50% Urea podemos obtener los mismos resultados aplicando fertilización completa urea 100 kg/ha, según los resultados en cuanto a grosor del tallo podemos afirmar que *Azospirillum* es capaz de sustituir el 50 % de nitrógeno de una fertilización completa de 100 kg/ha de nitrógeno. Duarte et al. (2020), nos afirma que *Azospirillum* tiene la característica de sintetizar fitohormonas como la giberelina y la citoquinina, las cuales promueven división celular y la formación de nuevos tejidos en la parte aérea y raíces de la planta.

Rendimiento

El cuadro 4 nos muestra el rendimiento, por factor de tiempo no se pudo llegar hasta madures del grano por lo que se cosecho a los 85 días después de siembra. Cuando comparamos los rendimientos se observó que los tratamientos, *Azospirillum* sp. + *P. fluorescens*, *Azospirillum* sp + Urea 50% y Fertilización completa, tuvieron el mayor rendimiento; El tratamiento *Azospirillum* sp tuvo rendimientos en un 25% menor que el tratamiento fertilización completa, sin embargo no fue diferente estadísticamente con los tratamientos que contenían *Azospirillum* sp., lo que indica que la bacteria *Azospirillum* sp., influyó directamente en el rendimiento; El tratamiento *P. fluorescens* mostró un rendimiento 32 % menor al tratamiento fertilización completa. El tratamiento *Azospirillum* sp.+ *P. fluorescens*, tuvo rendimientos de 10% menor que el tratamiento fertilización completa. El testigo sin fertilización fue el que menor rendimiento presentó, 47 % menor que el tratamiento fertilización completa.

En conclusión, los tratamientos *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* y *Azospirillum* sp + 50 Kg/ha urea, presentaron los mismos rendimientos que el tratamiento fertilización completa 100 kg/ha urea.

Conforme a los resultados podemos indicar que si queremos minimizar los costos de producción lo más conveniente sería aplicar las 2 bacterias *Azospirillum sp*+ *P. fluorescens* y obtendríamos los mismos rendimientos si aplicamos fertilización completa 100 kg/ha urea (Cuadro 4).

Cuadro 4

Rendimiento Kg/Ha de maíz Tuxpeño cosechado a 85 días después de la siembra en mazorca al 14%.

Tratamiento	Rendimiento Kg/Ha grano seco en mazorca
<i>Azospirillum sp.</i>	8189.9 bc
<i>Azospirillum sp + P. fluorescens.</i>	9642.7 ba
<i>Azospirillum sp.</i> + Urea 50%	9385.5 ba
<i>P. fluorescens</i>	7377.9 c
Fertilización completa NPK	10791.9 a
<i>Azospirillum sp. + P. fluorescens.</i> + Urea 50%	9162.5 b
Testigo sin fertilización	4959.1 d
Probabilidad	0.0001
R2	0.84
CV	11.11

Análisis de Suelo 10 Días Antes de Siembra

El cuadro 5 nos muestra los resultados del análisis de laboratorio de las muestras de suelo indican que el nitrógeno total se encuentra en una cantidad media con relación a la cantidad requerida por la planta, sin embargo, se encuentra escaso en sus formas más disponibles como nitratos, nitritos y amonio. Se observa que el fósforo se encuentra en mayor cantidad, lo que representa un suelo rico en fósforo.

Cuadro 5

Cantidad de de Nitrógeno, nitrato, nitritos y fósforo prenetes en el suelo 10 días antes de la siembra.

Muestra	N g/ 100 g (%)	Nitrato Mg/kg	Nitrito Mg/kg	Amonio Mg/kg	Fósforo Mg/kg
Muestra única	0.15	23.89	0.12	0.34	62.21

Análisis de Suelo 80 Días Después de Siembra

El cuadro 6 nos muestra variaciones importantes en los contenidos de nitratos, nitritos, amonio y fósforo, probablemente debido a los tratamientos aplicados. El tratamiento *Azospirillum sp. + P. fluorescens. + Urea 50%*, reporta una mayor cantidad de nitrógeno disponible para la planta en forma de nitratos, nitritos y amonio, comparado el tratamiento fertilización completa. Los tratamientos *Azospirillum + P. fluorescens*, *Azospirillum sp*, y *Azospirillum sp. + Urea 50%*, presentaron mayor resultado que el tratamiento fertilización completa principalmente producción de amonio. El fósforo se encontró en mayor cantidad en el tratamiento de *P. fluorescens y Azospirillum sp. + P. fluorescens. + Urea 50%* en comparación con el tratamiento fertilización completa.

Cuadro 6

Cantidad de nitrógeno, nitrato, nitritos y fósforo presentes en el suelo o follaje al día 80 después de siembra.

Tratamientos	N g/ 100 g (%)	Nitrato Mg/kg	Nitrito Mg/kg	Amonio Mg/kg	Fósforo Mg/kg
<i>Azospirillum sp.</i>	0.15	15.20	0.15	2.49	56.71
<i>Azospirillum sp + P. fluorescens.</i>	0.14	15.20	0.14	6.10	61.46
<i>Azospirillum sp. + Urea 50%</i>	0.13	47.78	0.10	2.26	55.01
<i>P. fluorescens</i>	0.13	30.41	0.11	1.36	107.69
Fertilización completa NPK	0.12	36.92	0.15	2.15	80.55
<i>Azospirillum sp. + P. fluorescens. + Urea 50%</i>	0.16	67.33	0.22	6.78	85.08
Testigo sin fertilización	0.12	28.23	0.14	1.36	80.05

En la interpretación de los resultados del análisis de suelo a 80 días después de siembra, se puede observar que la bacteria *Azospirillum* sp. está posiblemente relacionada con la producción de nitratos, nitritos y amonio. Lara et al. (2007) afirma que la fijación biológica del nitrógeno por estas bacterias es llevada a cabo, gracias a la nitrogenasa, sistema enzimático que cataliza la reducción de nitrógeno a amoníaco, con liberación de hidrógeno. Duarte et al. (2020) indica que uno de los principales modos de acción de *Azospirillum* sp. ocurre a través de la reducción del nitrato (NO_3^-) en las raíces, promoviendo el crecimiento vegetal debido al menor gasto de energía en la reducción de nitrato a amoníaco, y esta energía es asignada en otros procesos vitales.

El tratamiento *P. fluorescens* mostró alto contenido en fósforo, relacionado con lo que afirma Pineda (2014), Los microorganismos solubilizadores de fosfato como *P. fluorescens*, usan diferentes mecanismos de solubilización, como la producción de ácidos orgánicos, que solubilizan dichos fosfatos insolubles en la zona rizosférica. Los fosfatos solubles son absorbidos por la planta, lo cual mejora su crecimiento y productividad. Al utilizar esas reservas de fosfato presentes en los suelos, se disminuye la aplicación de fertilizantes químicos.

Conclusiones

Las bacterias *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* presentaron un impacto favorable en el desarrollo de la planta, siendo igual que cuando aplicamos fertilizante químico 100 kg/ha urea.

Con la aplicación de las bacterias *Azospirillum* sp + *P. fluorescens* reducimos el uso de los fertilizante nitrogenados, obteniendo los mismos rendimientos con fertilización completa 100 kg/ha de Urea.

Con la aplicación de las bacterias *Azospirillum* + *P. fluorescens* se observó un mayor contenido de nitrógeno en forma de amonio en el suelo, posiblemente debido al mecanismo de acción de las misma.

Recomendaciones

Realizar un análisis de suelo por cada repetición de cada tratamiento, para realizar una comparación estadística de nitrógeno, nitratos, nitritos, amonio y fósforo entre los tratamientos.

Realizar la cosecha del maíz cuando este se encuentre en madurez fisiológica (100-140 días, dependiendo la variedad) para obtener rendimientos más exactos.

Realizar varias aplicaciones de las bacterias *Azospirillum* sp y *P. fluorescens* en diferentes ciclos de la planta de maíz.

Aplicar las bacterias sin fertilización base, para observar el efecto en el desarrollo de las plantas.

Referencias

- Aguilar C, Escalante E, Salvador J, Aguilar I. 2015. Análisis de crecimiento y rendimiento de maíz en clima cálido en función del genotipo, biofertilizante y nitrógeno. *Terra Latinoamericana*; [consultado el 27 de jun. de 2022]. 33(1):51–62. <https://www.redalyc.org/pdf/573/57335800004.pdf>.
- Duarte, Fernandez C, Cecato B. 2020. *Azospirillum* spp. en gramíneas y forrajeras. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 11(1):223–240. doi:10.22319/rmcp.v11i1.4951.
- EARTH OBSERVING SYSTEM. 2022. Fijación Biológica De Nitrógeno: Concepto Y Beneficios De Su Uso: ¿Qué Es La Fijación Biológica Del Nitrógeno? [sin lugar]: EARTH OBSERVING SYSTEM; [actualizado el 19 de may. de 2022; consultado el 23 de jun. de 2022]. <https://eos.com/es/blog/fijacion-biologica-de-nitrogeno/>.
- Fernández LA, Zalba P, Gómez MA, Sagardoy MA. 2005. Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera. 23(1):1850–2067. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-20672005000100004.
- González U. 2019. Consecuencias ambientales de la aplicación de fertilizantes. [sin lugar]: [sin editorial]; [consultado el 22 de jun. de 2022]. 5 p. https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/27059/1/Consecuencias_ambientales_de_la_aplicacion_de_fertilizantes.pdf.
- Huerta Y. 2015. Microorganismo *Pseudomona Fluorescens* | Oró Espais Verds: *P. fluorescens* como rizobacteria promotora de crecimiento en plantas. [sin lugar]: Uníversidad de Arizona; [actualizado el 24 de jun. de 2022; consultado el 24 de jun. de 2022]. <https://www.oroespaisverds.com/etiquetas/microorganismo-pseudomona-fluorescens>.
- Infoagro. 2017. *Azospirillum*: Características generales del género *Azospirillum* spp. [sin lugar]: Información técnica agrícola; [actualizado el 30 de jul. de 2022; consultado el 30 de jul. de 2022]. https://www.infoagro.com/documentos/_azospirillum__como_fijador_nitrogeno_del_suelo.asp.
- Lara, Villalba M, Oviedo L. 2007. Redalyc. Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia: INTRODUCCIÓN; [consultado el 28 de jun. de 2022]. <https://www.redalyc.org/pdf/776/77690202.pdf>.
- Maizar. 2011. *El Maiz, Primero en el mundo: Mejores en Rindes*. Argentina: Asociacion Maiz y Sorgo Argentino; [consultado el 20 de jun. de 2022]. <http://www.maizar.org.ar/vertext.php?id=392>.
- Rodríguez A. 2019. Fertilizantes de nitrógeno, tan imprescindibles como contaminantes. [sin lugar]: [sin editorial]; [actualizado el 4 de abr. de 2022; consultado el 30 de jul. de 2022]. <https://theconversation.com/fertilizantes-de-nitrogeno-tan-imprescindibles-como-contaminantes-122594>.
- Serna M, Hernández J, Díaz. 2020. Profitability of grain and fodder production systems of corn hybrids, with biological and chemical fertilization in dry tropic. 38(1). file:///D:/OneDrive%20-%20Zamorano/Downloads/507-5894-1-PB.pdf. doi:10.28940/terra.v38i1.507.
- United States Department of Agriculture. 2022. Actualización de las proyecciones para la cosecha de maíz y soya según USDA a abril de 2022. Estados Unidos: United States Department of Agriculture; [actualizado el 13 de abr. de 2022; consultado el 20 de jun. de 2022]. <https://www.3tres3.com/>

latam/ultima-hora/actualizacion-proyecciones-para-la-cosecha-de-maiz-y-soya-segun-usda_13922/.

Uribe V. G, Petit Aldana J, Dzib E. R. 2009. Respuesta del cultivo de maíz a la aplicación de biofertilizantes en el sistema roza, tumba y quema en suelo alfisol (chac-lu'um, nomenclatura maya), en Yucatán, México: Respuesta del cultivo de maíz a la aplicación de biofertilizantes en el sistema roza, tumba y quema en suelo alfisol (chac-lu'um, nomenclatura maya), en Yucatán, México; [consultado 28/6/22]. 13:3–18. español. <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/27871>.

Anexos

Anexos A

Establecimiento del cultivo de maíz



Anexos B*Inoculación de las bacterias Azospirillum sp y Pseudomonas fluorescens*

Anexos C

Pruebas de laboratorio para observar presencia de la bacteria Azospirillum sp. en la rizosfera, raíz, tallo y hoja de la planta.



Anexos D

Prueba de laboratorio para observar presencia de la bacteria Pseudomonas fluorescens en la rizosfera, raíz tallo y hoja de la planta.

