

## EFECTO DE *Azospirillum brasilense* EN EL RENDIMIENTO DEL MAÍZ EN EL NORTE DE TAMAULIPAS, MÉXICO

### Effect of *Azospirillum brasilense* on maize yield in northern Tamaulipas, México

JG García-Olivares, A Mendoza-Herrera, N Mayek-Pérez ✉

(JJGO)(AMH)(NMP) Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional. Blvd. del Maestro esq. Elías Piña s/n, Col. Narciso Mendoza, Reynosa, 88710 Tamaulipas, México. nmayek@ipn.mx

**Nota científica** recibido: 21 de noviembre de 2008, **aceptado:** 24 de noviembre de 2011

**RESUMEN.** El alto costo de la fertilización del maíz en México reduce la rentabilidad del cultivo y genera la necesidad de la búsqueda de alternativas ecológicas y económicas de biofertilización basadas en la aplicación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal. El efecto de *Azospirillum brasilense* (cepa UAP154) en el rendimiento de grano del maíz se evaluó en dos experimentos establecidos durante 2001 en Díaz Ordaz, Tamaulipas, México. Aunque no se detectaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), la inoculación de *A. brasilense* incrementó el rendimiento de grano en comparación con el testigo no fertilizado ni inoculado en el segundo experimento desarrollado durante otoño-invierno y en promedio de los dos experimentos e incrementó la relación beneficio/costo 56 %.

**Palabras clave:** *Azospirillum brasilense*, biofertilizantes, rendimiento de grano, *Zea mays*.

**ABSTRACT.** The high cost of maize fertilisation in Mexico reduces crop profitability and generates a need to find ecological and economic alternatives of biofertilisation based on the use of microorganisms that promote plant growth. The effect of *Azospirillum brasilense* (UAP154 strain) on maize grain yield was evaluated in two experiments established during 2001 in Díaz Ordaz, Tamaulipas, Mexico. Although no significant differences ( $p < 0.05$ ) were detected, the *A. brasilense* inoculation increased grain yield compared with the non fertilised and non inoculated control in the second experiment carried out during autumn-winter, and on average of the two experiments, and increased the benefit/cost relationship by 56 % on average.

**Key words:** *Azospirillum brasilense*, biofertilizers, grain yield, *Zea mays*.

## INTRODUCCIÓN

En la región norte del estado de Tamaulipas, México se sembraron durante el 2001, alrededor de 125 000 ha con maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de riego y temporal (Anónimo 2005. Sistema de Información Agropecuaria de Consulta 1980-2004. SAGARPA. México. [http://www.siap.sagarpa.gob/mx/ar\\_comanuar.html](http://www.siap.sagarpa.gob/mx/ar_comanuar.html)). El maíz cultivado en dicha región requiere cantidades importantes de fertilizantes nitrogenados y fosforados para producir rendimientos de grano económicamente aceptables. Sin embargo, los fertilizantes son insumos que por su costo impactan en la rentabilidad del cultivo. En los últimos años se ha incrementado la utilización de fertilizantes basados en microorganismos promotores del crecimiento que se denominan rizobacterias

promotoras del crecimiento vegetal, bioestimulantes, biofertilizantes o inoculantes. Aunque son muchos los microorganismos identificados que se utilizan en este tipo de fertilizantes, los más comunes pertenecen a los géneros *Rhizobium*, *Azospirillum* y *Glomus* (Alarcón A, Ferrera-Cerrato R 2000. Agricultura Técnica en México 26: 191-203). Las condiciones económicas para la producción de maíz en Tamaulipas no son promisorias ya que bajo el esquema actual de producción la rentabilidad es baja; en consecuencia, se requieren alternativas que incidan en la reducción de los costos de producción. La respuesta a los inoculantes basados en *A. brasilense* ha sido frecuentemente exitosa, pues se han reportado incrementos significativos mayores al 30 %, en la producción de grano y materia seca de cultivos tales como maíz, frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), trigo

(*Triticum aestivum* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), pastos (*Setaria italica*), cítricos (*Citrus* spp.) y haba (*Vicia faba* L.) (Holguin G, Bashan Y, Puente ME, Carrillo A, Bethlenfalvay G, Rojas A, Vázquez P, Toledo G, Bacilio-Jiménez M, Glick BR, González de-Bashan LE, Lebsky V, Moreno M, Hernández JP 2003. Agricultura Técnica en México 29: 201-211; Irizar G M, Vargas P, Garza D, Tut C, Rojas M, Trujillo A, García R, Aguirre D, Martínez J, Alvarado S, Grageda O, Valero J, Aguirre J 2003. Agricultura Técnica en México 29: 213-225; Aguirre-Medina JF 2004. Biofertilizantes microbianos: Antecedentes del programa y resultados de validación en México. En: Memoria del Simposio de Biofertilización. Díaz-Franco A, Mayek-Pérez N, Mendoza A, Maldonado-Moreno N (eds.). INIFAP-Río Bravo, Tamaulipas, México). También, el uso de inoculantes ha permitido la reducción en la aplicación de fertilizantes químicos nitrogenados en diversos cultivos (Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Ptacek D, Vanderleyden J, Dutto P, Labandera-González C, Caballero-Mellado J, Francisco-Aguirre J, Kapulnik Y, Brenr S, Burdman S, Kadouri D, Varig S, Okon Y 2001. Australian Journal of Plant Physiology 28: 871-879; Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Ptacek D, Okon Y, Vanderleyden J 2002. Biology and Fertility of Soils 36: 284-297). Sin embargo, en sorgo no se han encontrado efectos importantes en crecimiento y rendimiento de grano con la aplicación de biofertilizantes a base de *Azospirillum*, lo que se atribuye a los factores ambientales imperantes en la evaluación y cepa estudiada (Ramírez GR, Luna BM 1995. Simbiosis asociativas. En: Ferrera-Cerrato R, Pérez JM (eds.) Agromicrobiología. Elemento Útil en la Agricultura Sustentable. Colegio de Postgraduados; Pecina-Quintero V, Díaz-Franco A, Williams-Alanís H, Rosales-Robles E, Garza-Cano I 2005. Revista Fitotecnia Mexicana 28: 389-392). La inoculación del sorgo, maíz y otras gramíneas con *Azospirillum* es benéfica, ya que puede aportar del 30 al 50 % de los requerimientos de N (Bashan Y, Holguin G 1997. Canadian Journal of Microbiology 43: 103-121). Además promueve el crecimiento de las raíces lo que se traduce en mayor absorción de agua y nutrimentos (Bashan Y, Holguin G, De-Bashan LE 2004. Canadian Journal of Microbiology 50: 521-

577). No obstante lo anterior, existe el consenso de que la fijación biológica de nitrógeno en cereales tiene bajo impacto agronómico y que el uso de bacterias es promisorio con base en sus características de promotoras del crecimiento vegetal, que incluye aspectos hormonales (Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y 2003. Critical Review in Plant Sciences 22: 107-149). Debido a que el norte de Tamaulipas presenta amplia diversidad en las características físico-químicas del suelo y que los agricultores siembran materiales genéticos de maíz variables en cuanto al origen y condición genética, es necesario evaluar el efecto de los bioestimulantes *in situ* estableciendo estudios en diferentes años y localidades para evaluar el efecto de una determinada cepa. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de un biofertilizante basado en la cepa UAP154 de *A. brasilense* en el rendimiento de grano de maíz cultivado en dos fechas de siembra.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La cepa de *A. brasilense* que se utilizó en el trabajo fue UAP154 originaria del estado de Puebla, México de la colección microbiológica del Centro de Ciencias Genómicas de la UNAM en Cuernavaca, Morelos, México. La cepa se desarrolló en los medios PY (peptona 0.5 %, extracto de levadura 0.3 % y  $\text{CaCl}_2$  0.007 M) y rojo Congo (Caballero-Mellado J, Carcaño-Montiel MG, Mascarúa-Esparza MA 1992. Symbiosis 13: 243-253) adicionados con  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$  de ácido nalidixico y  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  de tetraciclina que sirven como antibióticos de otras bacterias contaminantes del medio. Posteriormente, la cepa UAP154 se creció en 250 mL de medio líquido PY (Döbereiner J, Marriel IE 1976. Canadian Journal of Microbiology 22: 1464-1473) suplementado con  $\text{CaCl}_2$  0.04 % y se incubó a 32 °C por 48 h a 200 rpm. Los cultivos se mezclaron con 500 g de sustrato de turba estéril con pH 6.8. Las mezclas se incubaron por siete días a 32 °C en bolsas de polietileno bajo condiciones asépticas. La semilla de maíz se mezcló, antes de su siembra, con el inóculo (1 kg de inóculo por 14 kg de semilla,  $6 \times 10^7$  bacterias por semilla) y se agregó solución acuosa de goma arábiga 20 % (40 mL  $\text{kg}^{-1}$  de semilla) como adhe-

rente. La semilla inoculada y semilla no inoculada se sembró mecánicamente inmediatamente después de la inoculación. Para el establecimiento del cultivo se aplicó un riego, posteriormente, los experimentos se condujeron en condiciones de secano o temporal. Dos experimentos se establecieron durante 2001 en el rancho Los Nogales localizado en el municipio de Díaz Ordaz (26° 14' LN, 98° 36' LO y 68 msnm), uno durante el ciclo primavera-verano (experimento I) el 1 de febrero y otro durante el ciclo otoño-invierno (experimento II) el 17 de julio. Durante el desarrollo de los experimentos se registraron 99.4 mm de precipitación y 22 °C de temperatura media (experimento I) y 297.2 mm y 25 °C (experimento II). La siembra fue en surcos de 0.86 m de ancho con una densidad de 60,000 plantas ha<sup>-1</sup>, recomendada para el híbrido en la región de estudio por la casa comercial. De acuerdo con el análisis físico-químico, el suelo de los lotes de siembra presentó las siguientes características: textura franco-arenosa con pH 7.8 (moderadamente alcalino), libre de sales (conductividad eléctrica de 0.4 mmhos cm<sup>-1</sup> a 25 °C), con contenido bajo de materia orgánica (0.67 %) y de N inorgánico (NO<sub>3</sub>) (10 ppm), contenido medio de P disponible (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) (11 ppm) y alto de K (540 ppm). El híbrido de maíz Pioneer-3025W® se utilizó en ambos experimentos. Dicho híbrido se caracteriza por tener grano blanco, ciclo precoz (60 a 65 días al 50 % de la floración y de 142 a 148 días a cosecha); la altura promedio de planta y de mazorca es de 2 y 1 m, respectivamente (Anónimo. 2006. Agronomy, Nutrition, Research & Technology. Pioneer Hi-Bred Internacional Inc. <http://www.pioneer.com/usa/agronomy/index.htm>). En cada experimento se probaron cinco tratamientos: T-0 = Testigo (no inoculado con *A. brasilense* ni fertilizado químicamente); T-1 = inoculado/no fertilizado químicamente; T-2 = inoculado/fertilizado con media dosis del N total recomendado para el maíz en la región de estudio (60 kg ha<sup>-1</sup>); T-3 = inoculado/fertilizado con la dosis completa de N recomendada (120 kg ha<sup>-1</sup>) y T-4 = no inoculado/fertilizado con la dosis completa de N recomendada. La fuente de N fue amonio anhídrido (82 % de N<sub>2</sub>). Los tratamientos se establecieron bajo un diseño experimental de bloques completos al azar

con tres repeticiones en cada experimento. La unidad experimental fue de 5 x 8 m (40 m<sup>2</sup>). Adicionalmente, muestras de suelo, rizosfera y tejidos de plantas de maíz se tomaron en cada tratamiento durante el desarrollo del experimento II (a los 20, 35, 50, 65 y 80 d después de la siembra) y se llevaron a laboratorio. Las muestras se sembraron en los medios PY (Rodríguez-Cáceres EA 1982. Applied Environmental Microbiology 44: 990-991) y rojo Congo (Caballero-Mellado J, Carcaño-Montiel MG, Mascarua-Esparza MA 1992. Symbiosis 13: 243-253) y se realizaron conteos de ufc g<sup>-1</sup> de suelo o tejido para determinar el grado de colonización de la bacteria (Rodríguez-Cáceres EA 1982. Applied Environmental Microbiology 44: 990-991). Los datos de rendimiento de grano al 14 % de humedad de cada experimento se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) combinado con las repeticiones anidadas en los experimentos donde las fuentes de variación fueron los experimentos, tratamientos y su interacción. Las medias se separaron con el valor de la diferencia mínima significativa (DMS, P = 0.05). El análisis estadístico se realizó con el paquete de diseños experimentales de la FAUANL (Olivares-Sáenz E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL versión 2.5. Universidad Autónoma de Nuevo León, México). Adicionalmente, se calcularon los costos de producción, ingresos netos, ganancias netas y la relación beneficio/costo para cada experimento y tratamiento por hectárea con base en la información proporcionada por el Fondo de Aseguramiento Agrícola PROAGRO A. C. (Comunicación Personal, J G Chapa-Gutiérrez, PROAGRO, Díaz Ordaz, Tamaulipas, México. Agosto de 2006), incluyendo los costos de preparación del terreno, riego, semilla, siembra y manejo del cultivo del 2001. Los costos de fertilización y biofertilización variaron de acuerdo con los tratamientos, mientras que los de trilla y flete del grano variaron de acuerdo con los rendimientos de grano por hectárea por tratamiento. Los ingresos incluyeron el valor del grano (\$ 1 400 t<sup>-1</sup>) y el apoyo de PROCAMPO para el 2001 a los productores de maíz en la región (\$ 780 ha<sup>-1</sup>)

**Tabla 1.** Análisis de varianza combinado del rendimiento de grano de maíz en respuesta a *A. brasilense* en Díaz Ordaz, Tamaulipas, México.

**Table 1.** Combined analysis of variance for maize grain yield in response to *A. brasilense* in Díaz Ordaz, Tamaulipas, Mexico.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Experimento	1	0.48	0.48	1.23 NS
Tratamiento	4	2.16	0.54	1.38 NS
Repetición (Experimento)	4	1.56	0.39	1.00 NS
Experimento*Tratamiento	4	1.50	0.37	0.96 NS
Error	16	6.26	0.39	
Total	29	11.95		

NS = No significativo ( $p \leq 0.05$ )

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de la rizósfera y de tejidos de maíz indicaron concentraciones variables entre  $10^5$ - $10^6$  ufc  $g^{-1}$  en suelo y  $10^4$ - $10^5$  ufc  $g^{-1}$  en rizósfera; mientras que en tejidos se detectaron entre  $10^3$ - $10^4$  ufc  $g^{-1}$  al inicio del ciclo de cultivo y entre  $10^2$ - $10^3$  ufc  $g^{-1}$  al final del ciclo pero no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (datos no incluidos) y las concentraciones observadas son menores a las registradas en suelos con altos contenidos de nutrimentos como  $N_2$  y materia orgánica y predominantemente ácidos de zonas templadas (Hann SO, New PB 1988. Microbiological Ecology 36: 193-210). La concentración óptima de *A. brasilense* para establecer una interacción planta-microorganismo efectiva es de aproximadamente  $1 \times 10^7$  ufc  $g^{-1}$  de suelo (Michielis K, Vanderleyden J, van Goolm A 1989. Biology Fertility Soils 8: 356-368; Okon Y, Labandera-Gonzales CA 1994. Soil Biology and Biochemistry 26: 1591-1601). El AN-DEVA combinado no detectó diferencias estadísticas significativas entre experimentos, tratamientos ni en la interacción experimentos x tratamientos (Tabla 1). Sin embargo, la prueba de separación de medias de DMS indicó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la interacción experimentos x tratamientos para rendimiento de grano. El tratamiento con *A. brasilense* del experimento II mostró la media mayor y en promedio en ambos experimentos y los menores valores del rendimiento de grano correspondieron al tratamiento con *A. brasilense* + 50% del N recomendado (Tabla 2). La ausencia de efecto significa-

tivo de *A. brasilense* en el rendimiento de grano de maíz en el experimento I pudo deberse a las condiciones ambientales del sitio experimental que no permitieron o redujeron la adhesión y colonización de la raíz por *A. brasilense*, la cual a su vez fue menor a lo consignado por Burdman et al. (Burdman S, Okon Y, Jurkevitch E 2000. Critical Review of Microbiology 26: 91-110) y que es esencial para el establecimiento de la asociación con la planta hospedante y consiguiente promoción del crecimiento vegetal. El bajo contenido de materia orgánica del suelo (menor a 1%) y el pH alcalino posiblemente afectaron la eficiencia de la bacteria en la promoción del crecimiento vegetal dado que la habilidad competitiva de *Azospirillum* disminuye en suelos pobres en materia orgánica (Fallik E, Okon Y, Epstein E, Goldman A, Fischer M 1989. Soil Biology and Biochemistry 21:147-153) y mejora su respuesta en pH de 5.8 a 7.0 (Eory VJ, Momo FR, Alvarez M 1995. Revista Argentina de Microbiología 27: 99-105). En cuanto al clima, factores adversos en la eficiencia de *A. brasilense* fueron las altas temperaturas (medias máximas mayores a 30 °C durante la floración) y la escasa precipitación pluvial (< 100 mm) ocurridas durante el ciclo de cultivo en primavera-verano, condiciones desfavorables en el establecimiento de la interacción bacteria-raíz del maíz (Loredo OC, López IR, Espinosa VD 2004. Terra Latinoamericana 22: 225-239; Díaz FA, Alvarado CM, Cantú AMA, Garza CI 2005. Agricultura Técnica en México 31: 153-163; Díaz FA, Garza CI, Pecina QV, Montes GN 2008. Revista Fitotecnia Mexicana 31: 35-42). Aunque los niveles de colonización de tejidos por

**Tabla 2.** Rendimiento de grano y algunos parámetros financieros en el estudio de la respuesta a la biofertilización en maíz en Díaz Ordaz, Tamaulipas, México.

**Table 2.** Grain yield and some economic parameters recorded in the study of maize biofertilisation response in Díaz Ordaz, Tamaulipas, Mexico.

Tratamiento	Experimento I				Experimento II				
	Rendimiento de grano	Costo total	Ingreso total	Ganancia neta	Rendimiento de grano	Costo total	Ingreso total	Ganancia neta	Relación beneficio /costo promedio
	– t ha <sup>-1</sup> –	— pesos ha <sup>-1</sup> —			– t ha <sup>-1</sup> –	— pesos ha <sup>-1</sup> —			
Testigo	4	4680	6380	1700	3.2	4600	5260	660	1.25
Ab <sup>1</sup>	3.9	4710	6240	1530	4.4	4740	6940	2200	1.39
Ab + 50N	3.6	5170	5820	650	3.0	5080	4980	-100	1.05
Ab + 100N	4	5640	6380	740	3.7	5620	5960	340	1.10
100N	3.9	5610	6240	630	3.6	5580	5820	240	1.08
DMS (P=0.05) <sup>2</sup>	1.1				1.1				

<sup>1</sup> Ab = Aplicación de *A. brasilense*; 50N = Aplicación de la mitad de la dosis de N<sub>2</sub>; 100N = Aplicación del total de la dosis de N<sub>2</sub>. <sup>2</sup> El valor de DMS corresponde al valor de la interacción experimentos x tratamientos (p < 0.05) para el rendimiento de grano.

*A. brasilense* fueron similares entre tratamientos, el rendimiento de grano del tratamiento con la bacteria fue 15 % mayor que el del testigo absoluto; inclusive fue 27 % mayor con *A. brasilense* respecto al tratamiento con la bacteria y la mitad del N<sub>2</sub> (Tabla 2). Resultados similares se han reportado en maíz (Díaz FA, Alvarado CM, Cantú AMA, Garza CI 2005. Agricultura Técnica en México 31: 153-163) y sorgo (Díaz FA, Garza CI, Pecina QV, Montes GN 2008. Revista Fitotecnia Mexicana 31: 35-42) cultivado en el norte de Tamaulipas. Los efectos positivos de *A. brasilense* en diversos cultivos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz y al incremento subsecuente la tasa de asimilación de agua y la utilización de minerales del suelo por la planta (Bashan Y, Holguin G, De-Bashan LE 2004. Canadian Journal of Microbiology 50: 521-577). A pesar de dichos resultados positivos, la inoculación con *A. brasilense* aún ofrece resultados inconsistentes (Pecina-Quintero V, Díaz-Franco A, Williams-Alanís H, Rosales-Robles E, Garza-Cano I 2005. Revista Fitotecnia Mexicana 28: 389-392) lo que además restringe su desarrollo como inóculo comercial (Bashan Y, Holguin G 1997. Canadian Journal of Microbiology 43: 103-121). Los factores responsables de tales inconsistencias generalmente se atribuyen a las condiciones ecológicas y ambientales variables, tales como las condiciones físico-químicas del suelo, temperatura y humedad disponible, presencia de microorganismos en la rizósfera, genotipo del hospedante o capacidad de la bacteria pa-

ra establecerse y para competir con la microflora nativa (Okon Y, Labandera-González C 1994. Soil Biology and Biochemistry 26: 1591-1601; Dobbe-laere S, Croonenborghs A, Thys A, Ptacek D, Okon Y, Vanderleyden J 2002. Biology and Fertility of Soils 36: 284-297; Pecina-Quintero V, Díaz-Franco A, Williams-Alanís H, Rosales-Robles E, Garza-Cano I 2005. Revista Fitotecnia Mexicana 28: 389-392). Finalmente, cabe destacar que los incrementos en el rendimiento de grano de maíz promedio de los dos experimentos respecto al testigo logrados con la aplicación de *A. brasilense* se tradujeron en el incremento de la ganancia neta por hectárea, así como de la relación beneficio/costo promedio en los dos experimentos. La aplicación del fertilizante químico nitrogenado incrementó sustantivamente los costos de producción pero no incrementó significativamente el rendimiento de grano respecto al testigo absoluto o al tratamiento que incluyó a *A. brasilense*, de modo que la relación beneficio/costo fue cercana a cero e incluso negativa en el tratamiento inoculado con la bacteria + la mitad del N<sub>2</sub> (Tabla 2). Lo anterior indica que la inoculación con *A. brasilense* podría ser una alternativa económica viable para la producción de maíz en el norte de Tamaulipas, México; misma que puede ser una opción productiva que paulatinamente redujera la aplicación de fertilizantes químicos en el cultivo de maíz de dicha región y además, impactara positivamente en las características físico-químicas de los suelos así como en la rentabilidad del cultivo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento de este trabajo por parte del Instituto Politécnico Nacional y el apoyo técnico de la Asociación Regional de Agricultores de Tamaulipas, México. La publi-

cación de este trabajo es financiada por el Fondo Mixto CONACYT-Gobierno del Estado de Tamaulipas (proyecto TAMPS-2003-C01-03). A. Mendoza-Herrera y N Mayek-Pérez son becarios de EDI y COFAA - IPN y del S.N.I del CONACYT.