
**EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE
BACTERIAS NATIVAS EN DOS HÍBRIDOS DE
MAÍZ (ZEA MAYS L.), PROVINCIA DE SANTA
ELENA.**

*Javier Soto Valenzuela, Alejandra Julio, Lilibeth Crespo,
Gabriela Borbor, Verónica Borbor*

EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS NATIVAS EN DOS HÍBRIDOS DE MAÍZ (*ZEA MAYS* L.), PROVINCIA DE SANTA ELENA

Blgo. Javier Soto Valenzuela ⁽¹⁾
Alejandra Julio J. ⁽²⁾, Lilibeth Crespo A. ⁽³⁾ Gabriela Borbor T. ⁽⁴⁾ y Verónica Borbor D. ⁽⁵⁾
Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) ⁽¹⁾
Facultad Ciencias Agrarias ^(2, 3, 4, 5)
Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE)
Campus La Libertad, vía principal Santa Elena-La Libertad
La Libertad-Ecuador
jsotovalenzuela@yahoo.com

Resumen

*En la actualidad la mayoría de los sistemas de producción agrícola están sobrecargados con residuos de insumos químicos que aceleran el desgaste del suelo y contaminan las fuentes de agua subterránea. Siendo una alternativa el empleo de biofermentos provenientes de bacterias nativas de la rizosfera, muy conocidas por la producción de sustancias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) y de resistencia a ciertos patógenos. En el presente trabajo se seleccionaron y emplearon tres cepas bacterianas (FPMG2, FPMG4 y VAIRV) asociadas a nódulos de leguminosas de la península de Santa Elena de la colección CIAP-UPSE (Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad Estatal Península de Santa Elena), con potencial uso para la elaboración de biofertilizantes en plantas no leguminosas y de importancia alimenticia como el maíz (*Zea mays* L.); evaluando la influencia de los híbridos AGRI 104 y 201 en la germinación (a nivel de laboratorio y campo), cultivo y rendimiento en dos fincas agrícolas en la provincia de Santa Elena-Ecuador.*

Palabras claves: Rhizosfera, biofertilizantes, cultivo de leguminosas, bacterias nativas, promotores de crecimiento vegetal, germinación.

Abstract

*Currently most agricultural production systems are overloaded with residues of chemical inputs that accelerate wear soil and contaminate groundwater sources. You being an alternative bioferments the use of native bacteria from the rhizosphere, well known for the production of plant growth promoting substances (PGPR) and resistance to certain pathogens. In this paper were selected and used three bacterial strains (FPMG2, FPMG4 and VAIRV) associated with nodules of legumes peninsula of Santa Elena de la CIAP-UPSE collection (Agricultural Research Center of the Santa Elena Peninsula State University) with potential use for the production of bio-fertilizers in non-food legumes and importance such as maize (*Zea mays* L.) plants; evaluating the influence on the AGRI 104 and 201 hybrids on germination (at laboratory and field), and crop yield in two farms in the province of Santa Elena, Ecuador.*

Keywords: Rhizosphere, bio-fertilizers, cultivation of legumes, native bacteria, plant growth promoters, germination.

1. INTRODUCCIÓN

Los abonos orgánicos fueron los primeros fertilizantes utilizados por el hombre para favorecer el crecimiento de las plantas y producción de las cosechas. La teoría de la nutrición mineral a mediados del siglo XIX por Von Liebig reemplazó estos abonos por fertilizantes minerales. Con el aumento de los rendimientos se pensó haber encontrado la respuesta inequívoca de la agricultura. Sin embargo, debido a su uso excesivo junto con otras prácticas agrícolas inadecuadas se han identificado efectos negativos en los suelos y fuentes de agua adyacentes, como la contaminación de acuíferos, eutrofización, pérdida por lavado, lixiviación, escorrentía y volatilización; así como también efectos nocivos para la atmósfera (Salazar E. et al., 2007).

La International Fertilizer Industry Association IFA (2011) estima que 87,5 t de fertilizantes se han aplicado a los cereales: 16,1% al maíz, trigo (15,8%), arroz (14,3%) y 4,6% al resto del total mundial.

La inoculación con PGPR (Rhizobacterias promotoras de crecimiento vegetal) contribuyen al desarrollo y producción de cultivos colonizando las raíces y rizósfera de plantas no leguminosas como arroz, maíz, cebada, remolacha, colza, lechuga y caña de azúcar, estimulando la producción de sustancias promotoras del crecimiento y favoreciendo el desarrollo del cultivo (García I. et al., 2007; Baldani D. et al., 2008; García P. et al., (2012) y Pérez F. et al., 2014).

En Ecuador, Ortiz G. (2010) inoculó dos cepas de *Azospirillum* en las provincias de Pichincha e Imbabura, obteniendo resultados en las variables porcentaje de germinación (87,4%), altura de planta (218,5 cm), diámetro de mazorca (4,5 cm) y longitud de mazorca (10,35 cm) en dos variedades de maíz.

En la península de Santa Elena no existe evidencia del uso y aplicación de bioinoculantes bacterianos, con cepas generadoras de compuestos benéficos a las plantas y que estén a disponibilidad de los agricultores, pues las cepas existentes son foráneas y por ende ajenas a la realidad edafoclimática de la región (Soto J. et al., 2012).

El presente trabajo se realizó con el fin de evaluar el efecto de cepas bacterianas nativas aisladas a partir de nódulos de leguminosas de la península de Santa Elena en la germinación, crecimiento y producción de maíz (*Zea mays* L.) a nivel de laboratorio y campo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas empleadas (FPMG2, FPMG4 y VAIRV) fueron tomadas del banco de cepas aisladas de nódulos de leguminosas del CIAP, Centro de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), provincia de Santa Elena – Ecuador. Identificadas como Rhizobios por métodos morfobioquímicos.

Como material genético vegetal se emplearon los híbridos de maíz AGRI 104 para el ensayo de germinación en el laboratorio de Ciencias Biológicas UPSE y AGRI 201 para su evaluación en dos granjas ubicadas en Manglaralto, cantón Santa Elena.

2.1 Reactivación de cepas bacterianas

La reactivación de las cepas, conservadas en glicerol al 20%, se realizó con dos asadas a caldo LMA (levadura, manitol agar) hasta 10^8 utilizando el método Mac Farland. Los inóculos se prepararon siguiendo la metodología propuesta por Erturk et al.2010, para la elaboración de inóculos de bacterias con fines agrícolas (Fig. 1 A).

2.2 Preparación de inóculos

Las bacterias, luego de reactivadas se cultivaron en Caldo Nutritivo a pH 7 y a 30°C por 48 h, en agitación a 70 rpm. El cultivo crecido se sometió posteriormente a centrifugación a 5000 rpm para concentrar la biomasa celular, resuspendiéndose en agua destilada esterilizada, hasta alcanzar una concentración celular de 10^7 UFC mL⁻¹ (Mac Farland) (Fig. 1 B).

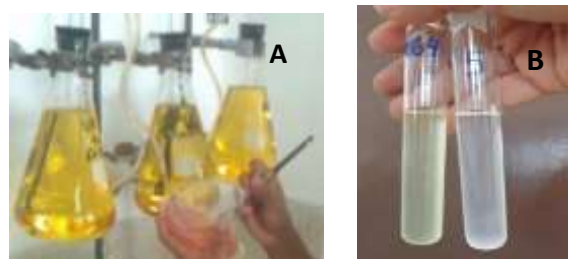


Figura 1: (A) Preparación y (B) concentración de inóculos, a partir de las cepas nativas bacterianas (FPMG2, FPMG4 y VAIRV) del CIAP-UPSE.

2.3 Selección de cepas para preparación del inoculante.

Por medio de un análisis comparativo descriptivo de la caracterización morfológica y bioquímica de las cepas, proporcionadas por al CIAP-UPSE, se eligieron las cepas destacadas para la preparación de la solución inoculante.

2.4 Inoculación de semillas de maíz

Las semillas se lavaron tres veces con agua destilada con el fin de eliminar residuos de desinfectantes químicos, desechando las semillas no viables.

Se sumergieron en alcohol potable de 90° por 5 minutos para eliminar la presencia de microorganismos indeseables.

Las semillas fueron sumergidas en una solución azucarada al 20% por 10 minutos para permitir que las bacterias se adhieran a la superficie de la semilla.

Finalmente con el inoculante respectivo se preparó una solución al 10% y se sumergieron las semillas por 10 minutos previo a la siembra. Se inocularon 1kg de semillas por hectárea (Fig. 2).



Figura 2: Inoculación de las semillas con las cepas de las bacterias seleccionadas.

2.5 Conteo bacteriano en placa

Para corroborar la concentración bacteriana en el inóculo se empleó el método del número más probable (NMP) Tórtola G. et al. (2007) (Fig. 3). Se preparó una solución madre tomando una asada de cada cultivo bacteriano diluido en 1 ml de agua destilada, luego adicionado a otro tubo con 9 ml de agua destilada estéril y 0,85 % de cloruro de sodio.

Se realizaron las diluciones seriadas a partir del tubo madre hasta llegar a la dilución 10^{-7} . Para la siembra se tomó 5 μ l de la dilución y se sembró en la zona respectiva de la placa. Se sembró a partir de la dilución 10^{-3} . Finalmente con la tabla de WOOMER (1994) se obtuvo la cantidad aproximada de bacterias por cada mililitro.



Figura 3: Conteo bacteriano empleando el método del número más probable (NMP).

3. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1 Prueba de inoculación y germinación de semillas de maíz (*Zea mays* L.)

Para la prueba de germinación, se empleó un Diseño Completamente al Azar con 8 tratamientos (incluido el testigo), utilizando 25 semillas del maíz híbrido AGRI 104 y cuatro réplicas por tratamiento. Los resultados fueron sometidos al análisis de la varianza utilizando el estadístico F y las medias de los tratamientos comparados según la Prueba de Tukey al 1%.

Cuadro 2. Sistema de tratamientos

No.	Tratamientos	Descripción
1	Cepa 1	VAI RV
2	Cepa 2	FP MG2
3	Cepa 3	FP MG4
4	Cepa 1,2	VAI RV + FP MG2
5	Cepa 1,3	VAI RV + FP MG4
6	Cepa 2,3	FP MG2 + FP MG4
7	Cepa 1,2,3	VAI RV + FP MG2 + FPMG4
8	Testigo	Agua destilada

Concentración: 1×10^9 UFC/ml.

3.2 Siembra, inoculación y riego

Se colocó una semilla desinfectada por cavidad en las bandejas de germinación con turba esterilizada a 120°C por 48 horas.

Se realizaron dos inoculaciones los días 1 y 4, después de la siembra. Se regó con agua destilada estéril.

3.3 Variables a evaluar en prueba de germinación y estado de emergencia en el laboratorio

Se seleccionaron 10 plántulas al azar de cada réplica por tratamiento, evaluándose las siguientes variables:

- *Porcentaje de germinación:* Se registró el número de semillas emergentes a los 8 días de la siembra.
- *Longitud de plántula:* Se midió la longitud en cm desde el cuello de la raíz hasta el ápice de la hoja más larga.
- *Peso fresco de la raíz:* Medido en gramos.
- *Peso seco de la raíz:* (gramos) secadas en estufa a 65°C por 48 horas.
- *Porcentaje de pérdida de agua en raíz:* diferencia de peso seco y peso verde.
- *Peso fresco de la parte aérea:* (gramos).
- *Peso seco de la parte aérea:* (gramos) secadas a 65°C por 48 horas.
- *Porcentaje de pérdida de agua en parte aérea:* diferencia de peso seco y peso verde.

3.4 Evaluación de la producción de maíz a partir del uso de un inóculo en campo.

La evaluación de la producción del híbrido de maíz AGRI 104, a partir del uso de un inóculo provenientes de cepas nativas de bacterias aisladas de los nódulos (FPMG2 y VAIRV) de leguminosas, en la granja experimental Manglaralto, cantón Santa Elena.

El diseño empleado fue de bloques completamente al azar con 10 tratamientos y 3 repeticiones (Cuadro 3). Los resultados se sometieron al análisis de la varianza.

Cuadro 3. Tratamientos de inóculos y dosis de fertilizantes empleados en la granja experimental UPSE-Manglaralto y en la finca “Bélgica”, cantón Santa Elena.

TRATAMIENTOS	
1	N ₁₀₀ P ₄₀ K ₁₀₀ +FPMG2
2	N ₁₀₀ P ₄₀ K ₁₀₀ +VAI
3	N ₁₀₀ P ₄₀ K ₁₀₀ + FPM G2 +VAI
4	N ₁₅₀ P ₄₀ K ₁₀₀ +FPM G2
5	N ₁₅₀ P ₄₀ K ₁₀₀ +VAI
6	N ₁₅₀ P ₄₀ K ₁₀₀ + FPM G2 +VAI
7	N ₂₀₀ P ₄₀ K ₁₀₀ +FPM G2
8	N ₂₀₀ P ₄₀ K ₁₀₀ +VAI
9	N ₂₀₀ P ₄₀ K ₁₀₀ + FPM G2 +VAI
10	N ₀ P ₀ K ₀

3.4.1 Desinfección, inoculación y siembra de semillas en el campo.

Las semillas se lavaron diez veces con agua corriente y tres con agua destilada para eliminar residuos químicos. Luego se sumergieron en alcohol potable al 90% por 30 segundos.

Se inocularon 1 890 semillas, impregnadas con solución al 25% de azúcar (210 semillas por parcela experimental con tres repeticiones). Se empleó un litro de bioinóculo de cada cepa bacteriana. Quedaron sin inocular 633 semillas del tratamiento testigo.

La siembra se realizó de forma manual después de la inoculación a una distancia de 1,5 m x 0,20 m a doble hilera, con ayuda de un espeque.

3.4.2 Inoculación durante el ciclo vegetativo

A los 7 y 14 días se inoculó 1ml por planta con las respectivas cepas bacterianas según los tratamientos.

3.4.3 Fertilización

Se aplicaron cuatro fertilizaciones químicas durante el ciclo vegetativo, una de fondo (previo a la siembra) y las restantes a los 20, 30 y 40 días de cultivo.

3.4.4 Raleo

Cuando las plantas llegaron a 25 a 30 cm se eliminaron plantas enfermas y torcidas.

3.4.5 Control de plagas y malezas

Después de la siembra se aplicó al suelo con Cipermetrina 20 cc por bomba de 20 litros, para control de trozadores. Además se aplicó Curacron para el control del gusano de mazorca.

El control de malezas se realizó en forma manual y mecánica.

3.4.6 Riego y cosecha

La cantidad de agua aplicada al cultivo de maíz varió de acuerdo a las etapas de crecimiento. Durante la germinación y desarrollo vegetativo se regó todos los días. Quince días antes de la floración el cultivo necesitó mayor cantidad de agua para el llenado de las mazorcas. Suspendiendo el riego, en la etapa de maduración y secado del grano.

Se cosechó de forma manual.

3.5 Variables a evaluar en la producción de maíz inoculado con cepas bacterianas nativas en el campo.

Se evaluaron y promediaron 10 plantas al azar por tratamiento del área útil de cada parcela del experimento. Las variables consideradas fueron:

- *Porcentaje de germinación:* Resultado del número de semillas germinadas sobre el total de semillas multiplicado por 100.
- *Altura de planta (30, 60 y 90 días):* Medida desde la base del tallo hasta la hoja bandera a los 30 y 60 días de cultivo. A los 90 días hasta el ápice de la floración masculina, expresadas en centímetros.
- *Longitud de mazorca:* Se evaluaron las mazorcas de 10 plantas tomadas al azar de cada tratamiento.
- *Diámetro de mazorca:* Se tomó la medida del diámetro de la mazorca luego de la cosecha con ayuda de un calibrador.
- *Rendimiento:* Se consideró el peso de las semillas por tratamiento/ha al final de la cosecha.
- *Peso de 1000 semillas:* En gramos de las mazorcas evaluadas.

4. RESULTADOS y DISCUSIÓN

4.1 Prueba de germinación en laboratorio

El análisis de la varianza, de las variables en estudio no presentó diferencias significativas entre los tratamientos.

4.1.1 Porcentaje de germinación al día 8

La prueba de Tukey al 1% indicó que los tratamientos tuvieron medias iguales. Se observó que las semillas inoculadas mostraron un porcentaje de germinación igual y superior al testigo, a excepción de T2.

Estos resultados coinciden con Janzen A. et al. (1992), Cassán F. et al. (2001) y Constantino M. et al. (2010) que afirman que ciertas bacterias denominadas PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), pueden mejorar la germinación de semillas con inoculantes microbianos o biofertilizantes a través de la producción y liberación de sustancias reguladoras del crecimiento como auxinas, giberelinas y citoquininas.

4.1.2 Longitud de plántula desde el cuello de la raíz hasta el ápice de la hoja más larga.

El T6 obtuvo mayor altura de plántula y la menor longitud en el T3. Tukey al 1% indicó que los tratamientos tienen medias iguales. Es importante mencionar que la tendencia se mantuvo respecto al porcentaje de germinación, donde T1 y T6 presentaron los mejores resultados.

Wang T. (2002), Perrig D. (2007) y Saharan B. y

Nehra V. (2011) demostraron que el uso de bacterias Rhizobios como promotores del crecimiento de plantas no leguminosas como *Rhizobium leguminosarum* y *Bradyrhizobium* presentes en las raíces de arroz y *R. etli* en raíces de maíz, colonizan ciertas plantas no leguminosas y mejora su crecimiento mediante la síntesis de sustancias biológicamente activas como aminoácidos, vitaminas, ácido indol acético y giberelinas, aunque no siempre mediante la fijación de nitrógeno.

4.1.3 Peso fresco de la raíz

El mayor peso fue el testigo; esta variable es referencial, que permite comparar con al peso seco, para determinar la pérdida de agua en la raíz.

4.1.4 Peso seco de la raíz

El T3 fue el peso más bajo y los siete tratamientos restantes alcanzaron el promedio más alto de peso, incluido el testigo. Estos resultados difieren de los obtenidos por Mayak S. et al. (2004) que afirman que bacterias del genero *Rhizobium* puede producir ACC (aminociclopropano carboxilato) diaminasa; compuesto que reduce el nivel de etileno en las raíces de las plantas, incrementando de esta manera la longitud y el crecimiento de las raíces.

Por otra parte Gutiérrez A. y Martínez E. (2004) encontraron incrementos de 49% de materia seca de raíces en plantas de maíz inoculadas con *Rhizobium etli*, resultado que también se contrapone a los obtenidos en este ensayo.

Cuadro 4. Medias obtenidas de las variables evaluadas con cepas bacterianas autóctonas inoculadas en maíz híbrido AGRI 104 en condiciones de laboratorio.

Tratam	% Germ	Long plántula (cm)	Peso fresco raíz (g)	Peso seco raíz (g)	% pérdida agua raíz	Peso fresco parte aérea (g)	Peso seco parte aérea (g)	% pérdida de agua parte aérea
1	100 a	13,22 a	0,88 a	0,24 a	71,93 a	0,50 a	0,04 a	92,35 a
2	97 a	12,65 a	0,73 a	0,24 a	66,38 a	0,44 a	0,04 a	92,09 a
3	99,5 a	12,43 a	0,77 a	0,23 a	69,23 a	0,44 a	0,03 a	92,75 a
4	100 a	12,43 a	0,93 a	0,24 a	73,53	0,44 a	0,04 a	92,38 a
5	99,5 a	13,40 a	0,84 a	0,24 a	71,43 a	0,48 a	0,03 a	92,19 a
6	100 a	13,60 a	0,97 a	0,24 a	75,72 a	0,51 a	0,04 a	92,63 a
7	99,5 a	13,14 a	0,92 a	0,24 a	73,99 a	0,48 a	0,04 a	92,17 a
T	99,5 a	13,14 a	1,0 a	0,24 a	76,07 a	0,44 a	0,04 a	91,73 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

4.1.5 Porcentaje de pérdida de agua en raíz

En esta variable el testigo superó a los demás tratamientos con 76,07%. Las medias no presentaron diferencias significativas.

4.1.6 Peso fresco de la parte aérea

El T6 alcanzó el mayor peso y el testigo el valor más bajo. Al igual que la variable anterior, esta prueba determina el porcentaje de humedad perdida con relación al peso seco.

4.1.7 Peso seco de la parte aérea

El T3 obtuvo el menor peso 0,03 g; los demás tratamientos alcanzaron 0,04 g. Las medias presentan la misma tendencia respecto a la variable peso seco de la raíz; no concordando con Santillana N. et al., (2005), obtuvieron mayor valor de materia seca en la raíz con relación a la parte aérea, superando al testigo.

4.1.8 Porcentaje de pérdida de agua en parte aérea

En esta variable todos los tratamientos superaron al testigo, destacando el T3; sin embargo el análisis de la varianza no mostró diferencias significativas.

4.2 Prueba de evaluación de la producción de maíz a partir del uso de un inóculo en la Granja experimental UPSE-Manglaralto y finca “Bélgica”.

4.2.1 Porcentaje de germinación

La aplicación del inóculo en la granja experimental UPSE-Manglaralto, mostró un porcentaje de germinación del 98% (T6) y el testigo 93%; superando los valores obtenidos por Ortiz G. (2010) de 84,7% con *Azospirillum* en dos híbridos de maíz.

En esta variable el T7 de la finca “Bélgica” presentó el valor más alto (93,3%); seguido de los tratamientos T1, T3, T4, T6 y T9, superando al testigo sin inocular.

4.2.2 Altura de planta a los 30, 60 y 90 días

En la granja experimental UPSE-Manglaralto, a los 30 y 90 días no se obtuvo diferencia significativa en las medias; mientras que a los 60 días de cultivo se observan 2 grupos estadísticos.

La mayor altura de planta a los 30 días de cultivo lo obtuvo el T6 con 60,62 cm y la menor el T1 con 59,48 cm. A los 60 días de cultivo los T2 y T8 con 120,64 cm y 119,84 cm respectivamente son los más altos. Mientras que a los 90 días, el T7 con 200,8 cm y el T9 con 193,76 cm presentaron la mayor y menor altura respectivamente.

En la finca “Bélgica” el tratamiento con mayor altura de planta fue el T8 (58,23 cm) y el menor fue el testigo (50,53 cm) a los 30 días de cultivo, con tratamientos significativamente diferentes, formando tres grupos estadísticos.

A los 60 días los resultados más altos obtenidos fueron T2 (198,40 cm), T8 (198,4 cm) y T1 (198 cm).

A los 90 días la mayor altura de planta fueron los tratamientos T8 y T2 con 253,8 y 249,0 cm respectivamente. En ambas fincas el menor valor fue el testigo acorde a la información técnica del híbrido AGRI 104 de Interoc-Custer y Ortiz G. (2010) a los 90 días de cultivo.

Cuadro 5: Medias de las variables evaluadas en la granja experimental-UPSE Manglaralto, provincia Santa Elena.

Tratam	% Germ	Alt planta (cm)			Long de mazorca	Diam mazorca(cm)	Rendimiento (kg/ha)	Peso mil semillas
		30 días	60 días	90 días				
1	91,0 c	59,48 a	100,76 b	200,29 a	15,53 ab	51,03 de	8 128,00 e	347,00 b
2	96,67 ab	63,08 a	120,64 a	200,36 a	16,15 ab	52,89 bc	11 647,33 bc	390,67 a
3	96,0 ab	61,23 a	110,73 ab	200,32 a	15,82 ab	50,76 e	10 673,67 d	381,33 ab
4	96,67 ab	64,10 a	107,46 ab	200,37 a	16,32 ab	54,03 b	12 602,67 ab	409,00 a
5	97,67 a	64,23 a	100,79 b	200,31 a	16,13 ab	52,2 cd	11 145,33 cd	373,00 ab
6	98,0 a	62,64 a	100,79 b	200,31 a	16,03 ab	53,88 b	12 983 a	400,33 a
7	96,67 ab	61,70 a	107,42 ab	200,38 a	16,97 a	55,82 a	11 954,67 abc	390,00 a
8	96,33 ab	61,10 a	119,84 a	200,34 a	15,88 ab	51,2 de	10 748,33 d	371,33 ab
9	96,0 ab	60,50 a	104,16 ab	193,76 a	15,47 b	50,31 e	10 628,00 d	379,67 ab
T	93,67 bc	60,08 a	107,34 ab	196,99 a	13,88 c	49,92 e	6 683,67 f	298,33 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05).

*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 prov. Imbabura y Pichincha. Tesis Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos.

Cuadro 6: Medias de las variables evaluadas en la finca “Bélgica” cantón Santa Elena, provincia Santa Elena.

Tratam	% Germ	Alt planta (cm)			Long mazorca	Diam mazorca (cm)	Rendimiento (kg/ha)	Peso mil semillas
		30 días	60 días	90 días				
1	91,67 a	57,17 b	198,0 a	247,97 a	17,00 bc	56,76 cd	9 115,52 ef	396,33 abc
2	90,0 a	57,77 b	198,4 a	249,0 a	17,48 c	56,95 d	10 400,43 g	407,87 c
3	91,67 a	56,97 b	197,1 a	246,07 a	16,58 b	56,25 bcd	8 398,6 cd	396,17 abc
4	91,67 a	55,07 a	192,0 a	245,67 a	16,65 b	55,54 abc	7 039,96 b	393,3 ab
5	90,0 a	55,30 a	194,07 a	246,1 a	17,10 bc	56,19 abcd	8 386,57 cd	399,37 abc
6	91,67 a	54,30 a	193,5 a	244,33 a	16,61 b	55,28 ab	8 288,57 c	394,7 a
7	93,33 a	55,60 a	197,67 a	247,97 a	16,94 bc	55,97 abcd	8 963,59 e	400,17 c
8	90,0 a	58,23 b	198,07 a	253,8 a	16,95 bc	55,10 ab	9 252,94 f	400,57 bc
9	91,67 a	53,33 a	191,57 a	244,37 a	16,82 bc	56,15 abcd	8629,23 d	397,67 abc
T	90,0 a	50,53 a	187,17 a	243,03 a	15,59 a	54,94 a	6 262,82 a	386,6 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

4.2.3 Longitud de mazorca

En la variable longitud de mazorca la granja experimental UPSE-Manglaralto presentó diferencia significativa con tres grupos estadísticos, siendo T7 con 21,57 cm y T10 con 13,88 cm, la mayor y menor longitud de mazorca respectivamente.

En la finca “Bélgica” esta variable, mostró diferencia significativa entre los tratamientos, formando cuatro grupos estadísticos; siendo T2 el mayor con 17,48 cm y T10 con 15,59 cm el menor.

4.2.4 Diámetro de mazorca

En la granja experimental UPSE-Manglaralto esta variable se encontró diferencia significativa, formando seis grupos estadísticos, destacando el T7 con el mayor diámetro 55,82 mm y el testigo con 49,92 mm ($N_0P_0K_0$) el de menor valor.

En la finca “Bélgica”, existe diferencia significativa entre los tratamientos, formando siete grupos estadísticos, destacando T2 con 56,95 mm.

4.2.5 Peso de 1 000 semillas

T4 y T10 presentaron (409,0 y 298,3 g respectivamente) el mayor y menor peso de mil semillas, en la granja experimental UPSE-Manglaralto. Mientras que en la finca “Bélgica” el mayor peso de las mil semillas se presentó en el T2 con 407,87 g y el menor T10 con 386,6 g. Para ambas fincas las variables: longitud y diámetro de mazorca; así como peso de mil semillas está acorde a la información técnica del híbrido Agri 104 de Interoc-Custer para híbridos de maíz.

4.2.6 Rendimiento

En la granja experimental UPSE-Manglaralto, los T7 ($N_{200}P_{40}K_{100}+FPMG2$) y T10 ($N_0P_0K_0$) presentaron mayor y menor rendimiento con 12.983 y 6683,67 kg/ha respectivamente; significativamente mayor a los obtenidos con otros materiales genéticos de maíz, inoculados con Rizobios promotores de crecimiento vegetal, por Ferraris G y Couretot L. (2008) con 12.655 kg/ha; y Ortega L. y Manzo A. (2010) con 6.695 kg/ha, quienes utilizaron biofertilizantes comerciales más *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices* en *Zea mays* L.

En la finca “Bélgica” el tratamiento con mayor rendimiento fue el T2 con 10 400,43 kg/ha y el menor T10 con 6 262,82 kg/ha; formando nueve grupos estadísticos equitativamente.

5. CONCLUSIONES

Puede concluirse que por el origen de las cepas bacterianas inoculadas en el cultivo de maíz en este trabajo (asociadas a nódulos de leguminosas), su comportamiento promovedor de crecimiento y resistencia al ataque de patógenos en las plantas; presentan una muy alta probabilidad de pertenecer al grupo PGPR (Rhizobacterias promovedoras de crecimiento en las plantas). Por lo que las tres cepas seleccionadas (VAIRV, FPMG2 y FPMG4) presenten gran potencial para la producción de inoculante de uso agrícola.

Al realizar el análisis de la varianza, los resultados de la prueba de germinación en laboratorio no mostraron diferencias significativas. La prueba de Tukey al 1% indicó medias iguales en todas las variables, sin embargo, el testigo sólo en las variables peso seco de raíz y porcentaje de pérdida de agua en raíz estuvo por encima de los demás tratamientos. Pudiendo afirmar

que los tratamientos 4 (VAIRV+FPMG2) y 6 (FPMG2 + FPMG4) presentaron los resultados más altos en seis de las ocho variables evaluadas en este ensayo.

Los resultados en la granja experimental Manglaralto, del uso del biofertilizante proveniente de cepas nativas en el cultivo del híbrido de maíz (*Zea mays* L.) AGRI 104, presentó resultados que superan al testigo sin inocular y sin fertilizar, destacando el T7 (N₂₀₀ P₄₀ K₁₀₀ + cepa FPMG2) con valores más altos en siete de las once variables experimentales, especialmente en el rendimiento (12 983,00 kg/ha contra los 6 683,67 kg/ha del testigo).

Las dosis de NPK y bioinóculos empleados en este experimento permiten considerar su uso como potencial biofertilizante en el cultivo de plantas no leguminosas, como una alternativa para la sustitución parcial de los fertilizantes minerales, el mejoramiento de los ingresos de los productores de la zona y la protección del medio ambiente.

El uso combinado de las dos cepas estudiadas (VAI+FPMG2+ fertilización) se presenta como alternativa tecnológica para aquellas regiones donde no se aplican fertilizantes químicos o disminuir su uso.

El mejor comportamiento de la cepa FPMG2 en cuanto al rendimiento se presenta con las dosis N₁₅₀ (240 sacos/ha) y N₂₀₀ (257 sacos/ha); sin embargo, la relación beneficio costo es más favorable para la dosis N₁₅₀ (1,292 contra 1,279). Esto implica que el bioinoculante ofrece mejores resultados económicos con una dosis media alta de nitrógeno, ya que disminuye los costos y con menor riesgo ambiental.

En la finca “Bélgica” referente al comportamiento agronómico, los tratamientos con biofertilizantes siempre superaron al testigo sin fertilizar e inocular; así, los tratamientos T2 N₁₅₀ (FPMG2+FPMG4) T8 N₁₅₀ (VAI+FPMG2), T1 (FPMG2 + FPMG4) y T7 (VAI+FPMG2), obtuvieron mejores resultados en diez de las once variable estimadas.

En cuanto al rendimiento, el mejor tratamiento fue el T2 con 10 400,43 kg/ha y el menor T10 con 6 262,82 kg/ ha. Al 5% de probabilidad con la prueba de Duncan, existe diferencia significativa en los tratamientos, con un coeficiente de variación de 1,8; formando nueve grupos estadísticos equitativamente. Lo que se explica con el hecho de que, en dosis medias de fertilizante amoniacal mineral (N₁₅₀ y N₁₀₀), los biofertilizantes disminuirían los costos de producción en maíz.

Los resultados del presente experimento confirman la colonización y capacidad infectiva de los “Rizobios” en el sistema radicular del maíz, referida por Chabot R. et al (1996) con *Rhizobium etli* bv. phaseoli y

Gutierrez M. y Martínez E. (2001) con *Rhizobium leguminosarum* bv. Phaseoli.

Finalmente la inoculación de semillas de maíz (*Zea mays* L.) con bacterias nativas constituye una metodología compleja, pero eficaz que podría incrementar la producción del cultivo sin causar perjuicios al ambiente y a la economía del productor.

6. RECOMENDACIONES

Complementar las técnicas de aislamiento y caracterización morfológica y bioquímica con pruebas de purificación, revalidación de cepas. Así como técnicas de microscopía electrónica, confocal y análisis molecular (BOX-PCR y 16S DNA).

Realizar estudios similares en otras regiones del país que incrementen la colección de cepas nativas y probarlas en diferentes condiciones de suelo y clima.

Los resultados obtenidos son parciales; por lo tanto esta investigación continuará con otros cultivos vegetales que contribuyan a mejorar la producción de la región y del país. Así como en la caracterización molecular de las cepas aisladas de la colección CIAP-UPSE.

BIBLIOGRAFÍA:

1. AGUILAR O., RIVA O. & PELZER E. 2004. Analysis of *Rhizobium etli* and of its symbiosis with wild *Phaseolus vulgaris* supports co evolution in centers of host diversification. Instituto de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 1900 La Plata, Argentina. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15340138>.
2. ALARCÓN E., LOZANO A. y CHAPARRO H. 1997. Caracterización fenotípica de los aislamientos rizobianos de Acacia (*Acacia* sp) y Retamo (*Teline monpessulana*), Colombia. Química P. 26, 21.
3. ALEXANDER M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT EDITOR, S.A. p 492.
4. ANTOUN H., BEAUCHAMP C., GOUSSARD N., CHABOT R. & LALANDE R. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Rhaphanus sativus* L.) Plant and Soil. 204:57.
5. ANTOUN H. & PRÉVOST D. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. En PGPR

- biocontrol and biofertilization. Ed. Siddiqui, Z. A. P. 1-34.
6. **ANYA O., ARCHAMBAULT J., BÉCQUER J. & SLASKI J.** 2009. Plant growth-promoting diazotrophs and productivity of wheat on the Canadian prairies. En: Microbial strategies for crop improvement. Eds. M. S. Khan. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Chapter 4. P. 287-300.
 7. **BALDANI D., SILVA J., DOS SANTOS K., BALDANI J., & MASSENA V.** 2008. Inoculants base on nitrogen-fixing bacteria *Azospirillum* spp. and their application in tropical agriculture. Asociación Argentina de Microbiología, B.A. pp. 227-237.
 8. **BASHAN Y.** 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, 16 (4): 729-770.
 9. **CARSON K., MEYER M. & DILWORTH M.** 2000. Hydroxamate siderophores of root nodule bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 11-21.
 10. **CASSÁN F., BOTTINI R., SCHNEIDER G., PICCOLI P.** 2001. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* hydrolyze conjugates of GA20 and metabolize the resultant aglycones to GA1 in seedlings of rice dwarf mutants. *Plant Physiol.*125(4):2053-8..
 11. **CHABOT R., ANTOUN H., KLOEPPER W., & BEAUCHAMP C.** 1996. Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2767.
 12. **CHAKRAVARTY U. & PURKAYASTHA P.** 1984. Role of Rhizobitoxine in protecting soybean roots from *Macrophomina phaseolina* infection. *Can. J. Microbiol.* 30: 285 - 289.
 13. **COCKING E.** 2005. OBPC SYMPOSIUM: Maize 2004 & Beyond-intracellular Colonization of Cereals and Other Crop Plants by nitrogen-fixing Bacteria for Reduced inputs of Synthetic nitrogen Fertilizers. Society for In Vitro Biology. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 41(4):369-373.2005. Disponible en: <http://www.bioone.org/doi/full/10.1079/IVP2005663>
 14. **CONSTANTINO M., GÓMEZ R., ÁLVAREZ J., PAT J. y ESPÍN G.** 2010. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 12 (2): 103-115.
 15. **COYNE M.** 2000. Microbiología del suelo: Un enfoque Exploratorio. Editorial Paraninfo. España. 416 p.
 16. **CUADRADO B., RUBIO G. y SANTOS W.** 2009. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de frijol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinoculos. *Revista Colombiana Ciencia Química y Farmacia* (38) 1:78-104.
 17. **DEY R., PAL K., BHATT M. & CHAUHAN M.** 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*. 159: 371 - 394.
 18. **ERTURK, Y., ERCISLY, S., HAZNEDAR, A. & ÇAKMAKÇI, R.** 2010. Effects on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biology Research*, vol. 43, pp. 91-98.
 19. **ESSALMANI H. & LAHLOU H.** 2003. Mécanismes de bioprotection des plantes de lentille par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* sp. *Lentis*. *C.R. Biologies*. 326: 1163-1173.
 20. **FERRERA R., GONZÁLEZ M. y RODRIGUEZ M.** 1993. Manual de Microbiología. México. Editorial Trillas. 144 p.
 21. **GAMAZO C., LOPEZ I. y DIAZ R.** 2005. Manual Práctico de Microbiología. Editorial Masson. S.A. España, 3era Edición. 91 p.
 22. **GARCÍA V.** 1995. Introducción a la Microbiología. 1era Edición. San José. Editorial Universidad Estatal a Distancia. EUNED.
 23. **GARCÍA I., SALVO L., ESCOBAR J., y TOVAGLIARI A.** 2007. Respuesta del cultivo de arroz a la inoculación con *Azospirillum* y fisiología de las comunidades bacterianas rizosféricas. VI Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos y VI Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
 24. **GARCÍA P. CARRO L., ROBLEDO M., RAMÍREZ M., FLORES J., FERNÁNDEZ M., MATEOS P., RIVAS R., IGUAL J., MARTÍNEZ E., PEIX A. & VELÁZQUEZ E.** 2012. *Rhizobium* Promotes Non-Legumes Growth and Quality in Several Production Steps: Towards

- a Biofertilization of Edible Raw Vegetables Healthy for Humans. PLOS ONE 7(5): 38122.
25. **GRAHAM** 1964. Diagnostic in the characterization of the root nodule bacteria of legume. Plant and soil. (20): 383 - 396.
 26. **GUTIERREZ A. y MARTINEZ E.** 2004. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). J Biotech. (91): 117-126.
 27. **HEATH K. & TIFFIN P.** 2009. Stabilizing Mechanisms in a Legume-Rhizobium Mutualism. The Society for the Study of Evolution 63 (3): 652-662. Disponible en: <http://www.bioone.org/doi/full/10.1111/j.1558-5646.2008.00582.x>
 28. **JANZEN A., ROOD B., DORMAAR F. & MCGILL B.** 1992. *Azospirillum brasilense* produces gibberellin in pure culture on chemically defined medium and in co-culture on Straw. Soil Biology and Biochemistry 24: 1061-1064.
 29. **JORDAN C.** 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, Ed. por Williams and Wilkins, Baltimore, Vol. 1, P. 234-256.
 30. **LIRA R. y MEDINA J.** 2009: Agricultura Sustentable y Biofertilizantes. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México D.F.
 31. **MARQUINA M., GONZÁLEZ N. y CASTRO Y.** 2011. Caracterización fenotípica y genotípica de doce rizobios aislados de diversas regiones geográficas de Venezuela. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 59 (3): P. 1017-1036. P. 1030 – 1031.
 32. **MARTINEZ R. y DIBUT B.** 2012. Biofertilizantes Bacterianos. Instituto Cubano del Libro. Editorial Científico-Técnica, ciudad de La Habana, Cuba. editorialmil@cubarte.cult.cu
 33. **MATOS G., ORMEÑO E. y ZÚÑIGA D.** 2001. Diversidad de los rizobios que nodulan el cultivo de pallar (*Phaseolus lunatus* L.) en la Costa central del Perú. Ecología. 1(1): 42-49. En línea. Consultado el 01 de noviembre de 2012. Disponible en <http://www.lamolina.edu.pe/ecolapl/Articulo%209.pdf>.
 34. **MAYAK S., TIROSH T. y GLICK B.** 2004. Plant growthpromoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiol & Biochem. (42): 565- 572.
 35. **OBATON M.** 1995. Manual Técnico de la Fijación Simbiótica del Nitrógeno *Rhizobium/leguminosa*. Información General sobre la simbiosis Fijadora de Nitrógeno *Rhizobium/leguminosa*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. Roma. P, 1/6.
 36. **HEFFER P. & PRUD'HOMME M.** 2011. International Fertilizer Industry Association (IFA). 79th IFA Annual Conference Montreal (Canada), 23-25 May 2011.
 37. **PÉREZ F., ALÍAS C., BELLOGÍN R., DEL CERRO P., ESPUNY M., JIMÉNEZ I., LÓPEZ F., OLLERO F. & CUBO T.** 2014. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. Microbiological Research (169): 325–336.
 38. **PERRIG D., BOIERO M., MASCIARELLI O., PENNA C., RUÍZ O., CASSÁN F. & LUNA M.** 2007. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 75(5):1143-1150.
 39. **RODRÍGUEZ E., GAMBOA M., HERNANDEZ F. y GARCIA J.** 2006. Bacteriología general. Principios y prácticas de laboratorio. Editorial universidad de Costa Rica. Costa Rica. P. 217-218.
 40. **ROSENBLUETH M. & MARTÍNEZ R.** 2004. *Rhizobium etli* maize populations and their competitiveness for root colonization. J. Arch. Microbiol. P. 181 – 337. Disponible en: <file:///C:/Users/USER/Downloads/306-672-1-SM.pdf>
 41. **SAHARAN B. & NEHRA V.** 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. Department of Microbiology, Kurukshetra University, Kurukshetra, Haryana 136 119, India. Life Sciences and Medicine Research, Volume 2011: LSMR-21.
 42. **SALAZAR E., TREJO H., ORONA I., LÓPEZ J., FORTIS M., FLORES A., SÁNCHEZ F., LEOS J. y JIMÉNEZ F.** 2007. Uso y aprovechamiento de abonos orgánicos e inocuidad. CONACYT México, Facultad de Agricultura y Zootecnia de la UJED, Sociedad

Mexicana de la Ciencia del Suelo, COCyTED.
625 p.

43. **SANTILLANA N., ARELLANO C. y ZÚÑIGA D.** 2005. Capacidad del Rhizobium de promover el crecimiento en plantas de tomate. Revista Ecología Aplicada. 4 (1): 47-51.
 44. **SOMASEGARAN P. & HOBEN H.** 1994. Handbook for Rhizobia: methods in legume – Rhizobium technology. P. 1- 450. Springer – Verlag, New York.
 45. **SOTO J., BORBOR G. y BORBOR V.** 2012. Identificación y caracterización de cepas nativas de Rhizobium en la provincia de Santa Elena. Revista Científica y Tecnológica UPSE. 1 (1).
 46. **STEPHENS J. & RASK H.** 2000. Inoculant production and formulation. Field Crops Res., 65, 249-258.
 47. **TORTORA G., FUNKE B. & CASE C.** 2007. Introducción a la Microbiología. Editorial Médica Panamericana. 9na Edición. 988 p.
 48. **VILLALOBOS E.** 2006. Fijación simbiótica del Nitrógeno. Fisiología de la producción de los cultivos tropicales. 1era Edición San José, C.R.: Editorial Universidad de Costa Rica. 38 p.
- WANG T., MARTÍNEZ J. y LOPEZ I.** 2002. Rhizobium y su simbiosis con plantas. Monografía. Centro de investigación sobre Fijación de Nitrógeno. Universidad Nacional Autónoma de México.