

EFFECTO DE CEPAS DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE GRANO DEL MAÍZ

EFFECT OF *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* STRAINS ON MAIZE GROWTH AND GRAIN YIELD

Jesús G. García-Olivares*, Víctor R. Moreno-Medina, Isabel C. Rodríguez-Luna,
Alberto Mendoza-Herrera y Netzahualcoyotl Mayek-Pérez

Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional. Blvd. del Maestro esq. Elías Piña s/n, Col. Narciso Mendoza. 88710, Reynosa, Tamaulipas, México. Tel Fax: 01(899) 924-3627.

*Autor para correspondencia (jggarcia@ipn.mx)

RESUMEN

La producción de auxinas *in vitro* se evaluó en tres cepas (CBG-180, CBG-181, CBG-497) de la rizobacteria promotora del crecimiento vegetal *Azospirillum brasilense* nativas del norte de Tamaulipas, México y su efecto en la producción de biomasa, grano y forraje de maíz (*Zea mays* L.). La cepa CBG-497 (de la localidad Río Bravo) produjo mayor cantidad de auxinas *in vitro* que las cepas CBG-180 y CBG-181 (ambas de la localidad Díaz Ordaz). En invernadero, la cepa CBG-497 incrementó significativamente la producción de biomasa (20 a 90 %) en tres híbridos de maíz ('Garst-8222', 'Dekalb-2003', 'Asgrow-Tigre') en comparación con el testigo no inoculado. En campo, el rendimiento de grano y de forraje del maíz no mostraron diferencia significativa entre la aplicación de biofertilizantes basados en cepas nativas de *A. brasilense* y la fertilización química, pero la aplicación de biofertilizantes incrementó la rentabilidad del maíz (36 % en promedio) al reducir los costos de fertilización.

Palabras clave: *Zea mays*, biofertilizantes, auxinas, triptofano, rendimiento de grano.

SUMMARY

Auxin production *in vitro* of three strains (CBG-180, CBG-181, CBG-497) of the plant growth-promoting rhizobacteria *Azospirillum brasilense* native of northern Tamaulipas, México, was evaluated regarding their effects on biomass, grain and forage production of maize (*Zea mays* L.). Strain CBG-497 (from the Río Bravo county) produced more auxins *in vitro* than strains CBG-180 and CBG-181 (from the Díaz Ordaz county). In greenhouse, the strain CBG-497 significantly increased biomass production (20 to 90 %) in three maize hybrids ('Garst-8222', 'Dekalb-2003' and 'Asgrow-Tigre') compared to the non inoculated control. Under field conditions grain and forage yields were not different between biofertilizers based on *A. brasilense* native strains and chemical fertilization, but the application of biofertilizers increased the profitability of maize (36 % in average) due the reduction of fertilization costs.

Index words: *Zea mays*, biofertilizers, auxins, tryptophan, grain yield.

INTRODUCCIÓN

En el norte del Estado de Tamaulipas, México se siembran aproximadamente 100 000 ha con maíz (*Zea mays* L.) durante el 2004 (SIAP, 2005). En este cultivo se utiliza un paquete tecnológico que incluye altas dosis de fertilización química, aspecto que representa una inversión de alto costo y riesgo para los agricultores de la región. Una alternativa para evitar el uso excesivo de fertilizantes químicos es la inoculación con microorganismos promotores del crecimiento denominados también como "rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal", "bioestimulantes", "biofertilizantes" o "inoculantes" (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000; Holguín *et al.*, 2003); los más utilizados como bioestimulantes son las bacterias de los géneros *Rhizobium* y *Azospirillum*, así como hongos micorrízicos del género *Glomus* (Bashan, 1998; Holguín *et al.*, 2003; Irizar *et al.*, 2003).

Es frecuente que la fertilización orgánica se haga con materiales biológicos provenientes de otras regiones, lo que implica limitaciones técnicas y de adopción por parte de los agricultores locales. Ello obliga a hacer estudios de adaptación y eficiencia biofertilizante de nuevas cepas bacterianas o micorrízicas en cada región. La respuesta a inoculantes basados en *Azospirillum brasilense* ha sido exitosa pues ha permitido incrementos mayores a 30 % en la producción de grano y materia seca de maíz (*Z. mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), pastos (*Setaria italica* L.), cítricos (*Citrus* spp.) y haba (*Vicia faba* L.) (O'Hara *et al.*, 1981; Okon y Labandera-González, 1994; Bashan *et al.*, 1996; Fallik y Okon, 1996; Burdman *et al.*, 1997; Hamaoui *et al.*, 2001; Döbbelaere *et al.*, 2002; Holguín *et al.*, 2003; Irizar *et al.*, 2003; Aguirre-Medina, 2004). El uso de inoculantes también ha permitido reducir la aplicación de fertilizantes químicos nitrogenados en diversos cultivos (Döbbelaere *et al.*, 2001, 2002; Martínez-Medina, 2004).

Sin embargo, en sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] 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 factores ambientales y a la cepa estudiada (Ramírez y Luna, 1995; Martínez-Medina, 2004; Pecina-Quintero *et al.*, 2005). A partir del año 2000, en el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN) de Reynosa, Tamaulipas, México, se han aislado y caracterizado cepas de *A. brasilense* nativas del norte de Tamaulipas y se ha determinado su potencial biofertilizante en sorgo y maíz en condiciones de invernadero (Lugo *et al.*, 2001; Com. personal¹).

En la caracterización de cepas es útil la cuantificación del grado de asimilación de triptofano y la producción de ácido indol-acético (AIA), pues el triptofano es precursor de auxinas en *A. brasilense* (Van de Broek *et al.*, 1999) y su estrecha relación con la producción de auxinas ha sido consignada por Khawas y Adachi (1999) y por Martínez-Morales *et al.* (2003) en *A. brasilense*; en otras especies de *Azospirillum* (Han y New, 1998; Holguín *et al.*, 1999) y en otros géneros y especies bacterianos, tales como *R. meliloti*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas syringae* pv. *fluorescens* y *Agrobacterium tumefaciens* (Caballero-Mellado *et al.*, 1999; Zakharova *et al.*, 1999; Vázquez *et al.*, 2000). Según Van de Broek *et al.* (1999), la producción *in vitro* de altas cantidades de auxinas se considera un parámetro útil para la selección de cepas nativas de *A. brasilense*, para posteriormente desarrollar biofertilizantes con mayor actividad promotora del crecimiento vegetal.

Además, es necesario evaluar el potencial biofertilizante en los cultivos de importancia económica en condiciones de campo de la región, debido a que ésta presenta amplia variabilidad en precipitación, temperatura y características físico-químicas del suelo y del germoplasma utilizado (origen y condición genética), pues estos factores causan diversidad en la eficiencia bioestimulante de estos microorganismos. En este trabajo se evaluó la producción *in vitro* de auxinas por cepas de *A. brasilense* nativas del norte de Tamaulipas, así como su potencial biofertilizante en maíz en condiciones de invernadero y campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de cepas de *Azospirillum brasilense*

Se hicieron colectas de suelos cultivados con maíz durante otoño-invierno de 1999-2000 en las localidades Díaz

Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México (26° 14' LN, 98° 36' LO, y 68 msnm; 26° 13' LN, 98° 35' LO, y 40 msnm, respectivamente). Tales sitios tienen suelos con textura arcillo-arenosa, contenido de materia orgánica menor a 1 % y pH de 7.8. El aislamiento e identificación de las cepas mexicanas de *A. brasilense* se hizo conforme a los protocolos descritos por Khawas y Adachi (1999). De acuerdo con evaluaciones previas en el laboratorio sobre la capacidad productora de auxinas *in vitro* de varias cepas de *A. brasilense* (Lugo *et al.*, 2001) se seleccionaron tres cepas por su alta capacidad productora que se denominaron CBG-180, CBG-181 (de Díaz Ordaz) y CBG-497 (de Río Bravo).

Caracterización *in vitro* de cepas de *A. brasilense*

Las cepas aisladas se desarrollaron en medio líquido Luria-Bertani (LB) adicionado con triptofano (0.1 g L⁻¹). Las cepas se incubaron a 29 °C por 48 h a 200 rpm. Se tomaron muestras del cultivo a las 24, 48 y 72 h, y se centrifugaron a 3400 rpm por 30 min. En cada muestra se determinó la concentración de auxinas y triptofano por cromatografía de líquidos (HPLC, High Pressure Liquid Chromatograph; Hewlett Packard modelo 1100). Para la separación se utilizó una columna RP-18 (Beckman Ultrasphere) de 150 mm de largo y 4.6 mm de diámetro interno con tamaño de partícula de 5 µm. La fase móvil consistió en acetonitrilo-fosfatos 30/70 con muestras de 20 µL de volumen de inyección. El detector UV/visible se ajustó a 220 nm de longitud de onda. Para calibrar el equipo se utilizó una mezcla de estándares comerciales de triptofano, AIA y ácido-indol-butírico (IBA), cuyos tiempos de retención son 2.6, 6.4, y 15 min, respectivamente (Khawas y Adachi, 1999). El análisis se hizo por triplicado y se estimaron las concentraciones (en mg L⁻¹) de triptofano y AIA de cada muestra. Se calculó la media y el error estándar de cada tratamiento en cada fecha de muestreo y los coeficientes de correlación simple de Pearson entre los valores de AIA y triptofano en las tres cepas de *A. brasilense*, con el programa de cómputo GraphPad Prism versión 4.0 (2005).

Efecto de *A. brasilense* en maíz

Experimento de invernadero. Se llevó a cabo en el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN) en Reynosa, Tamaulipas (26° 05' LN, 98° 18' LO y 38 msnm), durante la primavera-verano de 2004, en charolas de plástico de 38 orificios que contenían sustrato de turba (Redi Earth Scott®) con pH 6.8. La inoculación consistió en aplicar 1 mL del cultivo bacteriano (1x10⁸ ufc mL⁻¹) en medio líquido PY (Döbereiner *et al.*, 1976) suplementado con CaCl₂ 0.04 % e incubado durante 48 h a 32 °C y 200 rpm de agitación constante. En el testigo se aplicó agua destilada estéril. Se incluyeron los híbridos comerciales de maíz 'Garst-8222®', 'Dekalb-2003®' y 'Asgrow-Tigre®', los cuales están entre los híbridos de maíz

¹Lugo B, J García, A Mendoza, H Barrera-Saldaña (2001) Variabilidad simbiótica de cepas nativas de *Azospirillum* spp. en maíz y sorgo en zonas áridas del norte de Tam. In: Memorias IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. M García-Garibay, G Gutiérrez-López (comps). Veracruz, México. 10-14 de septiembre de 2001. Resumen CIV-31. 2000).

recomendados para su cultivo en el norte de Tamaulipas por su alta productividad (Chapa, 2006). Cada tratamiento (cepa x híbrido) tuvo 20 repeticiones. Los tratamientos se aleatorizaron en un diseño experimental completamente al azar y la unidad experimental fue una planta. A los 9, 15, 20 y 26 d después de la siembra se cortó la parte aérea de las plantas de cuatro repeticiones y se secó en estufa a 70 °C por 48 h. Se calculó la media y el error estándar de cada tratamiento en cada fecha de corte, con el programa GraphPad Prism versión 4.0 (2005).

Experimentos de campo. Se realizaron en condiciones de riego durante el ciclo otoño-invierno de 2003-2004, en cinco localidades del norte de Tamaulipas. El híbrido 'Asgrow-Tigre' se evaluó en Díaz Ordaz, Abasolo y Valadecios; 'Dekalb-2003' en Reynosa y 'Garst-8222' en Río Bravo (Cuadro 1). El análisis físico-químico del suelo de cada localidad indicó que todas las localidades tienen suelos franco-limosos, con excepción de Río Bravo donde es arenoso. Todos los suelos experimentales muestran pH moderadamente alcalino (pH de 8.0 a 8.2) además de estar libres de sales (conductividad eléctrica de 0.6 a 1.2 mmhos cm⁻¹, a 20 °C). Los contenidos de materia orgánica son moderados (de 0.8 a 1.5 %); los niveles de P disponible son medios (P₂O₅, de 10.5 a 12.5 mg L⁻¹) y los de K altos (de 400 a 550 mg L⁻¹). Los contenidos de nitrógeno inorgánico (NO₃) son medios en todas las localidades de prueba (de 20 a 30 mg L⁻¹), con excepción de Río Bravo donde son bajos (10 mg L⁻¹) y en Díaz Ordaz son altos (49 mg L⁻¹).

La cepa utilizada para inocular los lotes de maíz fue CBG-497, que se cultivó en 250 mL de medio líquido PY suplementado con CaCl₂ 0.04 % a 32 °C por 48 h y 200 rpm de agitación. Luego, los cultivos se mezclaron con 500 g de turba estéril (Redi Earth Scott) con pH 6.8. Las mezclas se incubaron por 7 d a 32 °C en bolsas de polietileno bajo condiciones asépticas. La semilla se mezcló antes de sembrarse con el inóculo (1 kg de inóculo por 60 000 semillas, 6x10⁷ ufc por semilla) y se agregó solución acuosa de goma arábiga 20 % (40 mL kg⁻¹ de semilla) como adherente. La semilla inoculada se sembró inmediatamente después de la inoculación. En la evaluación de cada localidad se sembró el híbrido de maíz respectivo en una superficie de 2 ha; 1 ha se inoculó con el biofertilizante y la otra hectárea no se inoculó (testigo) pero se fertilizó con la fórmula 140 N – 40 P – 00 K (Pecina-Quintero *et al.*, 2004; Com. personal²). A madurez comercial se estimó el rendimiento de grano a 14 % de humedad y el de forraje seco a partir de la cosecha, en cinco sitios de cada tratamiento y cada lote, con un tamaño de 10 surcos de 10 m de largo (86 m²). Los rendimientos de grano y forraje se expresaron en t ha⁻¹. Se hicieron comparaciones

de medias independientes entre los tratamientos inoculados y testigo en cada localidad, con el programa estadístico de Olivares-Sáenz (1994), mediante el cálculo de los valores de diferencia mínima significativa (P = 0.5) con base en los valores de t de Student.

Los costos de producción, ingresos netos, ganancias netas y relación beneficio/costo por tratamiento por hectárea se calcularon con base en la información proporcionada por el Fondo de Aseguramiento Agrícola PROAGRO A. C. (Chapa, 2006), que incluye los costos de preparación del terreno, riego, semilla y siembra y manejo del cultivo durante el ciclo agrícola 2003-2004 en el norte de Tamaulipas. Los costos de la semilla variaron entre híbridos, y los de trilla y flete del grano de acuerdo con el rendimiento de grano por unidad de superficie de cada tratamiento. Los ingresos incluyeron el valor del grano para 2004 (1100 \$ t⁻¹) y los subsidios gubernamentales (550 \$ t⁻¹ de grano producido).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cepas CBG-180 y CBG-181 presentaron menor utilización de triptofano que CBG-497 a las 24, 48 y 72 h en incubación, mientras que CBG-497 presentó la mayor producción de auxinas *in vitro* (Figura 1). Las tres cepas mostraron correlación negativa significativa (-0.69**, -0.94** y -0.97** para CBG-180, CBG-181 y CBG-497, respectivamente) entre asimilación de triptofano y producción de AIA. La mayor capacidad de asimilación del triptofano, precursor de auxinas en *A. brasilense* (Van de Broek *et al.*, 1999) y su relación estrecha con la mayor producción de auxinas también se ha observado por Khawas y Adachi (1999) y por Martínez-Morales *et al.* (2003) en *A. brasilense*, así como en otras especies de *Azospirillum* (Han y New, 1998; Holguín *et al.*, 1999), y en otras bacterias como *R. meliloti*, *E. cloacae*, *P. syringae* pv. *fluorescens* y *A. tumefaciens* (Caballero-Mellado *et al.*, 1999; Zakharova *et al.*, 1999; Vázquez *et al.*, 2000).

La síntesis de altas cantidades de auxinas *in vitro* se considera un parámetro útil para la selección de cepas nativas de *A. brasilense* para la producción de biofertilizantes destinados a plantas cultivadas, porque promueven más el crecimiento vegetal (Van de Broek *et al.*, 1999). La cepa CBG-497 indujo los mayores incrementos en producción de biomasa seca a los 20 d después de la siembra, en los tres híbridos de maíz, mientras que CBG-180 y CBG-181 incrementaron la producción de biomasa de 'Asgrow-Tigre' a partir de los 26 d (Figura 2). En campo, la cepa CBG-497 ocasionó un incremento de 0.3 t ha⁻¹ en el rendimiento de grano de 'Asgrow-Tigre', mientras que en 'Dekalb-2003' y 'Garst-8222' el rendimiento de grano se incrementó en 1.3 y 0.3 t ha⁻¹, respectivamente. En producción de forraje seco 'Asgrow-Tigre' provocó un incremento de 0.3 t ha⁻¹ y 'Garst-8222' de 0.2 t ha⁻¹, mientras que en 'Dekalb-2003' se redujo en 0.6 t ha⁻¹.

² Pecina-Quintero V, A Díaz-Franco, I Garza-Cano, A Magallanes-Estala (2004) Respuesta del maíz y sorgo a la fertilización biológica. In: Memoria del Simposio de Biofertilización. A Díaz-Franco, N Mayek-Pérez, A Mendoza, N Maldonado-Moreno (eds). 25 de noviembre de 2004. Río Bravo, México. p. 94.

Cuadro 1. Localización geográfica y características de clima y suelo de las localidades de Tamaulipas incluidas en el trabajo.

Localidad	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (m)	Temperatura media anual (°C)	Precipitación media anual (mm)	Tipo de suelo	Clima
Reynosa	26° 05'	98° 18'	38	22	450	Xerosol calcárico	Subtrópico árido-cálido
Río Bravo	25° 59'	98° 06'	39	23	400	Xerosol calcárico	Subtrópico árido-cálido
Abasolo	24° 03'	98° 22'	70	23	400	Xerosol calcárico	Subtrópico semiárido cálido
Díaz Ordaz	26° 14'	98° 36'	68	24	450	Fluvisol eútrico	Subtrópico árido-cálido
Valadecies	26° 15'	98° 40'	70	24	450	Fuvisol eútrico	Subtrópico árido-cálido

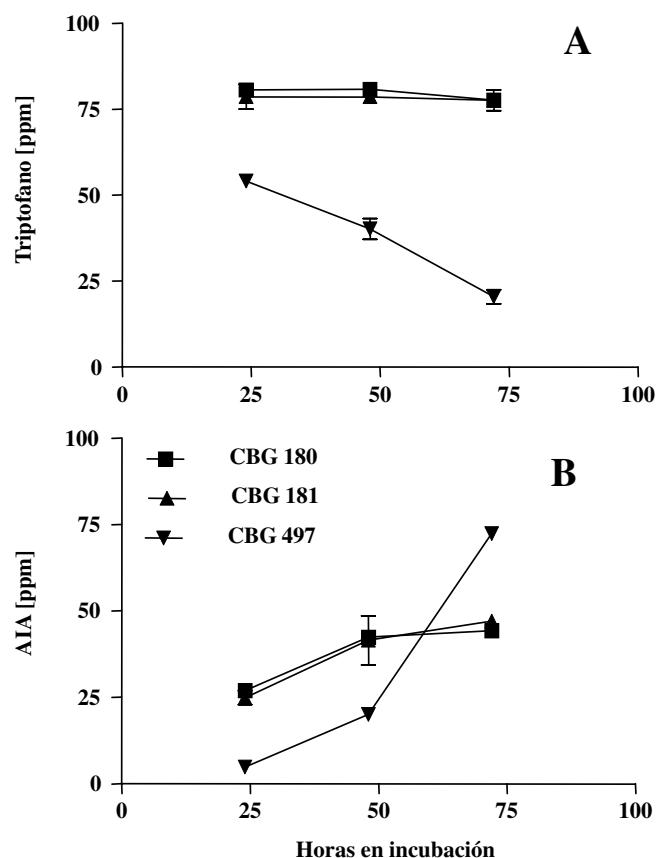


Figura 1. Utilización de triptofano (a) y producción de auxinas (b) en tres cepas de *A. brasilense* (CBG 180, CBG 181 y CBG 497) mediante detección por cromatografía de líquidos a diferentes horas de incubación. Promedios de tres repeticiones independientes. Las barras verticales indican \pm error estándar.

En promedio, *A. brasilense* incrementó el rendimiento de grano en 8 % en los tres híbridos de maíz, mientras que el rendimiento de forraje sólo se incrementó en 2 %, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas entre tratamientos (Cuadro 2). En otros trabajos se han reportado incrementos significativos en la productividad de cultivos

con la inoculación de *A. brasilense* tanto en condiciones de invernadero como de campo (Fallik y Okon, 1996, en *S. italica* y maíz; Burdman *et al.*, 1997 e Irizar *et al.*, 2003, en frijol; Hamaoui *et al.*, 2001, en garbanzo y haba; Döbbelaere *et al.*, 2002, en trigo y maíz; O'Hara *et al.*, 1981, Jacoud *et al.*, 1998 e Irizar *et al.*, 2003, en maíz).

En sorgo, la biofertilización con *Azospirillum* no incrementó significativamente el crecimiento y rendimiento de grano, lo que se atribuye a la diversidad de factores ambientales en la región de evaluación (características físico-químicas del suelo, clima, genotipo y cepa) (Ramírez y Luna, 1995; Martínez-Medina, 2004; Pecina-Quintero *et al.*, 2005). 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 en la tasa de asimilación de agua y la utilización de minerales del suelo (Okon y Labandera-González, 1994; Fallik y Okon, 1996; Burdman *et al.*, 1997; Hamaoui *et al.*, 2001; Döbbelaere *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos en este trabajo indicaron que la evaluación de cepas de *A. brasilense* con base en la producción de auxinas y la utilización de triptofano *in vitro* permiten la identificación de cepas con efectos positivos en la producción de biomasa en invernadero. El hecho de que la inoculación con cepas de *A. brasilense* no haya dado ganancias significativas respecto al testigo no inoculado en cuanto a la producción de forraje y grano en campo, se atribuye a que diversos factores bióticos y abióticos afectaron el comportamiento de la bacteria y produjeron respuestas inconsistentes de la biofertilización (Ramírez y Luna, 1995; Bashan y Holguín, 1997; Pecina-Quintero *et al.*, 2005). Entre tales factores están las condiciones físico-químicas del suelo, la presencia de microorganismos en la rizósfera, el genotipo del hospedante y la capacidad de la bacteria para establecerse y para competir con la microflora nativa (Okon y Labandera-González, 1994; Döbbelaere *et al.*, 2002; Ramírez y Luna, 1995; Pecina-Quintero *et al.*, 2005).

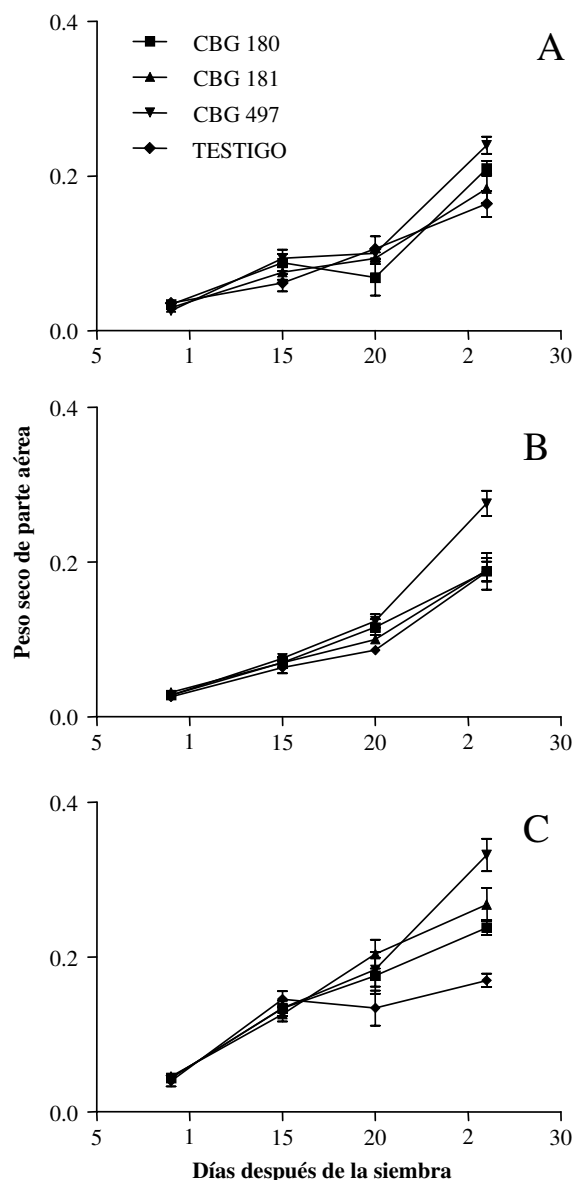


Figura 2. Efecto de tres cepas de *A. brasilense* (CBG-180, CBG-181 y CBG-497) en la acumulación de biomasa en la parte aérea de los híbridos de maíz 'Garst-8222' (a), 'Dekalb-2003' (b) y 'Asgrow-Tigre' (c) en invernadero. Las líneas verticales indican \pm error estándar.

Un mejor entendimiento de las características básicas de la interacción *A. brasilense*-raíces y los indicadores críticos del éxito de la inoculación pueden ayudar a mejorar la eficacia de los inóculos de *A. brasilense* en diversas condiciones ambientales, y así estimular su aplicación en gran escala en la producción agrícola en campo (Bashan y Holguín, 1997). A pesar de que los incrementos en el rendimiento de grano del maíz no fueron significativos con la aplicación del biofertilizante, su uso se perfila como una opción viable para incrementar la rentabilidad del cultivo en el norte de Tamaulipas pues permitió incrementar sustantivamente la ga-

nancia neta por hectárea y la relación beneficio/costo por hectárea del cultivo, ésta última de 36 % en promedio (Cuadro 3). Ello se debe a que la aplicación de fertilizantes químicos incrementa los costos de producción por representar alrededor del 22 % de los mismos, pero sin incrementar el rendimiento de grano en comparación con el tratamiento con *A. brasilense*.

En términos económicos y ecológicos, estos resultados se vislumbran promisorios pues la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal incrementaron las ganancias netas y la relación beneficio/costo del cultivo. Lo anterior, validado con futuros estudios, permitirá constituir a la utilización de biofertilizantes como una alternativa económica viable para la producción de maíz en dicha región, reducir paulatinamente la aplicación de fertilizantes químicos, promover la conservación de los suelos agrícolas e incrementar la rentabilidad del cultivo.

CONCLUSIONES

La mayor producción de AIA de *A. brasilense* *in vitro* se asoció con la mayor utilización de triptofano, así como con la mayor producción de biomasa de maíz en invernadero. En campo, la aplicación del biofertilizante basado en *A. brasilense* no incrementó significativamente el rendimiento de grano y de forraje de tres híbridos de maíz en el norte de Tamaulipas, pero incrementó la rentabilidad del cultivo en 36 %, en comparación con el testigo fertilizado químicamente.

AGRADECIMIENTOS

El desarrollo de este trabajo fue financiado por el Instituto Politécnico Nacional. La publicación de este trabajo fue financiada por el Fondo Mixto del Estado de Tamaulipas (TAMPS-2003-C03-06). A. Mendoza-Herrera y N. Mayek-Pérez son becarios COFAA-IPN, EDI-IPN y SNI.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre-Medina J F (2004) Biofertilizantes microbianos: Antecedentes del programa y resultados de validación en México. In: Memoria del Simposio de Biofertilización. A Díaz-Franco, N Mayek-Pérez, A Mendoza, N Maldonado-Moreno (eds). 25 de noviembre de 2004. Río Bravo, México. pp:71-87.
- Alarcón A, R Ferrera-Cerrato (2000) Biofertilizantes: Importancia y utilización en la agricultura. Agric. Téc. Méx. 26:191-203.
- Bashan Y (1998) Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnol. Adv. 16:729-770.
- Bashan Y, G Holguín, R Ferrera-Cerrato (1996) Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos *Azospirillum*. Terra 14:159-183.
- Bashan Y, G Holguín (1997) *Azospirillum*-plant relationships: Environmental and physiological advances (1990-1996). Can. J. Microbiol. 43:103-121.
- Burdman S, J Kigel, Y Okon (1997) Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Soil Biol. Biochem. 29:923-929.

Cuadro 2. Efecto de la inoculación con la cepa CBG 497 de *A. brasilense* en el rendimiento de grano y de forraje seco de tres híbridos de maíz cultivados en el norte de Tamaulipas durante 2003-2004.

Localidad	Híbrido	Rendimiento de grano (t ha ⁻¹)			Rendimiento de forraje seco (t ha ⁻¹)		
		Inoculado	Testigo	DMS [†]	Inoculado	Testigo	DMS
Abasolo	'Asgrow-Tigre'	4.9	4.4	2.3	7.5	7.0	2.5
Díaz Ordaz	"	7.8	7.6	0.6	6.0	6.0	---
Valadeces	"	10.2	10.0	0.8	7.2	7.0	0.9
Reynosa	'Dekalb-2003'	7.4	6.1	4.6	4.6	5.2	2.4
Río Bravo	'Garst-8222'	7.9	7.6	1.4	3.0	2.8	0.9

[†] Diferencia mínima significativa (P = 0.05) con base en valores de la t de Student.

Cuadro 3. Rendimiento de grano y algunos parámetros financieros en el estudio de la respuesta a la biofertilización en maíz en el norte de Tamaulipas, México durante 2003-2004.

Localidad	Rendimiento de grano (t ha ⁻¹)		Costo (\$ ha ⁻¹)		Ingreso total (\$ ha ⁻¹)		Ganancia neta (\$ ha ⁻¹)		Relación beneficio/costo		% vs. testigo
	Ab [†]	Testigo	Ab	Testigo	Ab	Testigo	Ab	Testigo	Ab	Testigo	
Abasolo	4.9	4.4	3500	4400	8085	7260	4585	2860	2.31	1.65	40
Díaz Ordaz	7.8	7.6	3500	4400	12870	12540	9370	8140	3.68	2.85	29
Valadeces	10.2	10.0	3500	4400	16830	16500	13330	12100	4.81	3.75	28
Reynosa	7.4	6.1	3480	4380	12210	10065	8730	5685	3.51	2.30	53
Río Bravo	7.9	7.6	3570	4470	13035	12540	9465	8070	3.65	2.81	30

[†] Ab = Inoculado con *A. brasilense*.

Caballero-Mellado J, L López-Reyes, R Bustillos-Cristales (1999) Presence of 16S rRNA genes in multiple replicons in *Azospirillum brasilense*. Microbiology 178:283-288.

Chapa JG (2006) Fondo de Aseguramiento Agrícola PROAGRO A. C. Ciudad Díaz Ordaz, Tamaulipas, México.

Döbelaere S, A Croonenborghs, A Thys, D Ptacek, Y Okon, J Vanderleyden (2002) Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biol. Fertil. Soils 36:284-297.

Döbelaere S, A Croonenborghs, A Thys, D Ptacek, J Vanderleyden, P Dutto, C Labandera-González, J Caballero-Mellado, J Francisco-Aguirre, Y Kapulnik, S Brenr, S Burdman, D Kadouri, S Varig, Y Okon (2001) Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. Aust. J. Plant. Physiol. 28:871-879.

Fallik E, Y Okon (1996) Inoculations of *Azospirillum brasilense*: biomass production, survival and growth promotion of *Setaria italica* and *Zea mays*. Soil Biol. Biochem. 28:123-126.

GraphPad Software, Inc. (2005) GraphPad Prism version 4.0. San Diego, USA.

Hamaoui B, J M Abbadi, S Burdman, A Rashid, S Sarig, Y Okon (2001) Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. Agronomie 21:553-560.

Han S O, P B New (1998) Variation in nitrogen fixing ability among natural isolates of *Azospirillum*. Microbiol. Ecol. 36:193-201.

Holguín G, C L Patten, B R Glick (1999) Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. Biol. Fertil. Soils 29:10-23.

Holguín G, Y Bashan, M E Puente, A Carrillo, G Bethlenfalvay, A Rojas, P Vázquez, G Toledo, M Bacilio-Jiménez, B R Glick, L E González de-Bashan, V Lebsky, M Moreno, J P Hernández (2003) Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizosfera: Avances de investigación. Agric. Téc. Méx. 29:201-211.

Irizar G M, P Vargas, D Garza, C Tut, M Rojas, A Trujillo, R García, D Aguirre, J Martínez, S Alvarado, O Grageda, J Valero, J Aguirre (2003) Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la región central de México. Agric. Téc. Méx. 29:213-225.

Jacoud C, D Faure, P Wadoux, R Bally (1998) Development of a strain-specific probe to follow inoculated *Azospirillum lipoferum* CRT1 under field conditions and enhancement of maize root development by inoculation. FEMS Microbiol. Ecol. 27:43-51.

Khawas H, K Adachi (1999) Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiella* and their effect on rice roots. Biol. Fertil. Soils 28:377-381.

Martínez-Medina J (2004) Respuesta de la biofertilización en el crecimiento y rendimiento de sorgo de grano en Linares, Nuevo León. In: Memoria del Simposio de Biofertilización. A Díaz-Franco, N Mayek-Pérez, A Mendoza, N Maldonado-Moreno (eds). 25 de noviembre de 2004. Río Bravo, México. pp:42-52.

Martínez-Morales L J, L Soto-Urzuá, B E Baca, J A Sánchez (2003) Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. Microbiology 228:167-173.

O'Hara G W, M R Davey, J A Lucas (1981) Effect of inoculation of *Zea mays* with *Azospirillum brasilense* strains under temperate conditions. Can. J. Microbiol. 27:871-877.

Okon Y, C Labandera-González (1994) Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years' worldwide field inoculation. Soil Biol. Biochem. 26:1591-1601.

Olivares-Sáenz E (1994) Paquete de Diseños Experimentales FAUANL versión 2.5. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, México.

Pecina-Quintero V, A Díaz-Franco, H Williams-Alanís, E Rosales-Robles, I Garza-Cano (2005) Influencia de fecha de siembra y biofertilizantes en sorgo. Rev. Fitotec. Mex. 28:389-392.

Ramírez G R, B Luna M (1995) Simbiosis asociativas. In: Agromicrobiología. Elemento Útil en la Agricultura Sustentable. R Ferrera-Cerrato, J Pérez M (eds). Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp:143-165.

Sistema de Información Agropecuaria (SIAP) (2005) SIACON 1980-2004: Sistema de Información Agropecuaria de Consulta. SAGARPA. México. Disponible en: http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comanuar.html (Revisado: 30 de enero de 2006).

Van de Broek A, M Lambrecht, K Eggermont, L J Vanderleyden (1999) Auxins up-regulate expression of the indole-3-pyruvate decarboxylase gene in *Azospirillum brasilense*. J. Bacteriol. 181:1338-1342.

Vázquez M M, S César, R Azcón, J M Barea (2000) Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. Appl. Soil Ecol. 15:261-272.

Zakharova E A, A Alexander, V Shcherbakov, V Brudnik, G Nataliya, S N Skripko, B Bulkhin, V I Ignatov (1999) Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*. Eur. J. Biochem. 259:572 - 576.