



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE
ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

TEMA:

EVALUACIÓN DEL BIOFERTILIZANTE A BASE DE CEPAS DE *Azospirillum* spp. EN EL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.) VARIEDAD INIAP-101, EN COMPLEMENTO CON TRES TIPOS DE FERTILIZACIÓN, EN EL SECTOR AINCHE, PROVINCIA DE CHIMBORAZO.

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO OTORGADO POR LA UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR, A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE, ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA.

AUTOR:

CÉSAR ALEXANDER COOL ZAMBRANO

DIRECTOR DE TESIS:

ING. AGR. WASHINGTON DONATO O. M.Sc.

GUARANDA – ECUADOR

2010

EVALUACIÓN DEL BIOFERTILIZANTE A BASE DE CEPAS DE *Azospirillum* spp. EN EL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.) VARIEDAD INIAP-101, EN COMPLEMENTO CON TRES TIPOS DE FERTILIZACIÓN, EN EL SECTOR AINCHE, PROVINCIA DE CHIMBORAZO.

REVISADO POR

ING. AGR. WASHINGTON DONATO O. M.Sc.

DIRECTOR DE TESIS

ING. AGR. CARLOS MONAR B. M.Sc.

BIOMETRISTA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN DE TESIS.

ING. NELSON MONAR. M.Sc.

ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

ING. BOLÍVAR ESPÍN.

ÁREA TÉCNICA

DEDICATORIA

El presente trabajo, es el reflejo de todos estos años de constante aprendizaje, en el cual he podido valorar cada gesto de apoyo y aliento para seguir adelante, por tal motivo está dedicado a todas esas personas que supieron confiar en mí.

En especial al ser que siempre me ha acompañado por las sendas de mi vida Dios, que es el pilar fundamental de la realización y ejecución de este trabajo.

Al esfuerzo y sacrificio de mis padres Cecilia Zambrano y César Cool, en los cuales siempre me he podido apoyar, para fortalecerme en los momentos duros y regocijarme cuando los logros se han presentado.

A mi querida hermana Cecilia Cool, quien me brinda su apoyo y me contagia de su alegría, que me ha enseñado que cuando uno quiere verdaderamente algo, puede lograrlo fácilmente.

A mi tía Ligia, que es como una madre para mi, y mi primo Kleber Moreira, que es como un hermano, los cuales pusieron en mi los mejores ejemplos de cariño, dedicación y trabajo.

A mi querida novia Paulina Alexandra Bonilla Espinel, por su apoyo, comprensión y amor durante cada uno de los días de mi vida; y por su excelente ejemplo de superación, esfuerzo y trabajo.

Alexander Cool

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Medio Ambiente y su escuela de Ingeniería Agronómica, a sus autoridades y a todos mis maestros, quienes aportaron con sus conocimientos y experiencias.

Un agradecimiento especial al Ingeniero Washington Donato y al Ingeniero Carlos Monar, por ser más que una guía, una fuente de conocimientos y experiencias, la cual supieron compartirla desinteresadamente.

Al tribunal del presente trabajo, en las personas del Ingeniero Nelson Monar y el Ingeniero Bolívar Espín, quienes aportaron con todos sus conocimientos para la conclusión del presente trabajo.

Un reconocimiento especial al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, del Programa de Maíz, en las personas de los Ingenieros Carlos Yáñez, Javier Noroña, Jorge Heredia y particularmente al Ingeniero Francisco Clavijo quienes aportaron con sus experiencias y conocimientos técnicos en el desarrollo del trabajo de campo.

A mis amigos: Marcia Oña, Paola Jácome, Patricia Pobeda, Francisco Báez, Yolanda Pallo, Gabriela Ortiz. Quienes han contribuido con el desarrollo y culminación de este reto. Haciendo más llevadero el trabajo y obstáculos presentes en el transcurso de mi investigación.

De manera muy especial y particular, expreso mi más sincero agradecimiento a la Ingeniera Sandra Garcés, por la manera tan desinteresada y eficaz, con la que me ha hecho participe de sus conocimientos y experiencias.

Alexander Cool

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPITULO	DENOMINACIÓN	PÁGINA
I.	INTRODUCCIÓN.	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.	4
	2.1. Generalidades.	4
	2.2. Clasificación Taxonómica.	4
	2.3. Descripción botánica.	4
	2.4. Descripción de la variedad INIAP 101	7
	2.5. Manejo agronómico del cultivo.	9
	2.6. El género <i>Azospirillum</i>	11
	2.7. Biofertilizantes.	23
	2.8. Fertilización.	26
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.	35
	3.1. Materiales.	35
	3.2. Metodología.	38
	3.3. Métodos de evaluación y datos tomados.	41
	3.4. Manejo del experimento.	46
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	52
	4.1. Población de <i>Azospirillum</i>	52
	4.2. Porcentaje de emergencia.	53
	4.3. Altura de plantas.	54
	4.4. Altura de mazorcas.	56
	4.5. Daño a la mazorca por <i>Heliothis zea</i> y <i>Euxesta eluta</i>	57
	4.6. Daño a la mazorca por <i>Fusarium</i>	59

	<i>moniliforme</i>	
4.7.	Longitud de la mazorca.	66
4.8.	Diámetro de la mazorca.	67
4.9.	Porcentaje de nitrógeno en el suelo.	68
4.10.	Porcentaje de materia seca.	69
4.11.	Porcentaje de nitrógeno en la planta.	70
4.12.	Rendimiento de choclo.	72
4.13.	Análisis económico.	80
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	85
5.1.	Conclusiones.	85
5.2.	Recomendaciones.	86
VI.	RESUMEN Y SUMMARY.	87
6.1.	Resumen.	87
6.2.	Summary.	89
VII.	BIBLIOGRAFÍA.	91
	ANEXOS.	

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO Nº	DESCRIPCIÓN	PÁGINA
Cuadro Nº 1	Características agronómicas del maíz INIAP-101.	8
Cuadro Nº 2	Características de calidad INIAP-101.	8
Cuadro Nº 3	Biofertilizantes fijadores de N ₂ , limitaciones y uso por los agricultores.	25
Cuadro Nº 4	Ubicación geográfica de la localidad en estudio.	35
Cuadro Nº 5	Características edafo - climáticas del sitio experimental.	35
Cuadro Nº 6	Identificación de biofertilizantes a base de <i>Azospirillum</i> spp.	38
Cuadro Nº 7	Fertilizaciones.	38
Cuadro Nº 8	Tratamientos planteados en estudio.	39
Cuadro Nº 9	Esquema del ADEVA.	40
Cuadro Nº 10	Escala de daño a la mazorca por insectos.	42
Cuadro Nº 11	Escala de daño a la mazorca por enfermedades.	43

- Cuadro N° 12 Análisis de varianza para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea* y daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización".
Ainche - Chimborazo, 2010. 61
- Cuadro N° 13 Promedios y Tukey al 5% del factor A (cepas de *Azospirillum*) para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea*, daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización".
Ainche - Chimborazo, 2010. 62
- Cuadro N° 14 Promedios y Tukey al 5% del factor B (fertilizaciones) para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea*, daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en

- complemento con tres tipos de fertilización”.
Ainche - Chimborazo, 2010. 63
- Cuadro N° 15 Promedios y Tukey al 5% de la interacción factor A (cepas *Azospirillum*) x factor B (Fertilizaciones) para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea* y daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (***Zea mays*** L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización”.
Ainche - Chimborazo, 2010. 64
- Cuadro N° 16 Análisis de varianza para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno en el suelo, porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno en la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (***Zea mays*** L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización”.
Ainche - Chimborazo, 2010. 75
- Cuadro N° 17 Promedios y Tukey al 5% del factor A (cepas de *Azospirillum*) para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno en el suelo,

porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno en la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (***Zea mays*** L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización".
Ainche - Chimborazo, 2010.

76

Cuadro N° 18 Promedios y Tukey al 5% del factor B (fertilizaciones) para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno en el suelo, porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno en la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (***Zea mays*** L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización".
Ainche - Chimborazo, 2010.

77

Cuadro N° 19 Promedios y Tukey al 5% de la interacción factor A (cepas *Azospirillum*) x Factor B (Fertilizaciones) para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno en el suelo, porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno en la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (***Zea***

	<i>mays</i> L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.	78
Cuadro N° 20	Presupuesto Parcial del ensayo "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de <i>Azospirillum</i> spp., en el cultivo de Maíz (<i>Zea mays</i> L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.	82
Cuadro N° 21	Análisis de Dominancia del estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de <i>Azospirillum</i> spp., en el cultivo de Maíz (<i>Zea mays</i> L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.	83
Cuadro N° 22	Análisis Marginal del estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de <i>Azospirillum</i> spp., en el cultivo de Maíz (<i>Zea mays</i> L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.	84

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS Nº	DESCRIPCIÓN
ANEXO Nº 1	Mapa físico de la localidad en estudio.
ANEXO Nº 2	Número más probable (NMP) inicial de <i>Azospirillum</i> spp., por gramo de suelo, en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de <i>Azospirillum</i> spp., en el cultivo de Maíz (<i>Zea mays</i> L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.
ANEXO Nº 3	Medio NFB (Nitrogen Fixation Biological) semi-sólido (Rodríguez y Cáceres, 1982).
ANEXO Nº 4	Tabla de Mc Crady: 3 tubos por dilución (Universidad Complutense, 2001).
ANEXO Nº 5	Análisis foliar de ensayo de campo.
ANEXO Nº 6	Clasificación del choclo Por su tamaño. Norma Ecuatoriana Obligatoria INEN-1761. 1900-09.
ANEXO Nº 7	Medio de Aislamiento y Purificación Ácido Málico – Rojo Congo sólido.
ANEXO Nº 8	Medio de Reactivación Peptona al 1%.
ANEXO Nº 9	Medio de Fermentación Caldo Nutritivo.

- ANEXO N° 10 Análisis de suelo de la turba de Tambohuasha.
- ANEXO N° 11 Prueba de sobrevivencia de inoculante sólido, antes de la siembra del estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (***Zea mays*** L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.
- ANEXO N° 12 Análisis de suelo del ensayo en campo.
- ANEXO N° 13 Composición Química Ecoabonaza.
- ANEXO N° 14 Promedios de datos procesados.
- ANEXO N° 15 Imágenes de las diferentes etapas de la Investigación.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) en la sierra del Ecuador, es uno de los cultivos más importantes debido a la gran cantidad de terreno destinado a su cultivo y al papel que cumple como componente básico de la dieta de la población rural (Yáñez, C. 2007).

La superficie de maíz suave cosechada en choclo en todo el país, fue de 39401 ha., con una producción de 43272 Tm y un rendimiento de 1,09 Tm/ha. De las cuales 1446 Tm fueron producidas en la provincia de Chimborazo (INEC, 2008).

Este cultivo es producido en su mayoría por pequeños productores de escasos recursos, principalmente en terrenos de baja fertilidad, donde prevalecen los sistemas tradicionales de producción, caracterizándose por la baja utilización de fertilizantes y demás insumos agrícolas (INIAP, 2007).

La fertilización es una práctica indispensable para su producción, siendo la fertilización nitrogenada la más importante debido a sus evidentes efectos sobre el rendimiento (Urquiaga, S. 2000).

El nitrógeno es uno de los factores, que gobiernan la productividad del cultivo de maíz, ya que procede de tres fuentes principales: las reservas orgánicas e inorgánicas del suelo; los fertilizantes minerales y los abonos orgánicos; y la fijación biológica del nitrógeno que se encuentra en la atmósfera. Sin embargo, las reservas del suelo son muy limitadas y los fertilizantes son costosos y altamente contaminantes, por lo que la fijación biológica de nitrógeno constituye una alternativa importante para aumentar la productividad de los cultivos (Milano, E. 2007).

La fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de maíz puede ser potenciada mediante el uso de biofertilizantes, los cuales se pueden definir como preparados que contienen cepas microbianas que se aplican al suelo o a las semillas, con el objetivo de incrementar el número de microorganismos en el medio y acelerar los procesos microbianos, aumentando de esta forma las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas (The Latin American Alliance, 1997).

Algunos géneros de microorganismos empleados para producir biofertilizantes son capaces de fijar al suelo el nitrógeno que se encuentra en la atmósfera y hacerlo disponible para los cultivos, como es el caso de *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Herbaspirillum* y *Burckolderia* (bacterias); *Gigaspora* y *Scutellospora* (micorrizas) (Labandera, C., et al., 2000).

El Programa de Maíz de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del INIAP, cuenta con una colección de cepas nativas de *Azospirillum* spp., con su respectiva base de datos, de las cuales se han realizado estudios de su aplicación en el cultivo de maíz en invernadero y campo, recomendándose emplear las cepas de *Azospirillum* spp., de algunas zonas agroecológicas de las provincias de Chimborazo, Bolívar y Tungurahua, en combinación con fertilizantes inorgánicos y orgánicos, debido a que se obtuvieron prometedores resultados, los cuales muestran un incremento en el desarrollo de las plantas, mayor productividad y mejor rendimiento (Espinoza, L. 2004).

Esto muestra la necesidad de continuar con los estudios del uso de *Azospirillum*, con el fin de generar una tecnología que beneficie a los productores de maíz y que sea amigable con el medio ambiente.

Para este trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- ✓ Evaluar el efecto de la aplicación del biofertilizante a base de tres cepas de *Azospirillum* spp. en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización, en el sector de Ainche, provincia de Chimborazo.

- ✓ Seleccionar la cepa de *Azospirillum* spp. más eficiente en la producción del cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

- ✓ Evaluar el mejor tipo de fertilización complementaria que acompañe a *Azospirillum* spp. para una buena producción del cultivo de maíz.

- ✓ Realizar un análisis económico de presupuesto parcial y tasa marginal de retorno.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. Generalidades

El Maíz (*Zea mays* L.) es el tercer cereal más cultivado del mundo, seguido por trigo y arroz. Se desarrolla en diferentes climas que van desde el trópico hasta los climas templados; desde el nivel del mar hasta altitudes de 3000 msnm, y en latitudes entre 23º norte y 23º sur desde el Ecuador (Molina, S. 2006).

2.2. Clasificación Taxonómica.

El maíz taxonómicamente pertenece a:

Reino:	Vegetal
Subreino:	Embriobionta
División:	Magnoliophyta (Angiospermae)
Clase:	Liliopsida (Monocotyledoneae)
Orden:	Cyperales
Familia:	Poaceae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>mays</i>
Nombre Científico:	<i>Zea mays</i> . L (Cronquist, A. 1988).

2.3. Descripción botánica.

2.3.1. Raíz.

La raíz primaria, o sea, la que se desarrolla en la germinación tiene corta duración. En la planta adulta todo el sistema radicular es adventicio y

brota de la corona, con el ápice en la parte inferior formado por 10 entrenudos muy cortos. El tamaño y la forma del sistema radicular cambian considerablemente de acuerdo al tipo de propagación y las condiciones ambientales (Terranova, 1995).

2.3.2. Tallo.

El tallo de maíz está constituido por nudos y entrenudos de número y longitud variable. La parte inferior y subterránea del tallo, la corona, poseen entrenudos de los cuales salen los tallos laterales y las raíces principalmente. En los entrenudos siguientes, en especial en las plantas jóvenes existen una zona de crecimiento activo o intercalar ubicada en la parte inferior del entrenudo, de una longitud menor a 0.5 mm de ancho, en la que se producen tejidos nuevos (Maroto, J. 1998).

2.3.3. Hojas.

Están constituidas por vaina, cuello y lámina. La vaina es una estructura cilíndrica abierta hasta la base, que sale de la parte superior del nudo, mientras que el cuello es la zona de transición entre la vaina envolvente y la lámina abierta. La Lámina es una banda angosta y delgada de hasta 1.5 m de largo por 10 cm de ancho que termina en un ápice muy agudo. El nervio central está bien desarrollado, es prominente en el envés de la hoja y cóncavo en la parte superior (Grin. 2001).

2.3.4. Inflorescencia Masculina.

La inflorescencia masculina o panoja, normalmente se hace visible entre las últimas hojas de la planta, de siete a diez días antes de que aparezcan los estilos de la inflorescencia femenina. Generalmente de dos a tres días

antes de comenzar la liberación del polen, se elongan los internudos de la parte alta del tallo impulsando a la panoja, la cual queda completamente desplegada; la planta, en ese momento, alcanza su altura definitiva (Maroto, J. 1998).

2.3.5. Inflorescencia Femenina.

Corresponde a una espiga. La espiga, por su parte, se presenta cubierta por brácteas u hojas envolventes. La espiga, conjuntamente con las brácteas, conforma la mazorca. La mazorca apical determina su número de óvulos 15 a 20 días antes de la emisión de estilos, presentando en ese momento entre uno y dos cm de longitud. La cantidad de óvulos de la mazorca apical puede variar entre 500 y 1000. La inflorescencia femenina está conformada por espiguillas; cada espiguilla, a su vez, contiene dos flores, de las cuales sólo una logra emitir su estilo; la otra flor aborta, originándose, por lo tanto, sólo un grano por cavidad (Grin. 2001).

2.3.6. Frutos.

En el maíz la mazorca es compacta y está formada por hojas transformadas que en la mayoría de los casos la cubre por completo. El eje de inflorescencia recibe el nombre de tusa en América del Sur y el de elote en México y América Central. La zona de inserción de los granos esta formada principalmente por las cúpulas; órganos característicos de ciertas poaceas que tiene forma de copa, con paredes, cuya base angosta se conecta con el sistema vascular del cilindro central (Terranova, 1995).

2.3.7. Semillas.

La semilla de maíz está contenida dentro de un fruto denominado cariósido; la capa externa que rodea este fruto corresponde al pericarpio, estructura que se sitúa por sobre la testa de la semilla. Esta última está conformada internamente por el endospermo y el embrión, el cual a su vez está constituido por la coleoriza, la radícula, la plúmula u hojas embrionarias, el coleoptilo y el escutelo o cotiledón (Maroto, J. 1998).

2.4. Descripción de la variedad INIAP 101

2.4.1. Origen.

INIAP-101, fue desarrollada por el Programa de Maíz de la Estación Experimental Santa Catalina, en el período 1971 a 1979. Tiene como progenitor la variedad "Cacahuazintle" de México a partir de la cual y luego de varios años de selección se ha obtenido esta variedad. El material original fue introducido del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) ubicado en México y el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (Silva E., *et al.*, 1997).

2.4.2. Zonificación.

Esta variedad se adapta en los valles centrales de la región interandina en altitudes comprendidas entre los 2400 a 3000 msnm (Yáñez, C., *et al.*, 2003).

2.4.3. Características agronómicas.

Cuadro 1. Características agronómicas del maíz INIAP-101

Características¹	Promedio
Floración femenina (días)	92
Altura de la planta (cm)	195
Altura de la mazorca (cm)	94
Porcentaje de desgrane	79
Peso de 100 semillas (g)	74
Días a la cosecha en choclo	125
Días a la cosecha en seco	205
Rendimiento en grano seco (t/ha)	4,0
Rendimiento comercial de choclos (sacos/ha) ²	215

Fuente: (Yáñez, C., *et al.*, 2000).

^{1/} Datos obtenidos en localidades que varían de 2 400 a 3000 msnm.

^{2/} Sacos de 140 choclos de 1er y 2da clase.

Además posee buen rendimiento, precocidad, grano blanco textura harinosa y de buena calidad, mazorca grande y resistencia al acame (Yáñez, C., *et al.*, 2003).

2.4.4. Características de calidad.

Cuadro 2. Características de calidad INIAP-101

Rubro	Porcentaje (%)
Humedad	7,63
Proteína	6,39
Almidón	74,24

Fuente: (Caviedes, M., *et al.*, 2002).

2.4.5. Usos

Esta variedad es muy apetecida en estado fresco (choclo), sin embargo es apreciada para la elaboración de tostado, mote, chicha, humitas, tortillas, harina, etc.; además, la planta es utilizada como forraje para la alimentación de ganado vacuno y especies menores, o como abono incorporándole al suelo (Caviedes, M., *et al.*, 2002).

2.5. Manejo agronómico del cultivo.

2.5.1. Época de siembra.

Varía desde Septiembre hasta mediados de Noviembre, dependiendo de la localidad y de la disponibilidad de agua de riego o el régimen de lluvias (Noroña, J. 2008).

2.5.2. Preparación del suelo.

Se recomienda preparar el suelo con 2 meses de anticipación para facilitar la descomposición de residuos. Las labores de arado, rastrado y surcado pueden realizarse con tractor o yunta (Noroña, J. 2008).

2.5.3. Densidad de la Siembra.

Las distancias de siembra sugeridas son: en cultivo solo a 80 cm entre surcos y a 50 cm entre sitios con 2 semillas por sitio (50 000 plantas/ha). La cantidad de semilla de maíz INIAP-101 requerida para la siembra es de 30 Kg/ha (Silva, E., *et al.*, 1997).

2.5.4. Fertilización.

Para una adecuada fertilización es necesario realizar un análisis químico del suelo. La variedad INIAP-101 es eficiente en el aprovechamiento de nutrientes del suelo por lo que necesita dosis bajas de fertilización. Para suelos bajos en nitrógeno (menos de 25 ppm) y de fósforo (menos de 10 ppm), se sugiere aplicar al menos una dosis de 80 kg/ha de N y 90 kg/ha de P₂O₅, la cual se puede alcanzar con la aplicación de cuatro sacos de 45 kg de 18-46-00 a la siembra y dos sacos de urea al aporque (45 días después de la siembra) (Yáñez, C., *et al.*, 2000).

2.5.5. Control de Malezas

Los herbicidas deben aplicarse inmediatamente después de la siembra, sobre suelo húmedo. En caso de no aplicarse herbicidas, se debe realizar una o dos deshierbas con yunta o a mano, de acuerdo a la incidencia de malezas (Yáñez, C., *et al.*, 2003).

Si existe una alta presencia de malezas se recomienda aplicar herbicidas selectivos a base de *Atrazina* en dosis de 1,6 a 2,0 Kg/ha de producto comercial, en 400 litros de agua (Caviedes, M., *et al.*, 2002).

2.5.6. Control de Insectos

Se recomienda hacer aplicaciones de insecticidas únicamente cuando sea necesario. Para el caso de gusano trozador (*Agrotis ipsilon*), si se observa un 10% de plantas cortadoras o con síntomas de marchitez, se recomienda aplicar a la base del tallo insecticidas como: Thiodan (Endosulfán) en dosis de 2 litros/ha; Orthene (Acephate) 0,8 Kg/ha, entre otros (Silva, E., *et al.*, 1997).

Para controlar a los gusanos de la mazorca (*Heliothis zea* y *Euxesta eluta*), se recomienda la aplicación de aceite comestible de origen vegetal con aceitero o algodón en tres aplicaciones. La primera cuando una tercera parte de las plantas presentan en sus mazorcas hasta 3 cm de presencia de estigmas; la segunda luego de 8 días y la tercera a los 15 días de la primera aplicación. La cantidad de aceite a usar es de 3 a 4 l/ha por aplicación (Dobronski, J., *et al.*, 1999).

2.5.7. Cosecha

La cosecha para choclo se efectúa cuando el grano está en estado “lechoso”, para semilla al momento de la madurez fisiológica (cuando en la base del grano se observa una capa negra) y para grano comercial se puede esperar entre 20 a 30 días más en el campo (Silva, E., *et al.*, 1997).

2.5.8. Almacenamiento

Para almacenar las mazorcas, grano comercial o semilla, deberán secarse completamente y colocarlas en lugares frescos, secos y libres de gorgojo (Caviedes, M., *et al.*, 2002).

2.6. El género *Azospirillum*

El género *Azospirillum* spp. es una bacteria promotora de crecimiento vegetal (Plant Growth Promoting Rhizobacteria PGPR) de vida libre, capaz de ayudar al crecimiento y producción de numerosas especies vegetales; que tiene la habilidad de producir fitohormonas que mejoran el crecimiento radicular, absorción de agua y minerales presentes a lo largo de la producción del cultivo, y en muchos casos en la mayor producción de plantas. Desde su descubrimiento a mediados de 1970, por

Dobereiner, ha demostrado ser una bacteria promotora debido a que promueve el crecimiento vegetal. En países desarrollados, *Azospirillum* es usado como un inoculante bacterial, solo y junto con otras PGPR y hongos de micorrizas vesículo-arbusculares. Los extensos estudios genéticos, bioquímicos y de aplicaciones, han demostrado que *Azospirillum*, es uno de los mejores PGPR`s (Vande Broek, A., *et al.*, 2000).

Azospirillum no solo fija nitrógeno, produce además auxinas, sustancias promotoras del crecimiento vegetal, como el ácido indol acético (IAA), el cual induce el aumento de pelos radiculares, logrando con esto la planta una mayor absorción de nutrientes. Otra auxina que se ha relacionado con *Azospirillum brasilense* es el ácido indol butírico (IBA) encontrado en plántulas de maíz inoculadas con este microorganismo. Otros posibles mecanismos que benefician el crecimiento de las plantas son la producción de sideróforos, activación de mecanismos de mineralización y solubilización, por producción de antibióticos y por inducción de la expresión de factores de resistencia por las plantas (Novo, R. 2002).

Debido a todas estas características *Azospirillum* es considerada como una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal PGPR. Esta bacteria es móvil debido a la presencia de un flagelo polar y varios laterales, habilitándola para moverse en medios líquidos y gelificados, desplazándose *in vitro* hacia compuestos que se encuentran en los exudados radicales, y posibilitando la adsorción del microorganismo a la superficie de la raíz (Baca, B. 2002).

2.6.1 Hábitat del género *Azospirillum*

Las especies de *Azospirillum* son habitantes regulares del ambiente externo de las raíces (rizósfera) y de las hojas (phyllosphere) existiendo

como flora epífita no patógena. Algunas especies existen en grandes cantidades en la rizosfera de las plantas superiores, en crecimiento asociativo con estas, beneficiándolas con el nitrógeno fijado (Mortimer, P., *et al.*, 1981).

Azospirillum muestra una amplia distribución geográfica alrededor del mundo. Son más abundantes en las regiones tropicales, pero también se les encuentra en las regiones templadas, frías y desérticas. El pH del suelo juega un papel importante en la presencia de las especies del género *Azospirillum*. Las especies de *A. brasilense* y *A. lipoferum* se encuentran en mayor abundancia en suelos con valores de pH cercanos a la neutralidad. A pH bajo 5 se les encuentra en forma esporádica, y su aislamiento no se logra de suelos con pH menor a 4.5. Algunos factores abióticos tales como porcentaje de arcilla, contenido de materia orgánica, capacidad de retención de agua y contenido de nitrógeno afectan positivamente la sobrevivencia de *A. brasilense*, en tanto que el tamaño de las partículas de arena y especialmente la alta concentración de carbonato de calcio afectan negativamente la sobrevivencia de esta especie en ausencia de plantas (Caballero, 2001).

Las bacterias del género *Azospirillum* han sido aisladas de la superficie de la raíz de una muy amplia variedad de plantas y de su rizosfera, incluyendo cereales como maíz, trigo, arroz, sorgo, avena, pastos forrajeros como *Cynodon dactylon*, *Poa pratensis*, *Festuca arundinacea*, de diferentes especies de *Pennisetum* y *Panicum*. Especies de *Azospirillum* fueron aisladas incluso del henequén (*Agave fourcroydes*), y plantas cactáceas que incluyen diferentes especies de *Opuntia* y *Stenocereus*. En algunos casos se logró confirmar el aislamiento de *A. brasilense* y *A. amazonense* de semillas de pastos esterilizadas superficialmente. Aun cuando no fueron identificados al nivel de especie, algunas cepas de *Azospirillum* fueron aisladas de esporocarpos de los

hongos ectomicorrízicos *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata* y *Rhizopogon vinicolor* (Caballero, 2001).

2.6.2. Aislamiento

El aislamiento de la bacteria *Azospirillum* resulta en lo general muy simple, ya sea a partir de suelo rizosférico o de la superficie de las raíces (rizoplano) de numerosas plantas hospedadas. También se le aísla del interior de las raíces o tallos de algunas plantas (Caballero, 1998). El medio de cultivo usado para el aislamiento de las especies de *Azospirillum* es el NFB (Nitrogen Fixation Biological) semigelificado, libre de nitrógeno y con malato como fuente de carbono. En este medio de cultivo son aisladas predominantemente cepas de las especies *A. lipoferum* y *A. brasilense*. El medio NFB con algunas modificaciones en su composición y pH permiten el aislamiento predominante de otras especies de *Azospirillum*. (Caballero, J. 1998).

Estos medios modificados son usados frecuentemente para evaluar la actividad reductora de acetileno, como indicativo de la fijación de nitrógeno. En tubos, el crecimiento bacteriano en forma de sombrilla, transformado en una película blanca y densa a 2-3 mm por debajo de la superficie del medio de cultivo y el cambio de color del indicador azul de bromotimol son considerados tentativamente como positivos para el aislamiento de la bacteria (Caballero, 1998).

El cultivo puro se logra en diferentes medios de laboratorio, siendo muy usado un medio adicionado del colorante rojo congo, en el cual *A. lipoferum* y *A. brasilense* toman un color rojo escarlata que permite la diferenciación de otros géneros bacterianos (Caballero, 1998).

2.6.3. Ambiente rizosférico

Aparentemente, una bacteria del suelo deberá sobrevivir a las múltiples interacciones que se presentan con la compleja comunidad microbiana que habita el mismo microambiente, antes de que ocurra cualquier interacción con las raíces de la planta. En el inicio de una interacción con las raíces de la planta hospedera, el microorganismo específico deberá llegar a la superficie de las raíces, adherirse y multiplicarse para colonizarla. Si la bacteria tiene la capacidad de invadir los tejidos internos, se diseminará en el interior de la raíz e incluso en otros órganos de la planta (Caballero, J. 2001).

La adaptación de *Azospirillum* al futuro ambiente rizosférico probablemente se inicia con la germinación de la semilla, la cual exuda infinidad de compuestos orgánicos que forman parte fundamental de la espermosfera. Posteriormente, la exudación de compuestos será a través de las raíces durante el desarrollo de la planta. Aun cuando las especies de *Azospirillum* difieren en su capacidad para utilizar diferentes compuestos como fuentes de carbono y nitrógeno, estas bacterias usan para su crecimiento unos pocos mono y disacáridos así como alcoholes polihidroxilados, y principalmente diversos ácidos orgánicos tales como málico y succínico y algunos aminoácidos (Basham, Y. 1997).

2.6.4. Interacción con la planta

Probablemente, una vez que las células de *Azospirillum* se han adaptado a las condiciones del ambiente rizosférico y han logrado llegar a la superficie de las raíces, debido a sus características químicas y aerotácticas, se iniciará el establecimiento de la asociación. Diferentes estudios han mostrado que *A. brasilense* tiene la capacidad para adherirse a las raíces de plantas gramíneas como el mijo (*Pennisetum*

purpureum) y *Digitaria decumbens*, trigo, maíz, así como a las raíces de plantas de otras familias que incluyen al algodón y tomate, e incluso a superficies inertes como poliestireno y arena. La capacidad de *Azospirillum* para adherirse a las raíces, al menos a las de mijo, es significativamente mayor que la mostrada por otras bacterias de la comunidad rizosférica como *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Klebsiella* o *Pseudomonas*, e incluso que *E. coli* (Caballero, J. 2001).

La asociación de *Azospirillum* con las raíces de las plantas se desarrolla en dos etapas completamente independientes. La primera consiste en una adsorción rápida (un tiempo de exposición de las bacterias de 2 horas en la semilla), débil y reversible, la cual es dependiente de proteínas de la superficie bacteriana. La segunda fase consiste de un anclaje lento pero firme e irreversible que alcanza su máximo nivel 16 h después de la inoculación, el cual parece ser dependiente de un polisacárido extracelular de *Azospirillum* (Basham, Y., y Holguin, G. 1997).

La inoculación de diversas plantas con *Azospirillum* ha mostrado que los principales sitios de colonización son las áreas de elongación celular y las bases de los pelos radicales. Sólo algunas células de *Azospirillum* llegan a adherirse a la cofia o a los pelos radicales. Sin embargo, fue observada la presencia de *Azospirillum* dentro del mucigel que se acumula en la cofia. La inoculación de raíces de trigo con una cepa de *Azospirillum* que expresa constitutivamente el gen reportero *gusA* mostró que en los primeros días de la asociación las células bacterianas colonizan específicamente los sitios de emergencia de las raíces laterales y las regiones de los pelos radicales, tanto de la raíz primaria como de las raíces secundarias y posteriormente la superficie de la raíz. En plantas de trigo fue observado que la inoculación de *Azospirillum* induce cambios en la morfología de los pelos radicales, siendo éstos cambios significativamente mayores que los causados por *Rhizobium*

leguminosarum o *Azotobacter chroococcum*, los cuales son mínimos (Yegorenkova, I., *et al.*, 2001).

Además, se observó que la inoculación con 10^5 a 10^6 células de *Azospirillum* causa tanto la elongación como el aumento de la superficie total de la raíz, en tanto que la inoculación de 10^8 a 10^9 células, causan la inhibición del desarrollo de ésta. Aparentemente, el incremento del tamaño del sistema radical se debe, al menos parcialmente, al aumento de la división celular y al intenso crecimiento de la zona de elongación de las raíces. Es de interés señalar que los sitios que coloniza *Azospirillum lipoferum* son diferentes, dependiendo de la variedad de la planta, al menos en el caso del arroz. La capacidad de *Azospirillum* para colonizar las raíces de las plantas es variable dependiendo de la cepa. Con el uso de microscopia confocal de rayos laser y sondas de oligonucleótidos fluorescentes y con el uso de anticuerpos monoclonales cepa-específicos ha sido mostrado que algunas cepas de *A. brasilense*, incluyendo a la cepa tipo Sp7, se encuentran restringidas al ambiente rizosférico y son capaces de formar colonias solamente en la superficie de la raíz de plántulas de trigo, en tanto que otras cepas son encontradas frecuentemente en altas densidades en los espacios intercelulares de la raíz, así como en el interior de los pelos radicales (Caballero, J. 2001).

2.6.5. Mecanismos de estimulación del crecimiento de las plantas

La capacidad de *Azospirillum* para estimular el crecimiento de las plantas ha sido demostrada en decenas de experimentos, tanto de campo como de invernadero. Varios son los mecanismos que se han sugerido como responsables del efecto estimulador observado en las plantas inoculadas.

En numerosos estudios de inoculación con *Azospirillum*, además del mejor crecimiento de las plantas, fueron observados incrementos en el contenido de nitrógeno total de las plantas inoculadas respecto a los testigos y en la incorporación de ^{15}N . No obstante, en la mayoría de estos estudios no fueron observadas diferencias significativas en el porcentaje de nitrógeno o en el contenido de proteína entre plantas inoculadas y no inoculadas, razón que contribuyó a desechar la idea de que la fijación biológica de nitrógeno fuera el mecanismo responsable de los efectos benéficos observados. Debido a que los efectos de la inoculación con *Azospirillum* sobre el crecimiento de la raíz y la parte aérea de las plantas son similares a los que se presentan cuando las plantas son tratadas con fitohormonas fue sugerido que estas sustancias podrían ser responsables del mejor crecimiento de las plantas, así como de los incrementos observados en el contenido de minerales y en el rendimiento de los cultivos (Bashan, Y. y Levanony, H. 1990).

Recientemente ha sido revisada la función de las fitohormonas en las asociaciones planta-microorganismo. *Azospirillum* tiene la capacidad de producir auxinas, citocininas y giberelinas en medios de cultivo. No obstante, el mecanismo analizado con mayor amplitud ha sido la producción de auxinas, especialmente la del ácido indolacético (AIA). El AIA producido por las bacterias puede modificar el contenido de fitohormonas de las plantas conduciendo a la estimulación del crecimiento de las mismas (Thuler, D., *et al.*, 2003).

La producción de auxinas por *Azospirillum* spp., se cree que juega un mejor rol al promover el crecimiento vegetal, aunque pequeñas evidencias en plantas, han sido publicadas en los últimos años, que *Azospirillum* spp., produce altas cantidades de AIA extracelular, sin embargo, altas concentraciones de suspensión bacteriana, inhibe la elongación de las raíces (El Khawas, M. y Adachi, K. 1999).

En cultivos de *Azospirillum*, además de AIA se han encontrado otros compuestos indólicos y metabolitos relacionados tales como el ácido indol pirúvico, indol láctico, indol acetamida, indol acetaldehído, indol etanol e indol metanol, triptamina, antranilato y otros compuestos indólicos no identificados (Caballero, J. 2001).

Actualmente se conoce que *Azospirillum* puede sintetizar AIA a través de tres vías. En tanto que las vías del ácido indol pirúvico y la del indol acetamida son dependientes del triptofano, la tercera es una vía independiente de este aminoácido, desconociéndose el precursor del AIA. Resultados recientes permiten sugerir que la indol piruvato descarboxilasa es una enzima común tanto a la vía del indol pirúvico como a la vía no dependiente de triptofano (Caballero, J. 2001).

El efecto benéfico de *Azospirillum* spp., consiste en la producción de giberelinas. La aplicación de giberelinas tiene efectos similares a los que presenta *Azospirillum* spp., en el incremento de los pelos radicales, altura de planta y reducción de procesos fisiológicos (Piccoli, P. *et al.*, 1997).

El efecto del potencial de agua (concentración de O₂) sobre el crecimiento y producción de giberelinas A3, indicó que utilizan agua en un 50% para producir células con capacidad de producir altas cantidades de agua, formar resistencia a la sequía y ayudar a la formación del fruto con buen tamaño. Esto indica, un incremento en la cantidad de giberelinas A3 producidas dentro de la planta por *Azospirillum* spp., que actúan en la inducción de crecimiento de las plantas y la resistencia a la sequía en el cultivo de maíz (Piccoli, P. *et al.*, 1997).

Durante las fases de crecimiento vegetal, la producción de etileno es mínima. El etileno juega un papel importante en la germinación de las semillas, la bacteria *Azospirillum* produce cantidades de etileno

suficientes para romper la latencia de la semilla (Holguin, G., y Glick, B. 2003).

2.6.6. Metabolismo del Nitrógeno.

La fijación de nitrógeno es el principal mecanismo por el cual *Azospirillum* afecta el crecimiento de las plantas. En los últimos años, pocos estudios han focalizado el ciclo del nitrógeno dentro de las células, y los genes involucrados. Aparentemente, la habilidad de las cepas de *Azospirillum* suelen mantenerse en forma natural, mejorando su capacidad para expresar una actividad excepcional de la nitrogenasa. La eficiencia de la fijación de nitrógeno y la desnitrificación puede ser regulada a través de la concentración de oxígeno, nitratos y molibdeno. El máximo rango de crecimiento se observó bajo condiciones micro aeróbicas al 5% de O₂, 2 g/l de nitrato y la máxima concentración de molibdato posible (0.5 g/l). Estas condiciones fueron llevadas para una máxima eficiencia en el proceso de desnitrificación (Furina, E., *et al.*, 1999).

Sin embargo, bajo condiciones de fijación de nitrógeno, la tasa de respiración no parecía ser un limitante para el crecimiento vegetal. Además posee la capacidad de adaptarse a bajas temperaturas y a concentraciones bajas de oxígeno, dependiendo de la capacidad de la bacteria para usar eficientemente los nitritos y nitratos (Tsagou, V., *et al.*, 2003).

La fijación de nitrógeno por *Azospirillum*, fue el primer mecanismo sugerido para promover el crecimiento de las plantas. La mayoría de las evidencias registradas durante las tres décadas anteriores sobre este mecanismo de acción ha generado controversia. Algunos experimentos en invernadero y campo han de mostrado repetidamente que es mínima la transferencia de nitrógeno fijado por *Azospirillum*; sin embargo, no se

descarta su capacidad de fijar nitrógeno (Kennedy, R. y Chellapilai, D. 1998).

Todas las cepas colonizan la superficie y la parte interna de la raíz, estimulando el crecimiento vegetal, incrementando en un 80% del nitrógeno fijado en el suelo y la planta (Saubidet, M., *et al.*, 2002).

Cerca de 15 a 20 genes están involucrados en la síntesis de la nitrogenasa y en la actividad fijadora de nitrógeno, en especial el gen NifA gran negativo. En *Azospirillum*, NifA, ayuda al proceso de fijación en cualquier forma que este se encuentre, ya sea de amonio, nitritos y nitratos (Steenhoudt, O., *et al.*, 2001).

2.6.7. Solubilización de fosfatos, minerales y degradadores de sideróforos.

En estudios *in vitro*, indican que las plantas inoculadas con *Azospirillum*, toman de mejor forma los minerales y la glucosa producida por las raíces (exudados). Estas observaciones pueden ser claramente explicadas, mediante la acidificación de nutrientes de medios de aislamiento de *Azospirillum*, pues, la bacteria puede producir diferentes ácidos orgánicos que ayudan en la Solubilización del fósforo. Debido a que puede solubilizar fósforo por si mismo sin la adición de exudados de la planta (Amooaghaie, R., *et al.*, 2002).

Tres cepas de *Azospirillum* aisladas de espocarpos de micorrizas, en pruebas *in vitro*, solubilizaron fosfatos de calcio, adicionalmente estas bacterias produjeron modificaciones estructurales en las moléculas de los otros fosfatos de magnesio, fosfato de amonio y algunos sideróforos (Kamnev, A., *et al.*, 1999).

2.6.8. Factores que inciden en la eficiencia de *Azospirillum*

Entre los factores que más inciden en la adaptabilidad y eficiencia de *Azospirillum* a la rizósfera tenemos:

Temperatura, su mayor crecimiento ocurre entre 32 y 36 °C y disminuye de forma pronunciada por debajo de 30 °C (Martínez, R. 2008).

pH, con un punto óptimo entre 6,8 y 7,0; por debajo de pH 5 no es posible lograr su aislamiento (Martínez, R. 2008).

Suministro de Carbono, los microorganismos deben de tener acceso a abundantes fuentes de Carbono para su crecimiento y la producción de energía, sobre todo en el caso de los fijadores de Nitrógeno, ya que la fijación de una molécula de N₂ requiere aproximadamente 16 moléculas de ATP, por lo que los organismos deben utilizar considerables cantidades de sustratos (Martínez, R., *et al.*, 2008).

Humedad, la falta o exceso de humedad limita la vida microbiana en el suelo y, como es natural, también en la zona rizosférica. El exceso influye sobre todo en la capacidad de aireación y es más perjudicial que la falta de humedad, ya que algunos de los organismos rizosféricos son capaces de formar quistes (*Azospirillum*) que les permiten sobrevivir durante largos períodos a la desecación (Moreno, J. *et al.*, 1986).

Aireación ejerce un efecto muy marcado, sobre el desarrollo de la mayoría de los diazotrofos, en comparación con otros microorganismos no fijadores. A pesar de esto, *Azospirillum* funciona mejor a concentraciones reducidas de Oxígeno, debido a la sensibilidad del complejo nitrogenasa

al Oxígeno molecular, el cual inactiva de forma irreversible a la enzima (Zuberer, D. 1990).

Alto contenido de arcilla, materia orgánica y buena capacidad de retención de agua afectan positivamente la presencia de *Azospirillum* en el suelo, mientras que alto contenido de partículas arenosas y elevada concentración de Carbonato de Calcio afectan negativamente su supervivencia (Martínez, R., *et al.*, 1999).

La cantidad y tipo de secreciones de las raíces de cada especie vegetal, presentan exudados de diversas sustancias (azúcares, fenoles, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos y grasos, nucleótidos, esteroides, etc.), algunas de las cuales pueden ayudar al establecimiento de las bacterias en la zona rizosférica, mientras que otras pueden actuar como repelentes. Así, por ejemplo, en el caso del maíz los exudados que predominan son azúcares (65 %), ácidos orgánicos (33 %) y aminoácidos (2 %), aunque la diversidad es amplia y se han encontrado en este cultivo más de 10 tipos de ácidos orgánicos y 4 tipos de azúcares (Krafczyk, I., *et al.*, 1984).

2.7. Biofertilizantes

Los primeros estudios que se realizaron acerca de lo que hoy se llama biofertilización estuvieron relacionados con la fijación biológica de Nitrógeno atmosférico y se remontan a la primera mitad del siglo XIX (Martínez, V. 1995).

Los biofertilizantes microbianos pueden definirse como productos a base de microorganismos que viven normalmente en el suelo, aunque en poblaciones bajas, y que, al incrementar sus poblaciones por medio de la inoculación artificial, son capaces de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de los nutrientes

que necesitan para su desarrollo, así como de suministrar sustancias hormonales o promotoras del crecimiento. En un sentido amplio, estos términos pueden usarse también para incluir todos los recursos orgánicos necesarios para el desarrollo de las plantas, los cuales son transformados mediante la acción de los microorganismos (bacterias, algas azul verdosas, hongos, algas y protozoos). La importancia de los biofertilizantes radica en su capacidad para suplementar o movilizar nutrientes con un mínimo uso de recursos no renovables; además, tiene la ventaja de que los procesos microbianos son rápidos y pueden aplicarse en pequeñas unidades para solucionar problemas locales específicos (Martínez, R., *et al.*, 1999).

Actualmente los biofertilizantes de nitrógeno están siendo utilizados en muchos países (Motsara, *et. al.* 1995), ya que se ha reconocido la aplicación agronómica de los sistemas de fijación biológica de nitrógeno, tales como los de *Azospirillum* (Umali-Garcia, M., *et. al.*, 1984).

En experimentos de campo la inoculación con *Azospirillum* ha promovido el crecimiento de plantas de importancia agronómica en un 10-20 % (Okon, 1985; Summer, 1990; citados por Zaady, E. y Perevolotsky, A. 1995).

En cultivos como arroz, maíz, trigo y caña de azúcar, Los biofertilizantes a base de *Azospirillum* puede incrementar el rendimiento entre el 15 y el 30 %. En Cuba se han utilizado biofertilizantes a base de esta bacteria que permiten la sustitución del 25% del fertilizante nitrogenado, en arroz e incrementan el rendimiento entre el 5 y el 15%. En caña de azúcar la aplicación de biopreparados a base de *Azospirillum* ha producido incrementos en los rendimientos que varían entre el 17 y el 50%, y ha permitido ahorrar entre 50 y 100% del fertilizante nitrogenado (The Latin American Alliance, 1997).

En el cuadro 3, se presentan los microorganismos que pueden ser considerados como biofertilizantes principales entre los fijadores de N₂ y las mayores limitaciones que existen para su uso según Ladha, J. 1997

Todos estos organismos han sido ubicados como fijadores de Nitrógeno atmosférico a partir de las pruebas de reducción del acetileno a etileno. Pero de esta larga lista, solo unos pocos géneros se han considerado capaces de aportar beneficios a los cultivos cuando se aplican como biofertilizantes: *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum* y algunas especies de algas verde-azules heteroquíticas (Ladha, J. 1997).

Cuadro 3. Biofertilizantes fijadores de N₂, limitaciones y uso por los agricultores

Biofertilizante	Cultivo	Limitaciones técnicas	Limitaciones socio-económ.	Uso por los agricultores
<i>Rhizobium</i> y <i>Bradyrhizobium</i>	Leguminosas de granos. Leguminosas de aceite. Leguminosas forrajeras.	Baja calidad del inóculo. Bajo Fósforo en suelo.	Pobre infraestructura. Poco conocimiento por los agricultores.	Amplio uso Amplio uso Uso intermedio
<i>Azolla</i>	Arroz	Mantenimiento del inóculo. Bajo Fósforo. Calor Plagas y enfermedades.	Pobre infraestructura.	Uso intermedio
<i>Cianobacterias</i>	Arroz	Bajo Fósforo. Malezas.	Falta de tecnología	Uso intermedio
<i>Azospirillum</i>	Gramíneas	Pobre inóculo	Poco conocimiento por los agricultores	Uso intermedio
<i>Azotobacter</i>	Todos los cultivos	Pobre inóculo	Poco conocimiento por los agricultores	A más o menos
<i>Gluconacetobacter</i>	Caña de azúcar y otros cultivos	Conocimiento muy reciente	Poco conocimiento por los agricultores	A más o menos

Fuente: Martínez, R., et al., 1999

2.8. Fertilización

2.8.1. Fertilización inorgánica.

El uso de fertilizantes resulta imprescindible para el mantenimiento de altos rendimientos en las cosechas. Mediante la fertilización inorgánica, son añadidas al suelo cantidades importantes de nitrógeno, fósforo y potasio, así como otros elementos minerales, las disponibilidades de éstos son muy bajas, ya que es bien conocido que una fracción queda inmovilizada en el suelo formando compuestos insolubles no asimilables por las plantas y otra es lavada mediante un proceso de lixiviación, lo cual además de pérdidas económicas, genera un importante problema de contaminación ambiental (Villaverde, M., *et al.*, 2006).

La fertilización de fondo, se efectúa antes de la siembra, con objeto de cubrir las necesidades del cultivo. Los fertilizantes que generalmente se utilizan son los de solubilidad lenta, para evitar el lavado de nutrientes. Los componentes inorgánicos en el cultivo de maíz actúan de la siguiente manera (Suquilanda, M. 2006):

2.8.1.1. Importancia del nitrógeno para las plantas

El Nitrógeno (N), es uno de los mayores factores, junto con el agua, que gobiernan la productividad del cultivo de maíz, debido a que actúa en forma específica en procesos metabólicos en las plantas, y en forma estructural. En las plantas existen formas nitrogenadas además de los aminoácidos y proteínas en las que se incluyen: vitaminas, hormonas, pigmentos, purinas y pirimidinas. Es además componente esencial de la clorofila (Kass, D. 1998).

Su deficiencia provoca el típico síntoma de secado “en V” de las hojas inferiores de la planta, las plantas se observan raquílicas, delgadas y mal desarrolladas. El crecimiento es lento y hay clorosis generalizada. Si la deficiencia es severa, las hojas adquieren un color pardo oscuro y mueren. Además forma parte de la materia viva y es un constituyente de los más importantes compuestos y complejos órgano-minerales de la planta como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, amidas y aminos (Domínguez, A. 1989).

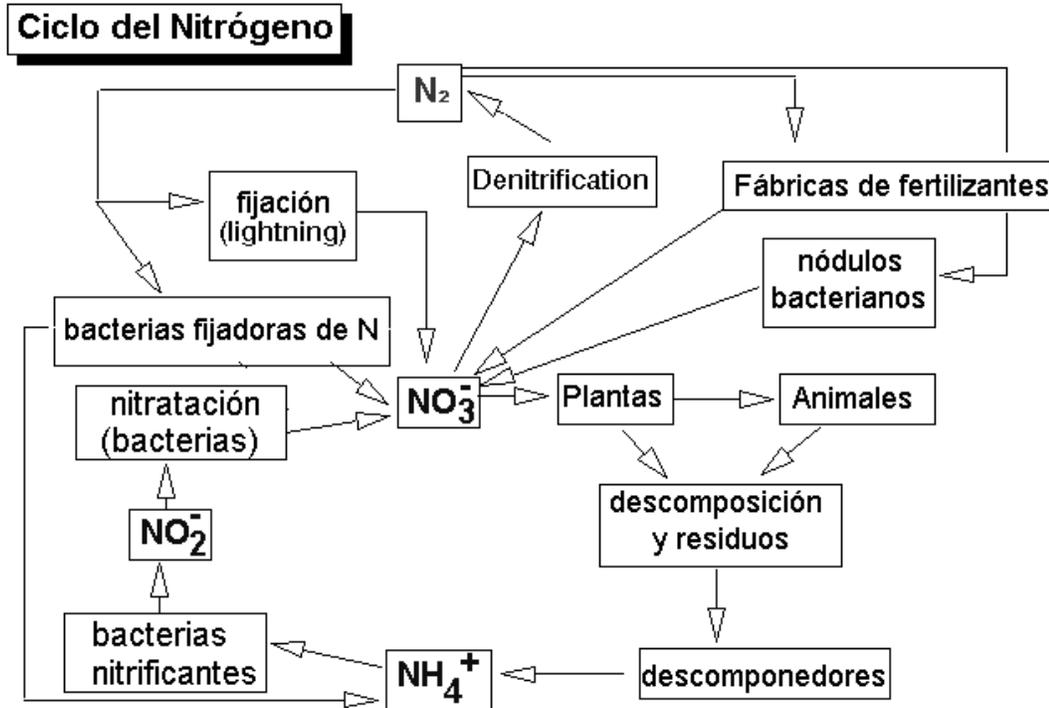
2.8.1.2. Incorporación del nitrógeno en las plantas

La asimilación del nitrógeno requiere una serie compleja de reacciones bioquímicas con un alto costo energético. En la asimilación del nitrato (NO_3^-), el nitrógeno de este compuesto es convertido en una forma de energía superior, nitrito (NO_2^-), luego en una mayor forma de energía, amonio (NH_4^+) y finalmente nitrógeno amídico en la glutamina. Este proceso consume 12 equivalentes de ATP por molécula de nitrógeno (Pereyra, M. 2001).

Las plantas asimilan la mayor parte del nitrato absorbido por sus raíces en compuestos orgánicos nitrogenados. La primera etapa de este proceso es la reducción de nitrato a nitrito en el citoplasma. Dado que el nitrito formado es altamente reactivo, siendo un ión potencialmente tóxico, las células vegetales lo transportan inmediatamente después de ser generado a los cloroplastos en las hojas y a los plastidios en las raíces (Pereyra, M. 2001).

2.8.1.3. Ciclo del Nitrógeno

Este es posiblemente uno de los ciclos más complicados, ya que el N se encuentra en varias formas y porque los organismos son los responsables de las interconversiones.



Fuente: González, A. y Raciman, J. 2000

El principal reservorio de nitrógeno es la atmósfera, con 78%. Este nitrógeno gaseoso está compuesto de dos átomos de nitrógeno unidos, el N_2 es un gas inerte, y se necesita una gran cantidad de energía para romper esta unión y combinarlo con otros elementos como el carbono y el oxígeno. Esta ruptura puede hacerse por dos mecanismos: las descargas eléctricas y la fijación fotoquímica, que proveen suficiente energía para romper la unión del nitrógeno y unirse a tres átomos de Oxígeno para formar nitratos (NO_3^-). Este procedimiento es reproducido en las plantas productoras de fertilizantes (González, A. y Raciman, J. 2000).

La segunda forma de fijación del nitrógeno es llevada a cabo por bacterias quienes usan enzimas especiales en lugar de la luz solar o las descargas eléctricas. Entre estas bacterias se encuentran las que pueden vivir libres en el suelo, aquellas en simbiosis con raíces de ciertas plantas (Fabáceas) y las cianobacterias fotosintéticas (las antiguas "algas verde-azuladas") que viven libres en el agua. Las tres fijan N, tanto como nitratos (NO₃⁻) o como amonio (NH₄). Las plantas toman los nitratos y los convierten en aminoácidos, los cuales pasan a los animales que los consumen. Cuando las plantas y animales mueren (o liberan sus desechos) el nitrógeno retorna al suelo. La forma más común en que el nitrógeno regresa al suelo es como amonio. El amonio es tóxico, pero afortunadamente, existen bacterias nitrificantes (*Nitrosomonas* y *Nitrosococcus*) que oxidan el amonio a nitritos, con dos oxígenos. Otro tipo de bacteria (*Nitrobacter*) continúa la oxidación del nitrito (NO₂⁻) a nitrato (NO₃⁻) el cual es absorbido por las plantas que completan el ciclo (González, A. y Raciman, J. 2000).

Existe un tercer grupo de bacterias desnitrificantes (entre ellas *Pseudomonas desnitrificans*) que convierten nitritos y nitratos en nitrógeno gaseoso (González, A. y Raciman, J. 2000).

2.8.1.4. Fijación de Nitrógeno

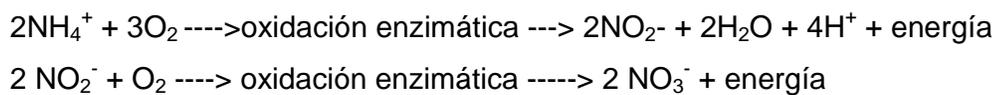
Es necesario apuntar que la fijación de nitrógeno es un proceso que consume mucha energía, y que los fijadores simbióticos de nitrógeno obtienen esta energía del cultivo al que están asociados, lo que en un principio provoca algunas pérdidas en la producción vegetal. Además parece que los organismos no simbióticos pueden funcionar eficazmente a temperaturas altas del suelo, pero (salvo el *Azotobacter spp*) no son eficaces en condiciones templadas (FAO, 1996).

Muchos suelos, en especial los suelos ácidos, no poseen poblaciones activas de estas bacterias y se ha determinado ampliamente que la inoculación bacteriana puede aumentar los rendimientos (FAO, 1996).

Podemos encontrar asociaciones importantes entre bacterias del género *Azospirillum* y varias gramíneas. Estas bacterias tienen un amplio rango de hospederos, entre los que se encuentran el maíz y el sorgo, por lo que se ha sugerido su utilización en agricultura. Se ha observado igualmente que las gramíneas de metabolismo C4 tropicales inducen una mayor fijación (Pérez, S. y Torralba, A. 1997).

2.8.1.5. Nitrificación

En este proceso, el amonio (NH_4^+) se transforma primero en nitrito (NO_2^-), y éste en nitrato (NO_3^-) mediante la acción de las bacterias aerobias del suelo. El proceso se lleva a cabo en dos etapas coordinadas, controlada cada una por diferentes grupos de bacterias. Globalmente se las llama nitrobacterias. Al grupo responsable de la conversión de compuestos amoniacales en nitritos se les llama Nitrosomonas. El grupo encargado de la oxidación de los nitritos a nitratos recibe el nombre de Nitrobacter. El esquema de las transformaciones es el que sigue:



Debido a que normalmente el nitrito se transforma en nitrato con mayor rapidez que se produce, los niveles de nitrito en los suelos suelen ser muy bajos en comparación con los de nitrato (Martínez, R., *et al.*, 2008).

Bajo condiciones adecuadas, la nitrificación puede transformar del orden de 10-70 kilogramos de nitrógeno por hectárea por día. Esto implica que un abonado en forma amónica puede transformarse casi totalmente en nitrato en unos pocos días si la humedad y temperatura del suelo son

favorables. En ocasiones, debido a que la nitrificación es más rápida que la mineralización, se emplea el término mineralización para indicar el proceso global de conversión del nitrógeno orgánico en nitrógeno mineral (fundamentalmente nitrato y amonio) (Ramírez, M. 2004).

2.8.1.6. Inmovilización

La mineralización es la transformación del nitrógeno orgánico en amonio (NH_4^+) mediante la acción de los microorganismos del suelo. La inmovilización es el proceso contrario. Como ambos actúan en sentido opuesto, su balance se denomina mineralización neta. La mineralización neta de la materia orgánica del suelo depende de muchos factores, tales como el contenido en materia orgánica, la humedad y la temperatura del suelo. En climas templados la mineralización neta anual es, aproximadamente, el 1-2% del nitrógeno total, y esto supone una producción de nitrógeno mineral de unos 40 a 150 kg/ha, en los primeros 30 cm del suelo (Ramírez, M. 2004).

2.8.1.7. Desnitrificación

La desnitrificación es la conversión del nitrato en nitrógeno gaseoso (N_2) o en óxidos de nitrógeno, también gaseosos, que pasan a la atmósfera. Este fenómeno se debe a que, en condiciones de mucha humedad en el suelo, la falta de oxígeno obliga a ciertos microorganismos a emplear nitrato en vez de oxígeno en su respiración (Martínez, R., *et al.*, 2008).

El Fósforo (P), al contrario del nitrógeno tiene muy poca solubilidad, lo que obliga a aplicarlo junto con la siembra. Su baja movilidad nos obliga a realizar una fertilización localizada, para ubicarlo en un lugar donde pueda ser alcanzado por las raíces. El fósforo forma parte de los ácidos nucleicos, de los fosfolípidos, de las coenzimas NAD y NADP y lo que es

especialmente importante, como una parte integrante del ATP (Domínguez, A. 1989).

El Potasio (K), presenta su carencia de una forma clorótica (amarillamiento) de los bordes de las hojas inferiores, debilitamiento de los tejidos de las raíces y tallos, y posteriormente el deterioro de la caña en la madurez. A diferencia de otros elementos esenciales el potasio no entra en la composición de los constituyentes importantes que se relacionan con el metabolismo como las proteínas, los carbohidratos y la clorofila. Por lo que se hace raro observar carencias de este elemento en los suelos de las regiones maiceras (Yogodin, B. 1986).

La fertilización inorgánica ha sido utilizada para el desarrollo de diferentes estudios; sin embargo también existen investigaciones realizadas con organismos vivos (*Azospirillum*) en combinación con fertilización inorgánica, determinando que la fertilización nitrogenada en el cultivo de maíz, puede disminuirse alrededor del 50% cuando se inoculaba *Azospirillum brasilense* y *Azospirillum lipoferum* (Medina, N. y Pino, M. 1992).

2.8.2. Fertilización orgánica.

La parte más estable de la materia orgánica se denomina humus, una fracción que se obtiene después que se ha descompuesto la mayor parte de las sustancias animales y vegetales incorporados al suelo. En la mineralización, las sustancias sufren un proceso de degradación de sus componentes elementales: proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales (Kass, D. 1998).

La materia orgánica tiene efecto sobre las propiedades físicas del suelo, formando agregados y dando estabilidad estructural, uniéndose a las

arcillas y formando el complejo de cambio, favoreciendo la penetración del agua y su retención, disminuyendo la erosión y favoreciendo el intercambio gaseoso. Cuando se refiere al efecto sobre las propiedades químicas del suelo, los autores mencionan que aumenta la capacidad de cambio del suelo, la reserva de nutrientes para la vida vegetal y la capacidad tampón del suelo favorece la acción de los abonos minerales y facilita su absorción a través de la membrana celular de las raicillas. Y en cuanto a su efecto sobre las propiedades biológicas, favorece los procesos de mineralización, el desarrollo de la cubierta vegetal, sirve de alimento a una multitud de microorganismos y estimula el crecimiento de la planta en un sistema ecológico equilibrado. (Graetz, H. 1997).

El manejo de la materia orgánica sobre los suelos es de capital importancia en los métodos de producción orgánica de cultivos. El contenido de materia orgánica en los suelos varía mucho dependiendo de las condiciones climáticas, prácticas de cultivo, rotación de las cosechas y la adición de los abonos frescos: desechos animales, residuos de cosecha y otros materiales orgánicos. Cuando se añade fertilizantes al suelo sin la adición de componentes carbonados orgánicos, frecuentemente la tierra se deteriora (Suquilanda, M. 2006).

El componente básico de las células vegetales es el carbono y éste también es su principal alimento. La materia orgánica en descomposición libera gran cantidad de CO₂ y los carbohidratos producidos por la descomposición de ésta son asimilados por las raíces. El CO₂ al disolverse en el agua se transforma ácido carbónico, el mayor solvente natural para los minerales necesarios como alimento de las plantas (Hernández, 1996).

El nitrógeno puede ser mineralizado o inmovilizado en el suelo, con base en la proporción o relación entre el Carbono y el Nitrógeno (relación C:N),

que exista en los residuos orgánicos o en las sustancias húmicas (Kass, D. 1998).

Durante las fases iniciales de la descomposición de la materia orgánica fresca, se produce un aumento en el número de microorganismos heterótrofos, acompañados por la evolución de grandes cantidades de CO₂. Si la relación C:N de la materia fresca es mayor que 30:1, habrá inmovilización de N. Conforme sigue la descomposición la proporción de C:N en los residuos orgánicos disminuye, y también la disponibilidad de energía. Una parte de la población microbiana muere debido a la baja disponibilidad de alimentos y se establece un nuevo equilibrio, acompañado por una liberación (mineralización) de N, con el siguiente resultado: el nivel de nitrógeno final puede ser mayor que el nivel original. Para proporciones C:N entre 20 y 30, no hay ni inmovilización ni liberación de N mineral. Si las materias orgánicas tienen una relación C:N menor que 20:1, hay liberación de nitrógeno mineral al inicio del proceso de descomposición (Kass, D. 1998).

El uso de abono orgánico ayuda a estimular la diversidad y actividad microbiana en el suelo, mejora la estructura del suelo, incrementa la estabilidad de los agregados, mejora la porosidad total, la penetración del agua, el movimiento a través del suelo y el crecimiento de las raíces; además la actividad de los microbios presentes en el abono reduce la de los microbios patógenos de las plantas como los nematodos (Suquilanda, M. 1999).

Una de las fuentes de fertilización orgánica es la Ecuabonaza, el cual, es un abono natural que resulta de la transformación de la mezcla de residuos orgánicos de origen animal vegetal, que han sido descompuestos bajo condiciones controladas, en promedio contiene 2,8% a 3,0% de N; 1,65% de P; y 1,9 de K.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales.

3.1.1. Características del sitio experimental.

Cuadro 4. Ubicación geográfica de la localidad en estudio

Características	Sitio experimental
Provincia	Chimborazo
Cantón	Chambo
Sitio	Ainche
Altitud ^{1/}	2718 m
Latitud ^{1/}	01°45'31" S
Longitud ^{1/}	78°34'45" O

^{1/} Datos tomados con GPS por el autor.

3.1.2. Características edafo – climáticas.

Cuadro 5. Características edafo - climáticas del sitio experimental

Características	Sitio
Temperatura promedio anual ^{1/}	12°C
Precipitación anual ^{1/}	580 mm
Humedad relativa ^{1/}	75 %
Topografía ^{2/}	Ligeramente inclinado
Tipo de suelo ^{2/}	Franco Arenoso
pH del suelo ^{2/}	6,9

^{1/} Fuente: INAMHI, 2005.

^{2/} Fuente: Datos en base al análisis de suelo, realizado en el Laboratorio de Suelos de la EESC. Año: 2009.

3.1.3. Materiales

✓ **Experimental:**

Cepas de *Azospirillum* spp.

Semillas de Maíz INIAP – 101.

Fertilizantes inorgánicos (urea y 18-46-0).

Fertilizante orgánica (Ecoabonaza).

✓ **Campo:**

Cámara fotográfica

GPS (Global Position System)

Hielera

Balde plástico

Libro de campo

Flexómetro

Estacas

Pirola Plástica

✓ **Oficina:**

Esferográfico

Lápiz

Escalímetro

Computadora

✓ **Laboratorio:**

Cajas Petri

Balanza de precisión

Incubadora

Refrigeradora

Autoclave

Matraces

Erlenmeyers

Vasos de precipitación

Tubos de tapa rosca de 10 y 20 ml

Micro pipetas de 0.1 ml y 1 ml

Cámara de flujo laminar

Espectrómetro

Espátulas

Papel absorbente

Agitador magnético

Atomizador

Mechero de Buncen

Tips plásticos

Hazas

pH metro

Varillas de agitación

Microondas

Fundas de polipropileno

Tubos eppendorf.

✓ **Reactivos:**

Alcohol antiséptico

Alcohol industrial 96 %

Hipoclorito de sodio al 10%

Sulfato de Magnesio Heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

Cloruro de Sodio (NaCl)

Fosfato de Potasio Dibásico (K_2HPO_4)

Sulfato de Magnesio (MnSO_4)

Molibdato de Sodio Dihidratado ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Cloruro de Sodio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Cloruro Férrico Exahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

Hidróxido de Potasio (KOH)

Extracto de Levadura

Extracto de carne

Peptona

Agar-Agar

D-L Ácido Málico

Rojo Congo

Azul Bromothymol
Biotina
Agua destilada

3.2. Metodología

3.2.1. Factores en estudio.

Factor A: Biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp.

Cuadro 6. Identificación de biofertilizantes a base de *Azospirillum* spp.

Código	Identificación	Procedencia
c1	Cepa3-Tungurahua	Tungurahua, Píllaro, Emilio Terán, Capulicito
c2	Cepa2-Bolívar	Bolívar, Guaranda, Veintimilla, Laguacoto 2
c3	Cepa4-Chimborazo	Chimborazo, Alausí, Sibambe, Cochapamba
c0	Sin ninguna cepa.	Testigo

Factor B: Fertilizaciones.

Cuadro 7. Fertilizaciones.

Código	Descripción
fc	Fertilización inorgánica completa (100%)
fm	Fertilización inorgánica media (50%)
fe	Fertilización orgánica (Ecoabonaza)
f0	Testigo (sin fertilización)

3.2.2. Tratamientos

Resultaron de la combinación entre biofertilizantes y fertilizaciones (inorgánicas y orgánicas). Dando un total de 16 tratamientos, mismos que se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Tratamientos planteados del estudio.

Tratamientos	Código	Descripción
1	c1 + fc	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización inorgánica 100%
2	c1 + fm	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización inorgánica 50%
3	c1 + fe	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización orgánica.
4	c1 + f0	Biofertilizante C3Tungurahua sin fertilización
5	c2 + fc	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización inorgánica 100%
6	c2 + fm	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización inorgánica 50%
7	c2 + fe	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización orgánica.
8	c2 + f0	Biofertilizante C2 Bolívar sin fertilización.
9	c3 + fc	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización inorgánica 100%
10	c3 + fm	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización inorgánica 50%
11	c3 + fe	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización orgánica.
12	c3 + f0	Biofertilizante C4 Chimborazo sin fertilización.
13	c0 + fc	Testigo + Fertilización inorgánica 100%
14	c0 + fm	Testigo + Fertilización inorgánica 50%
15	c0 + fe	Testigo + Fertilización orgánica.
16	c0 + f0	Testigo sin <i>Azospirillum</i> y testigo absoluto.

3.2.3. Características del experimento

Área total del ensayo:	1092.0 m ²
Área total neta del ensayo:	230.4 m ²
Número de parcelas:	48
Área total de la parcela:	12.8 m ² (4 m x 3.2 m)
Área de la parcela neta:	4.8 m ² (3 m x 1.6 m)

Número de plantas por parcela:	64
Número de plantas por parcela neta:	24
Número de plantas por golpe:	2
Número de surcos:	4 por parcela total y 2 por parcela neta.
Distancia entre surcos:	0.80 m
Distancia entre plantas:	0.50 m
Control del efecto borde:	Se eliminó un surco y un sitio de cada extremo de las parcelas para evitar el efecto borde

3.2.4. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) en un arreglo factorial (AxB) 4x4 con tres repeticiones, en donde el factor A es, cepas de *Azospirillum* y el factor B es, fertilizaciones.

3.2.5. Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza (ADEVA) descrito en el cuadro 9.

Cuadro 9. Esquema del ADEVA

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	CME*
Total	47	
Bloques	2	$\uparrow^2_e+16\uparrow^2$ bloques
Factor A (Biofertilizante)	3	$\uparrow^2_e+12\theta^2$ A
Factor B (Fertilizaciones)	3	$\uparrow^2_e+12\theta^2$ B
Fac. A x Fac. B (Biofertilizante x Fertilizaciones)	9	$\uparrow^2_e+3\theta^2$ A x B
Error Exp.	30	\uparrow^2_e

* CME: Cuadrados Medios Esperados. Modelo fijo. Tratamientos seleccionados por el investigador

3.2.6. Análisis funcional

- Análisis de varianza (ADEVA).
- Se calculó el coeficiente de variación y se realizó la prueba de Tukey al 5% para los datos que presenten significación estadística (factores principales e interacciones cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones).

3.2.7. Análisis Económico

Para el análisis de Presupuesto Parcial de los tratamientos, se utilizó el método propuesto por el Centro Internacional de Manejo de Maíz y Trigo (CIMMYT) (1988).

3.3. Métodos de evaluación y datos tomados.

3.3.1. Población de *Azospirillum* spp.

Mediante análisis microbiológico del suelo al inicio (Anexo 2) y al final del ensayo, se evaluó la población de *Azospirillum* spp., de cada unidad experimental en medio NFB (Nitrogen Fixation Biological) semi-sólido (Anexo 3). Los resultados se expresaron en Unidades Formadoras de Colonia por gramo de suelo seco (UFC/gss), según el método estimativo del número más probable utilizando la tabla de Mc. Crady (Anexo 4).

3.3.2. Porcentaje de emergencia.

Se determinó dividiendo el número de plantas emergidas para el número de semillas sembradas y se multiplicó por cien en cada parcela neta; los datos obtenidos se representaron en porcentaje. (Espinoza, L. 2004).

3.3.3. Altura de la planta.

Se evaluaron 10 plantas tomadas al azar de cada parcela neta, y se midieron desde la base de la planta hasta el punto donde la panoja empieza a ramificarse; este valor se registró en centímetros, antes de la cosecha en choclo (IBPGR, 1991).

3.3.4. Altura de la mazorca.

Se midió desde la base de la planta hasta el nudo de inserción de la mazorca superior. Este valor se registró antes de la cosecha en choclo, en 10 plantas tomadas al azar de cada parcela neta, dichos valores se expresaron en cm. (IBPGR, 1991).

3.3.5. Daño a la mazorca por *Heliothis zea* y *Euxesta eluta*.

Se registró a la cosecha en choclo y se calificó el daño causado por *Heliothis zea* y *Euxesta eluta*, utilizando la escala de 1 a 5 propuesta por el (CIMMYT, 1986), presente en el cuadro 10.

Cuadro 10. Escala de daño a la mazorca por insectos.

Significado	Valor	% de granos infestados	Valor medio
Sin daño	1	0	0
Infestación débil	2	1 – 10	5,5
Infestación ligera	3	11 – 25	18
Infestación moderada	4	26 – 60	43
Infestación severa	5	61 – 100	80,5

Con las calificaciones de las mazorcas se calculó un promedio ponderado.

$$\text{Promedio ponderado (\%)} = (x_1y_1+x_2y_2+\dots+x_{10}y_{10})/T$$

Donde:

X = Número de mazorcas en cada valor de la escala.

Y = Valor medio correspondiente a la escala.

T = Número total de mazorcas.

3.3.6. Daño a la mazorca por *Fusarium moniliforme*

En la cosecha en choclo, se calificaron las mazorcas que presentaron infección natural por *Fusarium moniliforme* en todas las parcelas netas. Se calificó, según la escala de 1 a 6 presente en el cuadro 10 (CIMMYT 1986).

Cuadro 11. Escala de daño a la mazorca por enfermedades.

Valor	% de granos afectados	Significación	Valor medio
1	0	Daño ausente	0
2	1-10	Daño ligero	5.5
3	11-25	Daño moderado	18
4	26-50	Daño severo	38
5	51-75	Daño muy severo	63
6	76-100	Daño muy extremo	88

Con las calificaciones de las mazorcas se calculó un promedio ponderado.

$$\text{Promedio ponderado (\%)} = (x_1y_1+x_2y_2+\dots+x_{10}y_{10})/T$$

Donde:

X = Número de mazorcas en cada valor de la escala.

Y = Valor medio correspondiente a la escala.

T = Número total de mazorcas.

3.3.7. Longitud de la mazorca.

Se midió desde la base, en su inserción con el pedúnculo, hasta su ápice después de la cosecha en choclo, y el valor que se registró fue el promedio de 10 choclos tomados al azar y expresándose en cm (IBPGR, 1991).

3.3.8. Diámetro de la mazorca.

Se midió, con un calibrador en la parte central de 10 choclo elegidos al azar, después de la cosecha en choclo y el valor promedio fue expresado en cm (IBPGR, 1991).

3.3.9. Porcentaje de nitrógeno en el suelo

A la cosecha en cada parcela neta, se realizó el análisis de nitrógeno amoniacal en el suelo mediante la metodología del análisis químico de suelos establecida en el Laboratorio de Suelos y Aguas del INIAP (Alvarado, S., *et al.*, 2000).

3.3.10. Materia Seca.

Se expresó en porcentaje. Se tomaron 5 plantas al azar de cada parcela neta al inicio de la senescencia, se pesaron las muestras en fresco para luego introducirlas en la estufa a 65 °C hasta obtener un peso constante y obtener la muestra seca. Se utilizó la siguiente ecuación (INIAP/PNRT-papa, 2008).

$$\% \text{ Materia seca} = (\text{Peso seco/Peso fresco}) \times 100$$

3.3.11. Porcentaje de nitrógeno del tejido vegetal.

En el material que se utilizó para materia seca, se determinó el contenido de nitrógeno (Anexo 5); mediante la metodología de micro Kjeldahl, establecida en el laboratorio de análisis de plantas del INIAP (Alvarado, *et al.* 2000).

3.3.12. Rendimiento de choclos por hectárea

Se contabilizó el número de cada clase, en base a la norma INEN 1761 que establece tres categorías de clases: pequeños (III), medianos (II) y grande (I) (Anexo 6). Luego se expresó en sacos por hectárea, para lo cual se tomó como referencia que un saco contiene 120 choclos de la clase 1; 150 choclos de la clase 2 y 180 choclos de la clase 3.

3.3.13. Presupuesto parcial y tasa de retorno marginal de los tratamientos.

Para el análisis de presupuesto parcial y tasa de retorno marginal, se utilizó el método propuesto por el CIMMYT (1988), que incluyen: los resultados de los rendimientos obtenidos, el precio actual de campo de maíz, los costos que varíen entre los tratamientos y el precio de campo del inoculante.

3.4. Manejo del experimento

3.4.1. Fase de laboratorio

3.4.1.1. Reactivación y purificación de cepas

Se prepararon los medios de cultivo: Ácido Málico – Rojo Congo sólido para el aislamiento y purificación (Anexo 7) (Rodríguez, E. y Cáceres, A. 1982); Peptona al 1 % para la reactivación (Anexo 8) (CIAT, 1988); y Caldo Nutritivo para la fermentación (Anexo 9) (Girard, H. y Rougieux, R. 1964). Una vez elaborados los medios se auto clavaron: los medios de cultivo; materiales de vidrio; asas; agua destilada; etc., a 15 PSI (o libras presión = 121°C), durante 30 min.

Para la reactivación, se colocó 1000 µL de peptona al 1 %, en los tubos eppendorf que contenían la cepa liofilizada, agitándose hasta homogenizar la mezcla con la ayuda del vortex, a continuación se tomó 50 µL de la cepa y se colocó en cajas petri con medio Acido Málico – Rojo Congo sólido, con la ayuda de un triángulo de vidrio estéril se dispensó bien hasta que se seque y se lo deja en incubadora a temperatura de 30°C por 7 días. En cuyas cajas se observaron colonias de *Azospirillum* spp., de coloración rojo escarlata intenso (Molina, S. 2006).

De estas colonias fueron tomadas secciones puras, con la ayuda de un haza de platino para ser purificadas en cajas petri con medio Ácido Málico – Rojo Congo sólido, las cuales tomaron coloración típica rojo escarlata intenso, después de haberlas incubado por 7 días a 30 °C (Molina, S. 2006).

Finalmente se realizaron pruebas de Tinción de Gram, para la constatación de la cepa de este género (Girard, H. y Rougieux, R. 1964).

3.4.1.2. Fermentación y producción del inóculo líquido

De las cajas con medio de cultivo Ácido Máfico Rojo Congo, se seleccionaron varias colonias y se transfirieron secciones de la bacterias puras con una haza de platino a un matraz de 100 ml, que contenían 40 ml de caldo nutritivo (Espinoza, L. 2004).

La cepa se propagó en agitación rotatoria a (120 rpm) a 19°C durante 8 a 20 horas, hasta obtener la densidad celular de 1 (Fallick, E., *et al.*, 1988).

En un espectrofotómetro, se midió la densidad celular, para lo cual con una pipeta estéril se tomo 10 ml de cada propagación bacteriana y se vertió en una celda del espectrofotómetro. La muestra se sometió a 540 nm., y se obtuvo un valor de 1, el cual, indica que la muestra contenía aproximadamente 10^9 UFC/ml (unidades Formadoras de Colonias por mililitros) (Bashan, Y. 1997).

Estas actividades fueron realizadas en el Laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) de la Estación Experimental Santa Catalina (INIAP).

3.4.1.3. Preparación del inóculo sólido

Para la preparación del inóculo sólido se recolectó 100 kg de turba del sector de Tambohuasha, Cantón San Juan, Provincia de Chimborazo (Anexo 10), la cual fue recomendada en el estudio preliminar por Yáñez, C., *et al.*, 2004.

3.4.1.4. Inoculación de la turba

La turba se secó a 100 °C por dos días, luego se molió y se tamizó en un tamiz de 180 µm. El empacado de la turba se realizó en fundas de polipropileno de baja densidad y en cada una de ellas se vertieron 50g del material procesado (turba del Chimborazo del sector Tambohuasha). Las fundas selladas fueron sometidas al autoclave con vapor húmedo (121 °C, 15 PSI) durante tres horas, fraccionadas durante tres días (Yáñez, C., *et al.*, 2004).

La impregnación del inoculante líquido en la turba se realizó mediante la inyección de 20 ml de suspensión bacteriana que contenía 1×10^7 UFC/ml. Los sustratos inoculados se incubaron a 37 °C por 8 días, período en el cual se realizaron movimientos con el fin de homogenizar el material, luego se almacenó en refrigeración a 4 °C durante una semana (Molina, S. 2006).

Para evaluar la sobrevivencia de las bacterias se utilizó la técnica llamada “método de siembra superficial en placa” que consiste en tomar una alícuota de 1g de cada soporte sólido, la cual fue suspendida en 9 ml de agua destilada estéril. Se prepararon 7 diluciones con cada funda del inoculante sólido (turba) desde 10^2 hasta 10^8 . De cada dilución se sembró 1 ml en una caja petri con medio Ácido Málico Rojo Congo y se determinó la presencia de la bacteria *Azospirillum* spp., a los 7 días. Posteriormente se realizó un conteo poblacional de las células bacterianas del inoculante sólido (Anexo 11) (Rodríguez, E. y Cáceres, A. 1982).

3.4.1.5. Inoculación de la semilla

En un recipiente plástico se mezclaron 100 g de azúcar en medio litro de agua, luego se vertieron 5kg de semilla de Maíz INIAP 101 en la solución

y se mezclaron bien hasta que la semilla presente un color cristalino. Finalmente se añadió 50g del medio sólido en cada recipiente. A continuación se mezcló la turba inoculada con la semilla hasta que quede bien adherida a la semilla mostrando un color oscuro homogéneo y se sembró la semilla inmediatamente después de la inoculación (Bernal, G., *et al.*, 2002).

3.4.2. Fase de Campo

3.4.2.1. Análisis del suelo

Para la localidad en estudio, se realizó el análisis físico - químico del suelo, para la determinación de macro y micronutrientes, materia orgánica conductividad eléctrica, pH, capacidad de intercambio catiónico y textura; dos meses antes de la siembra, con el fin de realizar la recomendación de fertilización orgánica y fertilización inorgánica (Anexo 12).

3.4.2.2. Análisis químico del abono Ecoabonaza

Se realizó el análisis químico de macro y micro nutrientes, MO, CE, pH, del la Ecoabonaza a utilizarse en la presente investigación (Anexo13).

Todos los análisis fueron realizados por el Departamento de Suelos y Aguas del INIAP.

3.4.2.3. Preparación del terreno

La preparación del terreno se realizó con tractor: una labor de arada, rastrada y finalmente el surcado.

3.4.2.4. Siembra

Se realizó la siembra manualmente colocándose 2 semillas inoculadas de maíz por sitio de la variedad INIAP 101, a una distancia de 50 cm entre planta y 80 cm entre surco, no se desinfectó la semilla debido a que *Azospirillum* spp., es un microorganismo vivo que no sobrevive a la aplicación de insecticidas, acaricidas y fungicidas y su actividad se reduce en presencia de estos (Bernal, G. y Graham, P. 2001).

3.4.2.5. Labores Culturales

Se realizó el rascadillo a los 30 días y aporque a los 60 días después de la siembra.

3.4.2.6. Riego

Se regó por gravedad de acuerdo a las necesidades del cultivo y a las condiciones climáticas del sitio experimental, en forma de canchales o surco por surco de cada parcela experimental, sin permitir que el agua pase de una a otra parcela experimental.

3.4.2.7. Fertilización

Las fertilizaciones, se realizaron en base al análisis químico del suelo, colocándose: 2 sacos/ha de 18-46-0 a la siembra en la base del surco; 3 sacos/ha de urea en forma fraccionada: a la siembra; a los 30 días en el rascadillo y a los 60 días en el aporque; y 2.5 T/ha de Ecoabonaza a la siembra.

Las dosis y épocas de aplicación de los fertilizantes inorgánicos y orgánicos, fueron establecidas en base a las recomendaciones del Departamento de Suelos y Aguas del INIAP.

3.4.2.8. Control de Malezas

Se controló de forma manual (deshierbas manuales), debido a que *Azospirillum* es un organismo vivo que no sobrevive a la aplicación de herbicidas, por lo que no se utilizó el control químico.

3.4.2.9. Control de plagas

Para el control de insectos *Heliothis zea* y *Euxesta eluta*, no se utilizó el control inorgánico, por lo antes mencionado. Se utilizó el control biológico, que consistió en aplicar de dos a tres gotas de aceite vegetal con aceitero o algodón en tres aplicaciones. La primera cuando una tercera parte de las plantas presentaron en sus mazorcas hasta 3 cm de presencia de estigmas; la segunda luego de 8 días y la tercera a los 15 días de la primera aplicación. Cada aplicación se realizó en promedio con cuatro jornales y la cantidad de aceite a usar fue de 3 a 4 l/ha., por aplicación, de acuerdo a la metodología descrita por (Dobronski, J., *et al.* 1998).

3.4.2.10. Cosecha

La cosecha se realizó en forma manual, en choclo cuando el grano esté en estado “lechoso” y se clasificó por mazorca en tres clases o categorías: (I) grande, (II) mediano y (III) pequeños (INEN, 1761).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Población de *Azospirillum* spp (PA)

Al realizar el Análisis de Varianza, Cuadro 12, se obtuvo un promedio general de 2818,43 UFC/gss y un coeficiente de variación de 18,75 %. En el mismo cuadro se puede observar que existe alta significación estadística para el factor A (cepas de *Azospirillum*) y para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones); mientras que para el factor B (fertilizaciones) no presentó significación estadística.

Al realizar la prueba de Tukey al 5 %, Cuadro 13, para el factor A (cepas de *Azospirillum*), se obtuvo tres rangos de significación, ubicándose en el primer rango c2 (cepa2-Bolivar) con 4786,30 UFC/gss; en el segundo rango se ubicaron c3 (cepa4-Chimborazo) con 512,86 UFC/gss y c1 (cepa3-Tungurahua) con 199,52 UFC/gss; y en el tercer rango se ubicó c0 (sin cepa, testigo) con 66,06 UFC/gss. Con estos resultados se observó un incremento significativo en la poblacional final de *Azospirillum*, ya que, la población inicial fue de 345 UFC/gss (Anexo 2), atribuyéndose este incremento a la acción de las cepas de *Azospirillum*, pues con su incorporación en suelos con pH de 6,8 a 7,00 (óptimo) ayudan al incremento poblacional de *Azospirillum* (Novo, R. 2002); mayor colonización de *Azospirillum* en la superficie de la raíz; mayor población local del género; y aumento poblacional de microorganismos en los tratamientos inoculados con *Azospirillum* (Saubidet, M. et. al. 2002).

Para el factor B (fertilizaciones), Cuadro 14, no presentaron diferencias estadísticas, sin embargo, se observaron diferencias matemáticas, ubicándose con el mayor promedio a fe (fertilización orgánica) con 602,55 UFC/gss y con el menor promedio fc (fertilización inorgánica completa 100 %) con 316,22 UFC/gss. Lo que significa que *Azospirillum* tiene mayor

proliferación en presencia de materia orgánica, pues, le suministra fuentes de carbono para lograr un incremento poblacional (Guamán, F. 2004). Debido a que la fertilización inorgánica, acidifica el suelo y las bacterias no pueden desarrollarse en condiciones de pH ácido (Novo, R. 2002).

Tukey al 5 %, para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 15, presentó cuatro rangos de significación, de los cuales, en el primer rango se ubicó c2fm (cepa2-Bolivar + fertilización inorgánica media 50 %) con un promedio de 11220,18 UFC/gss y en el cuarto rango se ubicó c0f0 (sin cepa + sin fertilización) con un promedio de 18,62 UFC/gss. El fenómeno reportado más notable, del uso de estas bacterias, es el incremento de asimilación de nutrientes de las plantas y reducción del uso de fertilizantes inorgánicos nitrogenados y fosforados en un 50 %; además, las bacterias ayudan a incrementar la disponibilidad de N, P, K del suelo, mejorar los caracteres productivos e incrementar la relación beneficio costo (Bashan, Y. y Holguin, G. 1997).

4.2. Porcentaje de emergencia (PE)

Al realizar el Análisis de Varianza, Cuadro 12, con un promedio general de 87,59 % y un coeficiente de variación de 10,76 %, en el cual no se observaron diferencias estadísticas significativas para tratamientos e interacciones.

Sin embargo se observan diferencias matemáticas; para el factor A (cepas *Azospirillum*), Cuadro 13, se ubicó con el mayor porcentaje promedio el biofertilizante c3 (cepa4-Chimborazo) con 88,67 % y el biofertilizante c4 (testigo, sin cepa) con 86,33 % obtuvo el menor porcentaje emergencia.

Mientras que, para el factor B (fertilizaciones), Cuadro 14, se observó que el mayor promedio fue para fm (fertilización inorgánica media 50 %) con 90,50 % y el menor promedio fue para f0 (testigo, sin fertilización) con 85,25 % de emergencia.

Para la interacción A x B (cepas *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 15, el mayor promedio fue para el tratamiento c3fm (cepa4-Chimborazo + fertilización inorgánica media 50 %) con el 94,67 %, en tanto que, el tratamiento c0f0 (testigo, sin cepa + testigo, sin fertilización) obtuvo el menor porcentaje promedio de 78,00 %.

Estos valores pueden deberse a que la viabilidad de la semilla junto con la acción de las cepas de *Azospirillum* spp., son quienes han determinado el porcentaje de germinación, debido a que la adaptación de *Azospirillum* al futuro ambiente rizosférico probablemente se inicia con la germinación de la semilla, la cual exuda infinidad de compuestos orgánicos que forman parte fundamental de la espermosfera (Bashan, Y. 1997).

Otros factores que influyen en el porcentaje de emergencia de plántulas, son: la calidad de semilla en relación a la viabilidad y vigor; humedad del suelo; temperatura; la cantidad y calidad de luz solar; profundidad de siembra y entre otros (Monar, C. 2010. Entrevista personal).

4.3. Altura de planta (AP)

Al realizar el Análisis de Varianza, Cuadro 12, se observaron diferencias altamente significativas para el factor A (cepas de *Azospirillum*); diferencias significativas para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones); mientras que, no se observaron diferencias significativas para el factor B (fertilizaciones). La investigación en la variable altura de

planta tuvo un promedio general de 196,65 cm y un coeficiente de variación de 6,51 %.

Tukey al 5 % para el factor A (cepas de *Azospirillum*), Cuadro 13, identificó dos rangos de significación; en el primer rango se ubicaron los tratamientos c2 (cepa2-Bolívar) con 205,67 cm y c3 (cepa4-Chimborazo) con 205,33 cm; en el último rango se ubicaron c1 (cepa3-Tungurahua) con 190,65 cm y c0 (sin cepa, testigo) con 196,17 cm. Estos valores pueden deberse a que *Azospirillum* spp. es conocida principalmente por la habilidad de producir hormonas vegetales (Auxinas, citocininas, giberelinas, así como aminoácidos y poliaminas) destacándose dentro de las auxinas el Acido Indol acético (AIA), el cual, es el responsable de promover el crecimiento vegetal debido a que actúa en la elongación y multiplicación celular, así se puede corroborar el efecto de la bacteria *Azospirillum* como fijadora de nitrógeno y por ende interviene en el incremento del tamaño de las plantas versus el testigo (Novo, R. 2002).

Al analizar los promedios del factor B (fertilizaciones), Cuadro 14, se observa que el mayor promedio fue para fm (fertilización inorgánica media 50 %) con 201,25 cm y el menor promedio fue para f0 (sin fertilización) con 190,00 cm; resultados que muestran el efecto directo de la fertilización inorgánica en el desarrollo de la planta.

Tukey al 5 % para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 15, identificó dos rangos de significación; compartiendo el primer rango: c2fc y c2fm con similar promedio de 217,33 cm; en tanto que en el último rango se ubicó b1fc con 174,20 cm de altura promedio. La combinación de las cepas de *Azospirillum* con la fertilización inorgánica obtuvieron el mayor porcentaje promedio de altura de planta, esto se debe a que las cepas de *Azospirillum* mediante la producción de hormonas vegetales (AIA), elongación de la raíz,

producción de sideróforos (pigmentos bacterianos que tienen la afinidad por compuestos de hierro) y fijación de nitrógeno; y la fertilización inorgánica con la contribución de nitrógeno mineral y fósforo influyeron directamente en el incremento del tamaño del maíz en relación a los tratamientos testigos (Piccoli, P. 1997).

La altura de planta es una característica varietal y depende de su interacción genotipo ambiente. INIAP-101, es una variedad que tiene una alta respuesta a la fertilización nitrogenada (Monar, C. 2010. Entrevista personal).

4.4. Altura de mazorca (AM)

En el Análisis de Varianza, Cuadro 12, se obtuvo un promedio general de 98,06 cm de altura de mazorca y un coeficiente de variación de 14.13 %. En el mismo cuadro se puede observar que existe diferencia significativa para el factor A (cepas *Azospirillum*), mientras que, las fuentes de variación restantes no presentaron significancia estadística.

Tukey al 5 % para el factor A (cepas *Azospirillum*), Cuadro 13, identificó dos rangos de significación; en el primer rango se ubican los tratamientos: c2 (cepa2-Bolívar) con 104,75 cm y c3 (cepa4-Chimborazo) con 104,58 cm; mientras que, en el último rango se ubicó c0 (sin cepa, testigo) con 89,75 cm. Estos valores se deben a que, al igual que, en la altura de planta, *Azospirillum* spp., es responsable de promover el crecimiento vegetal, dirigiéndose, a todos los órganos vegetativos de la planta, ya que la altura de la planta con la altura de la mazorca, tienen estricta correlación, es decir, a mayor altura de planta mayor altura de mazorca. (Zakharova, E., *et. al.*, 2000).

Para el factor B (fertilizaciones), Cuadro14, no presentó significación estadística, el mayor promedio de altura de mazorca correspondió a fm (fertilización inorgánica media 50 %) con 101,75 cm y el menor promedio correspondió a f0 (Sin fertilización, testigo) con 90,42 cm.

La interacción A x B (cepas *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 15, no presentó significación estadística, el mayor promedio correspondió a c2fm (c2-Bolívar + fertilización inorgánica media 50 %) con 119,67 cm y el menor promedio correspondió a c0f0 (sin cepa + sin fertilización) con 80,00 cm.

De igual forma que en la variable anterior los mejores promedios resultaron de las interacciones cepas por fertilización inorgánica media al 50 %, lo que indica que influyen en el incremento del tamaño de la planta como de la mazorca, en relación con los tratamientos testigos.

La altura de mazorca es una característica varietal y depende de su interacción genotipo ambiente. INIAP-101, es una variedad que tiene una alta respuesta a la fertilización nitrogenada (Monar, C. 2010. Entrevista personal).

4.5. Daño a la mazorca por *Heliothis zea* y *Euxesta eluta*

De acuerdo al Análisis de Varianza, Cuadro 12, se obtuvo un promedio general de 0,36 % de infección por *Heliothis zea* y *Euxesta eluta* y un coeficiente de variación de 23,33 %. En el mismo cuadro se puede observar que existe alta significación estadística para el factor A (cepas de *Azospirillum*); significación estadística para el factor B (fertilizaciones) y ninguna significación estadística para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones).

Al realizar Tukey al 5 %, Cuadro 13, para el factor A (cepas de *Azospirillum*), se observaron dos rangos de significación; en el primer rango el biofertilizante c2 (cepa2-Bolívar) con 0,43 % de infestación que presenta el mayor daño por *Heliothis zea* y en el segundo rango el biofertilizante c3 (cepa4-Chimborazo) con 0,30 % de infección, que presenta el menor daño. Estos valores alcanzados presentan un daño ligero, según la escala del CIMMYT, 1986.

Para el factor B (fertilizaciones) al realizar Tukey al 5 %, Cuadro 14, presentó dos rangos de significación de los cuales el primer rango fue para f0 (sin fertilización, testigo) con 0,42 % y el segundo rango lo comparten fm (fertilización inorgánica media 50 %) y fe (fertilización orgánica) con 0,32 %. Presentando estos valores, un daño ligero, según la escala del CIMMYT, 1986.

Para la interacción A x B (cepas *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 15, no se observó significación estadística, la interacción de mayor promedio fue c2fe (c2-Bolívar + fertilización orgánica) con 0,48 %; mientras que, con el menor promedio se ubicó a la interacción c1fe (c3-Tungurahua + fertilización orgánica) con 0,24 %.

De manera general, los promedios alcanzados, en la presente variable, presentaron bajos porcentajes de daño para esta plaga, comprendidos entre 1-10 %, lo que equivale a un daño ligero. Esto puede atribuirse, a la acción del aceite comestible, utilizado en el control de gusanos de la mazorca en el ensayo, pues en estudios realizados por el Programa de Maíz del INIAP en anteriores evaluaciones, el aceite controló el 75 % de incidencia de *Heliothis zea* en relación a los tratamientos testigos. La forma de acción del aceite comestible es mediante la formación de una barrera que impide el ingreso de las larvas hacia los granos y a su vez

tapa los orificios de respiración del gusano, matándolo por asfixia (Dobronski, J., *et. al.*, 1999).

Además es importante indicar que la baja incidencia de *Heliothis zea* y *Euxesta eluta*, se debió principalmente el factor climático, pues, la mayor parte del desarrollo del cultivo fue en presencia de sequía.

4.6. Daño a la mazorca por *Fusarium moniliforme* (FM)

Al realizar el Análisis de Varianza, Cuadro 12, se observan diferencias significativas para el factor A (cepas *Azospirillum*), y diferencias no significativas para el factor B (fertilizaciones), así como, la interacción A x B (cepas *Azospirillum* x fertilizaciones). El coeficiente de variación fue de 343,01 %, con un promedio general de 0,03 % de daño por FM. El coeficiente de variación alto se debe a que en esta variable son determinantes los caracteres varietales, la temperatura, la humedad del suelo y ambiental, luz solar y entre otros; es decir que esta variable tiene una fuerte interacción con el medio ambiente.

Tukey al 5 %, para el factor A (cepas de *Azospirillum*), Cuadro 13, identificó dos rangos de significancia; en el primer rango se ubica c0 (testigo, sin cepa) con 0,11 % de daño, comparten el último rango de significancia los tratamientos c1, c2 y c3 con similar promedio de daño correspondiente al 0,00 %. Esto se debe a que las condiciones ambientales no fueron favorables para el desarrollo de *Fusarium moniliforme*, no obstante se puede observar que el testigo sí presentó un daño ligero de acuerdo con la escala del CIMMYT, 1986.

Para el factor B (fertilizaciones), Cuadro 14, se observan diferencias matemáticas entre tratamientos, así fc (fertilización inorgánica completa 100 %) y fm (fertilización inorgánica media 50 %) presentaron 0,00 % de

daño, en tanto que, f0 (testigo, sin fertilización) presentó el mayor promedio con el 0,07 %.

Para la interacción A x B (cepas *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 15, se identificó que el mayor promedio en porcentaje de daño fue para la interacción c0f0 (testigo, sin cepa + testigo, sin fertilización), con un promedio de 0,29 %, seguido por c0fe (testigo, sin cepa + fertilización orgánica) con 0,15 % de daño, mientras que el resto de interacciones presentaron 0,00 % de daño por FM.

En general se observó una baja incidencia de FM, pues, al promediar tanto el factor A como el B y sus interacciones, se obtuvo un porcentaje de 0.19 % de infección que equivale a un daño ligero en la mazorca, según la escala del CIMMYT, 1986. El porcentaje de infección podría estar atribuido: al daño físico (abertura de brácteas) causadas por las personas al momento del llenado de la mazorca, tolerancia a la enfermedad presentada por la variedad y a las condiciones climáticas presentes en el ensayo que redujeron el desarrollo de la enfermedad.

Por otro lado, los resultados alcanzados, coinciden con investigaciones en las que se evaluó una cepa de *Azospirillum brasilense* in vitro en plantas de maíz que presentaban **Fusarium moniliforme**; las bacterias redujeron en un 96% la presencia de **Fusarium**, indicando así, la importancia de utilizar *Azospirillum* para el control de **Fusarium** (Hassouna, M. et. al. 1998).

CUADRO 12. Análisis de varianza para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea* y daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Cuadrados Medios					
		Población de <i>Azospirillum</i> (UFC/gss)	Porcentaje de Emergencia (%)	Altura de Planta (cm)	Altura de Mazorca (cm)	Daño por <i>Heliothis zea</i> (%)	Daño por <i>Fusarium moniliforme</i> (%)
TOTAL	47						
BLOQUES	2	0,53 ^{ns}	21,65 ^{ns}	404,31 ^{ns}	287,69 ^{ns}	0,01 ^{ns}	140000 ^{ns}
FACTOR A (cepas de <i>Azospirillum</i>)	3	7,52 ^{**}	13,56 ^{ns}	1208,92 ^{**}	721,24 [*]	0,04 ^{**}	0,04 [*]
FACTOR B (fertilizaciones)	3	0,16 ^{ns}	60,17 ^{ns}	295,26 ^{ns}	324,58 ^{ns}	0,03 [*]	0,01 ^{ns}
A x B (cepas de <i>Azospirillum</i> x fertilizaciones)	9	0,69 ^{**}	60,02 ^{ns}	426,79 [*]	297,26 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}
ERROR EXP.	30	0,24	89,4	164,34	192,02	0,01	0,01
Promedio general:		2818,43	87,59	196,95	98,06	0,36	0,03
Promedio Transformado Log (x)		3,45					
Coefficiente de variación (%):		18,75	10,76	6,51	14,13	23,33	343,01

NS = No significativo.

* = Significativo al 5%.

** = Altamente Significativo al 1%.

Cuadro 13. Promedios y Tukey al 5 % del factor A (cepas de *Azospirillum*) para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea*, daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Código	Identificación	Procedencia	Promedios y Rangos de significación							
			Población de <i>Azospirillum</i> (UFC/gss)		Porcentaje de emergencia (%)	Altura de Planta (cm)	Altura de Mazorca (cm)	Daño por <i>Heliothis zea</i> (%)	Daño por <i>Fusarium moniliforme</i> (%)	
			Real (x)	Transformado log(x)						
c1	<i>A. lipoferum</i>	C3-Tungurahua, Píllaro, Emilio Terán, Capulicito	199,52	2,30 b	88,50	190,65 b	93,17 ab	0,36 ab	0,00 b	
c2	<i>Azospirillum</i> spp.	C2-Bolívar, Guaranda, Veintimilla, Laguacoto 2	4786,30	3,68 a	87,83	205,67 a	104,75 a	0,43 a	0,00 b	
c3	<i>Azospirillum</i> spp.	C4-Chimborazo, Alausí, Sibambe, Cochapamba	512,86	2,71 b	88,67	205,33 a	104,58 a	0,30 b	0,00 b	
c0	Testigo	Testigo	66,06	1,82 c	86,33	186,17 b	89,75 b	0,36 ab	0,11 a	

Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5 % (Prueba de Tukey).

Cuadro 14. Promedios y Tukey al 5 % del factor B (fertilizaciones) para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea*, daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Código	Descripción	Promedios y Rangos de significación						
		Población de <i>Azospirillum</i> (UFC/gss)		Porcentaje de emergencia (%)	Altura de Planta (cm)	Altura de Mazorca (cm)	Daño por <i>Heliothis zea</i> (%)	Daño por <i>Fusarium moniliforme</i> (%)
		Real (x)	Transformado log(x)					
fc	Fertilización inorgánica completa (100%)	316,22	2,50	87,00	196,97	100,83	0,38 ab	0,00
fm	Fertilización inorgánica media (50%)	407,38	2,61	90,50	201,25	101,75	0,32 b	0,00
fe	Fertilización orgánica (Ecoabonaza)	602,55	2,78	88,58	199,60	99,25	0,32 b	0,04
f0	Testigo (sin fertilización)	407,38	2,61	85,25	190,00	90,42	0,42 a	0,07

Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5 % (Prueba de Tukey).

Cuadro 15. Promedios y Tukey al 5 % de la interacción factor A (cepas *Azospirillum*) x factor B (Fertilizaciones) para las variables población de *Azospirillum*, porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de mazorca, daño por *Heliothis zea* y daño por *Fusarium moniliforme* en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Código	Identificación	Promedios y Rangos de significación						
		Real	Transformado	Porcentaje de emergencia (%)	Altura de Planta (cm)	Altura de Mazorca (cm)	Daño por <i>Heliothis zea</i> (%)	Daño por <i>Fusarium moniliforme</i> (%)
		(x)	log(x)					
c1 + fc	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización inorgánica 100%	380,18	2,58 abcd	82,33	174,20 b	82,33	0,45	0,00
c1 + fm	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización inorgánica 50%	158,48	2,20 cd	93,33	195,67 ab	94,67	0,35	0,00
c1 + fe	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización orgánica.	117,48	2,07 cd	89,33	207,73 ab	105,67	0,24	0,00
c1 + f0	Biofertilizante C3 Tungurahua sin fertilización	213,79	2,33 bcd	89,00	185,00 ab	90,00	0,42	0,00
c2 + fc	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización inorgánica 100%	870,96	2,94 abc	90,67	217,33 a	113,67	0,44	0,00
c2 + fm	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización inorgánica 50%	11220,18	4,05 a	87,67	217,33 a	119,67	0,29	0,00
c2 + fe	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización orgánica.	5623,41	3,75 ab	88,00	196,00 ab	95,00	0,48	0,00
c2 + f0	Biofertilizante C2 Bolívar sin fertilización.	9549,92	3,98 a	85,00	192,00 ab	90,67	0,51	0,00

c3 + fc	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización inorgánica 100%	416,86	2,62 abcd	84,67	209,33 ab	112,33	0,32	0,00
c3 + fm	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización inorgánica 50%	107,15	2,03 cd	94,67	208,00 ab	107,00	0,27	0,00
c3 + fe	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización orgánica.	1995,26	3,30 abc	86,33	196,00 ab	98,00	0,27	0,00
c3 + f0	Biofertilizante C4 Chimborazo sin fertilización.	758,57	2,88 abc	89,00	208,00 ab	101,00	0,32	0,00
c0 + fc	Testigo + Fertilización inorgánica 100%	74,13	1,87 cd	90,33	187,00 ab	95,00	0,32	0,00
c0 + fm	Testigo + Fertilización inorgánica 50%	141,25	2,15 cd	86,33	184,00 ab	85,67	0,37	0,00
c0 + fe	Testigo + Fertilización orgánica.	95,49	1,98 cd	90,67	198,67 ab	98,33	0,31	0,15
c0 + f0	Testigo, sin <i>Azospirillum</i> y testigo absoluto.	18,62	1,27 d	78,00	175,00 b	80,00	0,44	0,29

Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5 % (Prueba de Tukey).

4.7. Longitud de la mazorca (LM)

En el Análisis de Varianza, Cuadro 16, se obtuvo un promedio general de 14,91 cm de longitud y un coeficiente de variación de 6,62 %. En el mismo cuadro se puede observar que existe alta significación estadística para el factor A (cepas de *Azospirillum*) y para el factor B (fertilizaciones), mientras que, para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), no fueron factores dependientes.

Al realizar la prueba de Tukey al 5 %, Cuadro 17, para el factor A (cepas de *Azospirillum*), se identificaron tres rangos de significación; ubicándose en el primer rango c3 (cepa4-Chimborazo) con 15,73 cm y en el último rango c0 (sin cepa, testigo) con 14,10 cm. Estos datos de incremento del tamaño del fruto, con respecto al testigo (sin cepa), se puede atribuir al efecto benéfico de las cepas de *Azospirillum* spp., sobre: el efecto del potencial del agua (concentración de O₂) y producción de giberelinas A₃, las cuales utilizan agua en un 50 % para producir células, que tengan la capacidad de producir altas cantidades de agua, inducir resistencia a la sequía y ayudar a la formación del fruto con buen tamaño (Piccoli, P. *et. al.* 1997).

Para el factor B (fertilizaciones), la prueba de Tukey, Cuadro 18, muestra dos rangos de significación; compartiendo el primer rango fm (fertilización inorgánica media 50 %) con 15,29 cm y fc (fertilización inorgánica completa 100 %) con 15,30 cm; y el segundo rango f0 (sin fertilización, testigo) con 14,16 cm. El aporte de nitrógeno, fósforo y potasio contribuyeron a la producción de frutos con mayor longitud.

La interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 19, no presentó significación estadística, obteniendo la mayor longitud promedio c3fc (cepa4-Chimborazo + fertilización inorgánica completa 100

%) con 16,65 cm y la de menor longitud promedio fue c0f0 (sin cepa + sin fertilización) con 12,43 cm.

4.8. Diámetro de la mazorca (DM)

Con el Análisis de Varianza, Cuadro 16, se observa que el factor A (cepas de *Azospirillum*), el factor B (fertilizaciones) y la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones) no presentaron significación estadística. Se calculó una media general de 4,90 cm de DM y un coeficiente de variación de 7,59 % (Cuadro 15).

Para el factor A (cepas de *Azospirillum*), Cuadro 17, presentó diferencias numéricas, obteniendo el mayor promedio el tratamiento c3 (c4-Chimborazo) con 5,08 cm y el menor promedio fue para el tratamiento c0 (sin cepa, testigo) con 4,78 cm.

El factor B (fertilizaciones), Cuadro 18, presentó al tratamiento de mayor promedio a fc (fertilización inorgánica completa 100 %) con 5,01 cm y el tratamiento con menor promedio a f0 (sin fertilización, testigo) con 4,77 cm.

La interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 19, se observó que el mayor promedio fue para c2fm (cepa2-Bolívar + fertilización inorgánica media 50 %) con 5,33 cm y el menor promedio fue para c0f0 (sin cepa + sin fertilización) con 4,56 cm.

El empleo de las cepas y las fertilizaciones no presentaron efectos estadísticamente notables, sin embargo, las diferencias numéricas entre las cepas y el testigo (sin cepa), pueden atribuirse a la acción de las

cepas de *Azospirillum* por las razones mencionadas en la variable longitud de la mazorca.

4.9. Porcentaje de nitrógeno del suelo (PNS)

Al realizar el Análisis de Varianza, Cuadro 16, se puede observar que existen diferencias altamente significativas para el factor A (cepas de *Azospirillum*); factor B (fertilizaciones) e interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones). Con un promedio general de 0,27 % y un coeficiente de variación de 22,71 %.

Al aplicar Tukey al 5 %, Cuadro 17, para el factor A (cepas de *Azospirillum*), se observan tres rangos de significación, compartiendo el primer rango c1 (cepa3-Tungurahua) con 0,36 % y c3 (cepa4-Chimborazo) con 0,33 %; el segundo rango c3 (cepa2-Bolivar) con 0,23 % y el tercer rango c4 (sin cepa, testigo) con 0,15 % de nitrógeno disponible en el suelo. Estos resultados dependieron del tipo de cepa de *Azospirillum* con la que se trabajó, debido a que la cepa3-Tungurahua, proviene de un suelo con pH 6,5 por lo que presentó mejor acción, ya que *Azospirillum* se desarrolla o prolifera de mejor manera en suelos con pH de 6,8 a 7, mientras tanto que, b3 (cepa4-Chimborazo) proviene de un suelo con pH 6 y c2 (cepa2-Bolivar) proviene de un suelo con pH 5,9 (ligeramente ácido) (Molina, S. 2006).

Tukey al 5 %, Cuadro 18, para el factor B, presentó tres rangos de significación, ubicándose en el primer rango a fc (fertilización inorgánica completa 100 %) con 0,46 % y en el tercer rango a f0 (sin fertilización, testigo) con 0,18 %. En este caso, la eficiencia de la fertilización inorgánica es altamente dependiente del comportamiento químico del fertilizante inorgánico en el suelo, especialmente de las formas de N derivadas de su transformación química, y de las condiciones de clima

reinantes en el medio. Se puede decir, que todos los fertilizantes inorgánicos nitrogenados son apropiados para este cultivo, siempre que se incorporen o sean enterados en el suelo (Urquiaga, S. 2000).

Para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), al aplicar Tukey al 5 %, Cuadro 19, se observan cinco rangos de significación, ubicándose en el primer rango al tratamiento c2fm (cepa2-Bolivar + fertilización inorgánica media 50 %) con 1,01 % y compartiendo el quinto rango los tratamientos c1fc y c0fe con 0,09 %; c1fm, c2fc, c3f0, c0fm con 0,10 %; y c0f0 con 0,11 % de nitrógeno en el suelo. Este mejor desempeño de el biofertilizante c2 (cepa2-Bolivar), puede atribuirse a que esta cepa proviene de suelos ligeramente ácidos (pH 5,9), por lo que actuó mejor al estar en contacto con la fertilización inorgánica. Además a efectos hormonales de *Azospirillum*. Los cuales hacen que las raíces se desarrollen mejor, favoreciendo la explotación de un mayor volumen de suelo y un mejor aprovechamiento de los fertilizantes. Muchos de estos microorganismos de vida libre tienen amplia distribución en diferentes suelos (Urquiaga, S. 2000).

4.10. Porcentaje de materia seca (PMS)

De acuerdo al Análisis de Varianza, Cuadro 16, en el cual se obtuvo un promedio general de 30,04 % de PMS y un coeficiente de variación de 17,25 %. En el mismo cuadro se puede observar que no existe significación estadística para el factor A (cepas de *Azospirillum*), factor B (fertilizaciones) e interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones).

Para el factor A (cepas de *Azospirillum*), Cuadro 17, no presentó significación estadística, sin embargo el mayor porcentaje de materia seca

promedio corresponde a c3 (cepa4-Chimborazo) con 31,96 % y el menor promedio corresponde a c2 (cepa2-Bolívar) con 29,33 %.

El factor B (fertilizaciones), Cuadro 18, no presentó significación estadística, pero si presentó diferencias numéricas, en donde, la fertilización fe (fertilización orgánica), fue la que registró el mayor porcentaje con 30,70 %, en tanto que la fertilización f0 (sin fertilización, testigo), presentó el menor promedio con 29,65 %.

En el análisis de la interacción factor A x B (cepas *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 19, registró diferencias matemáticas, en donde, la interacción c1fm (cepa3-Tungurahua + fertilización inorgánica media 50 %) con 34,33 % alcanzó el mayor promedio y la interacción c0fm (sin cepa + sin fertilización) con 26,89 % fue la que obtuvo el menor promedio.

Los efectos hormonales que *Azospirillum* produce en la rizósfera o en el interior de las raíces, favorecen el crecimiento radicular de las plantas así como también la absorción de agua y nutrientes, repercutiendo positivamente en la producción vegetal (Okon, Y. *et. al.* 1998).

La inoculación con *Azospirillum* incrementa la producción de materia seca, sin embargo este efecto puede ser benéfico en algunos casos o no significativo en otros (Saito y Graciolli, 1981).

4.11. Porcentaje de nitrógeno de la planta (PNP)

En el Análisis de Varianza, Cuadro 16, se detectaron diferencias estadísticas altamente significativa para el factor A (cepas de *Azospirillum*); y diferencias significativas para el factor B (fertilizaciones) e

interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones). El coeficiente de variación fue de 21,34 % y el promedio general fue de 1,22 % de PNP.

Tukey al 5 %, Cuadro 17, para el factor A (cepas de *Azospirillum*), agrupó en dos rangos de significación a los biofertilizantes. En el primer rango se encontró c1 (cepa3-Tungurahua) con 1,36 %, c2 (cepa2-Bolívar) con 1,35 % y c3 (cepa4-Chimborazo) con 1,28 % de N; y en el segundo rango con el menor promedio, se encontró c0 (sin cepa, testigo) con 0,89 % de N. Estos resultados concuerdan con estudios realizados, donde la inoculación con *Azospirillum*, además de mejorar el crecimiento de las plantas, se observan incrementos en el contenido de nitrógeno total de las plantas inoculadas respecto a las no inoculadas. Además el AIA producido por las bacterias puede modificar el contenido de fitohormonas de las plantas conduciendo a la estimulación del crecimiento de las mismas (Thuler, D. *et. al.* 2003).

Al realizar la prueba de Tukey al 5 %, para el factor B (fertilizaciones), Cuadro 18, presentó dos rangos de significación, en el cual, el primer rango con el mayor promedio fue para fm (fertilización inorgánica media 50 %) con 1,42 % de N y el segundo rango con el menor promedio fc (fertilización inorgánica completa 100 %) con 1,15 % y f0 (sin fertilización, testigo) con 1,11 %. Estos resultados, se atribuyen a que las plantas fertilizadas con el 100 %, eran más suculentas que las plantas fertilizadas con el 50%, por lo que, son más sensibles a la desecación y estrés por falta de agua, repercutiendo de esta manera la absorción de nitrógeno (Ramírez, M. 2004).

Tukey al 5 %, para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 19, agrupó en tres rangos de significación. Registrando a la interacción c1fm (cepa3-Tungurahua + fertilización inorgánica media 50 %) con 1,81 %, en el primer rango de significación, y

a la interacción c0f0 (sin cepa + sin fertilización) con 0,79 % en el tercer rango de significación. En lo que se refiere a la influencia de *Azospirillum* sobre la absorción de N por las plantas, se debe destacar que poseen la enzima nitrato-reductasa. Esta enzima es responsable por la reducción del nitrato a nitrito, favoreciendo la absorción y asimilación del N-NO₃ del suelo por las plantas. Aumentando significativamente el crecimiento vegetal, la acumulación de N, y principalmente la eficiencia de la fertilización inorgánica (Urquiaga, S. 2000).

4.12. Rendimiento de choclo (RCH)

Al realizar el Análisis de Varianza, Cuadro 16, se observó que existen, diferencias significativas para el factor A (cepas de *Azospirillum*); diferencias altamente significativas para el factor B (fertilizaciones) y no existe diferencia estadística para la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones). El coeficiente de variación fue de 22,18 % y el promedio general fue de 184,26 sacos/ha.

Con la prueba de Tukey al 5 %, para el factor A (cepas de *Azospirillum*), Cuadro 17, el promedio más alto, se evaluó en la cepa c3 (cepa4-Chimborazo) con 216,80 sacos/ha y los promedios más bajos se calcularon en c1 (cepa3-Tungurahua) con 176,03 sacos/ha y c4 (sin cepa, testigo) con 157,84 sacos/ha. Estos valores indican que las cepas si influyeron en el rendimiento, pues existen resultados similares, en donde, se obtuvo rendimientos de 5600 kg/ha, con la aplicación de un biofertilizante a base de *Azospirillum*, mientras que a los tratamientos que no se les aplicó el biofertilizante obtuvieron rendimientos bajos de 1880 kg/ha, comprobándose las propiedades de *Azospirillum* en el incremento del rendimiento.

Para el factor B (fertilizaciones), al aplicar Tukey al 5 %, Cuadro 18, se diferencian dos rango, de los cuales, el promedio más alto corresponde a fm (fertilización inorgánica media 50 %) con 217,77 sacos/ha y los promedios más bajos corresponden a fc (fertilización inorgánica completa 100%) con 174,95 sacos/ha y f0 (sin fertilización, testigo) con 154,37 sacos/ha. Se puede atribuir estos resultados, en gran parte a la desnitrificación, que consiste en la liberación de óxidos de nitrógeno desde el suelo hacia la atmosfera, por lo cual se pierde nitrógeno y disminuye la eficiencia de la fertilización inorgánica al 100 % aplicado al cultivo y por ende disminuye la producción (Mora, S., *et al.*, 2007).

Obteniéndose mejores resultados con el aporte de menores cantidades de fertilizante en este caso la fertilización inorgánica 50 %; a la eficiencia del fertilizante, que es altamente dependiente del comportamiento químico en el suelo, especialmente de las formas de N derivadas de su transformación química; y de las condiciones de clima reinantes en el medio (Infoagro. 2010).

Al analizar la interacción A x B (cepas de *Azospirillum* x fertilizaciones), Cuadro 19, se determinó que, a pesar de no haberse diferenciado estadísticamente, si existió diferencias matemáticas, siendo la de mayor promedio, la interacción c2fm (cepa2-Bolívar + fertilización inorgánica media 50 %) con 258,25 sacos/ha y siendo las de menor promedio las interacciones c0fe (sin cepa + fertilización orgánica) con 127,89 sacos/ha y c0f0 (sin cepa + sin fertilización) con 124,57 sacos/ha. Estos resultados, coinciden con resultados alcanzados en Cuba, donde, se evaluó cepas de *A. brasilense* con fertilización inorgánica y se redujo el 50 % de la fertilización inorgánica en el cultivo de maíz con el empleo de *Azospirillum* (Terry, E. *et. al.* 1994).

Se ha comprobado que fertilizando los cultivos con *Azospirillum* y con nitrógeno inorgánico en un porcentaje entre el 20 y 50 % del utilizado normalmente, se consigue un aumento de producción sobre las cosechas obtenidas únicamente con fertilizante químico al 100 %. Esto es debido a que, al liberarse la bacteria de su función fijadora de nitrógeno, produce más factores de crecimiento vegetal (Ramírez, M. 2004).

El rendimiento es una característica varietal y depende de su interacción genotipo – ambiente.

Son determinantes además los factores bioclimáticos (temperatura, humedad, los vientos, horas luz, distribución y cantidad de lluvia); edáficos (físicos y químicos de suelos: Textura, estructura, densidad aparente, porosidad, capacidad de intercambio catiónico, relación C/N, conductividad eléctrica, pH, etc.) y microorganismos del suelo. (Monar, C. 2010. Entrevista personal).

CUADRO 16. Análisis de varianza para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno en el suelo, porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno en la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Cuadrados Medios					
		Longitud de mazorca (cm)	Diámetro de mazorca (cm)	Porcentaje de Nitrógeno en suelo (%)	Porcentaje de Materia seca (%)	Porcentaje de nitrógeno de la planta (%)	Rendimiento de choclo (sacos/ha)
TOTAL	47						
BLOQUES	2	2,74 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	43,59 ^{ns}	0,15 ^{ns}	3086,46 ^{ns}
FACTOR A (cepas de <i>Azospirillum</i>)	3	5,52 ^{**}	0,2 ^{ns}	0,11 ^{**}	43,70 ^{ns}	0,60 ^{**}	7315,29 [*]
FACTOR B (fertilizaciones)	3	3,46 ^{**}	0,11 ^{ns}	0,21 ^{**}	3,05 ^{ns}	0,23 [*]	8543,05 ^{**}
A x B (cepas de <i>Azospirillum</i> x fertilizaciones)	9	1,8 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,18 ^{**}	7,96 ^{ns}	0,18 [*]	2574,18 ^{ns}
ERROR EXP.	30	0,98	0,14	0,037	26,85	0,07	1670,68
Promedio general:		14,91	4,90	0,27	30,04	1,22	184,26
Coeficiente de variación (%):		6,62	7,59	22,71	17,25	21,34	22,18

NS = No significativo.

* = Significativo al 5 %.

** = Altamente Significativo al 1 %.

CUADRO 17. Promedios y Tukey al 5 % del factor A (cepas de *Azospirillum*) para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno en el suelo, porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno de la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Código	Identificación	Procedencia	Promedios y Rangos de significación					
			Longitud de mazorca (cm)	Diámetro de mazorca (cm)	Porcentaje de Nitrógeno del suelo (%)	Porcentaje de Materia seca (%)	Porcentaje de nitrógeno de la planta (%)	Rendimiento de choclo (sacos/ha)
c1	<i>A. lipoferum</i>	C3-Tungurahua, Píllaro, Emilio Terán, Capulicito	14,75 ab	4,83 a	0,36 a	31,17 a	1,36 a	176,03 b
c2	<i>Azospirillum</i> spp.	C2-Bolívar, Guaranda, Veintimilla, Laguacoto 2	15,09 ab	4,90 a	0,23 a	27,70 a	1,35 a	186,38 ab
c3	<i>Azospirillum</i> spp.	C4-Chimborazo, Alausí, Sibambe, Cochapamba	15,73 a	5,08 a	0,33 b	31,96 a	1,28 a	216,80 a
c0	Testigo	Testigo	14,10 c	4,78 a	0,15 c	29,33 a	0,89 b	157,84 b

Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5 % (Prueba de Tukey).

CUADRO 18. Promedios y Tukey al 5 % del factor B (fertilizaciones) para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno del suelo, porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno de la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Código	Descripción	Promedios y Rangos de significación					
		Longitud de mazorca (cm)	Diámetro de mazorca (cm)	Porcentaje de Nitrógeno del suelo (%)	Porcentaje de Materia seca (%)	Porcentaje de nitrógeno de la planta (%)	Rendimiento de choclo (sacos/ha)
fc	Fertilización inorgánica completa (100%)	15,30 a	5,01	0,46 a	29,64	1,15 b	174,95 b
fm	Fertilización inorgánica media (50%)	15,29 a	4,89	0,20 bc	30,17	1,42 a	217,77 a
fe	Fertilización orgánica (Ecoabonaza)	14,92 ab	4,91	0,24 b	30,70	1,20 ab	189,96 ab
f0	Testigo (sin fertilización)	14,16 b	4,77	0,18 c	29,65	1,11 b	154,37 b

Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5 % (Prueba de Tukey).

CUADRO 19. Promedios y Tukey al 5 % de la interacción A x B (cepas *Azospirillum* x Fertilizaciones) para las variables longitud de mazorca, diámetro de mazorca, porcentaje de nitrógeno del suelo, porcentaje de materia seca, porcentaje de nitrógeno de la planta y rendimiento de choclo en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.

Código	Identificación	Promedios y Rangos de significación					
		Longitud de mazorca (cm)	Diámetro de mazorca (cm)	Porcentaje de Nitrógeno del suelo (%)	Porcentaje de Materia seca (%)	Porcentaje de nitrógeno de la planta (%)	Rendimiento de choclo (sacos/ha)
c1 + fc	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización inorgánica 100%	14,67	4,75	0,44 b	30,39	0,89 bc	155,24
c1 + fm	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización inorgánica 50%	14,72	4,69	0,10 e	34,33	1,81 a	178,67
c1 + fe	Biofertilizante C3 Tungurahua + Fertilización orgánica.	14,35	4,92	0,25 cde	29,55	1,64 ab	220,92
c0 + f0	Biofertilizante C3Tungurahua sin fertilización	15,25	4,75	0,09 e	30,41	1,11 abc	149,30
c2 + fc	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización inorgánica 100%	15,19	4,93	0,10 e	28,05	1,52 abc	183,74
c2 + fm	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización inorgánica 50%	16,58	5,33	1,01 a	27,18	1,40 abc	258,25
c2 + fe	Biofertilizante C2 Bolívar + Fertilización orgánica.	14,42	4,64	0,35 bc	26,99	1,18 abc	178,96
c2 + f0	Biofertilizante C2 Bolívar sin fertilización.	14,16	4,69	0,40 bc	28,59	1,30 abc	124,57

c3 + fc	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización inorgánica 100%	16,65	5,25	0,42 bc	30,86	1,20 abc	199,07
c3 + fm	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización inorgánica 50%	15,32	4,72	0,15 de	32,28	1,59 ab	233,65
c3 + fe	Biofertilizante C4 Chimborazo + Fertilización orgánica.	15,42	5,25	0,24 cde	31,90	1,08 abc	232,06
c3 + f0	Biofertilizante C4 Chimborazo sin fertilización.	15,53	5,08	0,10 e	32,79	1,25 abc	202,40
c0 + fc	Testigo + Fertilización inorgánica 100%	14,7	5,10	0,31 bcd	29,26	0,99 bc	161,75
c0 + fm	Testigo + Fertilización inorgánica 50%	14,52	4,82	0,10 e	26,89	0,89 bc	200,52
c0 + fe	Testigo + Fertilización orgánica.	14,75	4,83	0,09 e	30,16	0,89 bc	127,89
c0 + f0	Testigo sin <i>Azospirillum</i> y testigo absoluto.	12,43	4,56	0,11 e	31,00	0,79 c	141,21

Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5 % (Prueba de Tukey).

4.13. Análisis económico

Se lo realizó mediante el análisis de presupuesto parcial propuesto por el CIMMYT (1988), para lo cual, una vez obtenido el rendimiento de choclos en sacos/ha, se realizó un ajuste del 10 % con el fin de reflejar la diferencia entre el rendimiento experimental y el que el agricultor podría lograr. Este rendimiento ajustado fue multiplicado con el valor unitario del producto, para obtener el beneficio bruto, y se establecieron todos los costos que variaron en cada uno de los tratamientos, para luego, calcular el beneficio neto (beneficio bruto – total de costo que variaron en cada tratamiento). Con los beneficios netos y los costos que variaron se estableció el análisis de dominancia, para lo cual primero se ordena a los tratamientos de menor a mayor, de acuerdo a los totales de costos que variaron. Se dice entonces que un tratamiento es dominado cuando tiene beneficios netos menores o iguales a los de un tratamiento de costos que variaron, para posteriormente calcular la tasa de retorno marginal.

El análisis económico, se realizó en el mes de Mayo del 2010, considerando los resultados de los rendimientos obtenidos en el ensayo de campo.

De acuerdo con información del Programa de Maíz; y mercados de Riobamba y Quito, el precio promedio del saco de choclos fue de 12 dólares americanos.

El precio del fertilizante inorgánico fue de 25 dólares americanos por saco de Urea y 63,75 dólares americanos por saco de 18-46-0. Para el fertilizante orgánico (Ecuabonaza) el precio fue de 6,56 dólares americanos por saco.

De acuerdo con información del Programa de Maíz el costo de producción del biofertilizante fue de 10,50 dólares americanos por cada funda, que contiene 300 g de biofertilizante, para 35 kg de semilla de maíz.

Cabe señalar que cuando el análisis estadístico de los resultados de un ensayo indica, que no hay diferencias estadísticas significativas entre tratamientos no es necesario realizar el análisis económico, únicamente se selecciona el tratamiento con los rendimientos más altos. Sin embargo se realizó el análisis económico para determinar el o los tratamientos con la mejor tasa de retorno marginal.

Cuadro 20. Presupuesto Parcial del ensayo "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de Azospirillum spp., en el cultivo de Maíz (Zea mays L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Tratamientos	Rendimiento medio sacos/ha (choclos)	Rendimiento ajustado sacos/ha (choclos)	Beneficios brutos de campo (\$/ha)	Costo del fertilizante inorgánico (\$/ha)	Costo de mano de obra para aplicar (\$/ha)	Costo del fertilizante orgánico (\$/ha)	Costo de mano de obra para aplicar (\$/ha)	Costo del Biofertilizante (\$/ha)	Costo de mano de obra para aplicar (\$/ha)	Totales de costos que varían (\$/ha)	Beneficios netos (\$/ha)
1 (c1+fc)	155,24	139,71	1429,98	305,00	32,00	0,00	0,00	10,50	8,00	355,50	1074,48
2 (c1+fm)	178,67	160,81	1739,00	152,50	16,00	0,00	0,00	10,50	8,00	187,00	1552,00
3 (c1+fe)	220,92	198,83	2157,99	0,00	0,00	360,80	40,00	10,50	8,00	419,30	1738,69
4 (c1+f0)	149,31	134,38	1402,78	0,00	0,00	0,00	0,00	10,50	8,00	18,50	1384,28
5 (c2+fc)	183,74	165,36	1741,90	305,00	32,00	0,00	0,00	10,50	8,00	355,50	1386,40
6 (c2+fm)	258,25	232,42	2439,24	152,50	16,00	0,00	0,00	10,50	8,00	187,00	2252,24
7 (c2+fe)	178,96	161,07	1747,11	0,00	0,00	360,80	40,00	10,50	8,00	419,30	1327,81
8 (c2+f0)	124,57	112,11	1092,01	0,00	0,00	0,00	0,00	10,50	8,00	18,50	1073,51
9 (c3+fc)	199,07	179,17	1893,52	305,00	32,00	0,00	0,00	10,50	8,00	355,50	1538,02
10 (c3+fm)	233,65	210,29	2236,69	152,50	16,00	0,00	0,00	10,50	8,00	187,00	2049,69
11 (c3+fe)	232,06	208,85	2157,41	0,00	0,00	360,80	40,00	10,50	8,00	419,30	1738,11
12 (c3+f0)	202,40	182,16	1986,69	0,00	0,00	0,00	0,00	10,50	8,00	18,50	1968,19
13 (c0+fc)	161,75	145,57	1473,38	305,00	32,00	0,00	0,00	0,00	0,00	337,00	1136,38
14 (c0+fm)	200,52	180,47	1829,86	152,50	16,00	0,00	0,00	0,00	0,00	168,50	1661,36
15 (c0+fe)	127,89	115,10	1219,91	0,00	0,00	360,80	40,00	0,00	0,00	400,80	819,11
16 (c0+f0)	141,20	127,08	1349,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1349,54

Al realizar el análisis de presupuesto parcial, Cuadro 20, se observó que el tratamiento c2fm (cepa2-Bolivar + fertilización inorgánica media 50 %) con 2252,24 \$/ha presentó el mayor beneficio neto. Mientras tanto, el testigo c0fe (sin cepa + fertilización orgánica) presentó el menor beneficio neto con 819,11 \$/ha.

Cuadro 21. Análisis de Dominancia del estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Tratamientos	Total de costos que varían (\$/ha)	Beneficios netos (\$/ha)	Dominancia
16 (c0+f0)	0	1349,54	
4 (c1+f0)	18,5	1384,28	D
8 (c2+f0)	18,5	1073,51	D
12 (c3+f0)	18,5	1968,19	
14 (c0+fm)	168,5	1661,36	D
2 (c1+fm)	187	1552,00	D
6 (c2+fm)	187	2252,24	
10 (c3+fm)	187	2049,69	D
13 (c0+fc)	337	1136,38	D
1 (c1+fc)	355,5	1074,48	D
5 (c2+fc)	355,5	1386,40	D
9 (c3+fc)	355,5	1538,02	D
15 (c0+fe)	400,8	819,11	D
3 (c1+fe)	419,3	1738,69	D
7 (c2+fe)	419,3	1327,81	D
11 (c3+fe)	419,3	1738,11	D

En el análisis de dominancia, Cuadro 21, se determinó que los tratamientos c0f0 (sin cepa + sin fertilización), c3f0 (cepa4-Chimborazo + sin fertilización) y c2fm (cepa2-Bolivar + fertilización inorgánica media 50%) resultaron ser no dominados.

Cuadro 22. Análisis Marginal del estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización".
Ainche - Chimborazo, 2010.

Tratamientos	Costos que varían (\$/ha)	Costos marginales (\$/ha)	Beneficios Netos (\$/ha)	Beneficios netos marginal (\$/ha)	Tasa de Retorno Marginal
16 (c0+f0)	0	18,50	1349,54	618,65	3344,07
12 c3 + f0	18,50	168,50	1968,19	284,05	168,58
6 c2 + fm	187,00		2252,24		

Al analizar los tratamientos no dominados, con el análisis de retorno marginal, se encontró que los mejores tratamientos alcanzados fueron para c3f0 (cepa4-Chimborazo + sin fertilización) con una tasa de retorno marginal de 3344,07 % lo que equivale a que por cada dólar invertido retornó 33,44 dólares, que es un valor alto, que atraería la inversión hacia esta nueva alternativa de producción del cultivo de maíz.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- ☞ El biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* (c2-Bolívar; c3-Tungurahua y c4-Chimborazo), evaluado en campo, presentó una buena adaptabilidad al suelo y al cultivo de maíz, debido a que se observaron incrementos notables con respecto al testigo.
- ☞ El biofertilizante c2 con la cepa 2 proveniente de Bolívar, fue la más eficiente en las variables: población final de *Azospirillum*, altura de planta, altura de mazorca. Mientras que el biofertilizante c3 con la cepa 4 proveniente de Chimborazo, fue la más eficiente en las variables: Longitud de mazorca y rendimiento en choclo con 216,80 sacos/ha, mayor al reportado en la ficha técnica del Programa de Maíz con 215 sacos/ha.
- ☞ La interacción c2fm (cepa2–Bolívar +fertilización inorgánica media 50 %), fue la más eficiente en las variables: población final de *Azospirillum*, altura de planta, altura de mazorca, porcentaje de nitrógeno suelo. Y el rendimiento de choclo fue de 258,25 sacos/ha superando al rendimiento obtenido por el Programa de Maíz con fertilización inorgánica al 100 %.
- ☞ Al influir la inoculación de *Azospirillum* en el incremento de la población local, altura y rendimiento del cultivo de maíz se la puede considerar como una tecnología complementaria para el desarrollo y producción del cultivo de maíz, en esta zona agroecológica.

- ☞ Desde el punto de vista económico, la interacción c3f0 (c4-Chimborazo + sin fertilización) con una tasa de retorno marginal 33,44 dólares, siendo la alternativa más rentable para la producción del cultivo de maíz en esta zona agroecológica.

5.2. Recomendaciones

- ☞ Evaluar el biofertilizante a base de cepas para el desarrollo comercial en diferentes localidades de la Serranía Ecuatoriana.

- ☞ Desarrollar un biofertilizante que contenga la mezcla de las cepas (c2-Bolívar+c3-Tungurahua+c4-Chimborazo) para ser utilizadas en diferentes zonas agrícolas.

- ☞ Evaluar en laboratorio y campo la sensibilidad de *Azospirillum* a productos como: fungicidas; insecticidas; y fertilizantes orgánicos e inorgánicos que se utilizan para la producción del cultivo de maíz.

- ☞ Aplicar para el combate del “cogollero” cebos preparados con 120 cc de clorpirifos (Lorsban, Pyrinex) en 25 kg de arena.

- ☞ Incentivar a los agricultores, por medio de días de campo, capacitación, talleres, etc., a la utilización del biofertilizante como una alternativa complementaria para la producción del cultivo de maíz en la Serranía Ecuatoriana.

VI. RESUMEN Y SUMMARY

6.1. Resumen

Desde el punto de vista práctico, después del agua, el nitrógeno es el principal nutriente que el suelo debe proporcionar para garantizar el crecimiento adecuado y la producción óptima del cultivo de maíz. La fertilización nitrogenada mediante el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos y otras fuentes de nitrógeno, es uno de los insumos básicos que más influyen en el costo de producción del cultivo y en los efectos negativos sobre el medio ambiente. Por lo cual, es necesario aplicar alternativas ecológicas que tengan mayor rentabilidad, menor impacto ambiental y no sean perjudiciales para la salud. Con este contexto, el Programa de Maíz del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y la Universidad Estatal de Bolívar, desarrollaron la presente investigación.

En el estudio, se evaluó el efecto del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) con la variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización, en el sector Ainche, provincia de Chimborazo, situada a 2718 msnm, a 78°34`45" de longitud a 1°45`31" de latitud Sur. Para el desarrollo de la investigación, se plantearon los siguientes objetivos: a) Evaluar el efecto de la aplicación del biofertilizante a base de tres cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de maíz, variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización; b) Seleccionar la cepa de *Azospirillum* spp. más eficiente en la producción de maíz; c) Evaluar el mejor tipo de fertilización complementaria que acompañe a *Azospirillum* spp., para una buena producción del cultivo de maíz; d) Realizar un análisis económico de presupuesto parcial y tasa marginal de retorno.

Previo al ensayo de campo, en laboratorio del Departamento Nacional de Protección Vegetal (DNPV) área Microbiología y Planta Piloto del Programa de Maíz, se realizó la reactivación, purificación, fermentación y producción del inoculante sólido. Para ser evaluado en campo en dos factores: cepas de *Azospirillum* spp. (b) y fertilizaciones (f), con tres repeticiones por tratamiento con un diseño de bloques completos al azar (DBCA) en arreglo factorial 4 x 4.

De las variables evaluadas presentaron diferencias significativas entre los tratamientos: población de *Azospirillum*, presentó como mejor tratamiento a c2fm con 11220,18 UFC/gss; altura de planta a b2fm con 217,33 cm; porcentaje de nitrógeno en el suelo a b2fm con 1,01 %; porcentaje de nitrógeno en la planta a c1fm con 1,81 %. Respecto al testigo.

Para el rendimiento la interacción con mayor promedio numérico, fue para c2fm con 258,25 sacos/ha frente al testigo c0f0 con 141,21 sacos/ha. Además se puede observar una correlación positiva entre las variables altura de planta, población de *Azospirillum* y fijación de nitrógeno en el suelo. Atribuyéndose de esta manera los resultados a la influencia de las cepas en el incremento de estas variables.

El análisis económico se realizó utilizando la metodología del CIMMYT, el cual presentó como mejor tratamiento a c3f0 (cepa4-Chimborazo + sin fertilización) con una tasa de retorno marginal de 3344,07 %, lo que significa que por cada dólar invertido retornó 33,44 dólares, que es un valor alto, que atraería la inversión hacia esta nueva alternativa de producción del cultivo de maíz.

6.2. Summary

From a practical standpoint, after water, nitrogen is the main nutrient that the soil must be provided to ensure proper growth and optimum production of the maize crop. Nitrogen fertilization using organic and inorganic fertilizers and other sources of nitrogen, is one of the basic inputs that influence the cost of crop production and negative effects on the environment. Therefore, it is necessary to implement environmentally friendly alternatives that have higher profitability, reduced environmental impact and not harmful to health. In this context, the Maize Program National Institute for Agricultural Research (INIAP) and Bolivar State University, developed this research.

In the study, we evaluated the effect of biofertilizer strains based on *Azospirillum* spp., In the cultivation of maize (*Zea mays* L.) with the INIAP-101, in addition to three types of fertilization, Ainche sector, Chimborazo province, located at 2718 masl, 78 ° 34 '45 "long-1 45' 31" south latitude. For the development of research, we proposed the following objectives: a) assess the effect of biofertilizer application on the basis of three strains of *Azospirillum* spp., In the cultivation of corn, INIAP-101, in addition to three types of fertilization; b) Select the strain of *Azospirillum* spp. more efficient in the production of corn c) To assess the best type of additional fertilization accompanying *Azospirillum* spp., for a good corn crop production, d) Perform an economic analysis of partial budget and marginal rate of return.

Prior to field testing, laboratory of the National Plant Protection Department (DNPV) Pilot Plant area Microbiology and Maize Program, was made the revival, purification, fermentation and production of solid inoculant. To be evaluated in the field on two factors: strains of *Azospirillum* spp. (B) and fertilization (f) with three replicates per treatment

with a design of a randomized complete block (RCBD) in 4 x 4 factorial arrangement.

Of the variables evaluated showed significant differences between treatments: Azospirillum population, introduced as the best treatment 11220,18 with c2fm UFC/gss; b2fm plant height to 217,33 cm, percentage of nitrogen in the soil b2fm with 1,01 %, percentage of nitrogen in the plant c1fm 1,81 %. Compared with controls.

Interaction for yield more numerical average was 258,25 for c2fm with bags/ha compared to the control with 141,21 c0f0 bags/ha. You can also observe a positive correlation between plant height, population of Azospirillum and nitrogen fixation in the soil. Thus attributing the results to the influence of strains in the increase of these variables.

The economic analysis was conducted using the methodology of CIMMYT, which presented as the best treatment c3f0 (cepa4-Chimborazo + without fertilization) with a marginal rate of return of 3344,07 %, which means that for every dollar invested returned 33,44 dollars, which is a high value, which would attract investment into this new alternative crop production of corn.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. ALVARADO, S; CORDOVA, J; LÓPEZ, M. 2000. Metodología de análisis físico químico de suelos, aguas y foliares. Tercera aproximación. Laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito- Ecuador. pp. 6 a 24.
2. AMOOAGHAIE, R., MOSTAJEREN, A., EMTIAZI, G. 2002. The effect of compatible and incompatible *Azospirillum brasilense* strains on proton efflux of intact maize roots- *Azospirillum* and proton efflux of maize root. Plant soil. p. 155 – 160.
3. BACA, B. 2002. Líneas de investigación: bioquímica y biología molecular de la interacción microorganismo-planta (en línea). Puebla, MX. Instituto de Ciencias. Consultado 13 mar. 2009. Disponible en <http://www.buap.mx/investigacion/icuap/area.Htm>
4. BASHAN, Y. 1997. Aplicaciones Biotecnológicas en Ecología Microbiana. Cundinamarca, CO. Pontificia Universidad Javeriana – Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste. pp. 1 a 3.
5. BASHAM, Y., AND HOLGUIN, G. 1997. *Azospirillum* plants relationships: environmental and physiological advances. Microbiology. pp. 103 a 121.

6. BASHAM, Y., AND LEVANONY, H. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Microbiology*. p. 591 - 608.
7. BERNAL, G., GRAHAM, P H. 2001. Diversity in the rhizobia associated with *Phaseolus vulgaris* L. in Ecuador, and comparisons with Mexican bean rhizobia. *Canadian Journal of Microbiology*. 47(6):530-531
8. BERNAL, G., SUAREZ, A., JEREZ., M., CAMPAÑA. 2002. Inoculación de la semilla de leguminosas con la bacteria *Rhizobium*. Plegable Divulgativo No. 195. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito – Ecuador.
9. CABALLERO, J. 1998. El género *Azospirillum* (en línea). Cuernavaca, MX, Universidad Nacional Autónoma de México UNAM. Consultado 22 de Enero del 2009. Disponible <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/cap10>
10. CABALLERO, J. 2001. Estudio de la distribución y la diversidad genética de algunas especies de diazotófos. México DF, MX. snt. p. 2
11. CAVIEDES, M., YÁNEZ, C., SILVA, E., DOBRONSKY, J., ZAMBRABO, L., CAICEDO, M., HEREDIA, J., 2002. Nueva Variedad de Maíz Blanco Harinoso INIAP-101. Boletín divulgativo No. 82. Programa de Maíz, Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador. 8p

12. CIAT. 1988. Manual de métodos de evaluación, selección y manejo. Simbiosis leguminosa – *Rhizobium*. Proyecto Especial CIAT- UNDP. Capítulo 11. pp. 36 a 42
13. CIMMYT. 1986. Manejo de ensayos e informe de datos para el programa de ensayos internacionales de maíz del CIMMYT. México. pp. 13 a 19
14. CIMMYT. 1988. La formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. México, D.F., MX. 79 p.
15. CRONQUIST, A. 1988. The Evolution and classification of flowering plants. The New York bot. Gard. 12th ed. New York, US. p. 555.
16. DOBRONSKI. J; SILVA. E; VÁSQUEZ. J. 1999. Control del gusano de la mazorca de maíz mediante el uso de aceite vegetal. Plegable Divulgativo No. 166. INIAP-COSUDE. Quito- Ecuador.
17. DOMINGUEZ, A. 1989. Abono de hortalizas aprovechadas por sus frutos. Madrid: Ministerio de la Agricultura, Pesca y Alimentación. 16p.
18. EL KHAWAS, M., AND ADACHI, K. 1999. Identification and quantification of auxins in the cultura media of *Azospirillum* and *klebsiella* and their effect on rice roots. Fertility Soils. p. 377 – 381.

19. ESPINOZA, L. 2004. Caracterización y selección de la bacteria diazotrófica *Azospirillum* spp., asociado con el maíz de altura (*Zea mays* L). INIAP. Tesis Ingeniero. Agrónomo. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador. 90p.
20. FALLICK, E.; OKON, Y.; FISCHER, M. 1988. Growth response of maize roots to *Azospirillum* inoculation. Effect of soil organic matter content, number of rhizosphere bacteria and tuning of inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 20: 25 a 49.
21. FAO, 1996. Fijación biológica del Nitrógeno. Desde el surco. Impresión Publingraf. Quito, Ecuador. p 54-56.
22. FURINA, E., BONARTSEVA, G., LUOV, N. 1999. Effet of varius concentrations of oxygen, molybdenum and nitrate of nitrogen fixation and denitrification in *Azospirillum lipoferum*. *Microbiology.* p. 44-47.
23. GRIN, 2001. Agriculture research service: Red de información de recursos de germoplasma, Taxonomía. Consultado el 27 de Mar. 2010. Disponible en www.ars-grin.gov/npgs/tax
24. GIRARD, H., ROUGIEX, R. 1964. Técnica de Microbiología Agrícola. Zaragoza – España. Pág. 244, Pág.27.
25. GONZÁLEZ, A., RAISMAN, J. 2000. Ciclos Biogeoquímicos. Tomado de: <http://fai.unne.edu.ar/biología/planta/ciclogeo.htm/Nutrición>. Consultado el Agosto de 2009.

26. GRAETZ, H. 1997. Suelos y Fertilización. Traducido por: F. Luna Orozco. Trillas. México. 80 p.
27. GUAMAN, F. 2004. Los abonos orgánicos una alternativa para mejorar la fertilidad de los suelo en zonas secas. Loja. Ecuador. p. 39
28. HASSOUNA, M., EL-SEADY, M., and SALEH, H. 1998. Biocontrol of soil borne plant pathogens attacking cucumber (*Cucumis sativus*) by rhizobacteria in a semiarid environment. Arid soil Res. p. 345 – 357
29. HOLGUIN, G., and GLICK, B. 2003. Transformation of *Azospirillum brasilense* with ACC diaminase gene from *Enterobacter cloacae* fused to the gene promoter improves the fitness and plant growth promoting ability. Microbiology. p. 122 – 133.
30. IBPGR. 1991. Descriptors for Maize. International Maize and Weat. Improvement Center. Mexico City /International Board for Plant Genetic Resources. Rome. pp. 9 a 25.
31. INAMHI. 2005. Anuario Meteorológico. Quito- Ecuador.
32. INEC. 2008. Visualizador de estadísticas agropecuarias del Ecuador ESPAC. (En línea). Quito, Ecuador. Consultado 16 de Abril de 2009. Disponible en www.ecuadorencifras.com/lcds-samples/testdrive-remoteobject/main.html

33. INEN, 1761. Norma Técnica Ecuatoriana NTE 1761:1991 para la industria alimentaria, productos agrícolas, hortalizas, choclo. www.inen.gov.ec/normas/index2.php
34. INFOAGRO. 2010. Fertilizantes Nitrogenados de liberación lenta. Consultado 14 Jun. 2010. Disponible en [/www.servicios.ideal.es/canalagro/datos/abonos/ab](http://www.servicios.ideal.es/canalagro/datos/abonos/ab).
35. INIAP, 2007. Manejo de Nutrientes por Sitio Especifico con Labranza de Conservación en el Cultivo de Maíz. Departamento de Suelos y Agua. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador. pp. 10 a 30.
36. INIAP/PNRT-PAPA, 2008. Guía para el manejo y toma de datos de ensayos de mejoramiento de papa. Instituto nacional autónomo de investigaciones agropecuarias. Programa nacional de raíces y tubérculos - papa. Documento por publicar. Quito- Ecuador. pp. 25 a 38
37. KASS, D. 1998. .Fertilidad de los suelos.. 1era impresión. EUNED. San José, Costa Rica. 233 p.
38. KAMNEV, A., ANTONYUK, L., MATORA, L., IGNATOV, V. 1999. Spectroscopic characterization of cell membranes and their constituents of the plant associated soil bacterium *Azospirillum brasilense*. Molecular Structure. pp. 387 a 393.
39. KENNEDY, R., CHELLAPILAI, D. 1998. Synergistic effect of VMA, *Azospirillum* and phosphobacteria on growth response and nutrient uptake of shoal tree species. pp. 308 a 312.

40. KRAFFCZYK, I., TOLLDEINER, G., BERINGER, H. 1984. Soluble roots exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganism. *Soil Biol. Biochem.*, 16: 315-322.
41. LABANDERA, C.; VITOTA, G.; CANZANI, F.; SORIA, S.; DUTTO, P. 2000. Aislamiento y caracterización de microorganismos fijadores de nitrógeno en plantas de avena y arroz. En: *Memorias del 8^{vo} Simposio Internacional de Fijación Biológica de Nitrógeno en no Leguminosas*. Sydney, Australia. pp. 3 a 22.
42. LADHA, J. 1997. Biofertilizers: The way ahead?. En *Biological Nitrogen Fixation: The Global Challenge and Future Needs*, Rockefeller Center. pp. 67 a 69
43. MAROTO, J. 1998. *Horticultura Herbácea especial*. Cuarta edición. Ediciones Mundi Prensa. Madrid. pp. 589 a 593.
44. MARTÍNEZ, R., LOPÉZ, M., ALVAREZ, B., ZAMBRANO, C., SÁNCHEZ, J. 2008. *La fijación biológica del nitrógeno atmosférico en condiciones tropicales*. Ed. CIARA, Caracas. 166p.
45. MARTÍNEZ, R., TOLEDO, N., ARGUELLES, C. 1999. *Introducción al conocimiento de los biofertilizantes*. Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, México. 43p.
46. MARTÍNEZ, V. 1995. *Aplicación de biofertilizantes en Cuba* (en línea). Cuba. *Agronot*. Consultado 3 oct. 2009. Disponible en <http://www.vinv.ucr.ac.cr/centro/cieda/A697.htm>

47. MEDINA, N., PINO, M. A. 1992. Evaluación de diferentes especies de bacterias y hongos MVA y sus combinaciones como biofertilizantes para el tomate cultivado fuera de época. VIII Seminario Científico del INCA. 38p.
48. MILANO, E. 2007. Qué son los Biofertilizantes y cómo nos pueden beneficiar. Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras. Publicación gratuita. Gobierno Bolivariano de Venezuela. pp 4 a 10.
49. MOLINA, S. 2006. Desarrollo de un biofertilizante a partir de cepas de *Azospirillum* spp. para el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-102 con dos fertilizaciones inorgánicas y dos fertilizaciones orgánicas. Tesis Ingeniero. Agrónomo. Universidad Técnica de Cotopaxi, Ciencias Agrícolas, Ambientales y Veterinarias, Ingeniería Agronómica. 96p.
50. MORA, S., GAVI, F., PEÑA, J., PÉREZ, J., TIJERINA, L., VAQUERA, H. 2007. Desnitrificación de un fertilizante de lenta liberación y urea + fosfato monoamónico aplicados a trigo irrigado con agua residual o de pozo. Universidad Nacional Autónoma de México. Revista internacional de contaminación ambiental. Vol. 23. N°. 001.
51. MORENO, J., LÓPEZ, G., VELA, R. 1986. Survival of *Azotobacter* spp in dry soils. *Appl. Environm. Microbial.*, 51: 123-125
52. MORTIMER, P., STOLP, H., TRUPER, H., BALOWS, A., SCHLEGEL, H. 1981. *The Prokariotes. A handbook on*

habitats, isolation, and identification of bacteria. New York, US. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Vol. 1, pp. 796 a 808.

53. MOTSARA, MR.; BHATTACHARYYA, P. Y SRIVASTAVA, B. 1995. Biofertiliser Technology, Marketing and Usage. Fertiliser Development and Consultation Organisation. New Delhi, India. pp. 1, 2, 4-8, 12, 13, 57, 58.
54. NOROÑA, J. 2008. Caracterización y evaluación agromorfológica de 64 accesiones de maíz negro y 27 accesiones de maíz chulpi (*Zea mays* L.) colectados en la serranía del Ecuador. Tesis Ingeniero. Agrónomo. Universidad Técnica de Cotopaxi, Ciencias Agrícolas, Ambientales y Veterinarias, Ingeniería Agronómica. pp 32 a 34.
55. NOVO, R. 2002. Memorias curso internacional de microbiología de suelos, los biofertilizantes y la biofertilización. Quito, EC. ASOINCO. 1 disquete Hd. 3 ½ pulgadas.
56. OKON, Y., ALBRECHT, L. BURRIS, H. 1998. Methods for growing *Azospirillum lipoferum* and for counting it in pure culture and in association with plants. Appl. Environ. Microbiol. 33: 85-88.
57. PEREYRA, M. 2001. .Asimilación del nitrógeno por las plantas. Universidad de la Pampa. Tomado de: <http://www.agro.unlpam.edu.ar/quimica2/asimilaci%C3%B3n%20del%20nitr%C3%B3geno%20en%20los%20vegetales>. doc. Consultado en Noviembre de 2009

58. PÉREZ, S.; TORRALBA, A. 1997. La fijación del Nitrógeno por los seres vivos. Seminario Fisiología Vegetal, 21.01. Facultad Biología Oviedo. Tomado de: <http://scriptusnaturae.8m.com/Articulos/FijN/asociativa.html>. Consultado en Agosto de 2009.
59. PICCOLI, P., LUCANGELI, C., ACHNEIDER, G., BOTTINI, R. 1997. Hydrolysis of gibberellins to glucoside by *Azospirillum lipoferum* culture in a nitrogen free biotin based chemically defined medium. Plant Growth Regulator. p. 179 – 182.
60. RAMÍREZ, M. 2004. Desarrollo de un método alternativo de producción de almácigos de tomate con bacterias fijadoras de nitrógeno. Tesis Ingeniería en Biotecnología. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología, Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Cartago. pp. 66
61. RODRÍGUEZ, E., CÁCERES, A. 1982. Improved medium for Isolation of *Azospirillum* spp., Applieta Microbiology and Environmental. 44(2): 940 a 991.
62. SAITO, S.M.T. Y GRACIOLLI, L.A. 1981. Relationships between *Azospirillum* spp. isolates from maize and sugar cane. En: Associative N₂-Fixation. Volume II. Editado por: P. Vose y A. Ruschel. CRC Press. Florida, U.S.A. pp. 163-168.
63. SAUBIDET, M., FATTA, N., BARNEIX, A. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. Plant Soil. p. 215 a 222.

64. SILVA, E., CAVIEDES, M., DOBRONSKY, J., ZAMBRABO, L., CAICEDO, M., HEREDIA, J., 1997. Variedad de Maíz Blanco Precoz INIAP-101. Boletín divulgativo No. 292. Programa de Maíz, Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador.
65. STEENHOUDT, O., KEIJERS, V., OKON, Y., VANDERLEYDEN, J. 2001. Identification and characterization of a periplasmic nitrate reductase in *Azospirillum* Sp 245. Microbiology. pp. 344 -352.
66. SUQUILANDA, M. 1999. Agricultura Orgánica. Quito, Ec., Ediciones UPS FUNDAGRO. pp. 46 a 250.
67. SUQUILANDA, M. 2006. Agricultura Orgánica. Tercera Edición. Quito, Ec., Ediciones UPS FUNDAGRO. pp. 95 a 126.
68. TERRANOVA. 1995. Producción Agrícola 1. Bogotá, Colombia. Terranova editor. Tomo 1. pp. 110 a 112.
69. TERRY, E., PINO, M., MEDINA, N., HIDALGO, L. 1994. Uso de biofertilizantes y bioestimuladores en el cultivo del tomate en época temprana. IX Seminario Científico del INCA. La Habana. P. 65
70. THE LATIN AMERICAN ALLIANCE. 1997. Los biofertilizantes en la agricultura cubana. <http://www.latinsynergy.org/microorganismoscuba2.htm>

71. THULER, D., NADRO, W., BARBOSA, H. 2003. Plant growth regulator and amino acids released by *Azospirillum* spp. In chemicals defined media. Microbiology. p. 174 -178.
72. TSGOU, V., KEFALOGIANNI, I., SINI, K., AGGELI, G. 2003. Metabolic activities in *Azospirillum* grown in the presence of NH₄. Biotechnology. pp. 574 a 578.
73. VANDE BROEK, A., DOBBELAERE, S., VAN DOMMELEN, A. 2000. *Azospirillum* plant interactions: signaling and metabolic interactions. pp. 671 a 777.
74. VILLAVERDE, M., FERNANDEZ, A., MARTINEZ, J., LOPEZ, J., GARCIA, A., 2006. Nuevo fertilizante biológico y procedimiento de obtención. PROBELTE S.A. Madrid, ES. pp. 2 a 11.
75. UMALI-GARCIA, M.; HUBBELL, D.H.; GASKINS, M.H. Y DAZZO, F.B. 1984. Adsorption and mode of entry of *Azospirillum* brasilense to grass roots. En: Associative N₂-Fixation. Volume I. Editado por: P. Vose y A. Ruschel. CRC Press. Florida, U.S.A. pp. 49-62.
76. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE, ES. 2001. Guía de prácticas de microbiología y parasitología ambiental (en línea). Madrid, ES. Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología II. Consultado 10 feb. 2009. Disponible en <http://www.ucm.es/info/mfar/PDF/Ambiental.pdf>

77. URQUIAGA, S. 2000. Manejo eficiente de la fertilización Nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe. Porto Alegre, Rio Grande de Saul, Brasil. pp. 32 a 56
78. YÁNEZ, C., ZAMBRANO, J., CAICEDO, M., SANCHEZ, A., HEREDIA, J. 2003. Catalogo de Recursos Genéticos de Maíces de Altura Ecuatorianos. Programa de Maíz. INIAP. Ecuador. pp. 1 a 28
79. YÁNEZ, C., ZAMBRANO, J., CAICEDO, M., SÁNCHEZ, H., HEREDIA, J. 2004. Informe final del Proyecto IQ-CV-102. Identificación y desarrollo de un biofertilizante para el cultivo de maíz en la sierra del Ecuador. INIAP. Ecuador. pp. 41 a 49.
80. YÁNEZ, C. 2007. Manual de Producción de Maíz para Pequeños Agricultores y Agricultoras. Programa de Maíz. INIAP. Ecuador. pp 2 a 16.
81. YEGORENKOVA, I., KONNOVA, S., SACHUK, V. 2001. *Azospirillum brasilense* colonization of heat roots and the rol of lectin carbohydrate interactions in bacterial adsorption and root hair deformation. Plant Soil. pp. 275 – 282.
82. YOGODIN, B., MINOV, Y., PETERSBURSKI, D. 1986. Agroquímica Tomo I. Moscú MIR. 416p.
83. ZAADY, E. Y PEREVOLOTSKY, A. 1995. "Enhancement of growth and establishment of oak seedlings (*Quercus ithaburensis* Decaisne) by inoculation with *Azospirillum brasilense*". Forest Ecology and Management 72(1): 81-83.

84. ZAKHAROVA, E., LOSITENKO, A, and IGNATOV, V. 2000. Effect of water soluble vitamins on the production of indle 3 acetic acid by *Azospirillum brasilense* Sp7. Microbiology. p. 327-331.

85. ZUBERER, D. 1990. Soil rhizosphere aspects of N₂-fixing plant-microbe associations. En the Rhizosphere, John Wiley and sons Ed., Nueva York. pp. 317-352.

ANEXOS

Anexo 1. Mapa físico de la localidad en estudio



Fuente: Google earth

Anexo 2. Número más probable (NMP) inicial de *Azospirillum* spp., por gramo de suelo, en el estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Aínche - Chimborazo, 2010.

Muestra No.	Procedencia	Número Característico	Número Bacterias	Dilución	Número Bacterias por dilución	NMP/g de suelo
1	Chimborazo , Aínche	312	11,5	100	1150	3,45x10 ²

Anexo 3. Medio NFB (Nitrogen Fixation Biological) semi-sólido (Rodríguez y Cáceres, 1982).

Reactivos	Cantidad
Ácido Málico	5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.02 g
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.002 g
MnSO ₄	0.01 g
FeCl ₃ 6H ₂ O	0.01 g
Biotina	0.01 g
Azul de Bromotimol	3 ml
Agar	1.75 g
Agua Destilada	997 ml
pH	7.0

Anexo 4. Tabla de Mc Crady: 3 tubos por dilución (Universidad Complutense, 2001).

Número característico	Número de microbios	Número característico	Número de	Número característico	Número de
000	0,0	201	1,4	302	6,5
001	0,3	202	2,0	310	4,5
010	0,3	210	1,5	311	7,5
011	0,6	211	2,0	312	11,5
020	0,6	212	3,0	313	16,5
100	0,4	220	2,0	320	9,5
101	0,7	221	3,0	321	15,0
102	1,1	222	3,5	322	20,0
110	0,7	223	4,0	323	30,0
111	1,1	230	3,0	330	25,0
120	1,1	231	3,5	331	45,0
121	1,5	232	4,0	332	110,0
130	1,6	300	2,5	333	140,0
200	0,9	301	4,0		

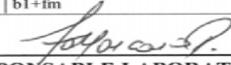
Anexo 5. Análisis foliar de ensayo de campo.

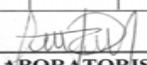
 INIAP <small>INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPASTORILES</small>	ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA" LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS Km. 14 1/2 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340 Quito- Ecuador Telf.: 690-691/92/93 Fax: 690-693	
---	---	---

REPORTE DE ANALISIS FOLIARES

<p style="text-align: center;">DATOS DEL PROPIETARIO</p> <p>Nombre : PROGRAMA DE MAÍZ Dirección : CHAMBO Ciudad : Teléfono : Fax :</p>	<p style="text-align: center;">DATOS DE LA PROPIEDAD</p> <p>Nombre : AINCHE Provincia : CHIMBORAZO Cantón : CHAMBO Parroquia : Ubicación : ING. CARLOS YANEZ</p>	<p style="text-align: center;">PARA USO DEL LABORATORIO</p> <p>Cultivo : MAIZ Fecha de Muestreo : 22/12/2009 Fecha de Ingreso : 30/01/2010 Fecha de Salida : 01/02/2010</p>
---	---	---

N° Muest. Laborat.	Identificación del Lote	(%)							(ppm)						
		N	P	K	Ca	Mg	S	M.O.	B	Zn	Cu	Fe	Mn	Mo	Na
20820	b1+fc 1 Rep.	0,87	B												
20821	b1+fm	1,95	B												
20822	b1+fmo	2,02	B												
20823	b1+ft	1,08	B												
20824	b2+fc	0,87	B												
20825	b2+fm	1,59	B												
20826	b2+fo	1,30	B												
20827	b2+ft	1,88	B												
20828	b4+ft	0,87	B												
20829	b4+fo	0,94	B												
20830	b4+fm	1,44	B												
20831	b4+fc	1,81	B												
20832	b3+ft	1,16	B												
20833	b3+fo	1,23	B												
20834	b3+fm	1,52	B												
20835	b3+fc	1,44	B												
20836	b4+fm 2 Rep.	1,16	B												
20837	b3+fc	1,16	B												
20838	b4+ft	1,52	B												
20839	b2+fm	1,44	B												
20840	b1+fm	1,88	B												


RESPONSABLE LABORATORIO


LABORATORISTA

Anexo 5. Continuación....

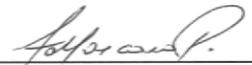
DATOS DEL PROPIETARIO
Nombre : PROGRAMA DE MAÍZ
Dirección : CHAMBO
Ciudad :
Teléfono :
Fax :

DATOS DE LA PROPIEDAD
Nombre : AINCHE
Provincia : CHIMBORAZO
Cantón : CHAMBO
Parroquia :
Ubicación : ING. CARLOS YANEZ

PARA USO DEL LABORATORIO
Cultivo : MAIZ
Fecha de Muestreo : 22/12/2009
Fecha de Ingreso : 30/01/2010
Fecha de Salida : 01/02/2010

N° Muest. Laborat.	Identificación del Lote	(%)							(ppm)						
		N	P	K	Ca	Mg	S	M.O.	B	Zn	Cu	Fe	Mn	Mo	Na
20841	b1+fo	1,44 B													
20842	b3+fm	0,94 B													
20843	b4+fc	1,95 B													
20844	b1+ft	1,23 B													
20845	b4+fo	0,94 B													
20846	b3+fo	1,23 B													
20847	b1+fc	0,87 B													
20848	b3+ft	1,37 B													
20849	b2+ft	0,87 B													
20850	b2+fc	1,81 B													
20851	b2+fo	1,23 B													
20852	b1+fc 3 Rep.	0,94 B													
20853	b4+fm	0,87 B													
20854	b4+fo	0,79 B													
20855	b3+fm	0,43 B													
20856	b1+fo	1,59 B													
20857	b2+fc	1,66 B													
20858	b2+fm	1,16 B													
20859	b3+ft	1,23 B													
20860	b4+fc	1,01 B													
20861	b3+fo	0,79 B													
20862	b2+fo	0,65 B													
20863	b2+ft	1,16 B													
20864	b4+ft	0,72 B													
20865	b3+fc	1,01 B													
20866	b1+ft	1,01 B													
20867	b1+fm	0,87 B													

INTERPRETACION


 RESPONSABLE LABORATORIO


 LABORATORISTA

Anexo 6. Clasificación del choclo Por su tamaño. Norma Ecuatoriana
Obligatoria INEN-1761. 1900-09.

CLASE	Diámetro ecuatorial (cm)		Longitud (cm)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Primera clase		> o = 7		> o = 20,1
Segunda clase	4,0	6,9	10,0	20,0
Tercera clase		< o = 3,9		< o = 10,0

Anexo 7. Medio de Aislamiento y Purificación Ácido Málico – Rojo Congo
sólido (Rodríguez y Cáceres, 1982).

Reactivos	Cantidad
Ácido Málico	5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
NaCl	0.1 g
FeCl ₃ 6H ₂ O	0.015 g
KOH	4.8 g
Extracto de Levadura	0.5 g
Solución Rojo – Congo	15 ml
Agar	15 g
Agua Destilada	985 ml
pH	7.0

Solución Rojo – Congo

Reactivos	Cantidad
Agua destilada	400 ml
Rojo – Congo	1 g

Anexo 8. Medio de Reactivación Peptona al 1% (CIAT)

Reactivos	Cantidad
Peptona	0.1 g
Agua destilada	100 ml

Anexo 9. Medio de Fermentación Caldo Nutritivo (Girard y Rougieux, 1964)

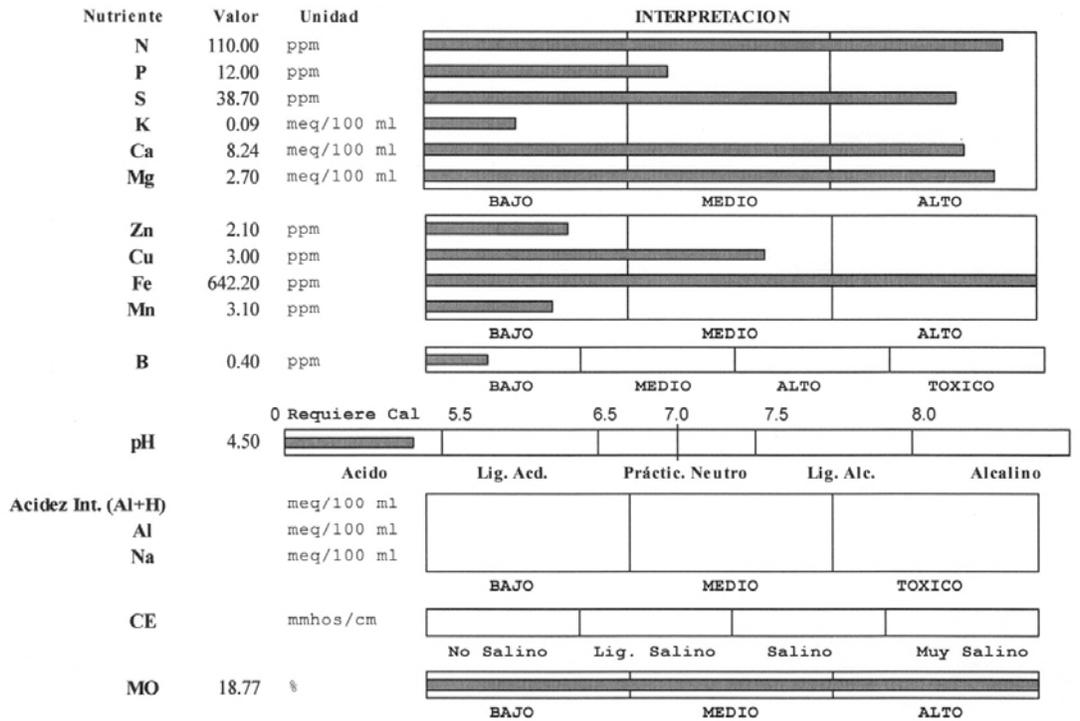
Reactivos	Cantidad
Extracto de carne	3 g
Peptona Bacteriana	2 g
Cloruro de Sodio Cl Na	5 g
Agua destilada	1000 ml
pH	7.1

Anexo 10. Análisis de suelo de la turba de Tambohuasha

 INIAP <small>INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</small>	ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA" LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS Km. 14 1/2 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340 Quito- Ecuador Telf.: 690-691/92/93 Fax: 690-693	
--	---	---

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

<p style="text-align: center;">DATOS DEL PROPIETARIO</p> Nombre : PROG. DE MAÍZ EESC Dirección : Ciudad : Teléfono : Fax :	<p style="text-align: center;">DATOS DE LA PROPIEDAD</p> Nombre : Provincia : Cantón : Parroquia : Ubicación : ING. CARLOS YANEZ
<p style="text-align: center;">DATOS DEL LOTE</p> Cultivo Actual : Cultivo Anterior : Fertilización Ant. : Superficie : Identificación : TAMBOHUASHA	<p style="text-align: center;">PARA USO DEL LABORATORIO</p> N° Reporte : 1.119 N° Muestra Lab. : 44912 Fecha de Muestreo : 21/04/2009 Fecha de Ingreso : 29/07/2009 Fecha de Salida : 07/08/2009



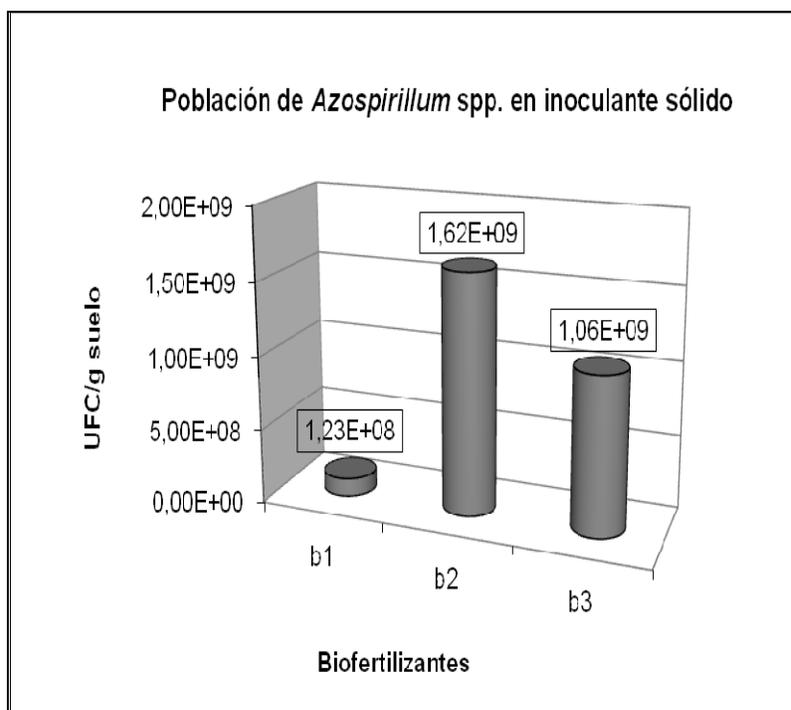
Ca	Mg	Ca+Mg	(meq/100ml)	%	ppm	(%)			Clase Textural
Mg	K	K	Σ Bases	NTot	Cl	Arena	Limo	Arcilla	
3,1	30,0	121,6	11,0						

 _____ RESPONSABLE LABORATORIO	 _____ LABORATORISTA
--	--

Anexo 11. Prueba de sobrevivencia de inoculante sólido, antes de la siembra del estudio "Evaluación del biofertilizante a base de cepas de *Azospirillum* spp., en el cultivo de Maíz (*Zea mays* L.) variedad INIAP-101, en complemento con tres tipos de fertilización". Ainche - Chimborazo, 2010.

Biofertilizantes	Repetición	Factor de Dilución	UFC/ ml	UFC/g suelo		Promedio
b1 (cepa3-Tungurahua)	R1	1,00E+04	150	150000000	1,50E+08	122500000
b1 (cepa3-Tungurahua)	R2	1,00E+04	95	95000000	9,50E+07	
b2 (cepa2-Bolívar)	R1	1,00E+04	1808	1808000000	1,81E+09	1624000000
b2 (cepa2-Bolívar)	R2	1,00E+04	1440	1440000000	1,44E+09	
b3 (cepa4-Chimborazo)	R1	1,00E+05	103	1030000000	1,03E+09	1060000000
b3 (cepa4-Chimborazo)	R2	1,00E+05	109	1090000000	1,09E+09	

Figura 1.

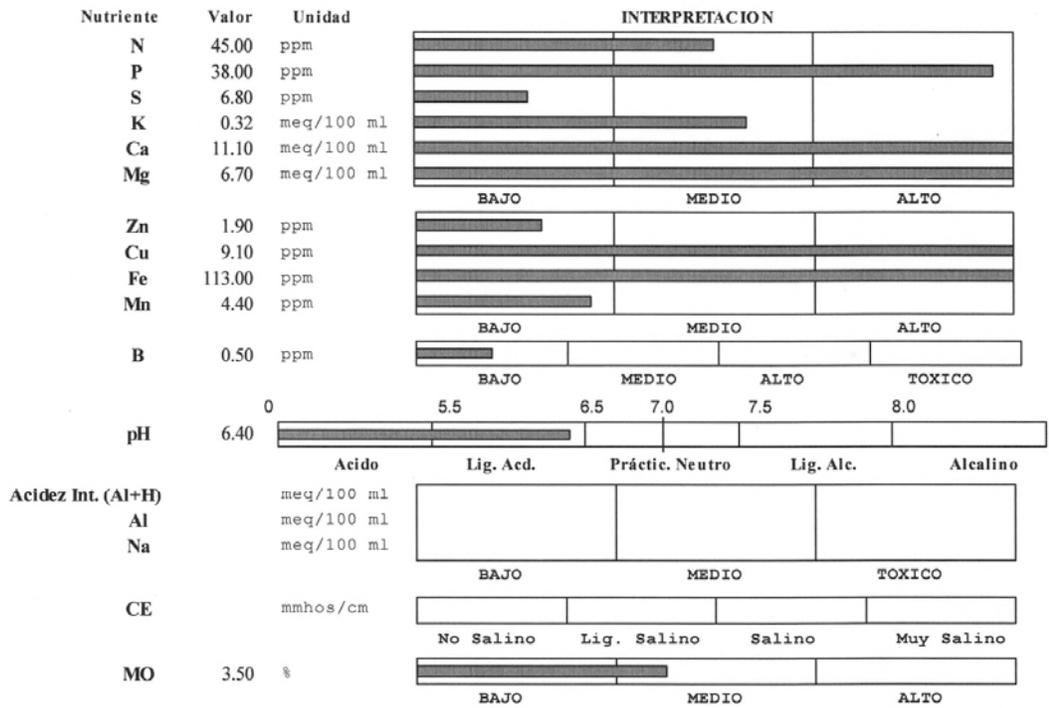


Anexo 12. Análisis de suelo del ensayo en campo.

 INIAP <small>INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</small>	ESTACION EXPERIMENTAL "SANTA CATALINA" LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS Km. 14 1/2 Panamericana Sur, Apdo. 17-01-340 Quito- Ecuador Telf: 690-691/92/93 Fax: 690-693	
--	--	---

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

<p style="text-align: center;">DATOS DEL PROPIETARIO</p> Nombre : ANGEL ANDRADE Dirección : CHAMBO Ciudad : Teléfono : Fax :	<p style="text-align: center;">DATOS DE LA PROPIEDAD</p> Nombre : Provincia : CHIMBORAZO Cantón : CHAMBO Parroquia : Ubicación :
<p style="text-align: center;">DATOS DEL LOTE</p> Cultivo Actual : MAIZ Cultivo Anterior : Fertilización Ant. : Superficie : Identificación : AINCIE	<p style="text-align: center;">PARA USO DEL LABORATORIO</p> N° Reporte : 1.106 N° Muestra Lab. : 44905 Fecha de Muestreo : 24/06/2009 Fecha de Ingreso : 25/06/2009 Fecha de Salida : 02/07/2009



Ca	Mg	Ca+Mg	(meq/100ml)	%	ppm	(%)			Clase Textural
Mg	K	K	Σ Bases	NTot	Cl	Arena	Limo	Arcilla	
1,7	20,9	55,6	18,1						


 RESPONSABLE LABORATORIO


 LABORATORISTA

Anexo 13. Composición Química Ecoabonaza.

Componentes	Cantidad
Materia Orgánica	70%
pH	7.01
Nitrógeno	2.8% a 3.0%
Fósforo	1.65%
Potasio	1.9%
Calcio	3.3% a 5%
Magnesio	0.7%
Azufre	0.51%
Boro	40 a 56 ppm
Zinc	236 ppm
Cobre	52 ppm
Hierro	1003 ppm
Manganeso	644 ppm
Humedad	21.4%

Anexo 14. Promedios de datos procesados

Tratamientos	Repeticiones	Nºm.o/g suelo seco	% Emergencia	Altura de planta (cm)	Altura de Mazorca (cm)	Longitud de mazorca (cm)	Diámetro de mazorca (cm)	Daño por <i>Heliothis zea</i> (%)	Daño por <i>Fusarium moniliforme</i> (%)	% Nitrógeno en el suelo	%Materia Seca (%)	% Nitrógeno en la planta	Rendimiento (sacos/ha)
1(b1+fc)	1	2970,000	66,667	170,000	72,000	15,500	5,000	0,524	0,000	0,900	34,222	0,870	119,792
1(b1+fc)	2	1080,000	87,500	177,000	80,000	15,000	4,750	0,250	0,000	1,130	36,506	0,870	243,056
1(b1+fc)	3	17,550	91,667	175,600	95,000	13,500	4,500	0,579	0,000	1,000	22,920	0,940	102,865
2(b1+fm)	1	297,000	91,667	197,000	109,000	15,500	5,000	0,355	0,000	0,140	31,349	1,950	180,990
2(b1+fm)	2	54,000	95,833	198,000	90,000	15,000	4,750	0,324	0,000	0,070	22,870	1,880	195,313
2(b1+fm)	3	256,500	91,667	192,000	85,000	13,667	4,333	0,379	0,000	0,100	25,394	1,590	159,722
3(b1+fo)	1	121,500	91,667	211,200	112,000	14,750	4,750	0,229	0,000	0,200	26,214	1,880	253,906
3(b1+fo)	2	256,500	87,500	215,000	115,000	14,800	5,000	0,234	0,000	0,280	31,068	1,440	186,198
3(b1+fo)	3	54,000	87,500	197,000	90,000	13,500	5,000	0,256	0,000	0,280	29,469	1,590	222,656
4(b1+ft)	1	540,000	95,833	180,000	90,000	15,500	4,750	0,440	0,000	0,140	30,548	1,080	142,361
4(b1+ft)	2	40,500	83,333	175,000	80,000	16,000	4,750	0,367	0,000	0,070	26,629	1,230	169,271
4(b1+ft)	3	432,000	87,500	200,000	100,000	14,250	4,750	0,440	0,000	0,050	25,809	1,010	136,285
5(b2+fc)	1	1215,000	91,667	219,000	131,000	16,250	5,000	0,355	0,000	0,100	26,403	0,870	179,688
5(b2+fc)	2	310,500	87,500	210,000	100,000	14,333	5,000	0,550	0,000	0,070	26,454	1,810	233,073
5(b2+fc)	3	1755,000	91,667	223,000	110,000	15,000	4,800	0,407	0,000	0,140	24,284	1,880	138,455
6(b2+fm)	1	29700,000	83,333	243,000	159,000	18,750	4,500	0,256	0,000	0,350	32,440	1,590	266,493
6(b2+fm)	2	12150,000	91,667	221,000	120,000	15,000	5,000	0,344	0,000	0,560	31,766	1,440	271,701
6(b2+fm)	3	4050,000	87,500	188,000	80,000	16,000	6,500	0,268	0,000	0,420	29,497	1,160	236,545
7(b2+fo)	1	12150,000	87,500	198,000	100,000	13,000	4,800	0,333	0,000	0,280	34,806	1,300	196,615
7(b2+fo)	2	12150,000	87,500	193,000	85,000	15,667	4,333	0,550	0,000	0,420	25,060	1,230	162,326
7(b2+fo)	3	1215,000	87,500	197,000	100,000	14,600	4,800	0,550	0,000	0,350	25,387	1,010	177,951

8(b2+ft)	1	29700,000	87,500	197,000	90,000	14,000	4,600	0,478	0,000	0,490	28,196	1,880	128,472
8(b2+ft)	2	5400,000	79,167	196,000	95,000	13,800	4,800	0,367	0,000	0,420	16,234	0,870	160,590
8(b2+ft)	3	5400,000	87,500	183,000	87,000	14,667	4,667	0,688	0,000	0,300	24,046	1,160	84,635
9(b3+fc)	1	378,000	62,500	204,000	110,000	17,250	4,750	0,262	0,000	0,420	33,268	1,440	243,056
9(b3+fc)	2	1080,000	95,833	218,000	113,000	17,333	6,000	0,407	0,000	0,490	35,842	1,160	152,344
9(b3+fc)	3	175,500	95,833	206,000	114,000	15,200	5,000	0,297	0,000	0,350	35,222	1,010	201,823
10(b3+fm)	1	67,500	95,833	228,000	120,000	16,000	4,600	0,224	0,000	0,200	37,970	1,810	292,969
10(b3+fm)	2	175,500	95,833	196,000	95,000	14,750	4,750	0,244	0,000	0,140	36,697	1,950	193,576
10(b3+fm)	3	108,000	91,667	200,000	106,000	15,200	4,800	0,355	0,000	0,100	25,741	1,010	214,410
11(b3+fo)	1	4050,000	83,333	198,000	98,000	16,500	5,500	0,224	0,000	0,250	31,652	1,230	275,608
11(b3+fo)	2	2970,000	87,500	213,000	105,000	15,500	5,250	0,314	0,000	0,280	32,912	1,230	251,736
11(b3+fo)	3	675,000	87,500	177,000	91,000	14,250	5,000	0,275	0,000	0,200	25,186	0,790	168,837
12(b3+ft)	1	378,000	91,667	218,000	105,000	16,750	5,250	0,244	0,000	0,090	36,972	1,160	263,021
12(b3+ft)	2	1755,000	95,833	208,000	95,000	15,000	5,000	0,379	0,000	0,070	30,914	1,370	165,799
12(b3+ft)	3	675,000	79,167	198,000	103,000	14,833	5,000	0,344	0,000	0,150	34,827	1,230	178,385
13(b4+fc)	1	297,000	91,667	203,000	100,000	15,500	5,000	0,407	0,000	0,300	35,889	1,010	152,344
13(b4+fc)	2	43,200	95,833	164,000	80,000	14,600	4,800	0,275	0,000	0,350	27,955	0,940	106,337
13(b4+fc)	3	31,050	83,333	194,000	105,000	14,000	5,500	0,268	0,000	0,280	38,519	1,010	226,563
14(b4+fm)	1	378,000	95,833	179,000	70,000	13,400	4,800	0,355	0,000	0,070	30,638	0,790	223,524
14(b4+fm)	2	108,000	75,000	203,000	95,000	14,667	4,667	0,393	0,000	0,070	29,833	1,010	169,271
14(b4+fm)	3	67,500	87,500	170,000	92,000	15,500	5,000	0,367	0,000	0,150	30,439	0,870	208,767
15(b4+fo)	1	54,000	91,667	214,000	105,000	13,000	4,833	0,275	0,000	0,120	33,855	0,940	110,243
15(b4+fo)	2	40,500	87,500	189,000	90,000	11,500	4,667	0,344	0,000	0,070	34,593	0,940	160,156
15(b4+fo)	3	405,000	91,667	193,000	100,000	12,800	5,000	0,297	0,000	0,090	24,674	0,790	113,281
16 (b4+ft)	1	12,150	91,667	175,000	75,000	14,000	4,667	0,458	0,458	0,100	28,483	0,870	140,625
16 (b4+ft)	2	25,650	87,500	170,000	80,000	14,750	4,500	0,478	0,478	0,140	34,564	0,790	128,906
16 (b4+ft)	3	20,250	54,167	180,000	85,000	15,500	4,500	0,393	0,393	0,090	27,663	0,720	154,080

ANEXO 15. Imágenes de las diferentes etapas de la Investigación.

Fase de Laboratorio

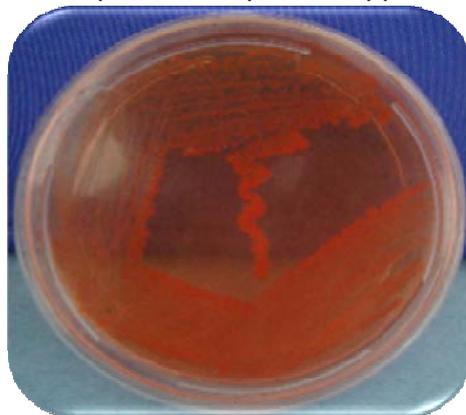
Banco de especies de bacterias diazotróficas del INIAP



Reactivación de cepas liofilizadas y purificación.



Cepa de *Azospirillum* spp., en medio Acido Málico-Rojo Congo



Fermentación y producción del biofertilizante



Fase de campo

Inoculación de la semilla con el biofertilizante



Siembra de ensayo



Aplicación de fertilizante



Toma de datos



Cosecha



Evaluación y caracterización de datos

