



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGIA

**INOCULACIÓN CON *Paenibacillus polymyxa* Y
FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN MAÍZ BAJO
CONDICIONES DE TEMPORAL**

MARIELA BENÍTEZ NOYOLA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2013

La presente tesis titulada: **Inoculación con *Paenibacillus polymyxa* y fertilización nitrogenada en maíz bajo condiciones de temporal** realizada por la alumna: **Mariela Benítez Noyola** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

EDAFOLOGIA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. JUAN JOSÉ ALMARAZ SUAREZ

ASESOR



Dr. ANTONIO TRINIDAD SANTOS

ASESOR



Dr. JOEL VELASCO VELASCO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Febrero, 2013.

RESUMEN

INOCULACIÓN CON *Paenibacillus Polymyxa* Y FERTILIZACIÓN NITRÓGENADA EN MAÍZ BAJO CONDICIONES DE TEMPORAL

Mariela Benítez Noyola, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2012

En México el maíz es el cultivo más importante por la diversidad de usos que presenta, es la base de la alimentación humana, animal y materia prima para la industria; sin embargo, es un cultivo que demanda niveles altos de nitrógeno que no siempre se cubren por el costo que implica el uso de fertilizante. Una alternativa de bajo costo es el uso de inoculantes a base de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) que pueden combinarse con la fertilización. El objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta de maíz a la inoculación con la cepa de *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1 en combinación con diferentes niveles de fertilización nitrogenada en condiciones de temporal. El experimento se estableció en un diseño experimental de parcelas divididas, donde la parcela grande fue N (0, 90 y 180 kg ha⁻¹) y la parcela chica fue biofertilizante (inoculado y no-inoculado). Se evaluó la población de bacterias totales y solubilizadoras de fosfato en la rizosfera en dos etapas de cultivo. Las plantas se cosecharon a madurez fisiológica del cultivo y se determinó rendimiento en grano y rastrojo, componentes de rendimiento, contenido de nitrógeno en grano e índice de cosecha. La mayor población bacteriana se presentó a los 90 días después de la siembra; los tratamientos inoculados presentaron los números más altos de bacterias totales y solubilizadoras de fósforo con 4.5 y 2.4 UFC_{log10} respectivamente. Se encontró que los tratamientos que fueron inoculados con la cepa *Paenibacillus polymyxa* y combinados con fertilizante a dosis de 90 y 180 kg de N ha⁻¹ presentaron los mayores rendimientos con 3.29 t ha⁻¹ y 3.4 t ha⁻¹ respectivamente, superando a los demás tratamientos que fueron sólo fertilizados y no inoculados. Estos tratamientos también fueron los que presentaron mayor contenido de nitrógeno en grano y rastrojo, lo cual sugiere que las plantas fertilizadas cuando se inocularon con la cepa de *Paenibacillus* BSP1.1 fueron más eficientes en absorber nitrógeno. La inoculación con rizobacterias es una alternativa de bajo costo en la agricultura sustentable que puede usarse en combinación con fertilizante nitrogenado para incrementar el rendimiento de los cultivos.

Palabras clave: nitrógeno, fertilización, inoculación, bacterias promotoras del crecimiento vegetal, maíz, rendimiento.

ABSTRACT

INOCULATION WITH *Paenibacillus polymyxa* AND NITROGEN FERTILIZATION ON CORN UNDER RAINFALL CONDITIONS

Mariela Benítez Noyola, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2012

In Mexico, corn is the most important crop because of its different uses; it is a basic food on the diet of Mexican people, food for cattle and raw material for the industry. However, this is a crop that demands high levels of nitrogen which is not always supplied because of the high cost of fertilizers. A low cost alternative is the use of inoculants based on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) that can be used in combination with fertilization. The objective of this research was to evaluate the corn response to inoculation with *Paenibacillus polymyxa* in combination with different levels of nitrogen fertilization under rainfall conditions. The experiment was established in a split plot design, where the main plot was N (0, 90 and 180 kg ha⁻¹) and the subplot was biofertilizer (inoculated and non-inoculated treatments). Total and phosphate solubilizing rhizobacteria on rhizosphere were evaluated twice during the experiment; plants were harvested at physiological maturity and grain yield, stubble, yield components, nitrogen content and harvest index were determined. The highest bacterial population was found at 90 days after planting; the inoculated treatments had higher numbers of total and phosphorus solubilizing bacteria with 4.5 and 2.4 UFC_{log10}, respectively. The inoculated treatments with *Paenibacillus polymyxa* in combination with fertilizer doses of 90 and 180 kg N ha⁻¹ had higher yield than the fertilizer treatments without inoculation, with 3.3 t ha⁻¹ and 3.4 t ha⁻¹ respectively. These treatments also had higher nitrogen content in grain and stover, suggesting that fertilized plants when inoculated with the strain of *Paenibacillus* BSP1.1 were more efficient in nitrogen uptake. The inoculation with rhizobacteria is a low cost alternative in sustainable agriculture that can be used in combination with N fertilizer to increase crop yield.

Keywords: nitrogen fertilization, inoculation, plant growth promoting rhizobacteria, corn yield.

Imposible ganar sin saber perder

Imposible andar si saber caer

Imposible acertar sin saber errar

Imposible vivir sin saber revivir

(Anónimo)

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Colegio de Posgraduados y al Programa de Maestría en Microbiología de suelos por haberme brindado la oportunidad de continuar con mi formación académica.

Al Dr. Juan José Almaraz Suarez, por haber tenido la suficiente paciencia en la orientación, sugerencias y apoyo recibido durante la dirección y corrección de esta investigación. Además, por todos esos consejos y enseñanzas brindadas durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados, y esa gran nobleza que lo caracteriza.

Al Dr. Antonio Trinidad Santos, por la atención y sugerencias en la redacción y revisión de esta investigación.

Al Dr. Joel Velasco Velasco, por su atención y asesoría en los momentos que así lo requerí.

A los doctores Ronald Ferrera Cerrato y Alejandro Alarcón, por su buena disposición, sugerencias y comentarios en el aspecto académico y por las facilidades otorgadas dentro del laboratorio de fijación de nitrógeno.

A las M. en C. María Encarnación Lara Hernández y Alicia Franco Villa por su amistad y apoyo brindado en el laboratorio de Microbiología del suelo.

A los auxiliares del laboratorio de Microbiología del suelo, por todo el apoyo brindado en mi instancia y hacerme los momentos de trabajo tan amenos: Manuel Solano, Lorenzo Viana, Edmundo Martínez y Fernando López.

A compañeros y amigos del laboratorio: Claudia, Yessica, Vivian, Deisy, Brigsania, Alejandra, Violeta, Virginia, Esmeralda, Katina, Miguel Ángel, Raúl, Paquito, Apolinar, Elíseo, por todo el apoyo recibido, el cual contribuyo a mi formación personal y profesional, además, por esos agradables momentos que compartí con ustedes.

A todas aquellas personas que de una u otra forma han contribuido en mi superación personal y profesional GRACIAS.

Gracias Dios, por iluminarme y guiarme en mi camino, por no dejarme sola en cada momento de mi vida.

DEDICATORIA

A mis Padres:

Sr. Selidonio Benítez Hernández y Sra. Beatriz Noyola Cruz por el cariño y apoyo incondicional que me han brindado, sin esperar mucho o poco de mí, por confiar siempre en mis decisiones de vida, LOS AMO Y SIMPRE ESTAN PRESENTES EN MI.

A mis hermanos:

Rodolfo, Marvea, Sergio, por todo ese gran apoyo que siempre he tenido de ustedes, los quiero mucho.

A Jorge Romero:

Novio, amigo, compañero de experiencias, y tantas otras cosas importantes que representan en mi, gracias por acompañarme y compartir los buenos y malos momentos, por siempre estar ahí con una cálida sonrisa y una mano para impulsarme a seguir, pero sobre todo gracias por enseñarme que la gloria no consiste en nunca caer si no en levantarse todas las veces que sea necesario.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
Agradecimientos	vi
Dedicatoria	viii
Índice de Figuras	xii
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.1.1. Objetivos específicos.....	3
2.1.2. Hipótesis general.....	4
2.1.2.1. Hipótesis específicas.....	4
CAPÍTULO 3. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1. El maíz (<i>Zea Mays</i> L.).....	5
3.1.1. Origen e Importancia del maíz.....	5
3.1.2. Situación de la producción de maíz en México.....	7
3.1.3. Características de los maíces en México.....	9
3.1.4. Panorama del cultivo de maíz en el estado de México.....	10
3.2. Fertilizantes nitrogenados, contaminación y calentamiento global.....	11
3.3. El suelo agente de vida.....	15
3.4. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV).....	17

3.4.1. Aplicación de BPCV en cultivos de cereales.....	17
3.4.2. Relación entre planta y BPCV.....	18
3.4.3. Mecanismos de acción de las BPCV en cultivos.....	19
3.4.4. Fijación biológica de nitrógeno (FBN) en cereales.....	22
3.4.4.1. Bacterias fijadoras de nitrógeno.....	22
3.4.5. Bacterias fijadoras de fosfatos.....	27
3.5. Rizobacteria <i>Paenibacillus polymyxa</i> con potencial en la agricultura.....	29
CAPÍTULO 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
4.1. Material biológico.....	33
4.2. Preparación del inoculante.....	33
4.3. Características del área de estudio.....	34
4.3.1. Ubicación del sitio experimental.....	34
4.3.2. Características agroclimáticas.....	34
4.3.3. Características edáficas.....	35
4.4. Establecimiento del experimento.....	35
4.4.1. Preparación del terreno.....	35
4.4.2. Inoculación y siembra de la semilla.....	35
4.4.3. Fertilización del cultivo.....	36
4.4.4. Tratamientos y diseño experimental.....	36
4.4.5. Cuantificación de la población microbiana inoculada en la fizesfera.....	38
4.5. Variables de estudio en el cultivo de maíz.....	38
4.5.1. Contenido de humedad del suelo y variables climáticas.....	38
4.5.2. Rendimiento y componentes.....	39
4.5.3. Contenido de nitrógeno en la biomasa aérea (rastrajo) y grano.....	39
4.5.4. Análisis químico del suelo.....	40
4.6. Análisis de datos.....	40
4.6.1. Análisis estadístico SAS (Statistical Analysis System).....	40
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41

5.1. Cuantificación de la población bacteriana en la rizosfera del maíz.....	41
5.2. Variables climáticas.....	46
5.2.1. Temperatura y precipitación.....	46
5.3. Contenido de humedad del suelo.....	48
5.4. Variables de rendimiento.....	49
5.4.1. Número de hileras en la mazorca del maíz.....	49
5.4.2. Peso de cien semillas (PCS).....	50
5.4.3. Contenido de nitrógeno en el grano y rastrojo.....	52
5.4.4. Rendimiento de grano y rastrojo en el maíz.....	55
5.4.5. Análisis químico del suelo	59
5.4.6. Índice de cosecha (IC).....	60
5.4.7. Efecto de los niveles de nitrógeno inoculado bajo dos niveles de inoculación sobre el rendimiento de maíz.....	61
5.4.8. Relación entre el rendimiento del forraje y el rendimiento de grano.....	63
5.4.9. Efecto de dosis de N en el N de la biomasa del cultivo de maíz bajo dos niveles de inoculación.....	64
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES.....	65
CAPÍTULO 7. LITERATURA CITADA.....	66
ANEXOS.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Producción anual de maíz en México en el periodo 2000-2011.....	8
Figura 2. Población bacteriana presente en la rizosfera de maíz a los 40 días después de la siembra, bajo condiciones de temporal.....	42
Figura 3. Población bacteriana presente en la rizosfera de maíz a los 90 días después de la siembra.....	44
Figura 4. Población bacteriana presente en la rizosfera de maíz.....	46
Figura 5. Promedio de temperaturas por mes y precipitación acumulada mensualmente en el año 2011.....	47
Figura 6. Contenido volumétrico de humedad del suelo en el sitio experimental durante el desarrollo vegetativo del cultivo de maíz bajo condiciones de temporal.....	49
Figura 7. Número de hileras en la mazorca de maíz cosechadas a los 196 días después de la siembra.....	50
Figura 8. Efecto de la inoculación en el peso de cien semillas expresado (en g)...	52

Figura 9. Contenido de nitrógeno en grano y en el rastrojo de maíz a los 196 dds inoculado con la cepa <i>Paenibacillus polymyxa</i> BSP1.1.....	55
Figura 10. Efectos de la inoculación con la cepa <i>Paenibacillus polymyxa</i> en el rendimiento del cultivo de maíz.....	57
Figura 11. Niveles de nitrógeno (0, 90, 180 Kg N ha ⁻¹), aplicado en el cultivo de maíz.....	58
Figura 12. Medias de índice de cosecha en el cultivo de maíz, inoculado con la cepa <i>Paenibacillus polymyxa</i>	61
Figura 13. Regresión del efecto de los niveles de nitrógeno 0, 90 y 180 kg N ha ⁻¹ bajo dos niveles de inoculación	62
Figura 14. Relación entre el rendimiento del forraje y el rendimiento de grano.....	63
Figura 15. Efecto de dosis de nitrógeno en el N de la biomasa del cultivo de maíz	64

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El maíz es el principal cultivo en México, tanto por su nivel de producción como por su importancia en la alimentación humana, animal y materia prima para la industria. Este se cultiva en todas las regiones geográficas del país y con diferente nivel de tecnología, donde el uso de fertilizantes juega un papel fundamental para mantener la producción ya que estos insumos proporcionan los nutrientes que las plantas necesitan para su desarrollo y son los que representan el mayor costo en la producción (Adesemoye *et al.*, 2010); además la producción de fertilizantes requiere el uso de combustibles fósiles lo cual contribuye a la emisión de gases de efecto invernadero (Mía *et al.*, 2010). El uso desmedido de fertilizantes ha provocado graves problemas ambientales en ríos, lagos, mantos freáticos y del suelo (Kang *et al.*, 2009; Dong *et al.*, 2005).

Se estima que cada año son incorporadas al suelo alrededor de 80 a 90 millones de toneladas de fertilizantes químicos en todo el mundo (Good *et al.*, 2004), por lo que se tienen que buscar alternativas para tener una agricultura sustentable que incremente el aprovechamiento de los fertilizantes y fomente el manejo adecuado de los recursos bióticos y abióticos de los agroecosistemas (Thrall, 2005); no todo el fertilizante es aprovechado por la planta, se pierde por los procesos de lixiviación y volatilización, aproximadamente el 50% del nitrógeno, entre el 50% y 60% del fósforo y el 40% del potasio (Suniaga *et al.*, 2008).

En las últimas décadas, el estudio de microorganismos promotores del crecimiento vegetal ha cobrado importancia en países europeos, asiáticos y latinoamericanos, incluido México, destacando el impacto de las bacterias; éstas constituyen una alternativa eficiente al uso de los fertilizantes químicos (Giles *et al.*, 2008; Villegas *et al.*, 2006; Walley *et al.*, 2004; Zahir *et al.*, 2004; Berg, 2009; Karakurt *et al.*, 2011.). Dichos microorganismos integran una biotecnología que contribuye al desarrollo sostenible, económico y ambiental, para favorecer el rendimiento de los cultivos gracias a su capacidad de estimular directamente el crecimiento de las plantas a través de diversos mecanismos como: el aporte de nitrógeno por el proceso de fijación biológica de nitrógeno atmosférico (Joo *et al.*, 2009), producción de sustancias reguladoras del crecimiento (Hariprasad *et al.*, 2009), incremento en el volumen de la raíz (Lucy *et al.*, 2004), reciclaje de nutrientes, descomposición de materia orgánica (Shen *et al.*, 2008), e inducción de resistencia sistémica a patógenos (Pineda *et al.*, 2010); además de mejorar la estructura del suelo.

La agricultura mexicana en estos momentos atraviesa por condiciones difíciles de productividad debido a diversos factores como sequías, heladas, suelos muy erosionados, invasión de tierra por la mancha urbana y escaso capital económico para la compra de insumos; sin embargo, el cultivo de maíz tiene potencial para aumentar el rendimiento sin afectar al medio ambiente con el uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes niveles de fertilización química en combinación con la inoculación de la cepa *Paenibacillus polymyxa* BSP 1.1. en el cultivo de maíz bajo condiciones de temporal.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la respuesta de maíz a la inoculación con una cepa de *Paenibacillus polymyxa* BSP 1.1 en combinación con diferentes niveles de fertilización nitrogenada en condiciones de temporal.

2.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la respuesta de maíz a la inoculación con rizobacterias bajo tres niveles de fertilización nitrogenada (0, 90 y 180 kg N ha⁻¹).
- Determinar el efecto de la inoculación en la acumulación de nitrógeno en grano.

2.1.2. HIPÓTESIS GENERAL

- La inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal en combinación con la fertilización nitrogenada incrementa el rendimiento del cultivo de maíz.

2.1.2.1. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- La respuesta del cultivo de maíz es mayor cuando se combina la fertilización nitrogenada con la inoculación de rizobacterias.
- La inoculación favorece la absorción de nutrientes permitiendo un mejor aprovechamiento del fertilizante químico.

CAPÍTULO 3

REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. El maíz (*Zea Mays* L.)

3.1.1. Origen e importancia del maíz

El maíz es originario de Mesoamérica (México y Centroamérica), región donde fue domesticado por las culturas prehispánicas y en consecuencia en esta área se ha descrito su mayor diversidad genética (Sánchez *et al.*, 2000; Doebley, 2004; Kato *et al.*, 2009). De esta región partió la distribución de la especie hacia otras latitudes en diferentes eventos, lo cual le ha consolidado como una de las plantas más cultivadas en el mundo (Matsuoka *et al.*, 2002). El maíz se siembra en una gran variedad de regiones agroecológicas que van de altitudes de 0 m hasta cerca de los 4,000 m sobre el nivel del mar (Ortega, 2003), se cultiva desde el ecuador hasta altas latitudes en los dos hemisferios, se siembra en regiones de precipitación pluvial desde menos de 400 mm hasta los 3,000 mm, en suelos y climas muy variables. De acuerdo a la literatura revisada la mejor producción se logra en climas en donde las temperaturas medias en los meses calurosos varían entre 21 y 27°C, con un periodo libre de heladas en el ciclo agrícola de 120 a 190 días.

Este cultivo cuenta con gran diversidad genética, que junto con otras 22 especies vegetales domesticadas tiene su centro de origen en Mesoamérica (Ortega, 2003; Engels *et al.*, 2006). Actualmente, el maíz es el cultivo básico más importante en México y de suma importancia en el resto del mundo; va más allá de su contribución a la dieta y economía

familiar, pues es él origen de nuestras tradiciones y costumbres, conforma la cultura ancestral y nos identifica como nación (Doebly, 2004).

El maíz es uno de los cultivos más comerciales, dada la diversidad de usos que presenta, para la alimentación humana, animal y como materia prima para la industria; es utilizado desde el grano, hojas, tallo y espigas; todas las partes de la planta incluyendo las raíces, sirven de abono o combustible. La caña se usa en la fabricación de artesanías y la hoja la utilizan para envolver tamales, fabricar objetos artesanales, así como el olote se emplea para alimento de animales y combustible, además como herramienta para desgranar mazorcas. El grano se consume en tortillas, pozoles, esquites y otros usos que se le dan para preparar huitlacoques, tostadas, totopos y tamales, se elaboran también bebidas como el atole de pinole y otras que son embriagantes a partir del grano fermentado. El maíz también se emplea con propósitos medicinales, para curar diversos males del cuerpo y del alma (Esteva, 2003).

En muchos países en desarrollo con altos niveles de pobreza, incluyendo numerosas regiones de México, el cultivo de maíz es una fuente importante para la nutrición de las familias. En México, anualmente se consumen alrededor de 11 millones de toneladas de maíz blanco en forma de tortilla. De acuerdo con la cámara nacional del maíz industrializado, el consumo per cápita anual de tortilla de la población nacional es de 105 kg de maíz (Polanco *et al.*, 2008).

3.1.2. Situación de la producción de maíz en el mundo y en México

El maíz se produce en 153 países que significan el 94% de los que conforman el globo terráqueo, es decir lo encontramos disperso en América, Europa, Asia y Oceanía. La producción mundial de maíz fue de 818 millones de toneladas de grano en el 2009. En México, la producción obtenida para el 2011 fue de 18.5 millones de toneladas y se consumió 24.7 millones, la demanda faltante fue abastecida con 6.2 millones de toneladas provenientes en su mayoría de los Estados Unidos. Los principales países productores de 1998-2010 en orden ascendente fueron: Estados Unidos (40% de la producción mundial), China (19%), Brasil (6%), México (3% siendo este el cuarto país productor) y el resto de los países (32%) (FAO, 2010; SIAP, 2011).

En México la producción anual de maíz ha registrado un comportamiento dinámico en las últimas décadas, el cual osciló en 29 millones de toneladas aproximadamente (Figura 1), en el 2007 y 2008 mostró incrementos ligeros hasta llegar a 24 millones de toneladas, sin embargo, en el 2009 la producción disminuyó en 4 millones de toneladas posiblemente por que hubo sequía (Canícula) muy amplia que redujo los rendimientos del maíz bajo condiciones de temporal; en el 2010 se incrementó ligeramente, pero también hubo afectaciones por inundaciones y heladas tempranas intensas; para el 2011 en todo el país se atrasó la temporada de lluvias al menos en un mes y medio; presentándose heladas atípicamente tempranas (primera semana de septiembre) en valles altos y sequía en estados del Norte del país afectando la producción de maíz en ese año; no obstante, la producción de grano en el país se estimó en 18.5 millones de toneladas aproximadamente (SIAP, 2012).

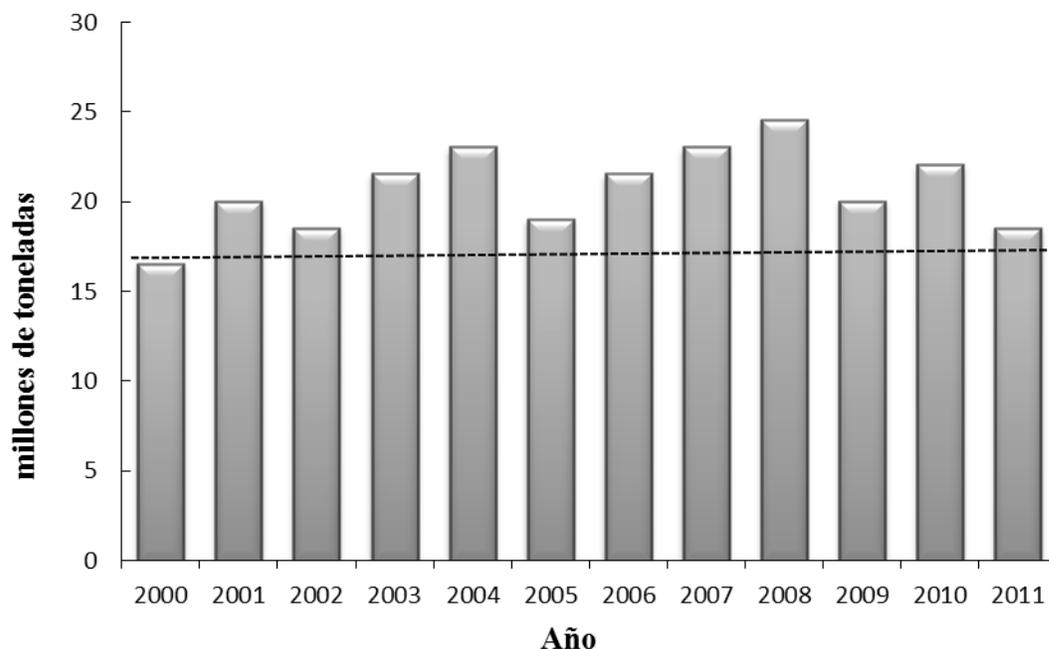


Figura 1. Producción anual de maíz en México en el periodo 2000-2011 (fuente: FAO, 2012 y SIAP, 2012).

La demanda nacional de maíz oscila en 29 millones de toneladas, y se producen 18.5 millones de toneladas (SIAP, 2012), lo cual marca un déficit de 10.5 millones de toneladas. Sin embargo, en el año 2008 se importaron 9.1 millones de toneladas (FAO, 2009) y los pronósticos para el 2011 indican que la importación de grano se incrementará en 6 millones de toneladas; ante ésta situación se han implementado estrategias nacionales en mejora de la producción, el éxito se ha reflejado en el beneficio obtenido en 1.5 millones de hectáreas (15% del área cultivada con maíz), que corresponde a regiones de condiciones agroecológicas homogéneas y disponibilidad de riego o un temporal favorable, el 85% restante del área cultivada con este cereal prevalece la agricultura de temporal (SIAP, 2012; Acuña *et al.*, 2010).

Los principales estados productores de la república mexicana son: Sinaloa ocupando el primer lugar en la producción nacional de maíz; en el año 2011 registró una producción de 5.2 millones de toneladas, lo que representó el 26.0% de la producción nacional, el rendimiento promedio por hectárea en el estado fue de 10 ton ha⁻¹; el estado de Jalisco es el segundo mayor productor de maíz, con un total de 2.5 millones toneladas y un rendimiento de 6 ton ha⁻¹, el Estado de México está en tercer lugar con una producción de 1.3 millones de toneladas y un rendimiento de 2.4 ton ha⁻¹; el resto del país representa el 54.9% de la producción con un rendimiento promedio de 1 a 2 ton ha⁻¹ (SIAP-SAGARPA, 2012).

3.1.3. Características de los maíces en México

La semilla de maíz que se siembra en México es principalmente nativa o “criolla” (80%), el resto (20%) corresponde a semilla mejorada, híbridos principalmente (INEGI, 2007), la cual se siembra generalmente en áreas homogéneas extensas con riego, mientras que la semilla nativa se siembra en condiciones de temporal en áreas con gran variación agro-ecológica, a diferencia de Sinaloa donde la mayor parte de semilla que siembran es híbrida.

Para la mesa central la semilla de maíces nativos es patrimonio de comunidades de agricultores, quienes la seleccionan cada año según sus criterios e intereses, principalmente con fines alimenticios, de rendimiento y sanidad; la mayoría de estas semillas son heredadas, por lo menos dos generaciones anteriores (Soleri *et al.*, 2001; Brush *et al.*, 2007).

Las poblaciones de maíces nativos presentan características particulares como adaptabilidad a condiciones agro-ecológicas locales, lo que se manifiesta en diferentes

niveles de precocidad y resistencia a factores adversos (Camacho y Chávez, 2004; Ángeles *et al.*, 2010), esto le permite al productor tener un abanico de posibilidades para hacer frente a los riesgos meteorológicos que pudieran presentarse en el ciclo productivo y de ésta forma asegurar la cosecha (Allaby *et al.*, 2008).

3.1.4. Panorama del cultivo de maíz en el Estado de México

En el estado de México, el maíz constituye el principal alimento de la población, sin embargo en los últimos 25 años la producción de maíz ha caído de 2, 397,144 ton para 1990 a 1, 549,545 ton para el 2010, lo que afecta directamente a los productores. La superficie sembrada en el año 2010 fue de 562,496.39 ha con un rendimiento promedio de 2.85 ton ha⁻¹ (SIAP, SAGARPA 2012.).

Las causas principales que afectan la producción de maíz son: fenómenos meteorológicos, como sequías que coincide con la floración de la planta (etapa fenológica muy susceptible); heladas tempranas e intensas en zonas con altitud mayor a 2,000 msnm; y el atraso de la temporada de lluvias, fenómeno que se ha presentado en los últimos años, que equivale al menos de dos meses, desfasando las fechas de siembra. Otros factores son: la fertilidad del suelo (cada día se incrementan mas las cantidades de fertilizantes químicos para la producción de grano), malezas, insectos, plagas y enfermedades que también reducen la producción pero en menor proporción que los eventos meteorológicos adversos (Piao *et al.*, 2007).

3.2. Fertilizantes nitrogenados, contaminación y calentamiento global

Uno de los mecanismos inmediatos para contrarrestar la baja fertilidad de los suelos es el uso de fertilizantes químicos, los cuales fueron un componente esencial de la revolución verde, que impulsó un incremento significativo en los rendimientos, y que ha permitido el desarrollo de nuevas variedades de cultivos de interés agrícola e industrial; el éxito de la revolución verde en realidad podría atribuirse en gran parte al uso masivo de agroquímicos y fertilizantes como estrategia para luchar contra plagas, enfermedades, y así, incrementar la producción, los cuales, no siempre han tenido el efecto deseado (Salazar *et al.*, 2003; Fortis-Hernández *et al.*, 2009), y han generado impactos negativos por ejemplo: problemas ambientales, contaminación de mantos freáticos, por nitratos y fosfatos, (Gyaneshwar *et al.*, 2002; Sharpley *et al.*, 2003) emisión de gases de efecto invernadero lo cual contribuye al calentamiento global (Searchinger *et al.*, 2008), además el uso excesivo de estos contribuye al deterioro de la calidad del suelo (Kang *et al.*, 2009). Un ejemplo de lo anterior es la “zona muerta” del Golfo de México, donde el exceso de fertilizantes es lixiviado y llevado a la desembocadura del río Mississippi, causando una área sin vida (Walsh, 2008; Diaz y Rosenberg, 2008; Adesemoye *et al.*, 2009).

El departamento de agricultura de los Estados Unidos (USDA) informó que 30 millones de toneladas de fertilizantes NPK fueron utilizadas en 1960 en todo el mundo y que había aumentado a 154.8 millones de toneladas para el 2005, 206.5 millones de toneladas en el 2007-2008 y para el 2011-2012 se incrementará a 241 millones de toneladas (FAO, 2009; Fortis-Hernández *et al.*, 2009).

En los Estados Unidos de América, los agricultores utilizaron 7.46 millones de toneladas en 1960, en comparación con 22.15 millones de toneladas en el 2005; México

importa el 60% de las 4.7 millones de toneladas de fertilizantes utilizadas en la mitad de los 20 millones de hectáreas que se cultivan cada año en el país (ANFFE, 2010).

En relación a los precios de los fertilizantes, el Banco Mundial reportó que el precio internacional de algunos fertilizantes como el fosfato de amonio se multiplicó su valor por seis en el periodo del 2006-2008; así mismo en los mercados internacionales la urea se ha elevado en 1,5 veces su precio. México importa la urea de Rusia (48%), Ucrania (23%), E.U.A. (23%), Venezuela (5%) y otros países (1%) (SNIIM, 2008).

Ante esta situación que prevalece hasta nuestros días se requiere de un cambio en los paradigmas de la nutrición de los cultivos, por lo que se deben aplicar estrategias de producción enfocadas a hacia una agricultura sostenible y amigable con el ambiente, que permitan fomentar el manejo de los recursos bióticos y abióticos de los agroecosistemas. El uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal pueden mejorar la absorción de nutrientes, además de estimular el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Thrall, 2005; Gül *et al.*, 2008).

El calentamiento global y el cambio climático están estrechamente interrelacionados, y en ocasiones son utilizados como sinónimos, prestándose a confusiones. De acuerdo con Gay *et al.* (2006) y Brekke y colaboradores (2008), el calentamiento global se refiere al aumento progresivo y gradual de la temperatura media de la superficie terrestre, responsable de los cambios en los patrones climáticos mundiales (Aunque en el pasado geológico de la Tierra se ha presentado un aumento de temperatura global como resultado de influencias naturales); este término se utiliza para referirse al calentamiento de la superficie terrestre, registrado desde principios del siglo XX y relacionado con el incremento en la concentración de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera.

El cambio climático se refiere a la variabilidad observada respecto al clima promedio en escalas de tiempo que van desde unas cuantas décadas hasta millones de años. Por eso, al utilizar el termino “cambio climático” en referencia a los cambios ocurridos muy recientemente en la historia del planeta puede confundir, pues nuevamente el pasado geológico demuestra que el clima constantemente ha cambiado y desde antes de que los seres humanos aparecieran (Payne *et al.*, 2004). Por lo tanto, las variaciones climáticas pueden ser producidas naturalmente por fenómenos internos del sistema Tierra-Atmósfera, o por forzamientos externos (variaciones en la órbita terrestre y cambios en la radiación solar). Recientemente la actividad humana se ha convertido en otra de las fuerzas modificadoras del clima (Barnett y colaboradores (2005) y Byrt *et al.*, 2011). El cambio climático es provocado por el calentamiento global el cual, a su vez, es influenciado por el aumento de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmosfera, dicho cambio incide en los patrones de temperatura y precipitación del planeta, así como en la frecuencia y severidad de eventos extremos como huracanes, helada y sequias (Tett *et al.*, 2007).

La agricultura contribuye a la emisión de tres tipos de gases que participan en el efecto invernadero: el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O). En las ultimas décadas las concentraciones atmosféricas de estos gases han aumentado y seguirán aumentando en una tasa anual de 0.3%, 0.6% y 0.5% respectivamente (Burkett *et al.*, 2000). El nitrógeno es un componente esencial para cualquier cultivo, por ello el uso de fertilizantes orgánicos y minerales es una práctica que demanda la agricultura, sin embargo, la utilización masiva de fertilizantes nitrogenados en los suelos agrícolas ha dado lugar a un aumento importante en las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI),

destacando el óxido nitroso (N_2O), un potente gas implicado en la destrucción de la capa de ozono estratosférico, siendo actualmente el responsable del 7% del calentamiento global.

La peligrosidad de este gas se encuentra en que posee un potencial de calentamiento global de 310 veces superior al bióxido de carbono (CO_2) y al metano (CH_4), con un tiempo de permanencia en la atmosfera de 150 años (Mulvaney *et al.*, 2009). Cada año la agricultura contribuye de 10 a 12% de las emisiones de GEI a la atmósfera que equivalen a 5.1 y 6.1 Gt de CO_2 por año (Snyder *et al.*, 2007); estos valores solo incluye las emisiones agrícolas directas de este gas, que son principalmente de origen antropógeno estimándose en un 50% y se encuentra relacionado a procesos de fertilización nitrogenada, cambios de usos de suelo y practicas agrícolas, así como a procesos naturales. China y Estados Unidos son los países con mayor consumo de fertilizantes nitrogenados, y son los que tienden a emitir la mayor cantidad de GEI debido a que su agricultura es intensiva, llegando aplicar hasta 250 kg N ha^{-1} de fertilizante químico; de éste no todo este es aprovechado por la planta, ya que se pierde por los procesos de lixiviación o volatilización aproximadamente el 50% del nitrógeno, entre el 50% y 60% del fósforo y el 40% del potasio (Salvagiotti *et al.*, 2008); los fertilizantes nitrogenados demandan mucha energía, para producir una tonelada de fertilizante nitrogenado se necesitan tres toneladas de petróleo.

El sector que puede ser de los más afectados por el cambio climático, dada su alta dependencia del clima, es el agrícola y en consecuencia es prioritario prestar atención sobre los fenómenos asociados al calentamiento global como son los incrementos en temperatura, sequías, inundaciones, desertificaciones y climas extremos. La reducción en la producción de granos podrá ser mas del 30% (Piao *et al.*, 2007) si no se toman en cuenta los efectos del

cambio climático, además se tendrán suelos erosionados, con bajo contenido de materia orgánica, carbono y nutrientes, lo cual causaría baja productividad en los cultivos.

Fader y colaboradores (2010), señalan que, aunque el crecimiento de un cultivo es afectado por un grupo complejo de factores ambientales, los de mayor impacto son: la radiación fotosintéticamente activa, temperatura estacional, concentraciones de CO_2 y precipitación pluvial; de estos tres factores, el agua puede considerarse el primero en su importancia y el más determinante para la producción agrícola, una evidencia de esto es la relación entre el suministro de agua y el rendimiento de los cultivos (Di falco *et al.*, 2007).

Por otra parte, la temperatura medida o grados días (Howden *et al.*, 2007) ha mostrado una relación alta con el rendimiento; Dauber (2010) señaló que la radiación solar acumulada durante el desarrollo del cultivo también es determinante para la producción de biomasa.

3.3. El suelo, agente de vida

El subsistema edáfico es uno de los recursos más utilizados para satisfacer las necesidades humanas de alimentación, esparcimiento y es el hábitat de un gran número de poblaciones microbianas que interactúan con los diversos sustratos, estando muchas de éstas poblaciones asociadas a las raíces de las plantas, en un área de influencia conocida como rizosfera (Reyes *et al.*, 2007). En los microambientes de la rizosfera están asentadas poblaciones microbianas asociadas a la presencia de los exudados radicales los cuales participan en la dinámica de los ciclos bioquímicos, así como en la formación de microagregados rizosféricos ricos en metabolitos microbianos (Harmann *et al.*, 2008).

Por otro lado, la actividad microbiana influye en los procesos biológicos del suelo vinculados con la nutrición de los cultivos; la eficiencia en la utilización del carbono por los microorganismos está en función de la cantidad de substrato orgánico, humedad, temperatura y las características físicas del suelo (Birkhofer *et al.*, 2008; Khan, 2006).

La interacción entre la planta y los microorganismos en el suelo se puede explicar, describiendo todos los procesos que ocurren en esta zona; el concepto rizósfera fue descrito por Hiltner en 1904 como la zona de las raíces donde se estimula el crecimiento de los microorganismos; otros la definen como la región del suelo que está en íntimo contacto con la raíz de la planta y recibe directamente la influencia de ésta (Khan, 2005). Aunque esta definición es más compleja, refleja el equilibrio ecológico que se establece entre las poblaciones microbianas y las raíces de las plantas; en la actualidad sabemos que no sólo las bacterias actúan en la rizósfera, sino también hongos, actinomicetos, protozoarios, colémbolos y ácaros (Juan, 1998; Khan, 2005; Khan, 2006).

La vida de las plantas está condicionada por la existencia de esta amplia gama de microorganismos que viven asociados con ella, los cuales pueden influir en la absorción de nutrientes, por efecto directo sobre las raíces, sobre el medio, y competir directamente por los nutrientes del suelo (Lugtenberg *et al.*, 2009).

Estos microorganismos actuando principalmente desde la rizósfera, condicionan la nutrición y la salud de las plantas y por tanto el correcto funcionamiento de toda la biosfera. Se considera a la rizósfera como una zona de intensa actividad microbiana alrededor de las raíces, cuya influencia estimula o inhibe el crecimiento y aumenta la densidad de microorganismos, particularmente bacterias y hongos (Dobbelaere *et al.*, 2003; Uren, 2007).

Por otro lado, los procesos agrícolas, así como el manejo de los recursos naturales, inciden sobre el suelo afectando tanto la diversidad como la densidad de las poblaciones microbianas; la agricultura intensiva pueden conducir a la pérdida de fertilidad de los suelos y su progresivo empobrecimiento, que pueden ser influenciados por el manejo de residuos y el tipo de labranza utilizada (Olalde *et al.*, 1998; De la Garza *et al.*, 2000). La presencia de microorganismos es un indicativo que permite evaluar el beneficio de los sistemas de laboreo, así como el mantenimiento de la fertilidad del suelo (Villegas *et al.*, 2006).

3.4. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV)

Son un grupo de bacterias capaces de aumentar el crecimiento en las plantas y disminuir la incidencia de enfermedades causadas por fitopatógenos, además se estima que las BPCV son capaces de aportar sustancias nutritivas que estimulan el crecimiento radical y la absorción de nutrientes (Heidari *et al.*, 2011).

3.4.1. Aplicación de BPCV en cultivos de cereales.

Las BPCV son comúnmente utilizadas como inoculantes para mejorar el crecimiento y rendimiento de los cultivos agrícolas; éstas representan un componente esencial de la agricultura sustentable ya que mejoran la productividad de los sistemas agrícolas a largo y corto plazo (Ashrafuzzaman *et al.*, 2009). Muchas BPCV han mostrado un gran potencial para uso agrícola y protección del medio ambiente, como son: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Rhizobium* y *Serratia*. El mecanismo principal de biocontrol incluye la

producción de antibióticos como Fenazina-1-ácido carboxílico, 2,4-diacetil floroglucinol, omicina, fioluteorina, firrolnitrin, y canosamina (Piromyou *et al.*, 2011).

Las BPCV poseen la capacidad de colonizar y establecer una relación continua con las plantas, lo que resulta mayor absorción de nutrientes, altura de la planta, biomasa, así como aumento sustancial del rendimiento, mayor índice de área foliar y longitud de la raíz en los cultivos. Los efectos significativos de BPCV se han observado en diversos cultivos agrícolas, como legumbres, cereales, hortalizas, pastos, frutales y otras especies de plantas (Bashan *et al.*, 2005; Ashrafi *et al.*, 2011).

3.4.2. Relación entre planta y BPCV

Las BPCV comúnmente colonizan la rizosfera, aunque también hay especies que son capaces de colonizar los espacios intracelulares superficiales de las raíces de las plantas (Mishra *et al.*, 2012).

La composición del suelo cambia física y químicamente en el área cercana a la raíz por los exudados de la planta, se han observado cambios en el pH del suelo, potencial hídrico, presión parcial de oxígeno y características físico químicas (Barriuso *et al.*, 2008); el éxito de la colonización de la raíz por la introducción de las BPCV, es un proceso complejo dependiente de las características bacterianas, exudados radicales, y señalización celular entre la bacteria y la planta (Castro-Sowinski *et al.*, 2007).

La movilidad y la producción de polisacáridos son dos factores determinantes en el éxito de las BPCV para la colonización de la raíz (Lugtenberg, *et al.*, 2009); Por ejemplo, un tipo de Pili, que son estructuras en forma de pelos que se encuentran en la superficie de muchas bacterias como es el caso de *Pseudomonas fluorescens*, permite a estas bacterias

ser mas competitivas, ya que estas estructuras confieren la capacidad de desplazamiento para la colonización de la raíz (Martinez-Viveros *et al.*, 2010).

Los lipopolisácaridos contribuyen al crecimiento y supervivencia de las bacterias en la planta favoreciendo la colonización, así mismo ayudan a la creación de un micro-ambiente favorable, actuando como una barrera contra los compuestos defensivos de la planta y modulan las reacciones del hospedante. Los lipopolisácaridos de *Azospirillum brasilense* promueven significativamente la adherencia de esta bacteria a la raíz de la planta, lo que sugiere su papel en el proceso de adhesión (Compant *et al.*, 2010). Otro factores que influye en la colonización es la composición de los exudados de la raíz, ya que estos son específicos de cada especie de planta y contienen carbohidratos, proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, vitaminas y otros nutrientes que afectan el crecimiento y la fisiología de las poblaciones de rizobacterias (Singh *et al.*, 2007).

La abundancia y diversidad microbianas son determinadas por la composición de los exudados radicales y la capacidad de las bacterias para catabolizar diversos nutrientes, de tal forma que las poblaciones bacterianas cambian de acuerdo a sus requerimientos nutricionales y la disponibilidad de diferentes fuentes de carbono (Van Loon 2007).

3.4.3. Mecanismos de acción de las BPCV en cultivos

El mecanismo de acción de estas bacterias puede ser indirecto o directo; en el caso del mecanismo indirecto, las bacterias producen metabolitos inhibitorios del crecimiento de fitopatógenos, específicamente antibióticos y enzimas, y pueden secuestrar compuestos tóxicos existentes en el medio como son metales pesados (Choudhary *et al.*, 2009).

El mecanismo directo, se encuentra orientado básicamente a la solubilización de nutrientes como los compuestos fosfatados, que son transformados por las rizobacterias a formas solubles y asimilables por las plantas así como la fijación del nitrógeno que es llevada a cabo por bacterias que poseen la enzima nitrogenasa (Dell'amico *et al.*, 2005); también las rizobacterias liberan fitohormonas que estimulan el crecimiento como auxinas, giberelinas, citocininas y etileno (Choudhary *et al.*, 2009). De esta forma se ha planteado que las BPCV, no solo son capaces de fijar cantidades importantes de nitrógeno sino que también son capaces de ejercer un biocontrol en la rizósfera (Tsavkelova *et al.* 2007), pueden ejercer una influencia positiva en el crecimiento de las plantas al disminuir ciertos efectos nocivos de un organismo mediante la inducción de resistencia del huésped al patógeno (Van Loon *et al.*, 2007).

No hay una separación clara entre mecanismos directos e indirectos de acción de las BPCV, ya que ciertas bacterias poseen características múltiples para promover el crecimiento de las plantas (Shaharoon *et al.* 2008; Hafeez *et al.* 2006), de modo que la existencia de estas bacterias a temprana edad sería bastante beneficiosa para la planta, en especial en los cultivos como maíz, trigo, sorgo arroz y caña de azúcar que demandan grandes cantidades de fertilizantes químicos y agroquímicos (Velasco, 2001; Aliye *et al.*, 2008).

Una bacteria que influye en el crecimiento de plantas por la liberación de reguladores de crecimiento también puede desempeñar un papel en el control de patógenos o viceversa. Por lo tanto, la respuesta de la planta es un fenómeno complejo, los últimos avances en la investigación a nivel molecular han proporcionado una base sólida para entender estos mecanismos de una forma más precisa.

Las BPCV pueden promover en la planta el crecimiento mediante la mejora de la nutrición vegetal, modificación del crecimiento de las raíces y brindar tolerancia a factores de estrés extremos (Saleem *et al.* 2007). Sin embargo, un mecanismo de promoción de crecimiento puede ser más efectivo que otro cuando la planta esta expuesta a ciertas condiciones ambientales. Dey y colaboradores (2004), mencionan que las BPCV poseen más de un mecanismo para promover el crecimiento, sugiriendo que además de la actividad de ACC deaminasa, la supresión de fitopatógenos, la solubilización de fosfato y la producción de sideróforos podrían haber contribuido al mismo tiempo a la mejora del crecimiento, rendimiento y absorción de nutrientes en diferentes cultivos.

En el suelo existen bacterias que pueden disminuir la concentración de etileno en la planta, mediante la degradación del precursor del etileno, que es el 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC). Las bacterias llevan acabo este proceso a través de la ACC-desaminasa, enzima microbiana no presente en los tejidos vegetales que rompe la molécula de ACC y genera productos como: amonio y α -cetobutirato. Las bacterias con actividad de ACC-desaminasa colonizan las raíces y utilizan como fuente de carbono y nitrógeno al ACC presente tanto en la parte interna de las raíces como en exudados radicales.

El consumo del ACC por las bacterias induce la difusión de este compuesto hacia afuera de las raíces y provoca que disminuya la concentración interna del mismo, lo que reduce a su vez la concentración de etileno (Saraf *et al.*, 2010).

Por otra parte, Hafeez *et al.* (2006) atribuyó el aumento de crecimiento de las plantas a las características múltiples que poseen las BPCV; por ejemplo la producción de ácido indol acético, sideróforos y actividad fosfatasa de las cepas de rizobacterias mejoraron el crecimiento y rendimiento del trigo (*Triticum aestivum*) y maíz (*Zea mays*), además

favorecieron la germinación de semillas (Gül *et al.*, 2008); también las rizobacterias son importantes en el reciclaje de nutrientes, en la descomposición de materia orgánica y en la estructura del suelo (Shen *et al.*, 2008).

3.4.4. Fijación biológica de nitrógeno (FBN) en cereales

3.4.4.1. Bacterias fijadoras de nitrógeno

La principal fuente de N se encuentra en la atmósfera como N₂ el cual representa aproximadamente 78% de los constituyentes de ésta, es un gas inerte que no está disponible para las plantas (Peña y Reyes *et al.*, 2007). Las plantas no pueden absorber directamente el N₂ del aire y este debe ser fijado por microorganismos de vida libre o simbiótica.

La FBN es variable en el sistema suelo-planta, va a depender del tipo de microorganismo que esté presente en la rizósfera y de las condiciones del suelo y clima, cualquier deficiencia en los compuestos nitrógenados orgánicos e inorgánicos del suelo estimulan la fijación microbiana de N₂, es por ello que los microorganismos capaces de fijar nitrógeno son muy importantes para la sustentabilidad del suelo (Paredes *et al.*, 2009).

La fijación biológica del nitrógeno constituye la principal vía de incorporación de nitrógeno al ecosistema, que constantemente es reciclado a la atmósfera principalmente por la acción de microorganismos (Zhang *et al.*, 2010).

El N₂ puede ser fijado a través de la enzima nitrogenasa por microorganismos que se encuentran libres en su hábitat natural y aquellos que establecen simbiosis con leguminosas o especies forestales (Dobbelaere *et al.*, 2003), y también por descargas eléctricas; la fijación biológica del nitrógeno contribuye a las entradas de nitrógeno tanto en ecosistemas como en cultivos agrícolas. Varios microorganismos procarióticos de vida libre fijan

nitrógeno (diazotróficos), muchos son heterótrofos que necesitan un suplemento de carbono reducido y otros dependen indirectamente de la energía lumínica, en general requieren de un hospedero eucariótico que les proporcione carbono a través de los exudados radicales o bien de materia orgánica disponible en el ambiente (Erturk *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010).

La fijación de nitrógeno en la biosfera se estima en unos 275 millones de toneladas anuales, de las cuales 175 corresponden a la fijación biológica, 70 a la industrial y 30 a la espontánea (Akhtar *et al.*, 2009).

La fijación biológica aparece únicamente en bacterias, algas cianofíceas y actinomicetos, microorganismos procariotas que tienen la capacidad de reducir el nitrógeno atmosférico (N_2) a amonio (NH_4^+) mismo que puede ser utilizado por las plantas (Mantilla Paredes *et al.*, 2009). Entre los más de 60 géneros conocidos de microorganismos fijadores de nitrógeno se encuentran formas aerobias facultativas, anaerobias, autótrofas y heterótrofas, con hábitats muy diversos y con requerimientos nutricionales y ambientales muy heterogéneos (Naiman *et al.*, 2009).

Los organismos responsables de la fijación de nitrógeno contienen la enzima nitrógenasa y en ellos se incluyen bacterias organotróficas, bacterias sulfurosas fototróficas y cianobacterias. Venieraki *et al.* (2011) ha descrito especies representantes de varios grupos de procariontes que fijan nitrógeno tales como: bacterias fotosintéticas (*Rhodospirillum rubrum*), bacterias anaeróbicas (*Clostridium* spp.), microaeróbicas (*Azospirillum* spp., *Herbaspirillum* spp., *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Azorhizobium caulinodans*, *Azoarcus* sp, *Burkholderia* sp, *Klebsiella* sp.), bacterias aeróbicas

(*Azotobacter* spp., *Derxia* sp., *Beijerinckia* spp.), y también algunas especies de cianobacterias (algas verde-azules) y actinomicetos (*Frankia* spp.).

Se pueden caracterizar tres grupos de bacterias fijadoras de nitrógeno: las bacterias diazotróficas de vida libre, asociativas y simbióticas. Los diazótrofos de vida libre son heterótrofos, capaces de brindar una fuente de carbono utilizable necesario para la fijación del nitrógeno, estos microorganismos fueron los primeros en ser conocidos como es el caso de *Beijerinckia fluminensis* y *Beijerinckia indica*, aisladas de la rizósfera del suelo en plantas de caña de azúcar, demostrando su potencial en asociaciones con gramíneas y leguminosas (Prabudoss *et al.*, 2009).

Dentro de las bacterias de vida libre encontramos la familia *Azotobacteraceae*, que está representada en su mayoría por el género *Azotobacter*, el cual es aeróbico heterótrofo y fijador de nitrógeno, las especies más conocidas son *A. chroococcum*, *A. vinelandii* y *A. paspali.*, siendo esta última la más estudiada ecológicamente (Tejera *et al.*, 2005).

Las bacterias diazotróficas tienen la capacidad de asociarse con gramíneas dentro de las cuales se encuentran especies forrajeras utilizadas como alimento para la ganadería (Reis *et al.*, 2004); de acuerdo con Gamalero y Bernard (2011), éstas se dividen en endófitos facultativos (pueden colonizar tanto la rizósfera como el interior de las raíces) y endófitos obligados (colonizan el interior de las raíces). Respecto a los endófitos facultativos solamente después del redescubrimiento del género *Azospirillum* (grupo predominante) por Döbbelaere y Day en (1975), los científicos e investigadores mostraron interés por la asociación de diazótrofos con gramíneas; los microorganismos de este género

se encuentran tanto en el interior como en la superficie de las raíces de muchas gramíneas forrajeras.

La distribución ecológica de *Azospirillum* sp., es extremadamente amplia, siendo considerada como una bacteria universal que coloniza plantas que crecen en diferentes hábitats (Suman *et al.*, 2007). Otras especies de bacterias diazotróficas también han sido encontradas en plantas monocotiledóneas incluyendo el arroz, sorgo, caña de azúcar, y gramíneas forrajeras y en dicotiledóneas; algunas especies de *Azospirillum* son capaces de producir reguladores de crecimiento vegetal como el ácido indolacético (Mehnaz, *et al.*, 2007).

La característica de diazótrofos endófitos obligados fue descubierta recientemente y parece ser clave para explicar la gran eficiencia en fijar nitrógeno de estas bacterias, especialmente en los trópicos, en comparación con las asociaciones rizósfericas de otros cultivos. A este grupo de microorganismos pertenecen: *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *klebsiella pneumoniae* y *Bulkholderia* sp. (Saleem *et al.*, 2007).

Varias investigaciones han mostrado que las BPCV pueden estimular el crecimiento de plantas a través de producción de fitohormonas como son auxinas, giberelinas y citocininas (Khan *et al.* 2009; Wani *et al.* 2007; Afzal y Bano 2008). Por otra parte, la selección de BPCV capaces de solubilizar fosfatos y su uso en cultivos agrícolas puede incrementar el crecimiento de las plantas; por ejemplo Wu *et al.* (2005) inocularon *Bacillus megaterium* (solubilizador de fosfato), y *Bacillus mucilaginosus* (solubilizador de potasio)

en maíz y observaron incrementos en la absorción de P y K así como en la producción de biomasa.

Del mismo modo, Ahmad *et al.* (2008), encontraron que al inocular cultivos con la cepa *Bacillus* M3 mejoró significativamente el contenido de P, Fe, Mn y además la vida de anaquel del cultivo de frambuesa (*Rubus idaeus*), lo que sugiere que *Bacillus* M3 tiene el potencial de aumentar el valor nutritivo de las plantas de cereales y frambuesas. Los efectos positivos de las BPCV en la nutrición y el crecimiento de las plantas comúnmente resultan en mayor producción de biomasa y rendimiento de los cultivos.

Diversos estudios han documentado que la inoculación de BPCV puede incrementar el rendimiento de diferentes cultivos como cereales, hortalizas y frutales, lo cual depende de la cepa bacteriana, el cultivar, el suelo y el ambiente (Afzal *et al.* 2005; Mehrvarz *et al.*, 2008; Karlidag *et al.*, 2007; Pirlak *et al.*, 2007).

La utilización de microorganismos nativos fijadores de nitrógeno puede ser una opción tecnológica con el propósito de disminuir el exceso de la fertilización química, con las ventajas de reducir la contaminación del suelo y mantos freáticos, disminuyendo los costos de producción y mejorando la competitividad de los sistemas de producción agrícola (Vessey *et al.*, 2003).

De los 175 millones de toneladas de nitrógeno fijado anualmente por vía biológica, 140 millones de toneladas corresponden a ecosistemas terrestres, dentro de estos, 45 millones de toneladas son fijadas en tierras de cultivo, 45 millones de toneladas por prados, 50 millones de toneladas por áreas forestales y 10 millones de toneladas en pastos. Entre las bacterias fijadoras de vida libre, las más numerosas son las pertenecientes al género

Azospirillum y *Azotobacter*. En el caso de este último *A. Chroococcum* es la especie más abundante en los suelos neutros y alcalinos, mientras que otros como *A. Beijerinckia* domina en suelos ácidos. Entre las bacterias anaeróbicas destacan los géneros *Clostridium* y *Desulfovibrio* y entre las facultativas *Bacillus* y *Klebsiella*. Las cianobacterias en forma libre fijan nitrógeno hasta en 90 kg N ha⁻¹ año⁻¹ y son muy útiles en cultivos de zonas inundadas como el arroz, siendo *Anabaena*, *Nostoc*, *Gloecapsa*, *Oscillatoria* los géneros de cianobacterias encontrados con más frecuencia (Hameeda *et al.*, 2008).

3.4.5. Bacterias solubilizadoras de fosfatos

El fósforo (P) después del nitrógeno, es el nutriente inorgánico más requerido por las plantas y microorganismos tanto en sistemas terrestres como en acuáticos (Richardson *et al.*, 2009), se trata de un componente esencial de moléculas como RNA, DNA y ATP, así como de fosfolípidos (Han *et al.*, 2006). En el suelo es el factor limitante del desarrollo de las plantas a pesar de ser abundante tanto en formas inorgánicas como orgánicas (Hariprasad *et al.*, 2009).

Las plantas deben absorberlo del suelo, donde se encuentra en muy baja concentración, normalmente en niveles que varían entre 100 y 300 mg kg⁻¹ (Reyes *et al.*, 2006). Estos índices bajos del nutriente se deben a que el fósforo soluble reacciona con iones como el calcio, el hierro o el aluminio que provocan su precipitación o fijación, disminuyendo su disponibilidad para las plantas (Richardson y colaboradores 2009; Mishra *et al.*, 2012). Los fosfatos inorgánicos aplicados como fertilizantes químicos también son inmovilizados en el suelo y como consecuencia no son solubles para ser aprovechados por los cultivos (Wu *et al.*, 2005). Por lo tanto se considera, que la solubilización de distintas

rocas fosfatadas y de otras fuentes de fósforo inorgánico por los microorganismos del suelo es una alternativa fundamental para incrementar la cantidad de nutrientes disponibles para las plantas (Elser y Bennette 2011).

Entre los microorganismos solubilizadores de fosfato se encuentran las bacterias promotoras del crecimiento vegetal; estas bacterias son de vida libre en el suelo y son capaces de adaptarse, colonizar y persistir en la rizosfera de la planta lo cual favorece su desarrollo. Se han aislado de distintos suelos bacterias solubilizadoras de fosfato pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Mesorhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Erwinia* (Islam y Hossain 2012; Pradhan *et al.*, 2005).

Estos microorganismos crecen en medios con fosfato dicálcico, tricálcico, apatita o materiales insolubles similares como única fuente de fosfato y no solo asimilan el elemento sino que solubilizan una gran proporción del mismo, liberándolo en cantidades superiores a sus demandas nutricionales. El principal mecanismo microbiológico por el cual los compuestos fosfatados son solubilizados es la disminución del pH del medio por la liberación de ácidos orgánicos (Lim *et al.*, 2007). Se han descrito otros posibles mecanismos que incluyen la liberación de protones por la célula bacteriana y su intercambio por cationes (Ca^{++} , Fe^{++} y Al^{++}) que están unidos al fósforo o la producción de ácidos inorgánicos como el ácido sulfhídrico, ácido nítrico o ácido carbónico (Hariprasad *et al.*, 2009).

Si bien muchos géneros bacterianos presentan esta capacidad para solubilizar fósforo inorgánico, es de particular interés detectar esta habilidad en grupos que tengan otras

propiedades de promoción de crecimiento vegetal, como por ejemplo, capacidad para fijar nitrógeno atmosférico. Se han aislado microorganismos como *Azospirillum lipoferum*, *Azotobacter chroococcum* y *Paenibacillus polymyxa*, que además de ser fijadores libres de nitrógeno, son capaces de promover el crecimiento vegetal mediante la solubilización de fosfatos inorgánicos (Mamta *et al.*, 2009).

3.5. La rizobacteria *Paenibacillus polymyxa* con potencial en la agricultura

Filogenéticamente este grupo de bacterias pertenecen al género *Bacillus* y al filo *firmicutes* de la familia *Bacillaceae*, anteriormente se le conocía como *Bacillus polymyxa* y fue reclasificado por Ash *et al.* (1993-1994) como *paenibacillus polymyxa* (Trüper, 2005); son bacterias de forma bacilar, Gram positivas, aerobios estrictos o anaerobios facultativos, se caracterizan por formar endoesporas bacterianas, se pueden encontrar en diversos ambientes como: suelos, arcillas, piedras, vegetación, polvo, alimentos, ambientes acuáticos, en el estomago gastrointestinal de varios insectos y animales (Nicholson, 2002).

El género *Bacillus* comprende más de 89 especies anaerobias facultativas (Raza *et al.*, 2008). Este tiene la capacidad de desarrollarse (crecer) y vivir en diferentes ecosistemas, debido a que forma endoesporas, que son células especializadas, no reproductivas, producidas por pocas bacterias de la división *firmicutes*, su función primaria es asegurar la supervivencia en tiempos de tensión ambiental, son extremadamente resistentes al calor, al estrés hídrico, a los desinfectantes químicos y a la trituración mecánica; La formación de esporas se desencadena cuando faltan nutrientes o se acumula un exceso de productos del metabolismo celular, en condiciones de estrés y en ambientes desfavorables (Pliego *et al.*, 2007; 2008).

El 15% de la endoespora consta de calcio (Ca^{++}), el cual es responsable de la resistencia térmica de la espora; la estructura básica de una endoespora consta de núcleo (parte central que contiene dipicolinato de Ca^{++}), membrana de la endoespora, corteza (formada por peptidoglicano), exosporio que es la estructura más externa formada por glicoproteínas (Abriouel *et al.*, 2011).

Las especies de *Bacillus* son fenotípica y genotípicamente muy heterogéneas (Saleem *et al.*, 2009), y en consecuencia tienen diversas propiedades como son: la capacidad de degradar sustratos derivados de fuentes vegetales y animales, incluyendo celulosa, almidón, proteínas, hidrocarburos y biocombustibles (Lutz *et al.*, 2006).

Además algunas especies de bacterias Gram positivas (principalmente de los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporasarema* y *Thermoactinomyces*), disponen de una notable estrategia adaptativa cuando se ven sometidas a la privación de nutrientes en su medio ambiente tales como carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P); si éstos caen por debajo de un umbral se originan cambios genéticos, metabólicos y estructurales (proceso de esporulación y esporogénesis) en las bacterias, que conducen a la diferenciación en el interior de la célula vegetativa, liberando a la espora, que es capaz de permanecer en un estado criptobiótico (Abriouel *et al.*, 2011). Así mismo se producen dos tipos de antibióticos peptídicos, uno es solo activo contra bacterias gram-positivas y actinomicetos, el otro es activo contra hongos (Begley *et al.*, 2009). *P. polymyxa* tiene dos sitios de colonización preferenciales, el primero ubicado en la punta de la raíz en la zona de elongación, y el segundo en la zona de diferenciación de la raíz principal (Timumusik *et al.*, 2003), posiblemente porque estas zonas son ricas en nutrientes.

P. polymyxa se ha aislado de la rizosfera y raíces de diferentes cultivos como: sorgo, trigo, cebada, trébol blanco (Holl *et al.*, 1988), raigrás perenne, frijol (Petersen *et al.*, 1996), ajo (Kajimura y Kaneda, 1996), pepino (Han *et al.*, 2006), caña de azúcar y maíz (Timmusk *et al.*, 1999). Esta rizobacteria que promueve el crecimiento vegetal, ha traído gran interés por su gran potencial biotecnológico en diferentes procesos industriales, agrícolas y farmacéuticos, (Nakajima *et al.*, 1972; Kurusu *et al.*, 1987; Han y Clarke, 1990; Lee *et al.*, 1997; Lal y Silvia 2009; Liu *et al.*, 2009).

Varias cepas aisladas de *P. polymyxa* han demostrado promoción del crecimiento vegetal, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y actúan como mejoradores del suelo (Bashan y Holgüin 2002), además son capaces de producir enzimas hidrolíticas incluyendo proteasas, 3-glucanasas, celulasas, xilanasas, lipasas, amilasas y quitinasas que desempeñan un papel importante en el control biológico (Zhang *et al.*, 2008), también se han utilizado para la flotación de varios minerales (Deo y Nataranjas, 1998); las cepas de *P. polymyxa* producen una amplia variedad de metabolitos secundarios, incluyendo: auxinas, citocininas, enzimas líticas, compuestos antibacterianos y antifúngicos útiles para aplicaciones biotecnológicas (Timmusk y Wangner, 1999; Budi *et al.*, 2000; Alvarez *et al.*, 2006; Haggag y Timmusk, 2007; He *et al.*, 2007; Timmusk *et al.*, 2009).

Timmusk *et al.* (2005) reportaron que cepas de *P. polymyxa* forman biopelículas alrededor de la punta de la raíz y funcionan como una capa protectora para mejorar la tolerancia a la sequía y para impedir el acceso a los agentes patógenos, esto también lo corrobora Singh *et al.* (2006), quienes inocularon plántulas de cebada con *P. polymyxa* y las sometieron a estrés hídrico, observando que las biopelículas estaban implicadas en dar resistencia a la sequía y al ataque de patógenos; Mayak *et al.* (2004) encontraron resultados

similares en Maíz, además mencionan que al inocular el cultivo, con esta rizobacteria se obtuvo un incremento del 35% en el rendimiento comparado con el testigo.

Otros estudios se han enfocado al control biológico donde se ha utilizado con éxito *P. polymyxa*, para controlar *Botrytis cinérea*, quien es el agente causal del moho gris en el cultivo de fresa (Helbin, 2001), Así mismo la bacteria controla la pudrición de raíz en cultivos de melón y pepino causados por *Fusarium oxysporum* y *Pythium* spp. respectivamente (Yang *et al.*, 2004; Ryu *et al.*, 2006), además controla las enfermedades causadas por *Phytophthora palmivora* y *Aphanidermatum pythium* en arabis (Raza *et al.*, 2008).

Tupinamba *et al.* (2008) realizaron un estudio sobre la actividad antagonista de *P. polymyxa* cepa SCE2 contra hongos micotoxigénicos, el resultado mostró un amplio espectro de inhibición contra los diferentes hongos de estudio, inhibiendo *Micrococcus* spp. y *Aspergillus versicolor*, también fue eficaz en el control del tizón del chile causado por *Phytophthora* (Kim *et al.*, 2009); esta cepa de bacteria tiene efectos antagónicos contra nemátodos y parásitos de las plantas, incluyendo el nemátodo agallador *Meloidogyne incognita* (Son *et al.*, 2007; Khan *et al.*, 2006)

Se sabe que esta especie de rizobacteria actúa como agente promotor del crecimiento vegetal, originando efectos positivos cuando se aplica como inoculante, por ejemplo, incrementa la biomasa del cultivo de trigo hasta en un 57% (Mishra *et al.*, 2010), además aumenta el rendimiento del cultivo de lenteja, canola (Zhang *et al.*, 2008) soya y maíz en un 35% así como la elongación de las plantas (Siddiqui *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2008).

CAPÍTULO 4

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Material biológico

Se usó la cepa de rizobacteria *Paenibacillus polymyxa* BSP 1.1 que forma parte de la colección microbiana del laboratorio de Microbiología de Suelos, del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. La cepa originalmente fue aislada de la rizósfera de plantas de maíz, en un área agrícola de Toluca, Estado de México, el área se caracteriza por ser productora de cereales y otros cultivos, se encuentra a una altitud de 2400 msnm.

La variedad de maíz utilizada en el experimento fue un criollo de la localidad de San Pablo Ixayoc de grano blanco, el cual está adaptado a altitudes mayores de 2600 msnm y a las condiciones climatológicas de esa localidad; el ciclo biológico del maíz es de 6.5 meses.

4.2. Preparación del inoculante

Se reactivó la cepa en el medio agar nutritivo (AN), posteriormente se tomó una asada del cultivo bacteriano y se colocó en botellas que contenían 30 ml de caldo nutritivo, se dejó incubar en un agitador (marca New Brunswick S Cientific co. Edison, N.J., U.S.A. Modelo G-25), a 24°C por 72 horas a 180 rpm. La concentración del inóculo se determinó por la técnica de diluciones y cuenta viable en placa, que consiste en hacer diluciones decimales del inóculo, sembrar alícuotas de estas diluciones en cajas Petri con medio de cultivo, y posteriormente cuantificar las unidades formadoras de colonias ($\text{UFC}_{\text{Log } 10}$). La concentración de inóculo en el medio de cultivo fue de $1 \times 10^9 \text{ UFC mL}^{-1}$.

Como soporte se usó turba, la cual fue molida y tamizada en una malla número 40; la turba es ácida por lo que está se neutralizó con carbonato de calcio (CaCO_3) para ajustar el pH a 6.5, posteriormente se adicionó 2 g de carbón activado a la turba para neutralizar los posibles residuos tóxicos que se pueden generar cuando se esteriliza el material. Después se esterilizó la turba en autoclave durante 3 horas a 18 libras de presión.

Una vez esterilizada la turba se adicionó el inóculo previamente preparado, se mezcló y se dejó incubar a 24 °C por dos semanas hasta obtener una concentración de 6×10^9 UFC g^{-1} de inoculante, de acuerdo a la federación Internacional de Agricultura orgánica (IFOAM, 2005).

4.3. Características del área de estudio

4.3.1. Ubicación del Sitio Experimental

El trabajo de investigación se realizó en la localidad de San Pablo Ixayoc, en el Municipio de Texcoco, Estado de México. El sitio está situado a 2600 msnm, ubicado al este de la Cd. de Texcoco, a una distancia de 8 kilómetros, al pie de la sierra nevada. Las Coordenadas del sitio experimental son: 19° 26' 46" latitud Norte, 98° 46' 18" longitud Oeste.

4.3.2. Características agroclimáticas

El área donde se llevo a cabo el experimento presenta una precipitación de 800 a 1000 mm con régimen de lluvias en verano y temperatura media anual de 14 a 15 °C (CONAGUA 2012). En el año anterior se estableció maíz en la parcela experimental.

4.3.3. Características edáficas

El tipo de suelo pertenece al grupo cambisol húmico (FAO 1999), con 37.54% de arena, 37.03% de limo y 25.43% arcilla; presenta un contenido de nitrógeno inorgánico de 26.46 mg kg⁻¹, y de fósforo asimilable de 10.70 mg kg⁻¹, con una densidad aparente de 1.15 g cm⁻³, y un pH de 5.7 considerado moderadamente ácido.

4.4. Establecimiento del experimento

4.4.1. Preparación del terreno

El barbecho se realizó de forma mecanizada con arado de discos, el 18 de noviembre del 2010, con el fin de incorporar los residuos de la cosecha anterior. El rastreo se realizó el 16 de diciembre del 2010, de forma mecanizada con el propósito de eliminar la primera generación de malezas. La nivelación se realizó el 20 de enero del 2011, su objetivo fue llenar los huecos que hayan quedado en el terreno y rasar los bordos para que no haya problemas de anegamiento. El surcado del terreno se realizó el 4 de marzo del 2011, con tracción animal.

4.4.2. Inoculación y siembra de la semilla

La inoculación de las semillas se realizó por la mañana bajo sombra para evitar la exposición a altas temperaturas; en un recipiente se colocaron las semillas, se adicionó un adherente (goma arábica al 2%) y se mezcló uniformemente con el fin de impregnar las semillas de maíz, luego se adicionó el inoculante mezclando homogéneamente hasta que las semillas quedaron totalmente cubiertas. La siembra se llevó a cabo el 4 de marzo del 2011, la distancia entre surcos fue de 80 cm y entre plantas de 30 cm, con una densidad de

siembra de 41, 750 plantas por hectárea; la siembra se realizó manualmente, y de igual forma las malezas se controlaron manualmente; el primer deshierbe fue a los 60 días después de la siembra (dds) y el segundo a los 90 dds.

4.4.3. Fertilización del cultivo

Todas las parcelas experimentales se fertilizaron con una dosis de 60 kg de P_2O_5 ha^{-1} , usando como fuente súper fosfato de calcio triple; esto fue en base a los resultados obtenidos del análisis de suelo, con los cuales se hizo el ajuste respectivo en la dosis empleada. La aplicación del fertilizante se realizó cuando las plantas estaban en la etapa de segunda hoja expuesta (2 meses después de siembra). Es importante señalar que el desarrollo de las plantas de maíz en las etapas iniciales fue lento, debido a las bajas temperaturas del suelo, y a la falta de humedad, cabe mencionar que el cultivo se sembró con humedad residual, esto para evitar que se viera afectado por las heladas tempranas.

4.4.4. Tratamientos y diseño experimental

El diseño experimental usado fue el de parcelas divididas con arreglo factorial completo de 2×3 , donde los factores de estudio fueron dos: el factor dosis de nitrógeno, que corresponde a la parcela grande con tres niveles de fertilización (0, 90 y 180 kg N ha^{-1}), el factor inoculación que correspondió a la parcela pequeña con dos niveles (con Inoculación 1I; sin Inoculación 0I). De la combinación de los factores de estudio se obtuvieron 6 tratamientos, cada uno con 3 repeticiones, con un total de 18 unidades experimentales.

Niveles de Inoculación:

- Maíz con inoculación (1I)
- Maíz sin Inoculación (0I)

Niveles de fertilización nitrogenada

- Maíz con 0 kg N ha⁻¹ (0N)
- Maíz con 90 kg N ha⁻¹ (90N)
- Maíz con 180 kg N ha⁻¹ (180N)

Se utilizó urea como fuente de nitrógeno; la aplicación del fertilizante en los tratamientos nitrogenados se llevo a cabo en dos tiempos, una mitad se aplicó cuando las plantas estaban en la etapa de segunda hoja expandida y la otra en etapa de séptima hoja expandida.

El tamaño de la unidad experimental fue de 33.6 m², cada unidad experimental consistió de siete surcos de 0.80 m de ancho por 6 metros de largo; la separación entre planta fue de 0.30 m, teniendo un total de 140 plantas en cada parcela; al momento de la recolección de datos se procedió a excluir 2 surcos de cada borde, en este caso el primero y el séptimo surco; teniendo un total de cinco surcos para evaluarse, 20 plantas por cada surco y 100 plantas por parcela completa.

4.4.5. Cuantificación de la población microbiana inoculada en la rizosfera

Se cuantificó la población de bacterias usando los medios de Agar Nutritivo (AN) para bacterias totales y Pikovskaya (PVK) para bacterias solubilizadoras de fósforo (Carrillo *et al.*, 1999). Se tomaron muestras de 10 g de suelo rizosférico y se colocaron en botellas que contenían 90 mL de agua esterilizada, luego se sometieron a calor a una temperatura de 90 °C, esto con el fin de destruir las células vegetativas de bacterias, lo cual hace más fácil identificar colonias pertenecientes a *Paenibacillus*, ya que forman esporas para sobrevivir al calor. De cada botella se realizaron diluciones decimales; se tomó una alícuota de 0.1 mL y se colocó en caja Petri con los medios ya mencionados por triplicado dejándose incubar por 48 horas para bacterias totales y 72 horas para bacterias solubilizadoras de fósforo. Se contaron todas las colonias que presentaban la morfología colonial representativa de *Paenibacillus polymyxa*, teniendo como comparación la cepa BSP1.1 de la misma especie y que fue la que se utilizó en el experimento. De igual forma se confirmó que las colonias eran Gram positivas a través de la tinción de Gram y observación al microscopio.

4.5. Variables de estudio en el cultivo de maíz

4.5.1. Contenido de humedad del suelo y variables climáticas

El contenido volumétrico de humedad se midió en cada unidad experimental, en los primeros 20 cm de profundidad del suelo, con un medidor de humedad TDR modelo 300 (Spectrum Technologies, Inc., de Plainfield, IL), a los 40, 120, 132, 134, 139, 160 y 181 días después de la siembra bajo condiciones de temporal.

Se obtuvieron los datos de temperatura de la estación meteorológica localizada en San Miguel Tlaixpan. La precipitación se midió diariamente de forma gravimétrica.

4.5.2. Rendimiento y componentes

Las plantas se cosecharon a madurez fisiológica, esto es a 196 dds. Para ello cada planta fue cortada en el punto de inserción con la raíz (cuello) y se separó la mazorca. El rastrojo se pesó y luego se tomaron submuestras que se pesaron y después se secaron en un horno a una temperatura de 70 °C, hasta peso constante. A partir del peso fresco y seco de la submuestra se determinó el peso seco total del rastrojo de cada parcela; se realizó la transformación a kg/parcela y luego a toneladas/ha.

A las mazorcas cosechadas en cada unidad experimental se les removió el olote y el grano el cual se ajustó a 12% de humedad; se contó el número de hileras y número de granos por hilera de cada mazorca y se obtuvo el promedio. También se obtuvo el peso de 100 semillas de cada mazorca expresado en gramos y se estimó el índice de cosecha (IC) con la fórmula $IC = (RE/RB) * 100$; donde RE= Rendimiento Económico (grano) y RB= Rendimiento Biológico (rastrojo), después se realizó la transformación a kg/parcela y luego a toneladas métricas ha^{-1} .

4.5.3. Contenido de nitrógeno en la biomasa aérea (rastrojo) y grano

El nitrógeno total se determinó con el método micro-kjeldahl, estandarizado por Etchevers (1988), para lo cual se tomó 0.1 g de material vegetal de cada parcela, se agregaron 4 mL de una mezcla de ácido sulfúrico (H_2SO_4) con ácido salicílico ($C_7H_6O_3$), y se dejó reposar por 15 horas, se adicionó 5 mg de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$),

calentando por 15 minutos, se dejó enfriar y se le agregó 1.1 g de una mezcla de 1 g de sulfato de potasio (K_2SO_4), 0.1 g de sulfato cúprico ($CUSO_4 \cdot 5H_2O$) y 0.01g de selenio metálico. Esta mezcla se sometió a una digestión húmeda colocándola a 36 °C durante cinco horas y posteriormente se dejó enfriar y se colocaron 7 mL de agua destilada por muestra. Para estimar el porcentaje de nitrógeno se realizó la destilación de las muestras digeridas con 10 mL de NaOH (10 N); cada muestra se recolectó en un frasco con 10 mL de una solución de ácido bórico con indicadores a pH 5 (H_3BO_3 , más verde de bromocresol y rojo de metilo), hasta obtener un volumen final de 50 mL. El producto de la destilación se tituló con una solución de H_2SO_4 (0.01 N), observando un cambio de coloración de verde a rosa.

4.5.4. Análisis químico del suelo

En una muestra compuesta, se determinó nitrógeno inorgánico ($mg\ kg^{-1}$) en el suelo de acuerdo con la metodología de la Norma Oficial Mexicana 2002, y fósforo disponible, pH mediante la metodología de Castellanos *et al.* (2000).

4.6. ANÁLISIS DE DATOS

4.6.1. Análisis estadístico SAS (Statistical Analysis System)

Los datos de las variables se analizaron usando el paquete estadístico SAS (Sistema para Windows 9.0); se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para detectar diferencias en los tratamientos.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Cuantificación de la población bacteriana en la rizosfera del maíz

En el análisis microbiológico sobre la cuantificación de bacterias totales a los 40 días después de la siembra se encontró que los tratamientos inoculados con la cepa *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1 presentaron el mayor número de bacterias totales y de bacterias solubilizadoras de fósforo con más de 4 y más de 2.1 unidades formadoras de colonias expresadas en logaritmo de base 10 ($\text{UFC}_{\log 10}$) respectivamente, en comparación con los tratamientos no inoculados, que presentaron el menor número de bacterias totales y solubilizadoras de fósforo con cerca de 3.6 y 2 $\text{UFC}_{\log 10}$ respectivamente; la excepción fue el tratamiento inoculado que fue fertilizado con 180 kg N ha⁻¹ (180N1I), que tuvo poblaciones de bacterias totales y solubilizadoras de fosfato similares al testigo sin inocular (Figura 2).

Castro *et al.* (2010) y Bradford *et al.* (2008), mencionan que los microorganismos necesitan de condiciones favorables tanto edáficas (humedad del suelo) como ambientales (precipitación) para colonizar la rizosfera y estos cambios tienen impactos directos e indirectos sobre los microorganismos. Sin embargo, Compant *et al.* (2005) señalan que otra limitante es la fisiología de la planta, la que causa un cambio en la comunidad microbiana de la rizosfera, por los exudados radicales que la propia planta libera; por ello el sistema radical no es colonizado de forma uniforme sino que varía, esto se explica por la abundancia y diversidad de compuestos presentes en los exudados radicales que liberan las

plantas como son: aminoácidos, carbohidratos y otros compuestos que proporcionan una fuente de nutrientes para los microorganismos (Piromyou *et al.*, 2007).

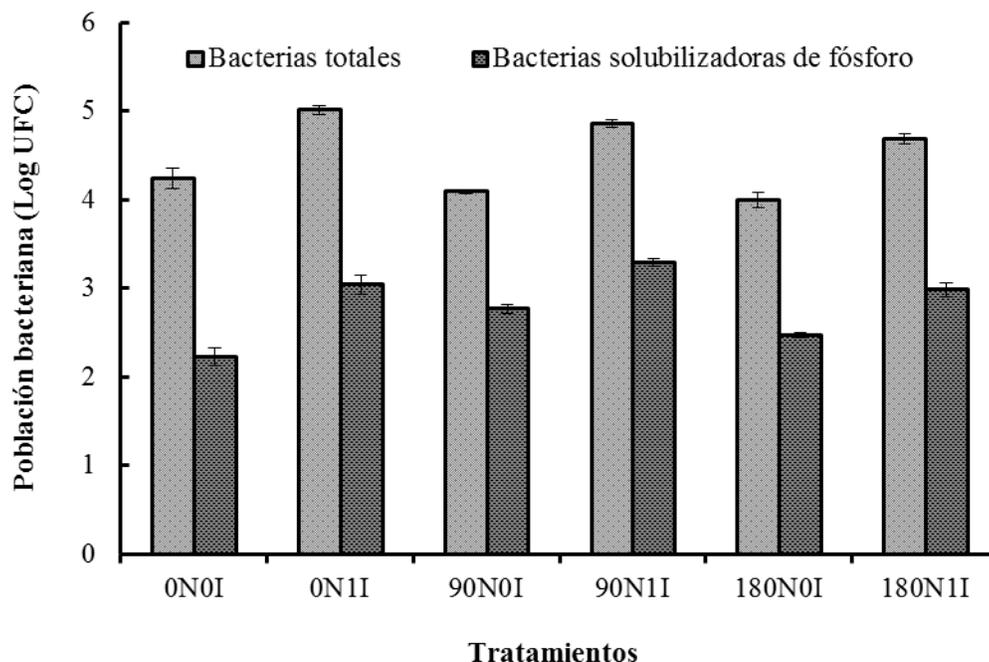


Figura 2. Población bacteriana presente en la rizosfera de maíz a los 40 días después de la siembra, bajo condiciones de temporal. 0N0I = Testigo; 0N1I = Inoculado; 90N0I = 90 kg N ha⁻¹ sin inoculante; 90N1I = 90 kg N ha⁻¹ inoculado; 180N0I = 180 kg N ha⁻¹ sin inoculante; 180N1I = 180 kg N ha⁻¹ inoculado. Los tratamientos inoculados fueron con la cepa *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1. (Tukey $\alpha=0.05$). Con N = 3 repeticiones por tratamiento.

Bais *et al.* (2006) consideran que una rizosfera alta en bacterias es cuando en el suelo hay un número de 10^7 y 10^8 UFC g⁻¹, mientras que las densidades de la población en el rizoplano van desde 10^5 hasta 10^7 UFC g⁻¹. En el caso de nuestro estudio, las muestras de suelo rizosférico pasaron por un shock térmico de 90°C, esto para destruir las células vegetativas de bacterias que no pertenecían a *Paenibacillus*, por lo que sólo se cuantificaron aquellas que forman esporas y que presentaban una morfología colonial similar a la cepa de

rizobacteria inoculada, encontrándose que los tratamientos inoculados fueron los que presentaron mayor población en comparación con el testigo.

Esta es una forma muy gruesa de saber si nuestra cepa está presente, la diferencia detectada entre tratamientos inoculados y no inoculados en cuanto a la población de bacterias nos permite suponer que la cepa inoculada efectivamente se encuentra en la rizosfera, aun cuando el muestreo se efectuó a 40 días después de la inoculación, el cual es un tiempo relativamente corto para que la cepa prospere y se establezca en altos números.

En la etapa de floración a los 90 días después de la siembra la diferencia entre tratamientos inoculados y no inoculados fue más notoria en cuanto a la población bacteriana, se encontró que el tratamiento inoculado con *P. polymyxa* BSP 1.1. y sin fertilizante nitrogenado mostró el mayor número de bacterias totales con una carga bacteriana de 5 UFC_{Log 10} (0N1I) en comparación al testigo que tuvo una carga bacteriana de 4.24 UFC_{Log10}, seguido del tratamiento inoculado y fertilizado con 90 kg N ha⁻¹ (90N1I) el cual presentó una carga bacteriana de 4.86 UFC_{Log10}, este tratamiento tuvo además el mayor número de bacterias solubilizadoras de fosfato con una población de 3.29 UFC_{log10}; por otra parte el tratamiento fertilizado con 180 kg N ha⁻¹ sin inoculación (180N0I), fue el que presentó el menor número de bacterias totales y solubilizadoras de fosfato con un valor de 4 UFC_{log10} y 2.47 UFC_{log10} respectivamente en comparación con los tratamientos fertilizados e inoculados (Figura 3). Lo anterior puede deberse a la composición microbiana del suelo y a los exudados radicales que libera la planta, donde existe un flujo de compuestos orgánicos producto de la fotosíntesis y de la disponibilidad de nutrientes (Richardson *et al.*, 2009), además las raíces constituyen un excelente sistema de transporte y facilitan el intercambio de oxígeno.

Por otra parte, el alto número de bacterias totales en el tratamiento inoculado y sin fertilizante comparado con el testigo posiblemente se debió a que las bacterias de la cepa inoculada se multiplicaron y colonizaron la rizosfera (Piromyou *et al.*, 2007). Una de las principales características de la cepa *P. polymyxa* BSP1.1 usada en este trabajo es de solubilizar fosfato y fijar nitrógeno atmosférico, además puede soportar eventos de estrés hídrico, por la capacidad de producir endoesporas como cualquier especie de *Bacillus*.

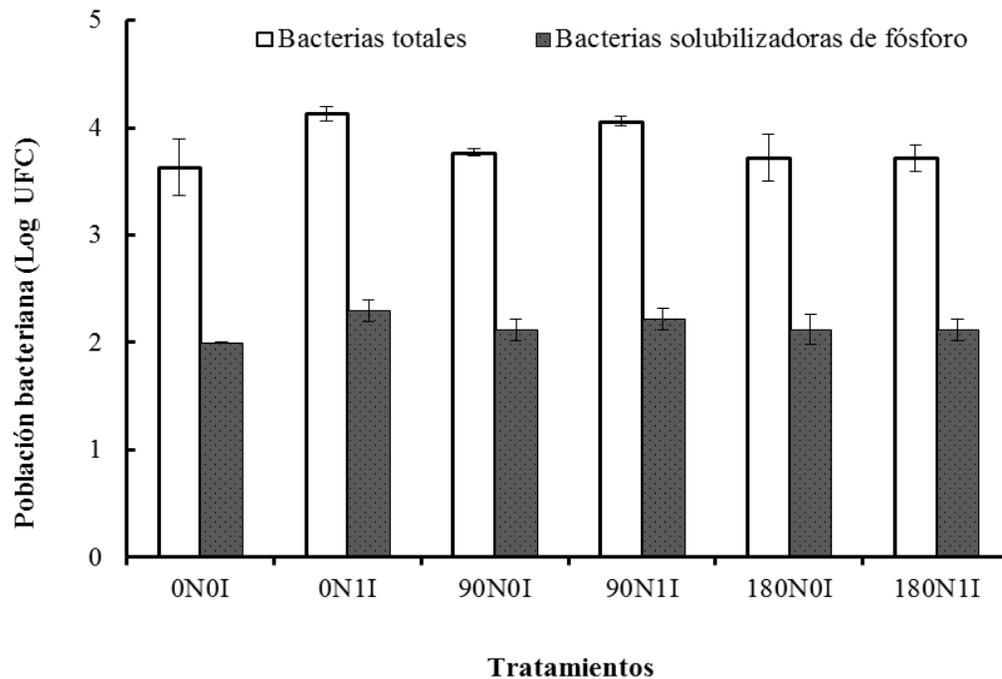


Figura 3. Población bacteriana presente en la rizosfera de maíz a los 90 días después de la siembra. 0N0I = Testigo; 0N1I = Inoculado; 90N0I = 90 kg N ha⁻¹ sin inoculante; 180N0I = 180 kg N ha⁻¹ sin inoculante; 90N1I = 90 kg N ha⁻¹ más inoculado; 180N1I = 180 kg N ha⁻¹ más inoculado. Los tratamientos inoculados fueron con *P. Polymyxa* BSP 1.1 (Tukey $\alpha= 0.05$). Con N = 3 repeticiones por tratamiento. medias \pm Error estandar.

En algunas investigaciones se ha observado que la inoculación de bacterias exógenas puede modificar a las poblaciones de los microorganismos nativos, y de la misma forma, un inoculante (bacterias) puede ser afectado por ellos, así como por las condiciones edáficas (humedad del suelo) y climáticas (temperatura) que tienen un efecto directo sobre los microorganismos (Rani *et al.*, 2009). Por lo tanto las bacterias nativas del suelo pueden tener un efecto (positivo o negativo) o ningún efecto sobre la eficacia de las BPCV (Castro-Sowinkiet *et al.*, 2007).

Por otra parte el tratamiento inoculado y fertilizado con 180 kg N ha⁻¹ tendió a presentar menor población de bacterias en comparación con los tratamientos inoculados, esto posiblemente se debe a que a dosis altas de fertilizante pueden modificar la exudación radical y por lo tanto a las poblaciones microbianas (Mia *et al.*, 2009). Cabe señalar que en los tratamientos inoculados, independientemente si fueron fertilizados o no-fertilizados, fue donde existió una mayor colonización bacteriana, esto pudiese ser un indicador de que la cepa de *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1 se estableció y proliferó en la rizosfera del cultivo (Figura 4); al comparar los tratamientos se observó una mayor colonización bacteriana en los tratamientos inoculados, (bacterias totales y bacterias solubilizadoras de fosfato) que en los otros tratamientos sin inocular.

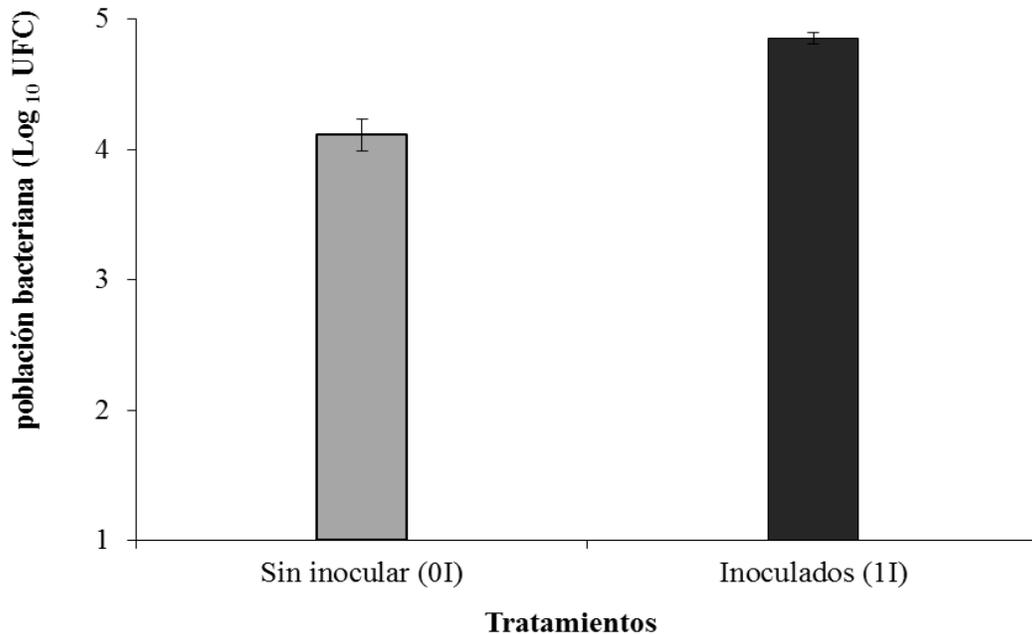


Figura 4. Población bacteriana presente en la rizosfera de maíz. Sin inocular (0I), Inoculados (1I). Los tratamientos inoculados fueron con *P.Polymyxa* BSP 1.1 (Tukey $\alpha= 0.05$). Con n = 3 repeticiones por tratamiento. medias \pm Error estandar.

5.2. Variables climaticas

5.2.1. Temperatura y precipitación

En los primeros cinco meses que corresponden al año 2011, la temperatura fue aumentando en forma creciente de enero hasta mayo, que fue cuando se alcanzó la mayor temperatura; para el mes de junio la temperatura empieza a decrecer, el mes más frío fue septiembre con un promedio de 17 °C (Figura 5).

La precipitación se distribuyó principalmente entre los meses de abril a noviembre; se registró muy poca lluvia en los primeros dos meses del establecimiento del cultivo, llegó a sobrepasar sólo los 25 mm en mayo. El temporal se estabilizó en el mes de junio donde alcanzó un valor de 152.5 mm, seguido del mes de julio donde se cuantificó la mayor precipitación con 265.6 mm. En el mes de septiembre, se presentaron las primeras heladas,

las cuales afectaron el desarrollo del cultivo, causando la disminución del rendimiento. Para los meses de noviembre y diciembre la precipitación fue de menos 20 mm. A diferencia de la temperatura, la precipitación decreció de agosto a diciembre 2011.

De acuerdo con las estadísticas del sistema meteorológico nacional (SMN), el total de la precipitación en esta temporada 2010-2011, se ubicó por debajo de la media anual y se categorizó como la cuarta temporada más seca desde invierno 1941-1942, misma que trajo consigo afectaciones severas para el sector agropecuario (CONAGUA, 2012).

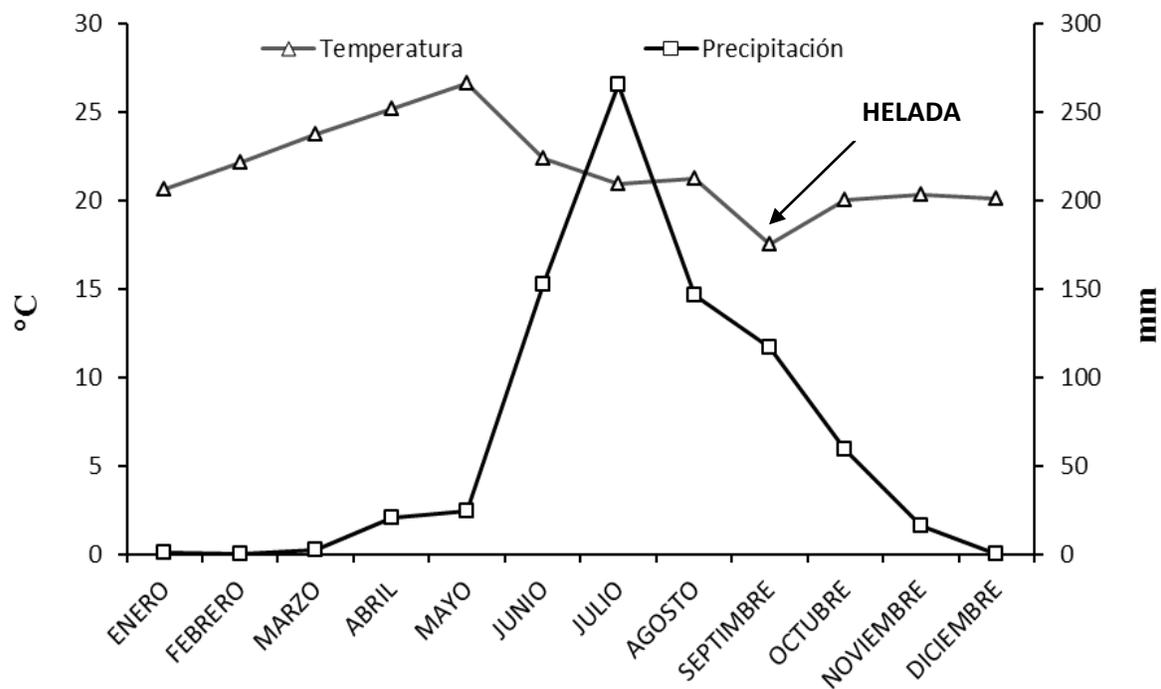


Figura 5. Promedio de temperaturas por mes y precipitación acumulada mensualmente en el año 2011. Datos obtenidos de la estación meteorológica de San Miguel Tlaixpan.

5.3. Contenido de humedad del suelo

La humedad del suelo se determinó a partir de que se estableció el temporal, durante el desarrollo vegetativo del cultivo de maíz, dado que los valores de esta variable fueron muy similares en todas las unidades experimentales se decidió obtener el promedio de humedad del sitio experimental a lo largo del desarrollo del cultivo (Figura 6). Solo se tomaron lecturas de esta variable en los días con precipitación entre los meses de mayo a septiembre, a los 40 días después de la siembra (mayo) se registró un contenido volumétrico de humedad en el suelo de 27%; así mismo a los 160 días después de la siembra (agosto) donde el cultivo se encontraba en la etapa de anthesis, se tuvo una humedad de 26%. Sin embargo la mayor retención de humedad del suelo ocurrió a los 181 días (septiembre), donde se observa un contenido de humedad de 37%, el cual fue mayor a lo registrado en los meses anteriores.

Cabe mencionar que el desarrollo del cultivo se vio afectado en la etapa de llenado de grano por heladas tempranas, escasa precipitación, lo cual perjudicó el rendimiento debido a una falta de translocación de nutrientes a la formación de grano (De vita *et al.*, 2007); aunado a lo anterior la falta de lluvia se vio limitada en las etapas tempranas del estado vegetativo del cultivo de maíz (marzo-abril), esto posiblemente tuvo algún efecto en el desarrollo de las plantas (Hong-ling *et al.* 2008; Alvarez y Steinbach 2009). Gambín *et al.* (2006), mencionan que en cultivos de granos como el maíz y la soya, existe una estrecha relación entre la dinámica de materia seca y el contenido de agua en los granos, ya que esto está estrechamente relacionado con el rendimiento del cultivo, y es una etapa crítica donde existe mayor asimilación de energía para la transformación de grano.

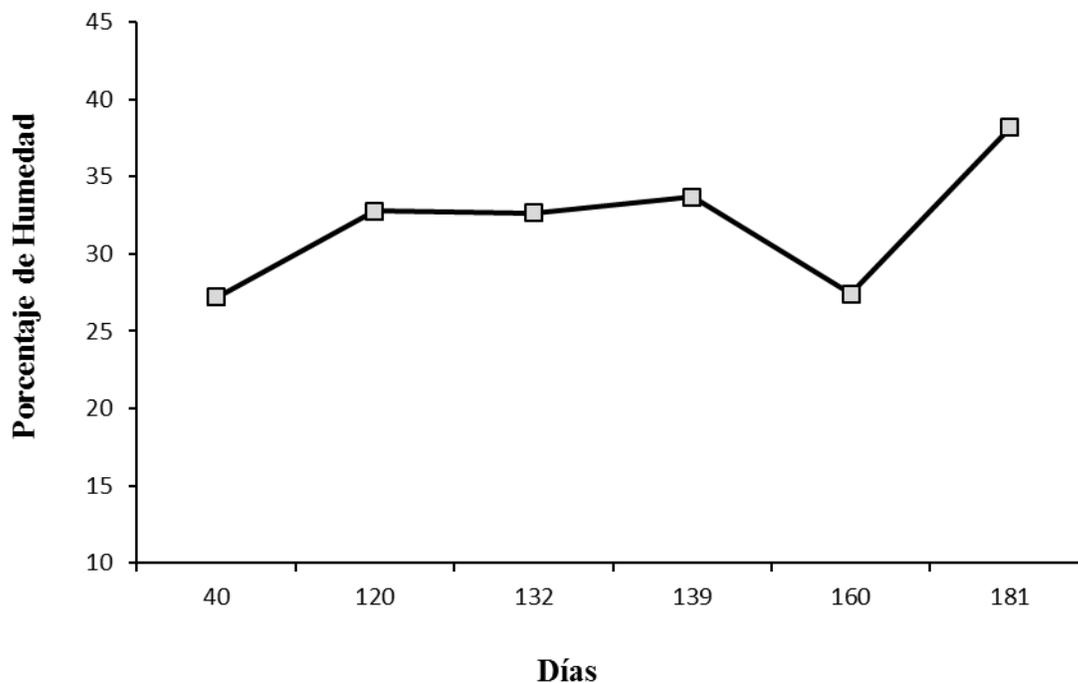


Figura 6. Contenido volumétrico de humedad del suelo en el sitio experimental durante el desarrollo vegetativo del cultivo de maíz, bajo condiciones de temporal. (Días) días después de la siembra.

5. 4. Variables de rendimiento

5.4.1. Número de Hileras en la mazorca del maíz

En los tratamiento de 90 kg de N ha⁻¹ tanto inoculado como no inoculado (0N0I, 0N1I) no se observan diferencias estadísticas en comparación con el tratamiento 180N0I, aunque éste tiende a tener mayor número de hileras en la mazorca, esto indica que hubo una ligera respuesta del cultivo a la dosis creciente de nitrógeno (Figura 7); el número de hileras en promedio fue entre 12 y 14 que corresponde al genotipo del maíz y hubo cierto efecto de las condiciones agroclimáticas (Borrás *et al.*, 2004).

Serna-López *et al.* (2011), mencionan que situaciones de estrés están estrechamente relacionadas a la formación del número de hileras y por lo tanto podría disminuir el rendimiento del cultivo.

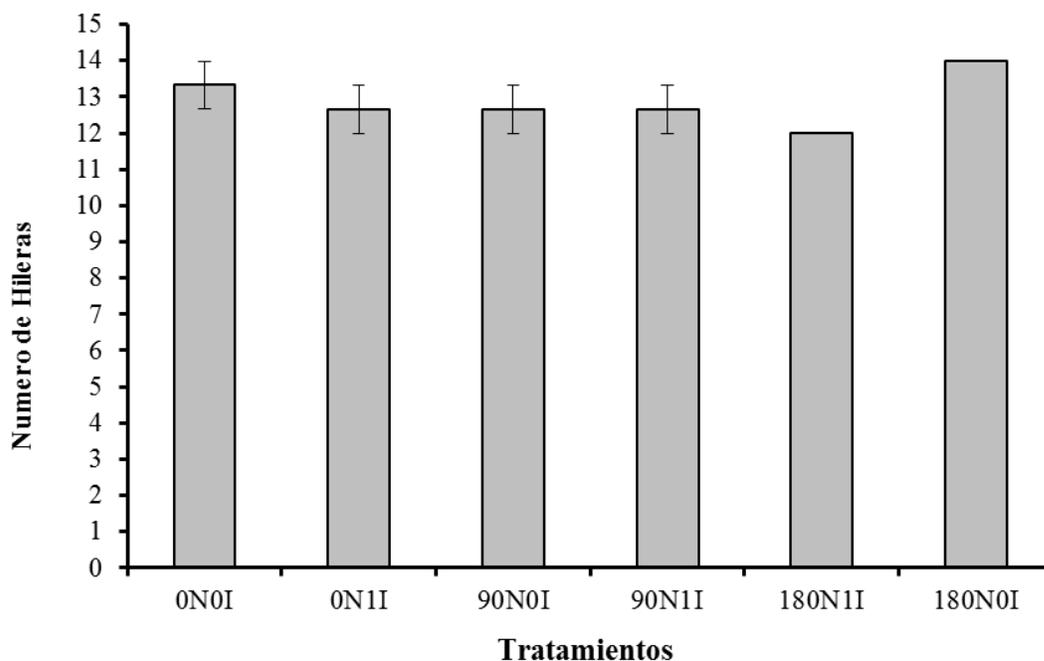


Figura 7. Número de hileras en la mazorca de maíz cosechadas a los 196 días después de la siembra. Testigo (0N0I), Inoculado (0N1I), Fertilizado 90 kg N ha⁻¹ (90N0I), Fertilizado 180 kg N ha⁻¹ (180N0I), Fertilizado 90 kg N ha⁻¹ más inoculado (90N1I), Fertilizado 180 kg N ha⁻¹ más inoculado (180N1I), n = 3, I = Error estandar.

5.4.2. Peso de cien semillas (PCS)

En la Figura 8 se observa, que el tratamiento fertilizado con 90 kg N ha⁻¹ e inoculado (90N1I) fue el mejor en esta variable con un peso de 32% más alto que el tratamiento sin fertilizar y sin inocular seguido por los tratamientos de 90 kg N ha⁻¹ sin inocular y el

inoculado sin fertilizar, con un incremento del 22% y 18.5% respectivamente en comparación con el testigo sin fertilizar y sin inocular.

Cabe mencionar que las BPCV tienen la capacidad de convertir los nutrientes no asimilables en formas disponibles para las plantas (Mantilla-Paredes *et al.*, 2009); en el presente estudio se observó que la inoculación por si sola, con la cepa *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1 aumentó el peso de las cien semillas en un 18.5%, y al complementarla con la dosis de 90 kg N ha⁻¹ el peso se incrementa en 32%, en cambio cuando se aumenta la dosis de fertilizante 180 kg N ha⁻¹ la respuesta disminuye. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Adesamoye *et al.* (2009) quienes encontraron que a dosis bajas de fertilización química en combinación con la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, las plantas presentaron mayor altura, peso seco y mayor rendimiento, pero cuando la dosis de fertilizante se incrementa ellos observaron que el efecto de la inoculación disminuye.

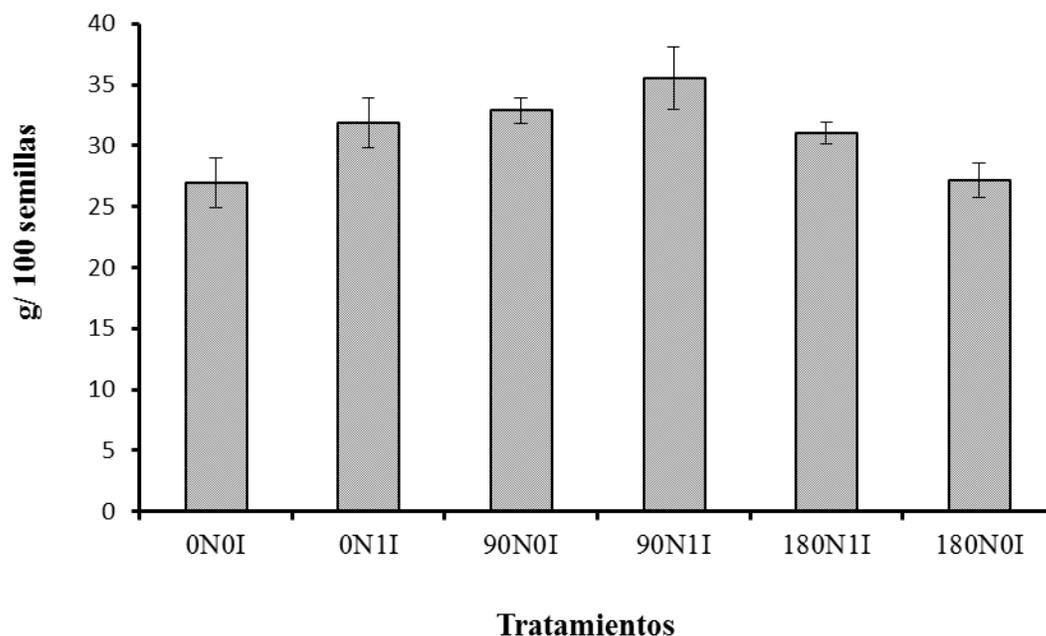


Figura 8. Efecto de la inoculación en el peso de cien semillas expresado en gramos (g). Testigo (ONOI), Inoculado (ONII), Fertilizado 90 kg N ha⁻¹(90NOI), Fertilizado 180 kg N ha⁻¹ (180NOI), Fertilizado 90 kg N ha⁻¹ más inoculado (90NII), Fertilizado 180 kg N ha⁻¹ más inoculado (180NII). n= 3 repeticiones por tratamiento, medias ± Error estándar.

5.4.3. Contenido de nitrógeno en el grano y rastrojo

En la Figura 9 se observa el contenido de nitrógeno en grano, donde el tratamiento con la dosis de 180 kg de N ha⁻¹ (180NII) en combinación con la inoculación de la cepa *P. polymyxa* BSP 1.1 fue el que presentó los valores más altos con respecto al tratamiento fertilizado con la misma dosis pero sin inocular, los cuales presentan valores de 58.09 kg N ha⁻¹ y 44.45 kg N ha⁻¹ respectivamente; en el caso de los tratamientos fertilizados con la dosis 90 kg N ha⁻¹ inoculados como no inoculados (90NII y 90NOI), estos presentan valores de 56.58 kg N ha⁻¹ y 33.09 kg N ha⁻¹ respectivamente; el tratamiento que solo se inoculó pero no se fertilizó tuvo un valor de 34.19 kg N ha⁻¹ superando al testigo el cual

su contenido de N en grano fue de 24.62 kg N ha⁻¹, en esta misma Figura se observa que el contenido de nitrógeno de la biomasa (rastrojo) presenta una tendencia similar a lo anterior; el nitrógeno en rastrojo es mayor en el tratamiento fertilizado con 180 kg N ha⁻¹ más inoculado con *P. polymyxa* BSP1.1 (180N1I) donde la cantidad de nitrógeno fue de 17.05 kg N ha⁻¹, seguido de los tratamientos 90 kg N ha⁻¹ tanto inoculado como no inoculado (90N0I y 90N1I) con contenidos de N de 14.38 kg, y 12.14 kg, respectivamente.

Esto posiblemente se debió a que la inoculación favoreció el crecimiento radical y la disponibilidad de nutrientes como ha sido discutido por Deepa *et al.* (2010) y Eifediyi *et al.* (2010) quienes mencionan que el mayor desarrollo radical conduce a una mayor superficie de raíz, dando como resultado una mayor nutrición y asimilación de los nutrientes por la planta, y por lo tanto esto es un factor clave en la promoción del crecimiento inducido por las BPCV.

En este estudio la planta extrajo de 20 a 28% más nitrógeno cuando se combinó la fertilización nitrogenada con la inoculación con respecto a los tratamientos que sólo llevaron las dosis 90 kg N ha⁻¹ y 180 kg N ha⁻¹ respectivamente.

Al comparar los tratamientos se observó que la combinación de 90 kg N ha⁻¹ más la inoculación con *P. polymyxa* mostró un incremento de 35 kg de N en grano más que cuando solo se fertilizó con la dosis de 90 kg N ha⁻¹; de igual forma cuando se combinó 180 kg de N ha⁻¹ e inoculación se obtuvo 25 kg de N ha⁻¹ más que cuando solo se fertilizó con la dosis respectiva. Por lo que se podría decir que la inoculación combinada con dosis de fertilización química tiene un efecto positivo tanto en el desarrollo del cultivo como en el rendimiento del mismo (Hameeda *et al.*, 2008).

Cabe mencionar que en esta investigación en la etapa de floración y llenado de grano (antesis), se presentaron heladas tempranas (Figura 5) lo cual afectó severamente a la planta, provocándole daños irreversibles e inhibiendo la producción de grano y por lo tanto la traslocación de nitrógeno al mismo. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Bassetti y Westgate (1993); Wilhem *et al.* (1999); Uhart *et al.* (1995); Zinselmeier y colaboradores (1995) y Gallais *et al.* (2004); Yang y colaboradores (2006), quienes mencionan que las etapas iniciales del periodo de llenado de grano son críticas para la determinación del rendimiento de grano (floración), de tal forma que la presencia de temperaturas altas, frecuentemente asociadas con sequías, y heladas tempranas afectan los procesos de polinización, fecundación y desarrollo del grano.

Esto se debe a la desecación del estigma y/o de los granos de polen y la reducción de la tasa fotosintética durante el periodo de llenado de grano, que afecta el número y llenado del mismo (De Souza *et al.*, 2008). Por lo que si el desarrollo de grano se ve afectado, por heladas tempranas, y sequías la demanda de nitrógeno disminuye y por lo tanto éste se queda inmovilizado en el rastrojo, tal fue el caso de esta investigación.

Hussain y colaboradores (2010), señalan que para maíz una temperatura mayor 35°C acompañada con una baja humedad relativa provoca desecación de los estigmas, y temperaturas superiores a los 35°C reducen la viabilidad del polen. En base a esto se estima que por cada grado centígrado (°C) que se incremente la temperatura por encima del óptimo (25°C), el rendimiento de grano se reduce un 3 a un 4%.

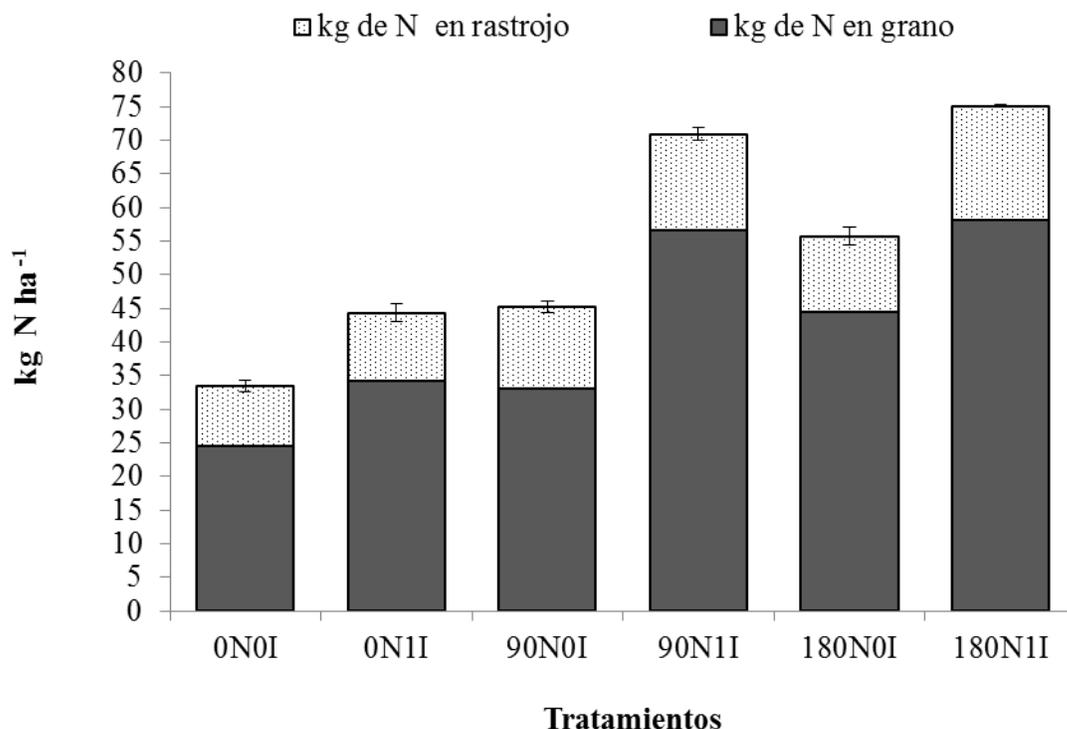


Figura 9. Contenido de nitrógeno en grano y en el rastrojo de maíz a los 196 dds. inoculado con la cepa *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1. Bajo condiciones de temporal. Las barras grises corresponden al N en la biomasa (rastrojo) y las barras negras al N en grano. 0N0I = Testigo, 0N1I = Inoculado, 90N0I = Fertilizado 90 kg N ha⁻¹, 90N1I = Fertilizado 90 kg N ha⁻¹ más inoculado, 180N0I = Fertilizado 180 kg N ha⁻¹, 180N1I = Fertilizado 180 kg N ha⁻¹ más inoculado. N= 3 repeticiones por tratamiento, medias ± Error estándar.

5.4.4. Rendimiento de grano y rastrojo en el maíz.

Al realizar el análisis de comparación de medias del rendimiento de grano, los tratamientos 90N1I y 180N1I, presentaron el mayor rendimiento con 3.29 t ha⁻¹ y 3.14 t ha⁻¹ respectivamente, superando al testigo, y a los demás tratamientos (Figura 10).

Esta misma tendencia se observó en el rendimiento de rastrojo del cultivo (Figura 11) donde los tratamientos 90 kg N ha⁻¹ y de 180 kg N ha⁻¹ en combinación con la inoculación presentaron rendimiento de rastrojo más altos con 10.08 t ha⁻¹ y 8.5 t ha⁻¹ respectivamente

en comparación con el testigo sin nitrógeno y sin inoculación que tuvo un valor de 5.26 t ha⁻¹; mientras que los tratamientos 90 kg N ha⁻¹ y 180 kg N ha⁻¹ tuvieron rendimientos de rastrojo de 7.04 t ha⁻¹ y 6.75 t ha⁻¹ respectivamente. Al comparar los tratamientos inoculados con los fertilizados se observa en la Figura 10 y en la Figura 11 que la combinación de una dosis al 50% más la inoculación presentó significativamente mayor rendimiento tanto en grano como en rastrojo con 86% y 58% respectivamente en comparación con el testigo sin fertilizar y sin inocular; este incremento se puede atribuir a que la inoculación con *Paenibacillus polymyxa* favoreció el crecimiento radical y la disponibilidad de nutrientes, (Eifediyi *et al.*, 2010), e incluso esta combinación fue mejor que el tratamiento 180 kg N ha⁻¹ sin inoculación.

Cuando se inoculó la rizobacteria en el tratamiento 180 kg N ha⁻¹, se incrementó más la biomasa que si sólo llevara el fertilizante, no obstante el efecto fue menor que la combinación de 90 kg N ha⁻¹ más inoculación. Probablemente porque hay algún efecto de la alta tasa de fertilización en la eficiencia de la cepa de rizobacteria para promover crecimiento o bien la colonización de la raíz por esta rizobacteria.

Estos resultados obtenidos concuerdan con lo observado por Mia *et al.* (2009), quienes mencionan que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal pueden incrementar las concentraciones de N y P, principalmente en donde la dosis de fertilizante es baja, mencionando que a dosis altas de fertilizante químico la bacteria es inhibida.

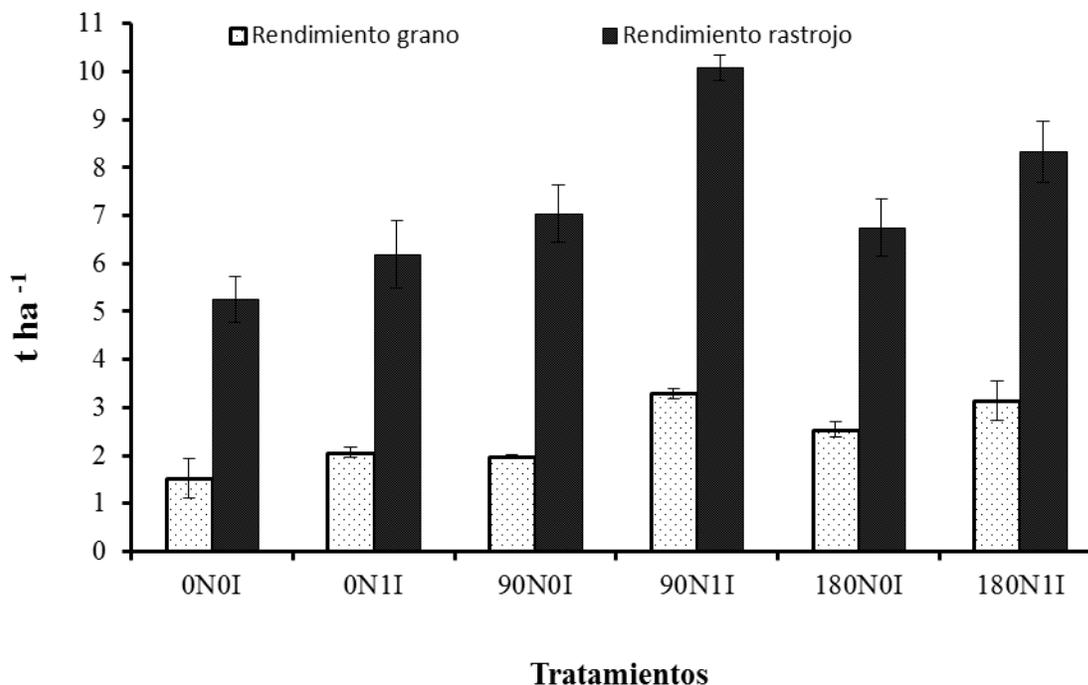


Figura 10. Efectos de la inoculación con la cepa *Paenibacillus polymyxa* en el rendimiento del cultivo de maíz, bajo condiciones de temporal. Las barras blancas corresponden al rendimiento de grano y las barras negras al rendimiento de rastrojo. 0N0I = Testigo, 0N1I = Inoculado, 90N0I = Fertilizado 90 kg N ha⁻¹, 180N0I = Fertilizado 180 kg N ha⁻¹, 90N1I = Fertilizado 90 kg N ha⁻¹ más inoculado, 180N1I = Fertilizado 180 kg N ha⁻¹ más inoculado. N = repeticiones por tratamiento, medias ± Error estándar.

Así mismo Adesemoye *et al.* (2009), encontraron que las plantas con dosis bajas de fertilizante mineral en combinación con la inoculación de BPCV presentaron mayor rendimiento, pero cuando la dosis de fertilizante se incrementó se obtiene menor respuesta a la inoculación con BPCV. Mientras que Mayak *et al.* (2004), encontraron que al inocular semillas de maíz con la cepa *P. polymyxa*, ayudan a dar resistencia. Martínez *et al.* (2011) mencionan que un sistema radical es más activo en la absorción de nutrientes en los primeros 20 cm del suelo, donde estos están más concentrados, mientras que las raíces profundas favorecen la adquisición de agua y la resistencia a sequía.

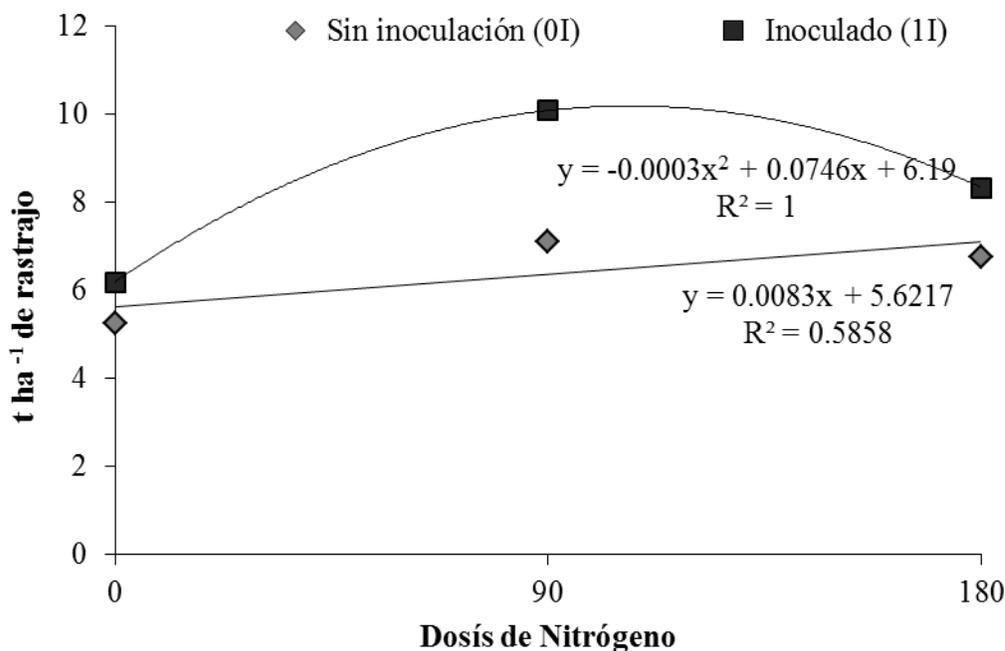


Figura 11. Niveles de nitrógeno (0, 90, 180 Kg N ha⁻¹), aplicado en el cultivo de maíz bajo condiciones de temporal, inoculados con *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1.

También se observó un déficit hídrico en el desarrollo de emergencia de la plántula, (marzo-abril) antes y durante la floración. Estos resultados concuerdan con lo señalado por Avendaño-Arrazate y colaboradores (2008), que mencionan que el déficit hídrico durante el desarrollo vegetativo tiene un efecto multiplicador sobre el rendimiento, porque reducen la formación de reserva.

Bergamaschi *et al.* (2006), encontraron que las heladas tempranas y el déficit hídrico ocurrido durante la floración tuvo un mayor impacto sobre el rendimiento. Por otro lado Dagdelen *et al.* (2006) y Monasterio *et al.* (2008), refieren que las etapas más sensibles del cultivo de maíz al déficit hídrico, en orden decrecientes son: floración, llenado de grano y desarrollo vegetativo, estas aportaciones concuerdan con esta investigación.

El cultivo se sembró con humedad residual (en seco), con el propósito de que no se viera afectado por las heladas tempranas, pero durante el desarrollo del cultivo el temporal se retrasó (desfasándose), lo cual afectó al desarrollo del mismo.

La aplicación de BPCV es una biotecnología que en países en desarrollo es una alternativa para la obtención de mejores rendimientos (Cassán *et al.*, 2009). La inoculación con BPCV puede proporcionar hasta el 31% de N que requiere el maíz, 40% de N que requieren las plántulas de palma de aceite; 20% del N que demanda el cultivo de arroz y hasta el 70% del N requerido por la caña de azúcar. Cabe mencionar que la solubilización de nutrientes se incrementa cuando se aplican bajas dosis de fertilizante en el suelo en contraste cuando la dosis del fertilizante es alta se presenta una disminución de la solubilización de nutrientes (Mia *et al.*, 2010).

5.4.5. Análisis químico del suelo

Al inicio y al final del experimento el N en el suelo fue de 26.5 y 9.3 mg kg⁻¹, lo que indica una disminución del N de 17.6 mg kg⁻¹, esto pudiese deberse a que el cultivo extrajo el N o posiblemente se pudo haber perdido por diversos procesos (desnitrificación, lixiviación y volatilización). En el caso del fósforo, los valores al inicio y fin del experimento fueron de 10.7 y 18.6 mg kg⁻¹, esto es, se incrementó el valor en 7.87 mg kg⁻¹ al compararlo con el valor inicial, esto puede deberse a que este elemento a diferencia del nitrógeno es poco móvil y se encuentra en mayor cantidad dado que se aplicó una dosis de 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ y posiblemente también debido a la capacidad solubilizadora de fosfato de la rizobacteria inoculada, estos resultados concuerdan con Ordookhani *et al.* (2011) y Deepa *et al.* (2010) quienes mencionan que muchos microorganismos en el suelo son

capaces de solubilizar fósforo, principalmente los pertenecientes al género *Bacillus*, y convertirlo a formas más disponibles para las plantas, o que como el fósforo es un elemento poco móvil tiende a encontrarse en mayor cantidad en el suelo.

5.4.6. Índice de Cosecha (IC)

Los valores más altos de IC corresponden a los tratamientos 90 kg N ha⁻¹ y 180 kg N ha⁻¹ ambos inoculados con la cepa de rizobacteria *P.polymyxa* BSP1.1 (Figura 12), que mostraron valores de 0.38 siendo los mas altos, seguido de los tratamientos 90 kg N ha⁻¹ y el tratamiento inoculado sin fertilizante los cuales obtuvieron valores de 0.34 y 0.33 respectivamente. Fernández (1995), y Di Fonzo y Col (1982), mencionan que el índice de cosecha responde a una característica del genotipo más que a factores ambientales, no obstante mencionan que la fertilización nitrogenada puede influir. En un experimento Fernández (1995), reportó que la fertilización, modificó el índice de cosecha en aplicaciones con 200 kg de N ha⁻¹, obteniendo un IC de 0.44, estos resultados coinciden con lo encontrado en está investigación, a medida que se incrementa la dosis de N se incrementa el índice de cosecha, en ese mismo estudio ellos aplicaron diferentes dosis de N y observaron que cuando aplicaban 500 kg N ha⁻¹ el IC fue de 0.54.

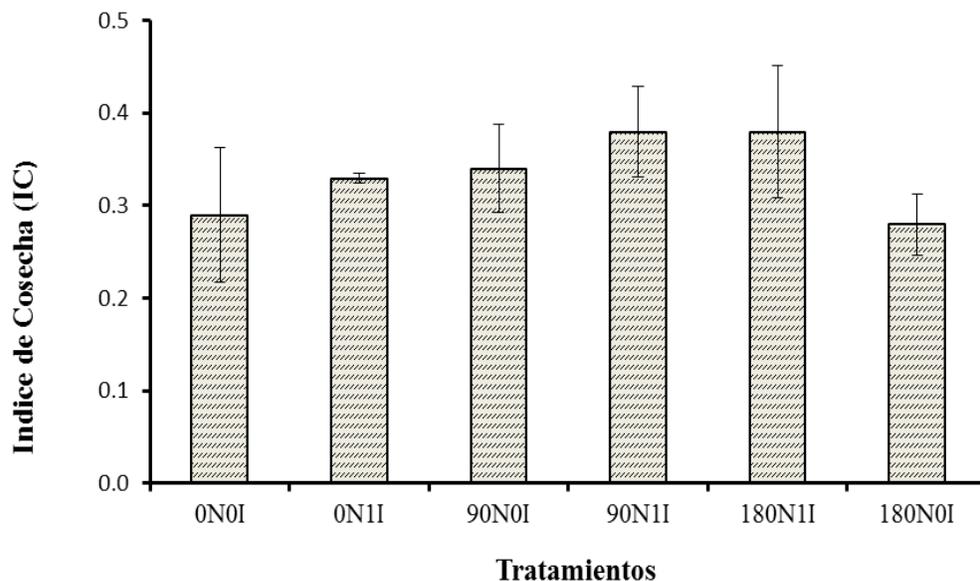


Figura 12. Medias de índice de cosecha en el cultivo de maíz, inoculado con la cepa *Paenibacillus polymyxa*. 0N0I = Testigo, 0N1I = Inoculado, 90N0I = Fertilizado 90 kg N ha⁻¹, 180N0I = Fertilizado 180 kg N ha⁻¹, 90N1I = Fertilizado 90 kg N ha⁻¹ más inoculado, 180N1I = Fertilizado 180 kg N ha⁻¹ más inoculado. N= 3 repeticiones por tratamiento, medias ± Error estándar.

5.4.7. Efecto de los niveles de nitrógeno bajo dos niveles de inoculación sobre el rendimiento de maíz.

Se observa una respuesta positiva de la aplicación de dosis crecientes de nitrógeno en el rendimiento de grano (Figura 13), es decir, a medida que se aplica mayor cantidad de N el rendimiento se incrementa, este trabajo coincide con lo reportado por Shapiro *et al.* (2006), quienes realizaron aplicaciones crecientes de nitrógeno y observaron incrementos en el rendimiento tanto de biomasa como de grano, ellos aplicaron 252 kg de N ha⁻¹ y su rendimiento fue de hasta 10 t ha⁻¹ de grano; Martínez-Rueda *et al.* (2010) reportaron que a altas dosis de N se obtienen mayores rendimientos.

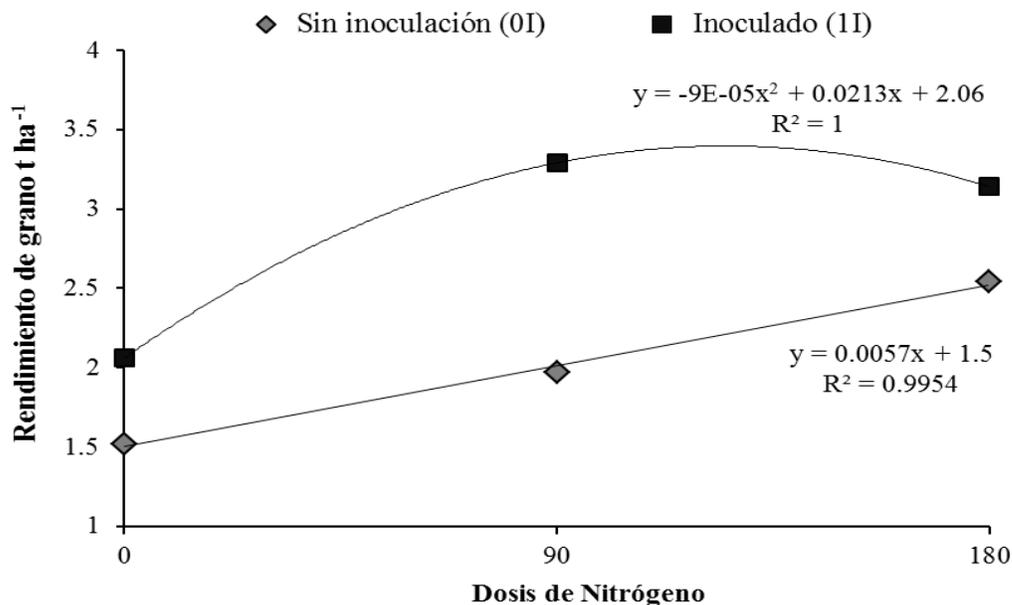


Figura 13. Regresión del efecto de los niveles de nitrógeno (0, 90 y 180 kg N ha⁻¹) bajo dos niveles de inoculación (inoculado y sin inoculación) sobre el rendimiento de grano en el cultivo de maíz.

No obstante para el caso de la inoculación no existe una interacción con la fertilización, independientemente si se fertiliza o no se fertiliza la planta es más eficiente en la tranlocación de nutrientes cuando se inocula y existe un incremento positivo en el rendimiento. En la Figura 13, se observa que cuando existe una mayor aplicación de N (180 kg N ha⁻¹) más inoculación la planta es menos eficiente, esto al comparar el rendimiento con una fertilización intermedia (90 kg N ha⁻¹) donde el incremento del rendimiento es mayor, estos resultados coinciden con lo reportado por Wu *et al.* (2005), quienes encontraron, que a bajos niveles de fertilización existe una mayor respuesta a la inoculación y por lo tanto esto se ve reflejado en el rendimiento del cultivo.

5.4.8. Relación entre el rendimiento del forraje y el rendimiento de grano.

Se observó una relación positiva entre el peso del forraje y el peso del grano de forma lineal (Figura 14), a medida que se incrementa el rendimiento del rastrojo el rendimiento de grano también se incrementa, esto concuerda con los resultados obtenidos por Salvagiotti *et al.* (2008), quienes mencionan que el forraje está estrechamente relacionado con el rendimiento de grano, y esto con la aplicación de nitrógeno; a medida que existe una mayor dosis de fertilización y las condiciones climáticas tanto edáficas como ambientales favorecen al cultivo, este se desarrolla de forma positiva y es más eficiente para trasladar mayor cantidad de azúcares y transformarlos a grano.

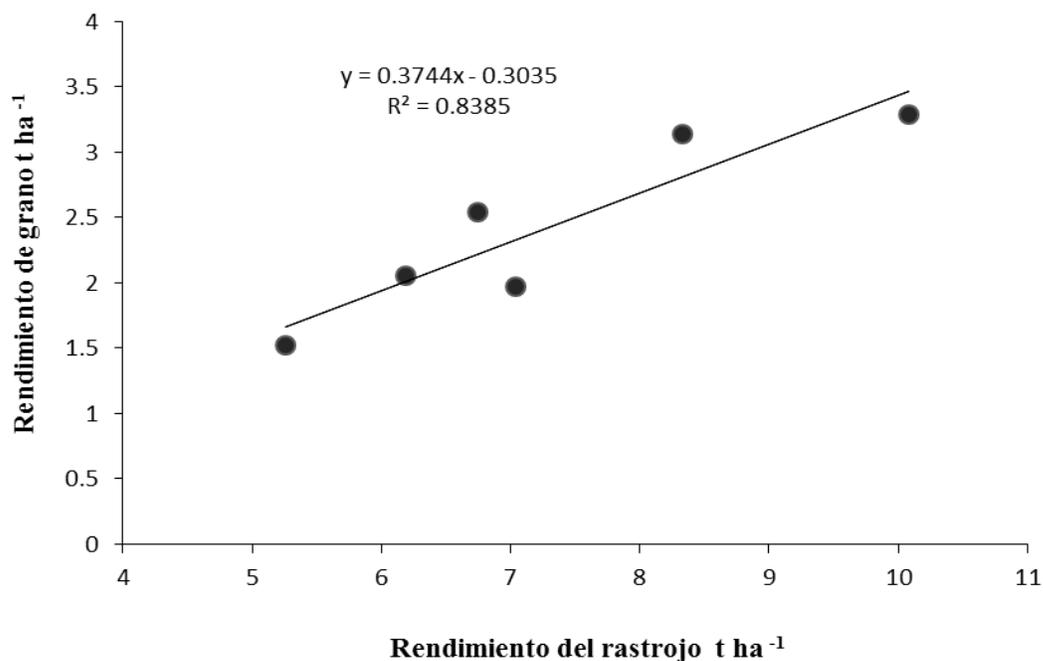


Figura 14. Relación entre el rendimiento del forraje y el rendimiento de grano en el cultivo de maíz fertilizado con niveles de 0, 90 y 180 kg N ha⁻¹ e inoculado con *P. polymyxa* BSP 1.1.

5.4.9. Efecto de dosis de N en el N de la biomasa del cultivo de maíz bajo dos niveles de inoculación.

Se observó una relación positiva entre las dosis de N aplicado y el nitrógeno asimilado en la biomasa, a medida que se incrementa la fertilización nitrógenada el N de la biomasa se incrementa de forma lineal (Figura 15), no obstante, cuando se inocula con *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1, la planta es más eficiente en la absorción de N y tiende a incrementar más el N en la biomasa a diferencia de cuando solo se fertiliza. Shapiro *et al.*, (2006), mencionan que la demanda del N aumenta con el rendimiento de la biomasa y este a la vez por la población de plantas. Suniaga *et al.* (2008) mencionan que no todo el fertilizante es absorbido por la planta, aproximadamente del 50 al 60 % del nitrógeno se pierde por diversos procesos.

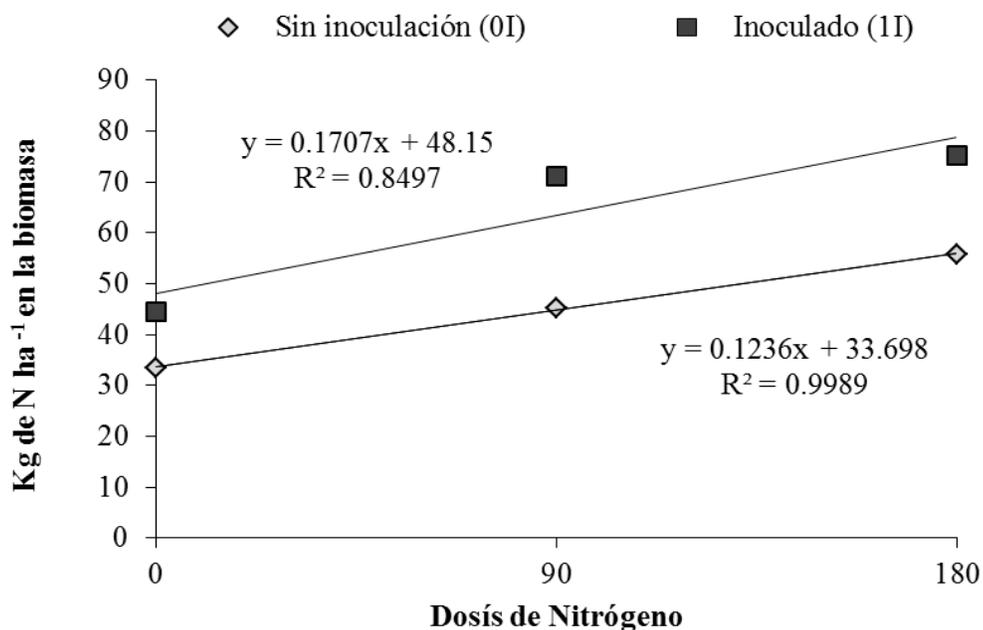


Figura 15. Efecto de dosis de nitrógeno en el N de la biomasa del cultivo de maíz bajo dos niveles de inoculación.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

- La aplicación de *Paenibacillus polymyxa* BSP 1.1, incrementó el rendimiento en grano, así como, el del rastrojo en un 45% en el cultivo de maíz.

- La inoculación con la cepa de rizobacterias incrementó la eficiencia de absorción de nitrógeno en la planta, y éste se reflejó en un mayor rendimiento de grano.

- La inoculación de *Paenibacillus polymyxa* BSP 1.1 en combinación con fertilizante nitrogenado condujo a una mayor producción de biomasa y grano en comparación con los tratamientos a los cuales no se les aplicó inoculante.

- La mayor respuesta del rendimiento de maíz a la inoculación con la rizobacteria *Paenibacillus polymyxa* BSP1.1 se encontró con la dosis 90 kg N ha⁻¹.

- Los tratamientos inoculados presentaron una mayor población de rizobacterias, las cuales posiblemente condujeron un efecto positivo en el cultivo de maíz.

CAPÍTULO 7

LITERATURA CITADA

- Abriouel**, H., M.A.P. Charles., F.N. B. Omar., A. Gálvez. 2011. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. FEMS Microbiology Reviews 35: 201-232.
- Acuña**, R. O., M. C. Miguel. 2010. Espejos de la crisis económica mundial: la crisis alimentaria y las alternativas de los productores de granos básicos en México. Argumentos 23: 189-209.
- Adesemoye**, A. O., H. A. Torbert and J. W. Kloepper. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. Microbiology Ecology 58: 921-929.
- Adesemoye**, A.O., H.A. Torbert and J.W. Kloepper. 2010. Increased plant uptake of nitrogen from ¹⁵N-depleted fertilizer using plant growth-promoting rhizobacteria. Applied Soil Ecology 46: 54-58.
- Afzal**, A., A. Bano. 2008. *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). International Journal of Agriculture Biology 10: 85-88.
- Afzal**, A., M. Ashraf., A.Saeed and A. Asad and M. Farooq. 2005. Effect of Phosphate Solubilizing Microorganisms on Phosphorus Uptake, Yield and Yield Traits of Wheat (*Triticum aestivum* L.) in Rainfed Area. International Journal of Agriculture Biology 7: 207-209.
- Ahmad**, F., I. Ahmad and M.S.Khan. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research 163: 173-181.
- Akhtar**, M. S., Z. A. Siddiqui. 2009. Use of plant growth-promoting rhizobacteria for the biocontrol of root-rot disease complex of chickpea. Australasian Plant Pathology 38: 44-50.
- Aliye**, N., C. Fininsa., Y. Hiskias. 2008. Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberosum*) against bacterial wilt (*Ralstonia Solanacearum*). Biological Control 47: 282-288.
- Allaby**, R. G., D. Q. Fuller and T. A. Brown. 2008. The genetic expectation of a protracted model for the origins of domesticated crops. The National Academy of Science PNAS 105: 13982-13986.
- Alvarez**, H.S., and Steinbach, R. 2009. A review of the effects of tillage systems on some soil physical properties, water content, nitrate availability and crops yield in the Argentine Pampas. Soil and Tillage Research 104: 1-15.

- Alvarez**, V.M., von der Weid, I., Seldin, L. and Santos, A.L. 2006. Influence of growth conditions on the production of extracellular proteolytic enzymes in *Paenibacillus peoriae* NRRL BD-62 and *Paenibacillus polymyxa* SCE2. *Lett Appl Microbiol* 43: 625-630.
- ANFFE**, 2010. (Asociación nacional de fabricantes de fertilizantes) (Disponible en http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/agricultura/estadisticas-medios-produccion/copia_2_de_default.aspx, Agosto, 2012).
- Ángeles**, G.E., T. E. Ortiz., P.A. López., R.G. López. 2010. Caracterización y rendimiento de Poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33:287-296.
- Ash**, C, Priest, F.G.Priest and M.D. Collins. 1993-1994. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test.. *Antonie van Leeuwenhoek* 64: 253-260.
- Ashrafi**, V and M. N. Seiedi. 2011. Influence of different plant densities and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield attributes of corn (*zea maize* L.) *Recent Research in Science and Technology* 3: 63-66.
- Ashrafuzzaman**, M., F. A. Hossen., M. R. Ismail., Md. A. Hoque., M. Z. Islam, S.M. Shahidullah and S. Meon. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology* 8: 1247-1252.
- Avendaño-Arrazate**, C.H., J. D.Molina-Galan., C. Trejo-López., C. López-Castañeda., J. Cadena-Iñiguez. 2008. Respuesta a altos niveles de estrés hídrico en maíz1. *Agronomía Mesoamericana* 19: 27-37.
- Bais**, P.H., T.L. Weir., G.L. Perry., S. Gilroy and J. M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57: 233-266.
- Barriuso**, J., B. R. Solano., R. G. Fray., M. Cámara., A. Hartmann and F. J. G. Mañero. 2008. Transgenic tomato plants alter quorum sensing in plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Biotechnology Journal* 6: 442-452.
- Bashan**, Y and L. E. de-Bashan. 2005. Plant Growth-Promoting. *In: Encyclopedia of soils in the environment*. Hillel, D. (eds). *Encyclopedia of soils in the environment* 103-115 p.
- Bashan**, Y., G. Holguin. 2002. Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. *Trees* 16: 159-166.
- Bassetti**, P and M.E. Westgate. 1993. Water deficit affects receptivity of maize silks. *Crop Science* 33: 279-282.

- Begley, M., P.D.Cotter., C.Hill and R.P. Ross.** 2009. Identification of a novel two-peptide lantibiotic, lichenicidin, following rational genome mining for LanM proteins. *Applied Environmental Microbiology* 75: 5451-5460.
- Berg, G.** 2009. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganism in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84: 11-18.
- Bergamaschi, H., G. A. Dalmago., F. Comiran., J.I. Bergonci., A.G.Müller., S. França, A.O. Santos., B. Radin., C. A. M. Bianchi., P.G. Pereira.** 2006. Deficit hídrico e produtividade na cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 243-249.
- Bernett, T.P., J.C. Adam and D.P. Lettenmaier.** 2005. Potential impacts of a warming climate on water availability in snow-dominated regions. *Nature* 438: 303-309.
- Birkhofer, K., T. M. Bezemer., J. Bloem., M. Bonkowski., S. Christensen., D. Dubois., F. Ekelund., A. Fließbach., L. Gunst., K. Hedlund., P. Mäder., J. Mikola., C. Robin., H. Setälä., F. Tatin-Froux., W. H. Van der Putten., S. Scheu.** 2008. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2297-2308.
- Bradford, M. A., C.A. Davies., S.D.Frey., T.R. Maddox, J.M. Melillo., J. E.Mohan., J. F. Reynolds, K. K. Treseder and M. D. Wallenstein.** 2008. Thermal adaptation of soil microbial respiration to elevated temperature. *Ecology Letters*. 11: 1316-1327.
- Brekke, L. D., M. D. Dettinger., E.P. Maurer and M.Anderson.** 2008. Significance of model credibility in estimating climate projection distributions for regional hydroclimatological risk assessments. *Climatic Change* 89: 371-394.
- Brush, S. B. and H. R. Perales.** 2007. A maize landscape: Ethnicity and agro-biodiversity in Chiapas, México. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 121: 211-221.
- Burkett, V. and J. Kusler,** 2000. Climate change: Potential impacts and interactions in wetlands of the united states. *Journal of the American Water Resources Association*. 36: 313-320.
- Byrt, C.S., P.L.G. Cristopher and R. T. Furbank.** 2011. C₄ plants as biofuel feedstocks: optimising biomass production and feedstock quality from a lignocellulosic perspective. *Journal of Integrative Plant Biology* 53: 120-135.
- Camacho, V., T.C. S. Chávez., J. L.** 2004. Diversidad Morfológica del Maíz Criollo de la región centro de Yucatan, México. *In: Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales.* J.L. Chavez-Servira, J. L; Tuxill, J. y Jarvis D.I. (eds). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. Cali, Colombia 47-57p.

- Carrillo**, A., E. Puente., T. Castellanos y Y. Bashan. 1998. Aplicaciones biotecnológicas de Ecología Microbiana. Manual de Laboratorio. Pontificia Universidad Javeriana y Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Bogotá, 51 p.
- Cassán**, F, S. Maiale., O. Masciarelli., A.Vidal., V. Luna., O. Ruiz. 2009. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *European Journal of Soil Biology* 45:12-19.
- Cassan**, F., D. Perrig., V.Sgroy., O. Masciarelli., C. Penna and V. Luna. 2009. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradurhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of soil Biology* 45:28-35.
- Castro**, F.H., A.T. Classen., E. E. Austin., J. N. Richard and C. W. Schadt. 2010. Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Applied and Environmental Microbiology* 76: 999-1007.
- Castro-sowinki**, S.,Y. Herschkovitz., Y. Okon and J. Eurkevitch. 2007. Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on resident rhizosphere microorganisms. *FEMS Microbiology Letters* 276: 1-11.
- Choudhary**, D. K and B. N. Johri. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. And plants - With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research* 164: 493-513.
- Chun-jie**, Li., Yu-ying Li., Chang-Bing Yu., Jian-Hao Sun., Peter Christie., Min an Fu Suo Zhang., Long Li. 2011. Crop nitrogen use and soil mineral nitrogen accumulation under different crop combinations and patterns of strip inter crop ping in northwest china. *Plant and Soil* 342: 221-231.
- Chun-jie**, Li., Yu-ying Li., Chang-Bing Yu., Jian-Hao Sun., Peter Christie., Min an Fu Suo Zhang., Long Li. 2011. Crop nitrogen use and soil mineral nitrogen accumulation under different crop combinations and patterns of strip intercropping in northwest china. *Plan Soil* 342: 221-231.
- Commuri**, P. D and R. J. Jones. High temperatures during endosperm cell division in maize. A genotypic comparison under in vitro and field conditions. *Crop Science* 41: 1122-1130.
- Compant**, S., B. Duffy., J. Nowak., C. Clément and E. A. Barka. 2005. Use of Plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanism of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 4951-4959.

- Compant, S., C. Clément., A. Sessitsch.** 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 669-678.
- CONAGUA,** Comision nacional del agua. “Climatología” (Disponible en <http://smn.cna.gob.mx/emas/graf/AG01temp.gif> Marzo, 2012).
- Dağdelen, N., E. Yilmaz., F. Sezgin., T. Gürbüz.** 2006. Water-yield relation and water use efficiency of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and second crop corn (*Zea mays* L.) in western Turkey. *Agricultural Water Management* 82: 63-85.
- Dastager, S. G., W.J.Li., I.Saadoun and M.Miransari.** 2011. Microbial diversity-sustaining earth and industry. *Applied and Environmental Soil Science*. 0.1155/2011/459195.
- Dauber, J., M.B.Jones and J. C.Stout .**2010. The impact of biomass crop cultivation on temperate biodiversity. *Global Change Biology Bioenergy* 2: 289-309.
- De la Garza, R. F. y M. Valdés.** 2000. Tamaño de la población microbiana del suelo y desarrollo inicial de *desmanthus virgatus* (L.).willd. *Agrociencia* 34: 445-451.
- De Souza, L.V., G.V.Miranda., J.C.C. Galvao., F. R. Ecker., E. E. Montovani., R. O. Lima and L. J. M. Guimaraes.** 2008. Genetic control of grain yield and nitrogen use efficiency in tropical maize. *Pesquisa Agropecuria Brasileira* 43: 1517-1523.
- De Vita, P., E. Di Paolo., G. Fecondo., N. Di Fonzo and M. Pisante.** 2007. No-tillage and conventional tillage effects on durum wheat yield, grain quality and soil moisture content in southern Italy. *Soil and Tillage Research* 92: 69-78.
- Deepa, C. K., S. G. Dastager., A. Pandey.** 2010. Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from non-rhizospheric soil and effect on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp.) seedling growth. *World Journal Microbiology Biotechnology* 26: 1233-1240.
- Dell’amico, E., L. Cavalca., V. Andreoni.** 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial *Graminaceae* from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 52: 153-162.
- Deo, N. and K.A. Natarajan.** 1998. Studies on interaction of *Paenibacillus polymyxa* with iron ore minerals in relation to beneficiation. *International Journal of Mineral Processing* 55: 41-60.
- Dey, R., K.K.Pal., D.M. Bhatt., S.M. Chauhan.** 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Resesearch* 159: 371-394.

- Di falco**, S., J.P. Chavas and M. Smale. 2007. Farmere management of production risk on degraded lands: the role of wheat variety diversity in the Tigray región, Ethiopia. *Agricultural Economics* 36: 147-156.
- Diaz**, J. R and R. Rosenberg. 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science* 321: 926-929.
- Dobbelaere**, S., J. Vanderleyden and Y. Okon. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 107-149.
- Dobereiner**, J. and J. M. Day. 1976. Associative symbioses in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. *In: Proceedings of the 1 st international symposium on nitrogen fixation* W.E.Newton and C. J. Nyman. (Eds). Washignton State University Press. 518-538 p.
- Doebley**, J. 2004. The genetics of Maize evolution. *Annual Review Genetics* 38: 37-59.
- Dong**, S., D. Neilsen., G.H. Nielsen., L.H. Fuchigami. 2005. Foliar N application reduces soil NO₃⁻-N leaching loss in apple orchards. *Plant and Soil* 268:357-366.
- Egamberdiyeva**, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology* 36: 184 -189.
- Eifediyi**, E. K and S. U. Remison. 2010. Growth and yield of cucumber (*Cucumis sativus* L.) as influenced by farmyard manure and inorganic fertilizer. *Journal of Plant Breeding and Crop Science* 2: 216-220.
- Elser**, J., E.Bennette. 2011. Phosphorus cycle: A broken biogeochemical cycle. *Nature* 478: 29-31.
- Engels**, J.M.M., A.W.Ebert., I. Thormann, and M.C.De Vicente. 2006. Centres of crop diversity and/or origin, genetically modified crops and implications for plant genetic resources conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 1675-1688.
- Erturk**, Y., S. Ercisli., R. Sekban., A. Haznedar., M.F. Donmez. 2008. The effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and growth of tea (*Camellia sinensis* varied *sinensis*) cuttings. *Roum Biotechnol Lett.* 13: 3747-3756.
- Esteva**, G. 2003. Los árboles de las Culturas Mexicanas In: Esteva, G. and C.Marielle (comps). *Sin Maíz No Hay País*. CONACULTA. Museo Nacional de las Culturas Populares. México, D.F. 154 p
- Etchevers**, B.J. 1998. Análisis químico de suelos y plantas. Centro de edafología. Colegio de postgraduados. Montecillo, Estado de México 803 p.

- Fader**, M., S. Rost,S., C. Müller., A.Bondeau and D. Gerten. 2010. Virtual water content of temperature cereals and maize: present and potential future patterns. *Journal of Hidrology* 384: 218-231.
- FAO**, 1990. Clasificación Mundial de Suelos. Organización de las Naciones Unidas. Roma, Italia.
- FAO**, 2009. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. The State of Food and Agriculture. (Disponible en <http://www.fao.org/docrep/012/i0680e/i0680e.pdf>, Junio, 2012).
- FAO**, 2010. Base de Datos de Estadísticas Agropecuarias. (Disponible en <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s01.htm> Agosto, 2011).
- FAO**, 2012. Base de Datos de Estadísticas Agropecuarias. (Disponible en <http://www.fao.org/corp/statistics/es/> Mayo, 2012).
- Figuroa-Viramontes**, U., J.A. Cueto-Wong., J. A. Delgado., G.H. Núñez.,D. Reta-Sánchez., H.M.Quiroga-Garza., C.R.Faz., J.L.M.Rojas. 2010. Estiércol de bovino lechero sobre el rendimiento y recuperación aparente de nitrógeno en maíz forrajero. *Terra Latinoamericana* 28: 361-369.
- Fortis-Hernández**, M., J.A. Leos-Rodríguez., P. Preciado-Rangel., I. Orona-Castillo., J.A. García-Salazar., J.L. García-Hernández., J.A. Orozco-Vidal. 2009. Aplicación de abonos orgánicos en la producción de maíz forrajero con riego por goteo. *Terra Latinoamericana* 27: 329-336.
- Gallais**, A and B. Hirel. 2004. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*. 55: 295-306.
- Gamalero**, E and B. R. Glick. 2011. Mechanisms Used by Plant Growth-Promoting Bacteria. *In* Bacteria in Agrobiolgy D.K. Maheshwari (eds.). Plant Nutrient Management, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 17- 46 p.
- Gambín**, B. L., Borrás, L and Otegui, M. E. 2006. Source sink and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Research* 95: 316.326.
- Gay**, C., F. Estrada., C. Conde.,, H. Eakin and L. Villeres. 2006. Potential impacts of climate change on agricultura: a case of study of coffee production in Veracruz, México. *Climatic Change* 79: 259-28.
- Giles**, E. D., Oldroyd and J.A. Downie. 2008. Coordinating nodule mprphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annual Review of plant biology* 59: 519-546.
- Glick**, R. B., B. Todorovic, J. Czarny, Z. Cheng, J. Duan and B. McConkey. 2007. Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences* 26: 227-242.

- Good**, A. G., A. K. Shrawat., D.G. Muench. 2004. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production?. *Trends in Plant Science* 9: 597-605.
- Gül**, A., F. Kidoglu., Y. Tüzel and I. H. Tüzel. 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growing in perlite. *Spanish Journal of Agricultural Research* 6: 422-429.
- Gyaneshwar**, P., G. N. Kumar., L.J.Parekh and P.S. Poole. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil* 245: 83-93.
- Hafeez**, F. Y., S. Yasmin., D. Ariani., M. Rahman., Y. Zafar and A. Malik. 2006. Plant growth-promoting bacteria as biofertilizer. *Agronomy for Sustainable Development* 26: 143-150.
- Haggag**, W. M and S. Timmusk. 2007. Colonization of peanut roots by biofilm forming *Paenibacillus polymyxa* initiates biocontrol against crown rot disease. *Journal Applied Microbiology* 104: 961-969.
- Hameeda**, B., G. Harini., O. Rupela., S.P. Wani., G. Readdy. 2008. Growth promotion of maize by phosphate solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiological Research* 163: 234-242.
- Han**, H. S., Supanjani and K.D. Lee. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil and Environment* 52: 130-136.
- Han**, Y. W. and M. A. Clarke. 1990. Production and characterization of microbial levan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 393-396.
- Hariprasad**, P and S. R. Niranjana. 2009. Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. *Plant and Soil* 316: 13-24.
- Hartmann**, A., M. Rothballer., M. Schmid. 2008. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil* 312: 7-14.
- He**, Z., D. Kisla., L. Zhang., C. Yuan., K.B. Green-Church and A.E.Yousef. 2007. Isolation and identification of a *Paenibacillus polymyxa* strain that coproduces a novel lantibiotic and polymyxin. *Applied and Environ Microbiology* 73: 168-178.
- Heidari**, M., S. M. Mousavinik. and A. Golpayegani. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) effect on physiological parameters and mineral uptake in basil (*Ocimum basilicum* L.) under water stress. *Journal of Agricultural and Biological Science* 6: 6-11.
- Helbig**, J. 2001. Biological control of *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. in strawberry by *Paenibacillus polymyxa* (Isolate 18191). *Journal of Phytopathology* 149: 265-273.

- Hiltner**, L. 1904. Über neue Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundzügen und Brauche. Arb. Dtsch. Landwirtschaftl. Ges. Berlin 98:59-78.
- Holl**, F. B., C.P. Chanway., R. Turkington and R.A.Radley. 1988. Response of crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and white clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. Soil Biology and Biochemistry 20:19-24.
- Hong-ling**, Q., W. S. Gao., Y. C. Ma., L. Ma., C.M. Yin., Z.Chen and C. Chen. 2008. Effects of subsoiling on soil moisture under No-tillage for two years. Agricultural Sciences in China 7: 88-95.
- Howden**, S. M., J. F. Soussana., F. N. Tobiello., N. Chhetri., M. Dunlop and H. Meinke. 2007. Adapting agriculture to climate change. The National academy of Sciences 104: 19691-19696.
- Hussain**, I., A. Wahid, M. Ashraf and S.M. A. Basra, 2010. Changes in growth and yield of maize grown in the glasshouse. International Journal of Agriculture Biology 12: 9-12.
- IFOAM**, 2005. International federation of organic agriculture movements. Disponible en http://www.inta.gov.ar/barrow/info/documentos/agricultura/maíz/informe_inocul_solubiliz.pdf junio, 2011.
- INEGI**, 2007 Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. (Disponible en <http://www.inegi.org.mx/> Marzo 2012).
- Islam**, T.M and Md. M. Hossain. 2012. Plant Probiotics in Phosphorus Nutrition in Crops, with Special Reference to Rice. *In* Bacteria in Agrobiolgy: Plant Probiotics. D.K. Maheshwari (eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg 325-363 p.
- Joo**, G., S. Kang, M. Hamayun, S. Kim, C. Na, D. Shin and I. Lee. 2009. *Bukholderia* sp. KCTC 11096BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium. The Journal of Microbiology 47: 167-171.
- Juan**, A. 1998. Efecto rizosfera del cultivo de maíz sobre algunas poblaciones microbianas y características químicas de un suelo tropical. Venesuelos 6: 39-45.
- Kajimura**, Y. and M. Kaneda. 1997. Fusaricidin A, C and D, new depsipeptide antibiotic produced by *Bacillus polymyxa* KT-8: isolation, structure, elucidation and biological activity. Journal of Antibiotics 50: 220-228..

- Kang, S., G. Joo, M. Hamayun, C. Na, D. Shin, H. Y. Kim, J. Hong and I. Lee.** 2009. Gibberellin production and phosphate solubilization by newly isolated strain of *Acinetobacter calcoaceticus* and its effect on plant growth. *Biotechnology Letters* 31: 277-281.
- Karakurt, H., R. Kotan., Z. F. Dadaşoğlu., R. Aslantaş and F.Sahin.** 2011. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set, pomological and chemical characteristics, color values, and vegetative growth of sour cherry (*Prunus cerasus* cv Kütahya). *Turkish Journal of biology* 35: 283-291.
- Karlıdag, H., A. Esitken., M. Turan., F. Sahin.** 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. *Scientia Horticulturae* 114: 16-20.
- Kato, T. A., C. Mapes, L. M. Mera, J.A. Serratos, R.A. Bye.** 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 116 p.
- Khan, A. G.** 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18: 355-364.
- Khan, A. G.** 2006. Mycorrhizoremediation-an enhanced form of phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science B* 7: 503-514.
- Khan, M.S, A. Zaidi., P. A. Wani.** 2009. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: a review. *Sustainable Agriculture* 27: 29-43.
- Kim, S.G., Z. Khan., Y. H. Jeon and Y.H. Kim.** 2009. Inhibitory effect of *Paenibacillus polymyxa* GBR-462 on *Phytophthora capsici* causing *phytophthora* blight in chili pepper. *Journal of Phytopathol* 157: 329-337.
- Kumar, M. V and A. Kumar.** 2012. Plant growth promoting and phytostimulatory potential of *Bacillus subtilis* AND *Bacillus amyloliquefaciens*. *Journal of Agricultural and Biological Science* 7: 509-519.
- Kurusu, K., K. Ohba., T. Arai and K. Fukushima.** 1987. New peptide antibiotics LI-FO3, FO4, FO5, FO7, and FO8, produced by *Bacillus polymyxa* I. Isolation and characterization. *The Journal of Antibiotics* 40: 1506-1514.
- Lal, S and S.Tabacchioni.** 2009. Ecology and biotechnological potential of *Paenibacillus polymyxa*: a minireview. *Indian Journal of Microbiology* 49: 2-10.

- Lee, I.Y., W.T. Seo., G. J. Kim., M. K. Kim., S.G. Ahn., G. S. Kwon and Y. H. Park.** 1997. Optimization of fermentation conditions for production of exopolysaccharides by *Bacillus polymyxa*. *Bioprocess Engineering*. 16: 71-75.
- Lim, B. L., P. Yeung., C. Cheng., J.E. Hill.** 2007. Distribution and diversity of phytate-mineralizing bacteria. *International Society for Microbial Ecology Journal* 1: 321-330.
- Liu, J., J. Luo., H. Ye., Y. Sun., Z. Lu and X. Zeng.** 2009. Production, characterization and antioxidant activities *in vitro* of exopolysaccharides from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* Ejs-3. *Carbohydrate Polymers*. 78: 275-281.
- Lucy, M. E. Reed and R. Bernard., R. Glick.** 2004. Applications of free living growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86: 1-25.
- Lugtenberg, B and F. Kamilova.** 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63: 541-56.
- Lutz, G., M. Chavarría., M. L. Arias., J.F. Mata-Segreda.** 2006. Microbial degradation of palm (*Elaeis guineensis*) biodiesel. *Revista de Biología Tropical* 54: 59-63.
- Mamta, P., R. Rahi., V. Pathania., A. Gulati., B.Singh., R.K.Bhanwra., R.Tewari.** 2009. Stimulatory effect of phosphate -solubilizing bacteria on plant growth, stevioside and rebaudioside-A contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Applied Soil Ecology* 46: 222-229.
- Mantilla-Paredes, J.A., G. I. Cardona., C. P. Peña-Venegas., U. Murcia., M. Rodríguez and M. M. Zambrano.** 2009. Distribución de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno y su relación con parámetros físicoquímicos en suelos con tres coberturas vegetales en el sur de la Amazonia colombiana. *Revista de Biología Tropical* 57: 915-927.
- Martinez, G. I., C. Ovalle., A. Del Pozo., H. Uribe., N.Valderrama., V. C. Prat., M. Sandoval., F. Fernandez and E. Zagal.** 2011. Influence of conservation tillage and soil wáter content on crop yield in dryland compacted alfisol of central Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71: 615-622.
- Martínez-Rueda, C. G.; Estrada-Campuzano, G.; Beltrán- Guzmán, V. V.; Ortega-Rojas, G. y Contreras- Rendón, A.** 2010. Contenido de agua en el grano y capacidad potencial de demanda en híbridos de maíz para valles altos. *Revista Fitotecnia Mexicana*.33: 95-100.
- Martínez-Viveros, O., M. A. Jorquera., D. E. Crowley., G. Gajardo and M. L. Mora.** 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria *Journal Soil Science Plant Nutrition* 10: 293-319

- Matsuoka, Y., Y. Vigouroux., M.M.Goodman., J.G.Sánchez., E. Buckler and J. Doebley.** 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. The National Academy of Sciences PNAS 99: 6080-6084.
- Mayak, S., T. Tirosh., B. R. Glick.** 2004. Plantgrowth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science 166: 525-530.
- Mehnaz, S., B. Weselowski and G. Lazarovits.** 2007. *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57: 620-624.
- Mehrvarz, S., M.R. Chaichi and H.A. Alikhani.** 2008. Effects of Phosphate Solubilizing Microorganisms and Phosphorus Chemical Fertilizer on Yield and Yield Components of Barely (*Hordeum vulgare* L.). American-Eurasian Journal Agriculture Environment. Science 3: 822-828.
- Mia, B. M.A., Z. H. Shamsuddin, Z. Wahab and M. Marziah.** 2010. Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa spp.* cv. 'Berangan'). Scientia Horticulturae 126: 80-87.
- Mia, B.M.A., Z.H. Shamsuddin, H., Z. Wahab and M. Marhiah.** 2009. The effect of rhizobacterial inoculation on growth and nutrient accumulation of tissue-cultured banana plantlets under low N-fertilizer regime. African Journal of Biotechnology 8: 5855-5866.
- Mishra, A., K. Prasad and G. Rai.** 2010. Effect of bio-fertilizer inoculations on growth and yield of dwarf field pea (*Pisum sativum* L.) in conjunction with different doses of chemical fertilizers. Journal of Aronomy 9: 163-168.
- Mishra, V. K and A. Kumar.** 2012. Plant growth promoting and phytostimulatory potential of *Bacillus Subtilis* AND *Bacillus Amyloliquefaciens*. Journal of Agricultural and Biological Science 7: 509-519.
- Mulvaney, R.L., S.A. Khan and T.R.Ellsworth.** 2009. Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: a global dilemma for Sustainable cereal production. Journal of Environmental Quality 38: 2295-2314.
- Naiman, A. D., A. Latronico., I. E. García de Salamone.** 2009. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact on the production and culturable rhizosphere microflora. European Journal of Soil Biology 45: 44-51.
- Nakajima, N., S. Chihara and Y. Koyama.** 1972. A new antibiotic, Gatavalin I. Isolation and characterization. Journal Antibiotic 25: 243-7.

- Nicholson**, W. L. 2002. Roles of *Bacillus* endospores in the environment. *Cellular and Molecular Life Science* 59: 410-416.
- Norma Oficial Mexicana. 2002.** NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 85 pp.
- Nuruzzaman**, M., H.Lambers., M.D.A.Bolland., E.J.Veneklass.2006. Distribution of carboxylates and acid phosphatase and depletion of different phosphorus fractions in the rhizosphere of a cereal and three grain legumes. *Plant and Soil* 281:109-120.
- Olalde**, P.V., L.I.A. Gómez. 1998. Microorganismos y biodiversidad. *Terra Latinoamericana*. 16: 289-292.
- Ordookhani**, K., S. Sharafzadeh and M. Zare, 2011. Influence of PGPR on growth, essential oil and nutrients uptake of Sweet basil. *Advances Environmental Biology* 5: 672-677.
- Ortega**, P.R. 2003. La Diversidad del maíz en México. ***In***: Sin maíz no hay país. Consejo Nacional Para la Agricultura y las Artes Esteva, G; C. Marielle. (Eds). Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, D.F. 154 p.
- Payne**, J. T., A.W. Wood., A. F. Hamlet., R. N. Palmer and D. P. Lettenmaier. 2004. Mitigating the effects of climate change on the water resources of the Columbia River Basin. *Climatic Change* 62: 233–256.
- Peña**, H. B y I. Reyes. 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Interciencia* 32: 560-565.
- Petersen**, J.D., M. Srinivasan and C.P. Chanway. 1996. *Bacillus polymyxa* stimulates increased *Rhizobium etli* populations and nodulation when co-resident in the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris*. *FEMS Microbiology Letters* 142: 271-276.
- Piao**, S., P. Friedlingstein., P. Ciais., N. De Noblet-Ducoudre., D. Labat and S. Zaehle. 2007. Changes in climate and land use have a larger direct impact than rising CO₂ on global river runoff trends. *The National Academy of Sciences PNAS* 104: 15242-15247.
- Pilak**, L. M. Turan., F. Sahin and A. Esitken. 2007. Floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) to apples increases yield, growth, and nutrient element contents of leaves. *Journal of Sustainable Agriculture* 30: 145-155.
- Pineda**, A., S.J. Zheng., J. J. A. Van-Loon., C. M. J. Pieterse and M. Dicke. 2010. Helping plants to deal with insects: the role of beneficial soil-borne microbes. *Trends in Plan Science* 15: 507-514.

- Piromy**, Buranabanyat, B., Tantasaweat. P., Tittabutr, P., Boonkerd, N. and Taumroong, N. 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *European Journal of Soil Biology* 47: 44-54.
- Piromy**, P., B. Buranabanyat., P. Tantasawat., P. Tittabutr., N. Boonkerd., N. Teaumroong. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *European Journal of Soil Biology* 47: 44-54.
- Pli**go, C., F.M.Cazorla., M.A.González-Sánchez., R.M. Pérez-Jimenez, A. de Vicente and C. Ramos. 2007. Selection for biocontrol bacteria antagonistic toward *Rosellinia necatrix* by enrichment of competitive avocado root tip colonizers. *Research Microbiology* 158: 463-470.
- Pli**go, C., S.De Weert., G.Lamers., A. De Vicente., G.V. Bloemberg., F.M. Cazorla and C. Ramos. 2008. Two similar enhanced root-colonizing *Pseudomonas* strains differ largely in their colonization strategies of avocado roots and *Rosellinia necatrix* hyphae. *Environmental Microbiology* 10: 3295–3304.
- Polanco**, J. A and M. T. Flores. 2008. Bases para una Política de I&D e Innovación de la cadena de Valor del Maíz. Foro Consultivo Científico y Tecnológico, A.C. México, D.F. 150 p.
- Prabudoss**, V., D. Stella. D. 2009. Isolation and nitrogen fixing efficiency of a novel diazotroph *Glconacetobacter diazotrophicus* associated with different sugar rich crops. *Journal Environmental Reserch* 3: 96-98.
- Pradhan**, N and L. B. Sukla. 2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. 5: 850-854.
- Raza**, W., W. Yang and Q. R .Shen. 2008. *Paenibacillus polymyxa*: antibiotics, hydrolytic enzymes and hazard assessment. *Journal of Plant Pathology* 90: 403-414.
- Reis**, J. F. B., M. F. Silva., K.R.S.Teixera., S. Urguiaga., V.M. Reis. 2004. Identification of *Azospirillum amazonense* isolates associated to *Branchiaria* spp. At different stages and growth conditions, and bacterial plant hormone production. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 28: 103-113.
- Reyes**, I., A. Valery., Z. Valduz. 2006. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. *In: Plant and Soil. First International Meeding Microbial Phosphate solubilization.* Velásquez, E and C.Rodriguez-Barrueco.(eds). Springer 69-75 p.

- Reyes, I., A.Valery and Z. Valduz.** 2007. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. 287: 69-75.
- Richardson, E.A., J. M.Barea., A.M. McNeill., C. Prigent-combaret.** 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* 321: 305-339.
- Ryu, M. C., J. Kim., O. Choi., S. H. Kim and C. S. Park.** 2006. Improvement of biological control capacity of *Paenibacillus polymyxa* E681 by seed pelleting on sesame. *Biological Control* 39: 282-289.
- SAGARPA,** 2012. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SFA SAGARPA, Perspectivas de largo plazo para el sector agropecuario de México 2011-2020.
http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/estudios_economicos/escenariobase/perspectivalp_11-20.pdf (septiembre, 2012).
- Salazar, S. E., M. A. Beltrán., H.M. Fortis., R. J. A. Leos., W.J.A.Cueto., V.C.Vázquez., C.J.J. Peña.** 2003. Mineralización de nitrógeno en el suelo y producción de maíz forrajero con tres sistemas de labranza. *Terra Latinoamericana* 21: 569-575.
- Saleem, F., S.Ahmad., Z. Yaqoob., S.A. Rasool.** 2009. Comparative study of two bacteriocins produced by representative indigenous soil bacteria. *Pak Journal Pharm Science* 22: 252-258.
- Saleem, M, M. Arshad., S. Hussain., A.S. Bhatti.** 2007. Perspectives of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology* 34: 635-648.
- Salvagiotti, F. K.G.Cassman., J.E. Specht., D.T. Walters., A. Weiss., A. Dobermann.** 2008. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Research* 108: 1-13.
- Salvagiotti, F., K. G. Cassman., J. E. Specht., D.T. Walters., A. Weiss., A. Dobermann.** 2008. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Research* 108: 1–13.
- Sánchez,G. J.J., M.M.Goodman and C.W. Stuber.** 2000. Isozymatic and Morphological Diversity in the Races of Maize of México. *Economic Botany* 54: 43-59.

- Saraf, M., C. K. Jha and D. Patel.** 2010. The Role of ACC Deaminase Producing PGPR in Sustainable Agriculture. *In* D.K. Maheshwari (eds). Plant Growth and Health Promoting Bacteria, Microbiology Monographs. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 365-384.
- Searchinger, T., R. Heímlich., R.A. Houghton., F. Dong., A. Elobeid., J. Fabiosa., S.Tokgoz., D. Hayes and T.H. Yu.** 2008. Use of U.S. Croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land-use change. *Science* 319: 1238-1240.
- Serna-López, C., L. A. Trujillo-Cárdenas., R. Urrea-Gómez.** 2011. Respuesta del maíz (*zea mays* L.) a la aplicación edáfica de N-P-K en un andisol de la región centro-occidente de Caldas. *agronomía* 17: 68 -76.
- Shaharoon, B, Naveed M, Arshad M, Zahir Z.A.** 2008. Fertilizer-dependent efficiency of *Pseudomonads* for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Microbiology Biotechnology* 79: 147-155.
- Sharpley, A.N., J. L.Weld., D.B. Beegle., P.J.A.Kleinman., W.J. Gburek., P.A.Moore and G. Mullins.** 2003. Development of phosphorus indices for nutrient management planning strategies in the United States. *Journal of Soil and Water Conservation* 58: 137-152.
- Shen, W., X. Lin, N. Gao, H. Zhang, R. Yin, W. Shi and Z. Duan.** 2008. Land use intensification affects soil microbial populations, functional diversity and related suppressiveness of cucumber *Fusarium* wilt in China's Yangtze River Delta. *Plant and Soil* 306: 117-127.
- SIAP,** 2011. Estadística Agrícola. Datos Preliminares al 31 de Octubre de 2011. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (Disponible en http://www.campomexicano.gob.mx/portal_sispro/, Febrero 2012).
- SIAP,** 2012. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. (Disponible en http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351. Mayo 2012).
- Siddiqui, Z.A, G. Baghel and M.S. Akhtar.** 2007. Biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Rhizobium* and plant growth promoting rhizobacteria on lentil. *World Journal Microbiology Biotechnology* 23: 435-441.
- Singh, B. K., S. Munro., J. M. Potts., P. Millard.** 2007. Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils *Applied Soil Ecology* 36: 147-155.
- Singh, R., D. Paul and R.K.Jain.** 2006. Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology* 14: 389-397.

- Smith**, D., K.D. Lee., E. Gray., A. Souleimanov and X. Zhou. 2008. Use of bacteriocins for promoting plant growth and disease resistance. US Patent Application number: 20080248953.
- SNIIM**, 2008 (Sistema nacional de información e integración de mercados) (Disponible en <http://www.economia-sniim.gob.mx>, Junio, 2012).
- Snyder**, C. S., T. W. Bruulsema, and T. L. Jensen. 2007. Greenhouse gas emissions from cropping systems and the influence of fertilizer management. International Plant Nutrition Institute, Norcross, Georgia U.S.A. 25 p.
- Soleri**, D and D.A. Cleveland.2001. Farmers' genetic perceptions regarding their crop populations: An example with maize in the central valleys of Oaxaca, México. *Economic Botany* 55:106-128.
- Son**, S.-H., Z.Khan., S.G. Kim and Y.H. Kim. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria, *Paenibacillus polymyxa* and *Paenibacillus lentimorbus* suppress disease complex caused by root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus. *Journal of Applied Microbiology* 107: 524-532.
- Suman**, A, A.Gaur., A.K. Shrivastava., A. Gaur A., P.Singh., J. Singh., R.L. Yadav. 2007. Nitrogen use efficiency of sugarcane in relation to its BNF potential and population of endophytic diazotrophs at different N levels. *Plant Growth Regulation* 54: 1-11.
- Suniaga**, Q. J., A. Rodriguez., L. Ramirez, R., E. Romero y E. Montilla. 2008. Fertilización, mediante fertirriego, durante diferentes etapas del ciclo del cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) en condiciones de bosque seco premontano. *Agricultura Andina* 15: 56-66.
- Tejera**, N, C. Lluch., M.V. Martínez-Toledo., J. Gonzalez-Lopez. 2005. Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. *Plant and Soil* 270: 223-232.
- Tetts**, S.F.B., R. Betts., T. J. Crowley., J. Gregory., T.C. Johns., A. Jones., T.J. Osborn., E Öström., D.L.Roberts and M. J. Woodage. 2007. The impact of natural and anthropogenic forcings on climate and hydrology since 1550. *Climate Dynamics* 28: 3-34.
- Thrall**, P. H., D.A. Millsom., A.C. Jeovons., M. Waayers., G.R.Harvey., D.J.Bagnall and J.B. Well. 2005. Sed inoculation with effective root-nodule bacteria enhances revegetation success. *Journal of Applied Ecology* 42: 740-751.
- Timmus**, S., N. Grantcharova., E. Gerhart and H.Wagner. 2005. *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. *Applied of Environmental Microbiology* 71: 7292-7300.

- Timmusk** , S. and E.G.H. Wagner. 1999 a. The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: a possible connection between biotic and abiotic stress responses. *Molecular Plant Microbe Interaction* 12: 951-959.
- Timmusk** , S., B. Nicander., U. Granhall and E. Tillberg, E.1999 b. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1847-1852.
- Timmusk**, P. W.P.Van., N.A.R. Gow and R.P. Huffstutler. 2009. *Paenibacillus polymyxa* antagonizes oomycete plant pathogens *Phytophthora palmivora* and *Pythium aphanidermatum*. *Journal of Applied Microbiology* 106: 1473-1481.
- Timmusk**, S., P. Van W. P., Gow, N. A. R. and Wagner, E. G. H.. 2003. Antagonistic effects of *Paenibacillus polymyxa* towards the oomycete plant pathogens *Phytophthora palmivora* and *Pythium aphanidermatum*. **In:** Mechanism of action of the plant growth promoting bacterium *Paenibacillus polymyxa*. (Eds). Uppsala University, Uppsala, Sweden 1–28 p.
- Trüper**, H.G. 2005. The type species of the genus *Paenibacillus* Ash *et al.* 1994 is *Paenibacillus polymyxa*. Opinion 77 judicial commission of the international committee on systematics of prokaryotes correspondence. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology* 55: 513.
- Tsavkelova**, E.A., T. A. Cherdyntseva., S.G. Botina., A.L. Netrusov. 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological Research* 162: 69-76.
- Tupinambá**, G., A.J. R. Da Silva., C.S. Alviano., T. Souto-Padron., L. Seldin., D.S. Alviano. 2008. Antimicrobial activity of *Paenibacillus polymyxa* SCE2 against some mycotoxin-producing fungi. *Journal of Applied Microbiology* 105: 1044-1053.
- Uhart**, A.S, F.H. Andrade. 1995. Nitrogen deficiency in maize. II. Carbon-nitrogen interaction effects on kernel number and grain yield. *Crop Science* 35: 1384-1389.
- Uren**, N.C. 2007. Types, amounts, and possible functions of compounds released into the Rhizosphere. *Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*. Taylor and Francis Group. 1-22 p.
- USDA**, Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América. Las materias primas y elasticidades de alimentos. Disponible en (<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome> Mayo, 2012).
- Van Loon**, L.C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur Journal Plant Pathology* 119: 243-254.

- Velasco**, V. J., R. Ferrera-Cerrato., J.J.A. Suarez. 2001. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate de cascara. *Terra* 19: 241-248.
- Venieraki**, A., M. Dimou., P. Pergalis., I. Kefalogianni., L.chatzipaulidis., P. Katinakis. 2011. The genetic diversity of culturable nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of wheat. *Microbial Ecology* 61: 277-285.
- Vessey**, K. J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant and Soil* 225: 571-586.
- Villegas**, M.C., S. Rome., L. Mauré., O. Domergue., L. Gardan., J.C. Cleyet-Marel., B. Brunel. 2006. Nitrogen-fixing Sinorhizobium with *Medicago Laciniata* constitute a novel biovar (bv. medicaginis) of *S. meliloti*. *Systematic and Applied Microbiology* 29: 526-538.
- Walley**, F. G., Y. Clayton., G. Gan., and Lafond. 2004. Performance of rhizobial inoculant formulations in the field. *Crop Management* doi: 10.1094/CM-2004-0301-03-RV.
- Walsh**, J.E., W.L.Chapman., V. Romanovsky., J.H. Christensen and M. Stendel 2008. Global climate performance over Alaska and Greenland. *Journal Climate* 21: 6156-6174.
- Wani**, P.A, M.S. Khan., A. Zaidi. 2007. Co-inoculation of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria to promote growth, yield and nutrient uptake in chickpea. *Acta Agronomica Hungarica* 55: 315–323.
- Wilhelm**, E.P., R.E. Mullen., P.L. Keeling and G.W. Singletary. 1999. Heat stress during grain filling in maize: Effects on kernel growth and metabolism. *Crop Science* 39: 1733-1741.
- Wu**, S. C., Z. H. Cao., Z. G. Li., K. C. Cheung., M.H. Wong. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.
- Wu**, S.C., Z.H. Caob., Z.G.Lib., K. C. Cheunga., M.H. Wonga. 2008. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.
- Yang**, J and J.Zhang. 2006. Grain filling of cereal under soil drying. *New Phytologist* 169: 223-236.
- Yang**, J., J. W. Kloepper and C. Ryu. 2009. Rhizosphere bacterial help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science* 14: 1-4.
- Yang**, J., P. D. Kharbanda and M. Mirza. 2004. Evaluation of *Paenibacillus polymyxa* pkb1 for biocontrol of *Pythium* disease of cucumber in a hydroponic system. *Acta Horticulturae* 635: 59-66.
- Zahir**, Z.A., M. Arshad., W.T. Frankenberger. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 81: 97-168.

- Zhang, F.**, J. Shen., J. Zhang., Y. Zuo., L. Li., X. Chen. 2010. Chapter one-rhizosphere processes and management for improving nutrient use efficiency and crop productivity: implications for china. *Advances in Agronomy* 107: 1-32.
- Zhang, S.**, W.Raza., X. Yang., J. Hu., Q. Huang and Y. Xu. 2008. Control of *Fusarium* wilt disease of cucumber plants with the application of a bioorganic fertilizer. *Biology and Fertility of Soils* 14: 1073-1080.
- Zinselmeier, C.**, M. E. Westgare., J .R. Schussler and R. J. Jones.1995. Low water potential disrupts carbohydrate metabolism in maize (*Zea mays* L.) ovaries. *Plant Physiology* 107: 385-391.
- Zyalalov, A.A.**, 2004. Water flows in higher plant: physiology, evolution, and system analysis. *Russian Journal of Plant Physiology* 51: 547-555.

ANEXOS

Cuadro 1. ANOVA para rendimiento en grano.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	7.33086667	1.46617333	7.81	0.0001
Error	12	2.25273333	0.18772778		
Total correcto	17	9.58360000			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Gra Media	
	0.764939	17.87932	0.433276	2.423333	
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
inoc	1	3.04222222	3.04222222	16.21	0.0001
fert	2	3.72123333	1.86061667	9.91	0.0029
inoc*fert	2	0.56741111	0.28370556	1.51	0.2598

Cuadro 2. ANOVA para Rendimiento de Biomasa (Biom)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	43.67046667	8.73409333	8.88	0.0010
Error	12	11.79773333	0.98314444		
Total correcto	17	55.46820000			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Biom Media	
	0.787306	13.62001	0.991536	7.280000	
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
inoc	1	15.34580000	15.34580000	15.61	0.0019
fert	2	24.80043333	12.40021667	12.61	0.0011
inoc*fert	2	3.52423333	1.76211667	1.79	0.2084

Cuadro 3. ANOVA: Índice de Cosecha (ic)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.02936111	0.00587222	0.71	0.6247
Error	12	0.09866667	0.00822222		
Total correcto	17	0.12802778			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	IC Media	
	0.229334	26.97812	0.090676	0.336111	
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
inoc	1	0.00533889	0.00533889	0.65	0.4360
fert	2	0.02181111	0.01090556	1.33	0.3017
inoc*fert	2	0.00221111	0.00110556	0.13	0.8755

Cuadro 4. ANOVA: Peso de cien semillas (pc)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	168.5353333	33.7070667	3.52	0.0344
Error	12	114.8766667	9.5730556		
Total correcto	17	283.4120000			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Pc Media	
	0.594665	10.01090	3.094035	30.90667	
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
inoc	1	19.22000000	19.22000000	2.01	0.1819
fert	2	51.35290000	25.67645000	2.68	0.1089
inoc*fert	2	97.96243333	48.98121667	5.12	0.0247

Cuadro 5. ANOVA. Número de Hileras (nh)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	7.11111111	1.42222222	1.60	0.2336
Error	12	10.66666667	0.88888889		
Total correcto	17	17.77777778			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	nh Media	
	0.400000	7.314898	0.942809	12.88889	
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
inoc	1	3.55555556	3.55555556	4.00	0.0687
fert	2	3.11111111	1.55555556	1.75	0.2153
inoc*fert	2	0.44444444	0.22222222	0.25	0.7828

Cuadro 6. ANOVA. Unidades Formadoras de Colonias Agar (ufa)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	3504000000	700800000	0.61	0.6951
Error	12	13810000000	1150833333		
Total correcto	17	17314000000			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	ufa Media	
	0.202380	50.63274	33923.93	67000.00	
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
inoc	1	355555556	355555556	0.31	0.5885
fert	2	44333333	22166667	0.02	0.9810
inoc*fert	2	3104111111	1552055556	1.35	0.2963

Cuadro 7. ANOVA. Unidades Formadoras de Colonias (Pikovskaya)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	729444.444	145888.889	0.35	0.8749
Error	12	5053333.333	421111.111		
Total correcto	17	5782777.778			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	pk Media
0.126141	87.82521	648.9307	738.8889

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
inoc	1	347222.2222	347222.2222	0.82	0.3817
fert	2	334444.4444	167222.2222	0.40	0.6808
inoc*fert	2	47777.7778	23888.8889	0.06	0.9451