

# “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CUATRO MÉTODOS DE INOCULACIÓN DE DOS CEPAS DE *Azospirillum* spp., EN EL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*, L.), VARIEDADES INIAP 122 Y 102, EN LAS PROVINCIAS DE IMBABURA Y PICHINCHA”

Gabriela Ortiz<sup>1</sup> y Ramiro Velasteguí<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ing. Bioq. UTA. Tesista 2010. Departamento de Maíz, Estación Experimental Santa Catalina, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Panamericana Sur Km 1, Quito - Ecuador, e-mail: gabyortiz\_20@hotmail.com

<sup>2</sup>PhD, Profesor Carrera de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi: Av. Los Chasquis y Río Payamino. Ambato – Ecuador, e-mail: rvelasteguis@yahoo.com.

## RESUMEN

Con el propósito de mejorar la productividad del maíz al promover el crecimiento vegetal y fijar el nitrógeno atmosférico se inoculó la bacteria *Azospirillum* spp., pero, para que la bacteria ejerza su actividad metabólica eficientemente sobre las plantas, es necesario una buena interacción planta – microorganismo, que se pudo lograr con la aplicación de métodos de inoculación apropiados, los que fueron evaluados en las variedades INIAP 102 en Pichincha e INIAP 122 en Imbabura. Para este estudio se establecieron dos factores formados por las cepas de *Azospirillum* spp. y los métodos de inoculación de la bacteria, y se evaluaron doce tratamientos en un Diseño de Parcela Dividida (DPD). Las variables microbiológicas analizadas en los suelos fueron población de actinomicetes, hongos, bacterias solubilizadoras de fósforo, bacterias degradadoras de celulosa y *Azospirillum* spp. Las variables morfológicas analizadas en el maíz fueron emergencia de planta, altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta, daño a la mazorca por *Heliothis zea*, daño a la mazorca por *Fusarium moniliforme*, longitud de mazorca, diámetro de mazorca, nitrógeno total en suelo, nitrógeno total en planta, rendimiento en choclo; además se realizó el análisis económico de Presupuesto Parcial y Tasa de Retorno Marginal.

En Amaguaña (Pichincha), las variables que presentaron significación estadística fueron altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta, nitrógeno total en suelo y población de hongos. En Quinchuquí (Imbabura), las variables con diferencia significativa fueron población de bacterias degradadoras de celulosa, actinomicetes, hongos y *Azospirillum* spp., y altura de inserción de mazorca en planta. De esta manera, se concluye que el mejor método de inoculación fue líquido a la semilla, que conjuntamente con las técnicas agronómicas y la mínima fertilización inorgánica, facilitaron el establecimiento de la bacteria en la rizósfera, mejorando la interacción planta – microorganismo y la síntesis de hormonas vegetales, permitiendo el incremento de los órganos vegetativos y el rendimiento de las variedades de maíz INIAP 102 en Amaguaña e INIAP 122 en Quinchuquí, además de la fijación biológica del nitrógeno atmosférico. El método líquido a la semilla permitió a *Azospirillum* spp. de Bolívar ser más eficiente, seguido del método de inoculación sólido a la semilla; no obstante este método no resultó ser el dominante para *Azospirillum* spp. de Chimborazo, que actuó mejor con la aplicación líquida al suelo. El método líquido a la semilla permitió a los pequeños productores de maíz recuperar el capital invertido en la producción y obtener ganancias.

Palabras clave: Biofertilizante, bacterias promotoras del crecimiento vegetal, cepas de *Azospirillum* spp., métodos de inoculación, hormonas de crecimiento vegetal, fijación biológica de nitrógeno, emergencia de planta, altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta, daño a la mazorca por plagas y hongos, diámetro y longitud de mazorca, porcentaje de nitrógeno en suelo y planta, rendimiento, Presupuesto Parcial, Tasa de Retorno Marginal.

## SUMMARY

In order to improve corn productivity through the plant growth in fixing nitrogen it has been inoculated the bacteria *Azospirillum* spp., but in order to obtain the effective metabolic activity an appropriate interaction plant-microorganism is necessary which had to be done applying some inoculating methods on the INIAP variety 102 in Pichincha province and INIAP 122 in Imbabura province. Two experimental factors were used: the strains of *Azospirillum* spp. and the bacteria inoculation methods. Twelve treatments were done using a split-plot design (SPD). Microbial variables in soil such as actinomycetes, fungi and phosphorus solubilizers bacteria were analyzed as well as cellulolytic bacteria and *Azospirillum* spp. The analyzed variables in corn were plant emergency, plant height, corn cob insertion height in the plant, *Heliothis zea* and *Fusarium moniliforme* damages in cobs, cob length, cob diameter, total nitrogen in soil, total nitrogen in plant and cob yield. Moreover, an economic analysis of Partial Budgeting and Marginal Rate of Return was also accomplished.

In Amaguaña (Pichincha) plant height, corn cob insertion height in the plant, total nitrogen in soil and fungi population showed statistical differences. In Quinchuquí (Imbabura) corn cob insertion height in the plant as well as actinomycetes, fungi, cellulolytic bacteria and *Azospirillum* spp. were statistically different. Therefore it is concluded that the best method of inoculation was the liquid inoculation of the seeds which in addition with agronomic techniques and the minimal inorganic fertilization were appropriate to establish the bacteria in the rhizosphere, improving the interaction plant-microorganism and the plant hormones allowing the growth of plant organs and improving the yield of the variety INIAP 102 in Amaguaña and INIAP 122 in Quinchuquí as well as the atmospheric fixation of nitrogen. The liquid inoculation to seeds allowed at *Azospirillum* spp. from Bolívar be more efficient than the dry method of inoculation. However, the liquid inoculation to seeds was not always the best because *Azospirillum* spp. from Chimborazo responded better with liquid inoculation to soil. Economically, the liquid inoculation to seeds will allow corn farmers to get their investments back and to earn more.

Keywords: Biofertilizer, plant growth bacteria, *Azospirillum* spp. strains, inoculation methods, plant growth hormones, biological fixation of nitrogen, plant emergency, plant height, corn cob insertion height in the plant, damage in cobs by pests and diseases, cob length, cob diameter, total nitrogen in soil, total nitrogen in plant and cob yield, Partial Budgeting and Marginal Rate of Return.

## INTRODUCCIÓN

El maíz es el segundo cultivo del mundo de mayor importancia por su producción, después del trigo y es el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea; es de gran importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento humano,

para el ganado o como fuente de un gran número de productos industriales. Para la obtención de un maíz de calidad, la fertilización química nitrogenada es una práctica indispensable, sin embargo, un manejo inadecuado representa un riesgo

ecológico. Por esta razón, para mejorar el rendimiento y producción del maíz actualmente se usan inoculantes microbianos o biofertilizantes, a base de bacterias reconocidas por su capacidad de promover el desarrollo de los cultivos y fijar el nitrógeno atmosférico.

Los biofertilizantes han sido aplicados en diferentes suelos, en diversidad de climas sean templados y tropicales, a través de diversos métodos de inoculación que aseguran una introducción de bacterias efectivas para que cumplan con su rol en las plantas, pero, a pesar de los experimentos exitosos, tanto en campo, como en invernadero, el desarrollo comercial de inoculantes a base de *Azospirillum* spp. se ha retrasado, debido a que la principal

dificultad ha sido la inconsistencia de los resultados en campo obtenidos con la inoculación de bacterias de este género. Por esta razón se implementaron ensayos en los sectores de Quinchuquí en Imbabura y Amaguaña en Pichincha donde se inoculó cepas *Azospirillum* spp., con el objetivo de incrementar el número de microorganismos en el suelo y acelerar los procesos microbianos, para aumentar las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas, proveer de nitrógeno a la planta, sobre todo, promover el crecimiento de las variedades mejoradas de maíz del INIAP, que actualmente, están más al alcance de los pequeños productores y consumidores.

## **CONSIDERACIONES TEÓRICAS**

### ***Azospirillum***

Es una de las rizobacterias más estudiadas, es aerobia, vive libremente en el suelo asociada a las raíces de la plantas.

Muestran una amplia distribución geográfica alrededor del mundo, aún cuando son más abundantes en las regiones tropicales, también se les encuentra en las regiones templadas, frías y desérticas. Se encuentra en el suelo de la superficie de la raíz (rizoplano), en el suelo alrededor de las raíces (rizósfera) o asociada a las raíces de una gran variedad de cultivos como maíz, trigo, arroz, sorgo, avena, pastos forrajeros, henequén, plantas cactáceas; donde forman pequeños agregados en

las áreas de elongación celular, bases de los pelos radicales, cofia, pelos radicales o dentro del mucigel y colonizan estos sitios en dos etapas que son de adhesión y anclaje.

Uno de los principales mecanismos propuestos en la actualidad para explicar la promoción del crecimiento vegetal en plantas inoculadas con *Azospirillum* spp., se relaciona con su capacidad de producir y metabolizar compuestos reguladores del crecimiento vegetal o hormonas vegetales. Estas son auxinas, giberelinas, citoquininas y en menor proporción ácido abscísico y etileno (Caballero, 1998).

### **Evaluación de las variedades de maíz INIAP.**

La evaluación, consiste en describir las características morfológicas de las variedades que generalmente corresponden a variables cuantitativas influenciadas por el ambiente y la baja heredabilidad. La evaluación está encaminada a conocer a los individuos tal cual se comportan en la naturaleza y en sus reales dimensiones, ya sean anatómicas, morfológicas, fisiológicas o

de cualquier índole, sin importar si estás características o el comportamiento son promisorios o deficitarios, pues un carácter deficitario para el fitomejorador puede ser promisorio para un fitopatólogo o viceversa; es decir, la evaluación será totalmente imparcial y estará siempre lista para ser utilizada por cualquier persona o institución que requiera seleccionar el material

fitogenético con fines específicos (Nieto, *et al.*, 1984).

Los órganos más importantes para una descripción morfológica son aquellos menos influenciados por el ambiente, tales como la flor y el fruto, siguiéndoles en orden órganos como las hojas, tronco, ramas, raíces y los tejidos celulares. Para la caracterización se toma en cuenta los descriptores cualitativos (color y textura del grano, color de la planta, etc.) y aquellos descriptores cuantitativos influenciados por el ambiente (altura de planta, número de hojas por planta, número de ramificaciones de la espiga, etc.) (Enríquez, 1991).

### **Descriptores.**

Según IBPGR (1991), como su palabra lo indica, los descriptores describen o califican las características de las variedades de maíz con un valor numérico, una escala, un código o un adjetivo calificativo y manifiesta que el proceso de caracterización de germoplasma es un factor estratégico para la solución de los problemas actuales y futuros relacionados con la

generación de nuevas alternativas dirigidas a la obtención de variedades vegetales mediante la utilización de métodos tradicionales o biotecnológicos. Los descriptores varían de acuerdo con la especie y al criterio de quien ha de usarlos, así, los fitomejoradores tienden a usar descriptores de interés agronómico útiles para el mejoramiento y que generalmente son de naturaleza poligénica; los botánicos eligen caracteres morfológicos independientemente de su regulación genética, mientras que los genetistas tratan de elegir caracteres cualitativos y monogénicos con poder discriminatorio. Hoy se tiende a seleccionar un número mínimo de descriptores universalmente aceptados que faciliten el intercambio de información y material. Existe el criterio, que mientras mayor sea el número de descriptores utilizados, mejor será la evaluación; sin embargo, se aconseja seleccionar en base a prioridad, el número de descriptores, considerando en primer lugar a los de mayor interés práctico (Nieto, *et al.*, 1984).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materiales.**

- Inoculantes líquidos de *Azospirillum* spp. de Bolívar y Chimborazo para el suelo y a la semilla.
- Inoculantes sólidos de *Azospirillum* spp. de Bolívar y Chimborazo para el suelo y a la semilla.
- Variedades de maíz INIAP 102 y 122.

### **Diseño experimental**

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño de Parcela Dividida (DPD), con tres repeticiones. La característica que distingue a este diseño, es que existen dos unidades experimentales que difieren en tamaño y cada una tiene sus propias estructuras de diseño y tratamientos al azar. Los dos tipos de

unidades experimentales fueron las parcelas formadas por las cuatro metodologías de inoculación de *Azospirillum* spp. y las subparcelas que están anidadas dentro de las parcelas principales, formadas por las cepas y sus repeticiones.

### **Unidad experimental y muestra**

En cada ensayo se colocó 36 parcelas, que fueron las unidades experimentales o tratamientos. Las variables morfológicas del maíz, se evaluaron en 10 plantas al azar de cada tratamiento, que constituyen la muestra.

## Métodos

### Establecimiento de los ensayos en campo

#### 1. Preparación del Terreno.

Se realizaron labores de arada, rastra y surcada para permitir que el terreno quede suelto y sea capaz de captar agua sin que se produzcan encharcamientos, también para facilitar la descomposición de residuos y que el terreno tenga las condiciones adecuadas para la siembra (Yáñez, 2007).

#### 2. Siembra.

Considerando que la densidad de siembra del maíz, es de 25 a 30 Kg/ha de semilla, es decir, 50 000 plantas/ha, se depositó dos semillas por sitio de forma manual, a una profundidad de 5 cm, una distancia de 50 cm entre sitios y 80 cm entre surco (Yáñez, 2007). Las semillas no fueron desinfectadas debido a que *Azospirillum* spp. no sobrevive a la aplicación de insecticidas, acaricidas y fungicidas; y su actividad se reduce en presencia de estos (Bernal y Graham, 2001).

#### 3. Aplicación de métodos de inoculación de *Azospirillum* spp.

Se realizó a la siembra, manualmente distribuyendo uniformemente el inoculante (Zvietcovich, 2004).

**Líquida al suelo.** - Se utilizó 2 ml de inoculante de *Azospirillum* spp. de Bolívar y 2 ml de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 para Amaguaña e INIAP 122 para Quinchuquí, con una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/ml (FAO, 2001; Nitragin, 2002). El inoculante se suspendió en 1lt de agua y se colocó aproximadamente 3 ml por sitio con la ayuda de un aspersor manual estéril antes de colocar las semillas (Nitragin, 2002; Ventimiglia y Carta, 2005).

**Sólida al suelo.**- Se utilizó 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de

Bolívar y 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo en base turba por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 para Amaguaña e INIAP 122 para Quinchuquí, con una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/ml (Bernal, *et al.*, 2002). Las turbas inoculadas se mezclaron con 1 Kg de suelo nativo y se colocó aproximadamente 3 g por sitio, con la ayuda de una chuchara estéril antes de la colocación de las semillas (Bernal, *et al.*, 2002; Ventimiglia y Carta, 2005).

**Líquida a la semilla.**- Se utilizó 2 ml del inoculante de *Azospirillum* spp. de Bolívar y 2 ml de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 para Amaguaña e INIAP 122 para Quinchuquí, con una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/ml, Se dejó la semilla en el inoculante por un espacio de 10 minutos para permitir que se dé el proceso de adhesión y anclaje de la bacteria a las semillas. La inoculación se efectuó inmediatamente y en horas de la mañana, para evitar temperaturas altas que afecten la viabilidad de la bacteria (Canto, *et al.*, 2004; Zvietcovich, 2004).

**Sólida a la semilla.**- Se preparó una solución de melaza al 40% y se colocó lo suficiente para la cantidad de semilla utilizada, hasta que todas presentaron un color cristalino (Molina, 2006). Se mezcló 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de Bolívar y 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo soportado en turba, por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 en Amaguaña e INIAP 122 en Quinchuquí, con una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/ml. El inoculante se mezcló bien con la semilla y se dejó bajo sombra por un espacio de 10 minutos hasta que las semillas estuvieron sueltas. Se sembró inmediatamente (Molina, 2006; Zvietcovich, 2004).

**Manejo de los testigos.-** Para el manejo de los testigos se colocó 2 semillas de las variedades INIAP 122 y 102 en cada sitio en la localidad correspondiente, sin la adición de inoculante.

#### **4. Fertilización.**

Se utilizó el 50% de la fertilización inorgánica para 1 hectárea [ha] de maíz según recomendaciones del INIAP (1½ sacos de Urea/ ha y 1 saco de 18-46-0/ ha). Estos se colocaron, en suelo húmedo, hasta el estado fenológico V8 (período vegetativo temprano), donde el sistema de raíces nodales está bien distribuida en el suelo y en este estado es mayor la absorción de nitrógeno. La forma de aplicación fue al surco, a 10 cm de las plantas lateralmente y se tapó para evitar la volatilización del nitrógeno (Yáñez, 2007).

#### **5. Labores culturales y Riego.**

Se realizó el aporque después de 45 días de la siembra; que consistió en arrimar la tierra alrededor de la planta con el objeto darle sostén, aflojar el suelo y mantener la humedad de la tierra. La siembra del maíz se realizó dentro de la época por lo

que se aprovecharon las lluvias en las etapas de crecimiento y floración de la planta, ya que de ésta depende la formación y llenado del grano (Yáñez, 2007).

#### **6. Control de malezas y plagas.**

Se realizó la deshierba manual a los 45 días después de la siembra, debido a que es una época de competencia por nutrientes del suelo y esto puede reducir hasta un 25% la producción del maíz. Para el control del gusano de la mariposa *Heliothis zea*, se utilizó aceite vegetal comestible, con la finalidad de preservar los recursos naturales y el medio ambiente, así como la salud de los productores. Se colocaron de 2 a 3 gotas de aceite en la punta de los estigmas (pelos del choclo), en dos aplicaciones, la primera cuando un 30% de las plantas presentaron floración femenina y la segunda luego de 8 días (Yáñez, 2007).

#### **7. Cosecha.**

La cosecha del maíz se realizó de forma manual, en estado de choclo, cuando el grano estuvo en estado lechoso (80% de humedad) (ªSilva, et al., 2000).

### **Evaluación de variables microbiológicas y agromorfológicas**

#### **1. Población inicial y final de microorganismos en muestra de suelo.**

Se realizaron diluciones desde  $1 \times 10^1$  a  $1 \times 10^{10}$  con las muestras de suelo tamizadas y se sembró 1 ml de cada dilución por el método de siembra profunda en los medios de cultivo: agar caseína (actinomicetes), ramos callao (bacterias solubilizadoras de fósforo), extracto suelo (bacterias degradadoras de celulosa) y rosa de bengala (hongos). Los aislamientos de actinomicetes y hongos se incubaron a 37°C, mientras que las bacterias solubilizadoras de fósforo y degradadoras de celulosa a 26°C. El conteo poblacional de actinomicetes y bacterias solubilizadoras de fósforo se realizó en 2 días, el conteo de hongos en 7 días y las bacterias degradadoras de celulosa en 10 días.

Los resultados se expresaron en Unidades Formadoras de Colonias [UFC/gss] (Froni, 1999).

#### **2. Población inicial y final de *Azospirillum* spp. en muestra de suelo.**

Se sembró 0,3 ml de cada dilución en 6 ml de medio de cultivo semisólido NFB (Nitrogen Fixation Biological) y se sometieron a incubación durante 14 días a 30°C. Se determinó un número característico de 3 cifras con los tubos con crecimiento bacteriano positivo. Con este número se calculó el Número Más Probable de *Azospirillum* spp. en Unidades Formadoras de Colonias [UFC/gss], utilizando la tabla de Mc. Crady (Espinoza, 2004).

Las variables morfológicas del maíz, se evaluaron en 10 plantas al azar de cada tratamiento.

### 3. Emergencia.

Se dividió el número de plantas emergidas para el número de semillas sembradas y se multiplicó por cien. Los valores se registraron en porcentaje [%] (IBPGR, 1991).

### 4. Altura de la planta.

Se midió la altura de planta, desde la base de la planta hasta el punto donde la panoja empieza a ramificarse. Los valores se registraron en centímetros [cm] (IBPGR, 1991; Ritchie, et al., 2003).

### 5. Altura de inserción de la mazorca en la planta.

Se midió la altura de inserción de la mazorca en la planta, desde la base hasta el nudo de inserción de la mazorca superior. Los valores se registraron en centímetros [cm] (IBPGR, 1991; Ritchie, et al., 2003).

### 6. Daño a la mazorca por el gusano de la mazorca (*Heliothis zea*) y el hongo (*Fusarium moniliforme*)

Se calificó el daño en las mazorcas al momento de la cosecha en choclo. Para esto se utilizó la escala propuesta por el CIMMYT, 1986 y con las calificaciones de las mazorcas se realizó un promedio ponderado. Los resultados se expresaron en porcentaje [%].

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

Donde:

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

Y = Valor medio correspondiente a la escala.

T = Número total de mazorcas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Variables microbiológicas y agromorfológicas.*

### 7. Diámetro de la mazorca.

Se midió el diámetro en el sector medio de las mazorcas. Los valores se registraron en centímetros [cm] (IBPGR, 1991).

### 8. Longitud de la mazorca.

Se midió la longitud de las mazorcas, desde la base en su inserción con el pedúnculo, hasta su ápice. Se registraron los valores en centímetros [cm] (IBPGR, 1991).

### 9. Rendimiento en choclo.

Se contó el número de choclos de cada clase por parcela neta y se clasificó en base a la norma INEN 761 (1991). A partir de esta clasificación, se determinó el rendimiento de choclos de cada clase por hectárea [ha]. Estos resultados se promediaron y se expresaron como rendimiento total en sacos por hectárea [sacos/ha].

### 10. Análisis de nitrógeno total en suelo y planta.

Se utilizó el método Semi microkjendahl del Laboratorio de Foliar del Dpto. de Manejo de Suelos y Aguas, de la EESC del INIAP. Los resultados se expresaron en porcentaje [%].

### Análisis económico.

#### 1. Presupuesto Parcial y Tasa de Retorno Marginal.

Se determinó el Presupuesto Parcial a través del método propuesto por el CIMMYT (Centro Internacional de Manejo de Maíz y Trigo), 1988. Se calculó el Beneficio Neto en dólares americanos por hectárea [\$/ha] y la Tasa de Retorno Marginal en porcentaje [%], para analizar la conveniencia económica de la utilización de las alternativas de inoculación de *Azospirillum* spp. en maíz.

## Población de microorganismos del suelo y de *Azospirillum* spp.

Se observó la influencia de la población de *Azospirillum* spp. en la población de microorganismos del suelo, evidenciándose el incremento en la población de bacterias solubilizadoras de fósforo y degradadoras de celulosa y la disminución de la población de actinomicetes y hongos, con la inoculación de *Azospirillum* spp. al final del ciclo de cultivo.

Los microorganismos del suelo tuvieron una acción asociativa y antagonista con la población nativa e inoculada de *Azospirillum*. Las bacterias degradadoras de celulosa ayudaron al crecimiento de

*Azospirillum* spp. al degradar los residuos vegetales del suelo y hacerlos aprovechables por la bacteria y las bacterias solubilizadoras de fósforo degradaron e inmovilizaron el fósforo del suelo para permitirle a la bacteria fijar el N<sub>2</sub> en forma asociativa. Se reporta que los actinomicetes y hongos tienen una acción antagonista sobre *Azospirillum* spp., sin embargo este no fue el caso, esto se debió posiblemente a la capacidad que tienen algunas cepas de esta bacteria de producir bacteriocinas y sideróforos para protegerse de otros miembros de la comunidad microbiana e incluso de patógenos de plantas (Caballero, 1998).

En la Tabla 1, se observan los tratamientos con la mejor población de microorganismos en los suelos de Amaguaña y Quinchuquí, en relación a los testigos.

**Tabla 1. Mejores tratamientos para población de microorganismos en los suelos.**

Microorganismo / Localidad	Actinomicetes		Hongos		Bacterias solubilizadoras de fósforo		Bacterias degradadoras de celulosa	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
	Sin aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.							
<b>Población inicial (UFC/gss)</b>	1,25x10 <sup>7</sup>	3,79x10 <sup>6</sup>	1,12x10 <sup>4</sup>	1,66x10 <sup>4</sup>	1,65x10 <sup>6</sup>	7,51x10 <sup>5</sup>	5,24x10 <sup>5</sup>	3,79x10 <sup>5</sup>
<b>Con aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.</b>								
<b>Tratamientos</b>	c2m3	c4m4	c4m4	c4m4	c2m3	c4m3	c2m4	c2m3
<b>Población final (UFC/gss)</b>	1,34x10 <sup>6</sup>	1,09x10 <sup>6</sup>	8,20x10 <sup>3</sup>	3,29x10 <sup>3</sup>	3,36x10 <sup>6</sup>	3,04x10 <sup>6</sup>	1,12x10 <sup>6</sup>	9,48x10 <sup>5</sup>
<b>Testigos</b>	tm1	tm4	tm4	tm2	tm2	tm2	tm2	tm2
<b>Población final (UFC/gss)</b>	2,08x10 <sup>7</sup>	3,50x10 <sup>7</sup>	2,24x10 <sup>4</sup>	2,54x10 <sup>4</sup>	5,69x10 <sup>5</sup>	4,38x10 <sup>5</sup>	1,14x10 <sup>5</sup>	1,59x10 <sup>5</sup>

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquido a la semilla.

c4m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida a la semilla.

c2m4 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación sólido a la semilla.

c4m4 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación sólido a la semilla.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.



La población de *Azospirillum* spp. en los suelos de Amaguaña y Quinchuquí también incrementó. Estos resultados indican que la inoculación tuvo éxito y por tanto se realizó la asociación de la bacteria con las raíces de la planta de maíz y por tanto la multiplicación y colonización en la rizósfera. La cepa c2 resultó ser la más competitiva con los microorganismos del suelo,

debido a su versatilidad metabólica y su capacidad para adaptarse al medio rizosférico. La sobrevivencia de *Azospirillum* spp. en su nicho ecológico demuestran que este microorganismo sobrevive por periodos prolongados de tiempo en suelos asociados a las plantas y solo el tamaño de la población puede llegar a variar (Bashan, *et al.*, 1995). Ver Tabla 2.

**Tabla 2. Mejores tratamientos para población de *Azospirillum* spp. en los suelos.**

Microorganismo / Localidad	<i>Azospirillum</i> spp.	
	Amaguaña	Quinchuquí
<b>Sin aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.</b>		
<b>Población inicial (UFC/gss)</b>	1,81x10 <sup>4</sup>	1,59x10 <sup>5</sup>
<b>Con aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.</b>		
<b>Tratamientos</b>	c2m3	c2m3
<b>Población final (UFC/gss)</b>	3,17x10 <sup>7</sup>	4,36x10 <sup>7</sup>
<b>Testigos</b>	tm2	tm4
<b>Población final (UFC/gss)</b>	1,91x10 <sup>5</sup>	2,25x10 <sup>6</sup>

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquido a la semilla.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

### **Porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta.**

La inoculación de *Azospirillum* spp. incrementó emergencia, altura de planta y altura de inserción de mazorca.

Según Kloepper, *et al.*, (1991), *Azospirillum* spp. que es una bacteria productora de auxinas y giberelinas puede incrementar la emergencia de semillas vegetales, por lo cual, también se conoce como bacteria promotora de emergencia. Esta hormona, al igual que las giberelinas y citoquininas secretadas por la bacteria, producen el crecimiento apical de la planta, inducen el alargamiento del tallo, la formación y desarrollo de todos los órganos vegetativos, donde, la altura de inserción de mazorca tienen estricta relación con la altura de planta, es decir, a mayor altura de planta, mayor altura de inserción de mazorca (Salazar, 1990). En el maíz, una menor altura de inserción de mazorca

facilita la cosecha al agricultor, sin embargo, al estar situada en la parte superior, se demuestra que la planta estuvo expuesta mayormente a la luz, donde la tasa de acumulación de materia seca incrementó y por tanto la calidad del grano (Ritchie, *et al.*, 2003).

En Amaguaña, la inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla, incrementó la emergencia de la semilla INIAP 102 en un 96,91%, altura de planta a 244,67 cm, altura de inserción de mazorca en la planta a 139,67 cm; y en Quinchuquí incrementó a 93,83% la emergencia de la semilla INIAP 122, altura de planta a 244 cm y altura de inserción de la mazorca a 137,33 cm, en relación a los testigos y a los valores reportados por <sup>ab</sup>Silva, *et al.*, 2000. Ver Tabla 3.

**Tabla 3. Mejores tratamientos para las variables agromorfológicas.**

Variables /Localidad	Emergencia (%)		Altura de planta (cm)		Altura de inserción de mazorca en planta (cm)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
<b>Tratamientos</b>	c2m3	c2m3	c2m3	c4m3	c2m3	c2m3
	96,91	93,83	244,67	244	139,67	137,33
<b>Testigos</b>	tm2	tm2	tm2	tm2	tm2	tm2
	82,10	69,14	204,33	197	108	101,33
<b>Bibliográfico</b>	95		238	250	130	140

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquido a la semilla.

c4m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida a la semilla.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo.

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

**Daño a la mazorca por el gusano de la mazorca (*Heliothis zea*) y el hongo (*Fusarium moniliforme*).**

Se observó una baja incidencia de plagas y hongos en las mazorcas, lo que equivale a un daño ligero, debido a la tolerancia a la pudrición que presentan

las variedades de maíz del INIAP y a la acción del aceite comestible que formó una barrera que impidió el ingreso de las larvas hacia los granos tapando los orificios de respiración del gusano y matándolo por asfixia (Dobronski, *et al.*, 1999; <sup>ab</sup>Silva, *et al.*, 2000).

Los resultados indican que la inoculación de *Azospirillum* spp. no influyó en el daño a las mazorcas a causa de plagas y hongos, sin embargo en los tratamientos testigos se observó una mínima influencia, debido a la fuerte intervención del medio ambiente, por lo que algunos tratamientos se vieron fuertemente infectados y otros no.

En las mazorcas de la variedad INIAP 102 en Amaguaña, existió un 0,13% de daño por el gusano con la inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla, y en Quinchuquí, el daño a las mazorcas INIAP 122 fue 0,09% con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Chimborazo a la semilla. Ver Tabla 4.

**Tabla 4. Mejores tratamientos para el daño a la mazorca por plagas y hongos.**

Variables /Localidad	Daño a la mazorca por <i>Heliothis zea</i> (%)		Daño a la mazorca por <i>Fusarium moniliforme</i> (%)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
<b>Tratamientos</b>	c2m3	c2m3	c4m1	c2m1,c4m1,c4m2,c2m3,c2m4,c4m4
	0,13	0,09	0	0
<b>Testigos</b>	tm4	tm1	tm1	tm1
	0,64	0,81	5,35	0,09
<b>Bibliográfico</b>	25		25	

c4m1 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida al suelo.

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquido a la semilla.

tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

### Diámetro y longitud de mazorca.

Para las dimensiones de las mazorcas no se observaron diferencias con los valores reportados por <sup>ab</sup>Silva, *et al.*, 2000.

Se puede discutir que los factores responsables de tales regularidades son de tipo climático, ya que el desarrollo de las plantas estuvo influenciada por las condiciones de medio ambiente que afectan la etapa de formación del grano (Saubidet, *et al.*, 2002). Lo que podría

ser la causa de los resultados contradictorios también es el uso de material (semillas) con diferente genotipo (Entrevista personal con técnico del Programa de Maíz del INIAP)

Sin embargo, en Amaguaña, con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Chimborazo al suelo se obtuvo el mayor diámetro de INIAP 102 que fue 4,71 cm; y en Quinchuquí, con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Bolívar al suelo, la mazorca INIAP 122 alcanzó un diámetro de 4,89, que son valores superiores al testigo. Ver Tabla 5.

**Tabla 5. Mejores tratamientos para las dimensiones de la mazorca.**

Variables /Localidad	Diámetro de mazorca (cm)		Longitud de mazorca (cm)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
<b>Tratamientos</b>	c4m2	c4m2	c2m1	c2m1
	4,71	4,89	10,31	10,85
<b>Testigos</b>	tm4	tm4	tm3	tm4
	4,36	4,61	9,68	9,53
<b>Bibliográfico</b>	9 a 10	10 a 11	14,5	16 a 17

c4m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida a la semilla.

tm3 = testigo de la metodología líquida a la semilla.

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

### Porcentaje de nitrógeno total en suelo y plantas.

En este estudio, el bajo contenido de nitrógeno en las plantas inoculadas se debe a que existió una menor cantidad de nitrógeno fijado por *Azospirillum* spp. Las pequeñas cantidades de nitrógeno que aportó la bacteria a través de la fijación biológica de nitrógeno al suelo fue importante en las etapas críticas del desarrollo vegetal, así como la reproducción. Los resultados muestran una mínima deficiencia de nitrógeno en las plantas, ya que los ensayos no fueron

fertilizados para aprovechar la fijación biológica del nitrógeno.

Estudios han revelado que la inoculación con *Azospirillum* en gramíneas aporta de 30 a 50% de los requerimientos de nitrógeno por hectárea [ha] de suelo (Saura, *et al.*, 2003). En plantas se ha indicado que del 5 al 10 % del nitrógeno en trigo y maíz se debe a la fijación de nitrógeno. Sin embargo, existen estudios que han mostrado baja e insignificante actividad nitrogenasa en plantas que responden positivamente a la inoculación, donde menos del 5% de

todo el nitrógeno fijado por *Azospirillum* spp. fue incorporado a las plantas (Bashan, *et al*, 1995).

En Amaguaña, la inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla incrementó el porcentaje de nitrógeno total en el suelo, en un 2,8% por hectárea [ha]; mientras que en Quinchuquí, el suelo presentó un porcentaje de nitrógeno total de 2,8% por hectárea [ha] con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Chimborazo al suelo. La inoculación líquida de

*Azospirillum* spp. de Chimborazo al suelo, permitió que la planta de la variedad INIAP 102 presente 1,43% de nitrógeno y en Quinchuquí, las plantas de maíz INIAP 122 presentaron un porcentaje de nitrógeno de 2,92% con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Bolívar al suelo. Se puede observar que estas cantidades son mayores a las analizadas inicialmente, a los testigos y a los valores reportados bibliográficamente por <sup>ab</sup>Silva, *et al.*, 2000. Ver tabla. 6

**Tabla 6. Mejores tratamientos para el porcentaje de nitrógeno en suelo y planta.**

Variables /Localidad	Nitrógeno total en suelo (%)		Nitrógeno total en planta (%)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
<b>Porcentaje Inicial</b>	0,14	0,21		
	<b>Con Aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.</b>			
<b>Tratamientos</b>	c2m3	c4m2	c4m1	c2m2
	2,8	2,8	1,43	2,92
<b>Testigos</b>	tm1	tm2	tm2	tm1
	0,7	1,9	0,99	2,26
<b>Bibliográfico</b>	30 a 50		5 a 10	

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquida a la semilla.

c4m2 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación sólido al suelo.

c4m1 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquido al suelo.

c2m2 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación sólido al suelo.

tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.

tm2 = testigo de la metodología sólido al suelo.

### **Rendimiento.**

Se observó incrementos en el rendimiento de la variedades INIAP 102 en un 14,34% y de INIAP 122 un 26,60%.

Bibliográficamente el incremento en el rendimiento total de plantas crecidas en campo por efecto de la inoculación con *Azospirillum* spp. es de 10 al 30% y se estima que incrementos del rendimiento por encima del 20% son considerados aceptables, siempre y cuando los resultados sean consistentes (Novo, 2002). Por esta razón los rendimientos

obtenidos son muy importantes, para esta investigación y para los agricultores de la serranía del Ecuador.

La inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla, incrementó el rendimiento de la variedad INIAP 102 a 271,99 sacos por hectárea [ha], y de la variedad INIAP 122 a 258,87 sacos por hectárea [ha], cuyos valores son mayores a los testigos y a los valores reportados por <sup>ab</sup>Silva, *et al.*, (2000). Ver Tabla 7.

**Tabla 7. Mejores tratamientos para el rendimiento en choclo.**

Variables /Localidad	Rendimiento (sacos/ha)	
	Amaguaña	Quinchuquí
<b>Tratamientos</b>	c2m3	c2m3
	271	258,57
<b>Testigos</b>	tm1	tm2
	184,99	160,30
<b>Bibliográfico</b>	237	190

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquida a la semilla.

tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo.

### Análisis económico.

El Presupuesto Parcial se utilizó como una herramienta de análisis para estimar el resultado económico de la actividad productiva. Se calculó el Beneficio Neto para conocer el valor monetario obtenido en la producción de maíz, además se comparó los costos que varían con los beneficios netos, a través del análisis de Dominancia, ya que para el productor es importante saber el aumento de costos que se requiere para obtener un determinado incremento en el Beneficio Neto. El objeto del Análisis de la Tasa de Retorno Marginal fue revelar exactamente como los Beneficios Netos de esta inversión aumentan al incrementar la cantidad invertida.

La inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla produjo un mayor Beneficio Neto que fue \$ 1938,96 (dólares americanos) por hectárea [ha], y en Quinchuquí presentó un Beneficio Neto de \$ 1840,89/ha. En Amaguaña, aumentó la Tasa de Retorno Marginal a % 2782,46; es decir, que por \$ 1,00 (dólar americano) invertido en adquirir y utilizar el biofertilizante de *Azospirillum* spp, el productor recupera \$1,00 y obtiene \$ 27, 82/ha, y en Quinchuquí, la Tasa de Retorno Marginal fue %1369,53, donde se recupera \$1 y se obtiene de ganancia \$ 13,69/ha. Ver Tabla 8.

**Tabla 8. Beneficio Neto y Presupuesto Parcial de los mejores tratamientos.**

Variables /Localidad	Beneficio Neto (\$/ha)		Tasa de Retorno Marginal (\$)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
<b>Tratamientos</b>	c2m3	c2m3	c2m3	c2m3
	1938,96	1840,89	27, 82	13,69
<b>Testigos</b>	tm1	tm2		
	1331,94.	1131,17		
<b>Bibliográfico</b>	1706,40	1345		

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquida a la semilla.

tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los métodos de inoculación de *Azospirillum* spp. fueron los apropiados para esta especie vegetal e hicieron posible que una población óptima de  $2 \times 10^9$  UFC/ml de *Azospirillum* spp. actúe de manera beneficiosa sobre la planta demostrando la calidad del inoculante y las buenas técnicas de inoculación en campo que se emplearon para asegurar que la cantidad de bacterias aplicada sea la del inoculante, estas incluyen la esterilidad hasta su transporte al campo y la siembra en condiciones ambientales favorables.

El método de inoculación líquido a la semilla permitió que las bacterias se encuentren adheridas a la zona de germinación y nacimiento de raíces, sin desmerecer, a la inoculación líquida y sólida al suelo, donde al ser depositado el inoculante antes de la semilla, las bacterias se encontraron en la zona de elongación de raíces. Ambas inoculaciones le permitieron a *Azospirillum* spp. adherirse a las raíces y ser parte de las actividades metabólicas de las plantas de maíz (Zvietcovich, 2004).

### AGRADECIMIENTOS

Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias

La cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar se adaptó y multiplicó en la rizósfera mejorando la biodiversidad del suelo y la interacción planta microorganismo, donde la mayoría de los sustratos necesarios para el crecimiento microbiano y síntesis de hormonas vegetales fueron producidas por la bacteria.

La presencia de AIA y compuestos derivados de los exudados vegetales, fue suficiente para que *Azospirillum* incrementara la expresión del gen *ipdC* con el consecuente aumento de la síntesis de AIA, que dió inicio a la respuesta celular y permitió la germinación de la semilla de maíz, el incremento en la longitud y volumen de raíces, lo que mejoró la absorción de nutrientes que luego se acumularon en tallos y hojas, induciendo un cambio significativo en varios parámetros de crecimiento. Finalmente una gran cantidad de estos minerales fueron transferidos a las panículas y espigas incrementando así el rendimiento (Bashan, *et al*, 1995).

(INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Maíz, Departamento de Protección Vegetal.

### REFERENCIAS

BERNAL, G. & GRAHAM, P. 2001. Diversity in the rhizobia associated with *Phaseolus vulgaris* L. in Ecuador, and comparisons with Mexican bean rhizobia. Canadian Journal of Microbiology. 47(6):530-531

BERNAL, G., SUAREZ, A., JEREZ, M., CAMPAÑA, D. 2002. Inoculación de la semilla de leguminosas con la bacteria *Rhizobium*. Plegable Divulgativo No. 195. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito – Ecuador.

CABALLERO, J. 1998. El género *Azospirillum*. Programa de Ecología

Molecular y Microbiana. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno. UNAM. Ap. P. 565-A Cuernavaca – México. Disponible <http://bibliooweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/cap10>.

CANTO, J., MEDINA, S., MORALES, D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* spp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense jacquin*). Revista Tropical and Subtropical Agroecosystems. Vol 4. Yucatán México. Pp: 21 – 27.

- CIMMYT, 1986. Manejo de ensayos e informe de datos para el programa de ensayos internacionales de maíz del CIMMYT. México. Pp. 13.
- CIMMYT, 1988. La formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. México DF – México. P. 79.
- ENRÍQUEZ, G. 1991. Descripción y evaluación de los Recursos Filogenéticos: Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales. Quito, Ecuador. INIAP. Departamento de Recursos Filogenéticos. pp. 116-117.
- ESPINOZA, L. 2004. Caracterización y selección de la bacteria diazotrófica *Azospirillum* spp., asociado con el maíz de altura (*Zea mays* L). Tesis Doctor en Biología. Universidad Central de Ecuador. Facultad de Filosofía, Letras y Ciencias. Educación Escuela de Biología.
- FAO, 2001. Technical Expert Meeting on increasing the use of Biological Nitrogen Fixation (BNF) in agriculture. [www.fao.org](http://www.fao.org).
- FRIONI, L. 1999. Procesos Microbianos. Tomo II. Editorial de la fundación Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. P. 286.
- IBPGR, 1991. Descriptors for Maize. International Maize and Wheat Improvement Center. Mexico City. International Board for Plant Genetic Resources. Rome. pp. 9 a 25.
- INEN 761., 1991. Norma Técnica Ecuatoriana NTE 1961:1991 para la industria alimentaria, productos agrícolas, hortalizas, choclo maíz tierno. [www.inen.gov.ec/normas/index2.php](http://www.inen.gov.ec/normas/index2.php).
- KLOEPPER, J., ZABLOTOWICZ, R., TIPPING, E., LIFSHITZ, R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizer. Pp. 315-326.
- MOLINA, S. 2006. Desarrollo de un biofertilizante a partir de cepas de *Azospirillum* spp. para el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), variedad INIAP-102 con dos fertilizaciones químicas y dos fertilizaciones orgánicas. Universidad Técnica de Cotopaxi. Ciencias Agrícolas, Ambientales y Veterinarias. Tesis Ingeniero Agrónomo.
- NIETO, C; REA, J; CASTILLO, R; PERALTA, E. 1984. Guía para el manejo y preservación de los recursos fitogenéticos. Publicación Miscelánea # 47. INIAP. Quito, Ecuador. 59 p.
- NITRAGIN, 2002. Guía de Inoculantes. Argentina. <http://www.nitragin.com.ar/guiainoc3.asp#Uso%20y%20Aplicación>.
- NOVO, R. 2002. Memorias curso internacional de microbiología de suelos, los biofertilizantes y la biofertilización. Quito - Ecuador. ASOINCO.
- RITCHIE, S., HANWAY, J., BENSON, G. 2003. Como se Desarrolla una Planta de Maíz. Universidad de Ciencia y Tecnología del Estado de Iowa. Edit. INPOFOS. Reporte especial No. 48. Canadá - Estados Unidos. Pp. 3 a 21.
- SALAZAR, P. 1990. El Cultivo de Maíz en el Estado Trujillo. Ingeniero Agrónomo. Divulgativo. FONAIAP - Estación Experimental Trujillo. No. 33. Valera.
- SAUBIDET, M., FATTA, N., BARNEIX, A. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant Soil* 245:215-22
- SAURA, G., FERNANDEZ, R., HIDALGO, J. 2003. Fijador de Nitrógeno, *Azospirillum* spp. Edit FIAGRO (Fundación para la Innovación Tecnológica Agropecuaria), El Salvador. Pp: 1-2.

<sup>a</sup>SILVA, E., DOBRONSKY, J., HEREDIA, J. 2000. Variedad de Maíz Blanco Harinoso para la provincia de Chimborazo. "Blanco Blandito mejorado". INIAP 102. Boletín divulgativo No. 181. Programa de Maíz. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador.

<sup>b</sup>SILVA, E., DOBRONSKY, J., HEREDIA, J. 2000. Variedad de Maíz Amarillo Harinoso Precoz para la provincia de Imbabura. "Chaucho mejorado" INIAP 122. Boletín divulgativo No. 159. Programa de Maíz. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador.

VELASTEGUÍ, J.R. 2009. Apuntes del curso de Bioprocesos. FCIAL, Ingeniería Bioquímica, UTA, Ambato, Ec. v/v.

VENTIMIGLIA, L. Y CARTA, H. 2005. Inoculación en soja: un nuevo sistema que permite mejorar la captura de nitrógeno. Técnicos de la Unidad de Extensión y Experimentación Adaptativa. INTA 9 de Julio. Pp: 2-3.

YÁNEZ, C. 2007. Manual de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras. Proyecto de emergencia para la rehabilitación agro productiva de la Sierra del Ecuador. FAO/TCP/ECU/3101. Quito – Ecuador. Pp: 5, 10-17.

ZVIETCOVICH, G. 2004. Los Inoculantes. Fertilizantes Biológicos Nitrogenados para cultivo de leguminosas, gramíneas, raíces y tubérculos, hortalizas y frutales.



