



Avances en Investigación Agropecuaria

ISSN: 0188-7890

revaia@ucol.mx

Universidad de Colima

México

Villa-Castro, L.; Mayek-Pérez, N.; García-Olivares, J. G.; Hernández-Mendoza, J. L.
Efecto de la inoculación en maíz con cepas nativas de *Azospirillum* sp
Avances en Investigación Agropecuaria, vol. 18, núm. 1, enero-abril, 2014, pp. 33-38
Universidad de Colima
Colima, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83729789004>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Efecto de la inoculación en maíz con cepas nativas de *Azospirillum* sp•

Effect of corn inoculation with *Azospirillum* sp native strains

**Villa-Castro, L.; Mayek-Pérez, N.;
García-Olivares, J. G. y Hernández-Mendoza, J. L.***

Instituto Politécnico Nacional
Centro de Biotecnología Genómica
Laboratorio de Biotecnología Experimental
Blvd. del Maestro S/N Esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza
Reynosa, Tamaulipas; México (C. P. 88710).
Tels. 01 (899) 924-36-27 / 01 (899) 925-16-56 Ext. 87749

*Correspondencia: jhernandezm@ipn.mx

•NOTA TÉCNICA

Resumen

En condiciones de invernadero se evaluó el efecto de tres cepas de *Azospirillum* sp (Patrón 9, IPN-33, IPN-35) aisladas de suelos cultivados con sorgo, en el norte de Tamaulipas; en el crecimiento de híbridos de maíz (30P49® y 30F52®). Las cepas de *Azospirillum* mostraron efectos diferentes en la producción de biomasa, así como también el testigo. La cepa Patrón 9 incrementó significativamente el peso seco de la planta. Dicha cepa, Patrón 9, muestra potencial para utilizarse como inoculante en cultivos agrícolas de la región.

Palabras clave

Auxinas, producción de biomasa, *Azospirillum* spp., maíz.

Abstract

The effect of three strains of *Azospirillum* sp (Patron 9, IPN-33, IPN-35) isolated from soil cultivated with sorghum in northern Tamaulipas on the growth of maize hybrids (30F52® and 30P49®) was evaluated under greenhouse conditions. *Azospirillum* strains showed different effects on biomass production as well as in the control group. The strain Patron 9 increased the dry plant weight considerably. This strain (Patron 9) shows potential for being used as inoculum in agricultural crops in the region.

Keywords

Biomass, chlorophyll index, selection strains, inoculants, height plant.

La agricultura a nivel mundial ha buscado alternativas biológicas para mejorar la sustentabilidad de la producción de los cultivos. La utilización de biofertilizantes se considera una opción para sustituir parcial o totalmente el uso de los fertilizantes químicos. Las bacterias que interactúan con plantas son consideradas como una opción viable para desarrollar biofertilizantes (Caballero-Mellado, 2006); en particular, aquellas del género *Azospirillum* spp, que es una bacteria de vida libre, fijadora de nitrógeno, aislada de la rizósfera y productora de fitohormonas (Bashan *et al.*, 2004). Dentro de este género, han reportado doce especies: *A. lipoferum* y *A. brasilense* (Tarrand *et al.*, 1978), *A. amazonense* (Magalhães *et al.*, 1983), *A. halopraeferens* (Reinhold *et al.*, 1987), *A. irakense* (Khammas *et al.*, 1989), *A. largimobile* (Sly and Stackebrandt, 1999) y las recientemente descritas, *A. doebereineriae* (Eckert *et al.*, 2001), *A. oryzae* (Xie *et al.*, 2005), *A. melinis* (Peng *et al.*, 2006), *A. canadense* y *A. zeae* (Mehnaz *et al.*, 2007) y *A. rugosum* (Young *et al.*, 2008). Las especies de este género más ampliamente estudiadas son *A. lipoferum* y *A. brasilense*, gracias a su capacidad para estimular el crecimiento de las plantas y de aumentar el rendimiento de los cultivos (Díaz y Ortegón, 2006; García-Olivares *et al.*, 2012).

Las bacterias del género *Azospirillum* spp mejoran el crecimiento vegetal, dada la producción y liberación de fitohormonas como auxinas, citocininas y giberelinas. Estas hormonas vegetales promoverán la capacidad de *Azospirillum* spp como fijadora de nitrógeno (De Bashan *et al.*, 2007). La fitohormona más importante producida por *Azospirillum* spp es la auxina ácido indol-3-acético (AIA). Las plantas presentan cambios morfológicos en las raíces, así como también una mejor absorción de minerales después de inocularse con *Azospirillum* spp; estos cambios se atribuyen a la liberación de AIA de esta bacteria (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000). Estudios revelan que la inoculación con *Azospirillum brasilense* incrementa en 35% el rendimiento de grano en maíz respecto de plantas no inoculadas (García-Olivares *et al.*, 2012). La asociación de *Azospirillum*-planta da como resultados cambios importantes en diferentes parámetros del crecimiento (Bashan y Holguin, 1996); tales como: el incremento en el desarrollo radicular de la planta, mayor desarrollo de materia verde y mayor producción de materia seca (García *et al.*, 2005; Díaz y Ortegón, 2006).

Además de AIA, se han encontrado otros compuestos indólicos y metabolitos relacionados, tales como: el ácido indol pirúvico, indol láctico, indol acetamida, indol acetaldehído, indol etanol e indol metano, triptamina y antranilato (Dobbelaere *et al.*, 2001; Aguilar-Piedras *et al.*, 2008; Hernández-Mendoza *et al.*, 2010). Esta bacteria ha creado numerosos progresos en los campos, dando lugar a una aplicación cada vez mayor y exitosa en varias regiones del mundo, especialmente en América del Sur y Centroamérica (Hartmann y Bashan, 2009).

En este estudio se evaluó el efecto que produce la inoculación con cepas de *Azospirillum* sp. en dos diferentes maíces cultivados en el noreste de México (Pionner 30P49® y 30F52®).

Las cepas de *Azospirillum* sp. empleadas en este estudio fueron designadas como Patrón 9, IPN-33 e IPN-35; se multiplicaron en matraces de 500 ml con 50 ml medio

Luria Bertani (LB) a pH 7.0, enriquecido con 1 g/l de triptófano. Se incubaron a 29°C (± 1), se mantuvieron en agitación constante a 200 rpm y se tomaron muestras de cinco ml del caldo nutritivo a las 72 h después de la inoculación y se congelaron a -20°, hasta su procesamiento.

Para la realización del trabajo, se colocaron las semillas de maíz (seis por tratamiento y repetición) en caja de Petri chica. Las variedades, Pioneer 30P49® y 30F52®, fueron empleadas en estas pruebas y se inocularon con tres ml de una suspensión de las cepas bacterianas correspondientes. La concentración de bacterias se estimó por espectrometría (densidad óptica determinada a 600 nm) y se diluyó hasta una suspensión de 1×10^9 Unidades Formadoras de Colonia/ml; los tratamientos se hicieron por triplicado.

Las semillas se incubaron por 72 h con el inóculo y luego se sembraron en charolas de 72 cavidades (capacidad 120 ml cada una). El sustrato consistió de una mezcla de suelo agrícola y perlita en relación 3:1v/v. Los parámetros evaluados fueron: peso seco de raíz, peso seco de planta, altura de planta e índice de clorofila, medida con Minolta SPAD 501 (Díaz y Garza, 2006).

Se tomaron datos de las plantas a los 30 días después de la siembra y como testigo se utilizaron semillas sin tratar de cada una de las variedades de maíz mencionadas. Los resultados se sometieron a análisis estadísticos y se analizaron por la prueba de los cuadrados medios y comparación de medias con prueba de Tukey (DMSH, $p < 0.05$) empleando el programa SAS (SAS, 1998).

El ANVA global detectó diferencias altamente significativas para los híbridos (30P49® y 30F52®) en el peso seco de planta, altura de planta y clorofila (cuadro 1). El mismo análisis muestra que entre cepas existen diferencias significativas en cuanto a su efecto en peso seco de raíz y altamente significativas para altura de planta. No muestran efecto en cuanto a la influencia en el índice de clorofila, ni en el peso seco de planta. Asimismo, el ANVA no detectó diferencias significativas en las repeticiones, lo cual significa que hay homogeneidad entre ellas.

Finalmente, en lo relativo al efecto cruzado de híbrido por cepa de *Azospirillum* sp, los tratamientos aplicados mostraron alta significancia en la altura de planta y clorofila.

Cuadro 1
Cuadrados medios y coeficiente de variación del análisis
de varianza de peso seco de raíz y follaje, altura de planta
e índice de clorofila de híbridos de maíz tratados con *A. brasilense*.

<i>Cuadrados medios</i>				
Fuente de variación	PS Raíz (g)	PS Follaje (g)	Altura de planta (cm)	Clorofila***
Híbridos	0.002 NS	0.031 **	458.643 **	964.69 **
Cepas	0.009 *	0.002 NS	103.722 **	2.176 NS
Repetición	0.002 NS	0.004 NS	6.020 NS	2.439 NS
Híbrido x cepa	0.006 NS	0.005 NS	67.448 **	10.99 **
Error	0.003	0.003	9.509	3.181
CV (%)	23.90	23.43	10	13.90

** = Altamente significativo; * = Significativo; NS = No significativo. (***) Unidades SPAD).

En el experimento, cada una de las cepas bacterianas indujo cambios en la planta, los cuales pueden tener variaciones de acuerdo a la actividad de la misma (cuadro 2). Los tratamientos de las semillas de maíz con la cepa Patrón 9, mostró los valores promedio más altos para peso seco de raíz y altura de planta comparado con las otras cepas y el testigo, sin diferencia estadística para peso seco de follaje (parte área de la planta) y al índice de clorofila.

Cuadro 2
Comparación de peso seco de raíz y follaje, altura de planta
e índice de clorofila de maíces inoculados con cepas nativas de *A. brasilense*.

<i>Tratamiento</i>	<i>P S Raíz (g)</i>	<i>P S Follaje (g)</i>	<i>Altura de planta (cm)</i>	<i>Índice de clorofila***</i>
Patrón 9	0.26 a	0.25 a	33.30 a	13.00 a
IPN-33	0.23 b	0.24 a	29.05 b	12.47 a
IPN-35	0.23 b	0.24 a	30.83 b	12.96 a
Testigo	0.22 b	0.25 a	29.76 b	12.57 a

Nota: letras indican diferencias significativas (Tukey ≤ 0.05). (***) Unidades SPAD).

Los tratamientos aplicados con las cepas Patrón 9, IPN-33, IPN-35 y testigo en el maíz (30P49® y 30P52®), la cepa Patrón 9 se considera la respuesta más favorable, pues es donde se detectaron los valores más altos.

En el norte del estado de Tamaulipas el cultivo de maíz forma parte de los cultivos típicos en la región y al estar en suelos pobres en materia orgánica, los agricultores utilizan fertilizantes químicos en su producción. Estos compuestos generan una inversión de alto costo y daños ecológicos (García *et al.*, 2007). Ante esta problemática se busca, a través de este trabajo, generar una alternativa que reduzca la utilización de los fertilizantes químicos y promueva la protección ambiental.

Una de estas alternativas es la utilización biofertilizantes, entre los cuales se encuentran las bacterias del género *Azospirillum* spp.; las que, a menudo, ha sido utilizadas como inoculantes en gramíneas y otras especies vegetales (De Bashan *et al.*, 2008; De Bashan *et al.*, 2010). Su aplicación es tecnológicamente aceptable (Díaz Franco *et al.*, 2005), además de que son capaces de producir compuestos hormonales (fitohormonas vegetales) (Bashan *et al.*, 2008; Hernández-Mendoza *et al.*, 2010) que pueden contribuir al buen desarrollo de las plantas tratadas, como se observó en este trabajo. En las plantas tratadas se pueden mejorar parámetros, como el alargamiento de raíces e incremento en la biomasa producida por las plantas inoculadas.

La evaluación de la inoculación con cepas de género de *Azospirillum* sp. en maíz mostró respuestas positivas en cuanto a la producción de biomasa en las especies de maíz inoculado. La exploración de más cepas de *Azospirillum* podría favorecer la detección de cepas con mayor actividad promotora del crecimiento vegetal para el maíz.

Como conclusión de este trabajo, se confirma que los aislados de *A. brasilense* tienen preferencia en la asociación con ciertos materiales o híbridos de maíz. Asimismo, que el patrón 9 estimuló el desarrollo del maíz con mayor intensidad en la raíz y en la altura de la planta y que finalmente es necesario continuar realizando aislamientos para detectar cepas que tengan una mayor capacidad de promover el crecimiento y la cantidad de clorofila en las plantas tratadas.

Literatura citada

- Aguilar-Piedras, J. J.; Xiqui-Vásquez, M. L.; García-García, S. y Baca, B. E. (2008). Producción de ácido Indol-3-acético en *Azospirillum*. *Rev. Lat. Microbiol.* 50: 29-37.
- Bashan, Y. y Holguin, G. (1996). *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 103-121.
- Bashan, Y.; Holguin, G. y De Bashan, L. E. (2004). *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances. *Canadian Journal of Microbiology* 50:521-577.
- Bashan de, L. E.; Holguin, G.; Glick, B. R. y Bashan, Y. (2007). Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. En: Ferrera-Cerrato, R. y Alarcón, A. (Eds.). *Microbiología agrícola: hongos, bacteria, micro y macrofauna, Control biológico, Planta-microorganismo*. Trillas, México. pp 177-224.
- Bashan de, L. E.; Antoun, H. y Bashan, Y. (2008). Involvement of indole-3-acetic-acid produced by the growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. in promoting growth of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Plant Phycology* 44: 938-947.
- Bashan de, L. E.; Hernández, J. P.; Nelson, N. K.; Bashan, Y. y Maier, R. (2010). Growth of Quailbush in Acidic, Metalliferous Desert Mine Tailings: Effect of *Azospirillum brasilense* Sp6 on Biomass Production and Rhizosphere Community Structure. *Microbial Ecology* 60: 915-927.
- Caballero-Mellado, J. (2006). Agriculture microbiology and microbe interaction with plants. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 48(2): 154-161.

- Díaz-Franco, A.; Alvarado-Carrillo, M.; Cantú-Almaguer, M. A. y Garza-Cano, I. (2005). Fertilización biológica y producción de maíz en la región semiárida del norte de Tamaulipas, México. *Agric. Téc. Méx.* 31:153-163.
- Díaz-Franco, A. y Ortegón, M. A. (2006). Efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* y fertilización química en el crecimiento y rendimiento de canola (*Brassica napus*). *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 63 - 67.
- Dobbelaere, S.; Croonenborghs, A.; Thys, A.; Ptacek, D.; Vanderleyden, J.; Dutto, P.; Labandera-González, C.; Caballero-Mellado, J.; Aguirre, J. F.; Kapulnik, Y.; Brener, S.; Burdman, S.; Kadouri, D.; Sarig, S. y Okon, Y. (2001). Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 871 - 879.
- Eckert, B. O.; Weber, B.; Kirchhof, G.; Halbritter, A.; Stoffels, M. y Hartmann, A. (2001). *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 17 - 26.
- García-Olivares, J. G.; Moreno-Medina, V. R.; Rodríguez-Luna, I.; Mendoza-Herrera, A. y Mayek-Pérez, N. (2007). Efectos de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de grano de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 305-310.
- García-Olivares, J. G.; Mendoza-Herrera, A. y Mayek-Pérez, N. (2012). Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento del maíz en el norte de Tamaulipas, México. *Universidad y Ciencia.* 28: 79 - 84.
- Hartmann, A. y Bashan, Y. (2009). Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB) - special issue. *European Journal of Soil Biology* 45: 1 - 2.
- Hernández-Mendoza, J. L.; Moreno-Medina, V. R.; Quiroz-Velázquez, J. D.; García-Olivares, J. G. y Mayek-Pérez, N. (2010). Efectos de diferentes concentraciones de ácido antránico en el crecimiento del maíz. *Revista Colombiana de Biotecnología* 12: 57 - 63.
- Khammas, K. M.; Ageron, P. A.; Grimont, D. y Kaiser, P. (1989). *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. *Res. Microbiol.* 140:679 - 693.
- Magalhães, F. M.; Baldani, J. I.; Souto, S. M.; Kuykendall, J. R. y Döbereiner, J. (1983). A new acid-tolerant *Azospirillum* species. *An. Acad. Brasil. Cienc.* 55: 417 - 430.
- Mehnaz, S.; Weselowski, B. y Lazarovits, G. (2007). *Azospirillum zeae* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from Rhizosphere soil of *Zea mays*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57:2805 - 2809.
- Peng, G.; Wang, H.; Zhang, G.; Hou, W.; Liu, Y.; Wang, E. T. y Tan, Z. (2006). *Azospirillum melinis* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56:1263 - 1271.
- Reinhold, B.; Hurek, T.; Fendrik, I.; Pot, B.; Gillis, M.; Kersters, K.; Thielemans, S. y de Ley, J. (1987). *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Lep- tochloa fusca* L.) Kunth. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37: 43 - 51.
- SAS. (1998). SAS Institute. Release.6.03 Edition.
- Sly, L. I. y Stackebrandt, E. (1999). Description of *Skermanella parooensis* gen. nov., sp. nov. to accommodate *Conglomeromonas largomobilis* sub sp. *parooensis* following the transfer of *Conglomeromonas largomobilis* sub sp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 541 - 544.
- Steenhoudt, O. y Vanderleyden, J. (2000). *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Reviews* 24: 487 - 506.
- Tarrand, J. J.; Krieg, N. R. y Döbereiner, J. (1978). A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. *Canadian Journal of Microbiology* 24:967-980.
- Xie, CH y Yokota, A. (2005). *Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 1435 - 8.
- Young, C. C.; Hupfer, H.; Siering, C.; Ho, M. J.; Arun, A. B.; Lai, W. A.; Rekha, P. D.; Shen, F. T.; Hung, M. H.; Chen, W. M. y Yassin, A. F. (2008). *Azospirillum rugosum* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 959 - 963.

Recibido: Enero 08, 2013
Aceptado: Noviembre 04, 2013