

Respuesta Fisiológica a la Fertilización por *Azotobacter chroococcum* AC1 y Fertilización Nitrogenada de Síntesis Sobre el Maíz (*Zea mays* L.) en Invernadero

Melissa Obando¹, Diego Rivera², Ruth Bonilla²

¹ *Facultad de Agronomía-Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.*

E-mail: dmobandoc@unal.edu.co

² *Laboratorio de Microbiología de Suelos, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-Corpoica, Centro de Biotecnología y Bioindustria-CBB.*

Bogotá D.C. E-mail: dmriverab@unal.edu.co; rbonilla@corpoica.org.co

RESUMEN

La implementación de tecnologías sostenibles de biofertilización que complementen y mejoren la asimilación de nutrientes provenientes de la fertilización nitrogenada de síntesis química, se evaluó en plantas de maíz var. ICA - V508 mediante un ensayo en condiciones de invernadero; utilizando un diseño completamente al azar con 6 tratamientos que incluyeron fertilización combinada de naturaleza química (urea y nitrato de amonio) y biológica (*Azotobacter chroococcum* AC1). Se realizó una medición de variables agronómicas a los 15, 30 y 45 días después de la siembra. Los resultados obtenidos presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) de los tratamientos T2, T4 y T6 con respecto a los demás tratamientos en todos los parámetros evaluados. Así mismo, los recuentos de bacterias aeróbicas presuntivas de *Azotobacter* sp. evidenciaron diferencias significativas ($p < 0.05$), presentando los valores más altos para el tratamiento T2, lo cual demuestra que la capacidad de las bacterias para estimular el crecimiento de las plantas no sólo depende de su abundancia, sino de su capacidad para proliferar a través de la raíz y su eficiencia en los mecanismos de promoción. El papel de *Azotobacter chroococcum* en este estudio sugiere que los biofertilizantes pueden ser utilizados como alternativas de uso eficiente y adecuado de los fertilizantes nitrogenados utilizados tradicionalmente.

Palabras clave: Biofertilización, Fertilización Nitrogenada, *Azotobacter chroococcum*

ABSTRACT

Implementation of sustainable technologies complementing and enhancing nutrient uptake from nitrogen biofertilization was evaluated in maize plants var. ICA - V508. The evaluation was performed under greenhouse conditions using a completely randomized design with 6 treatments, which included combined fertilization of chemical (urea and ammonium nitrate) and biological

nature (*Azotobacter chroococcum* AC1). Measurements of agronomic traits at 15, 30 and 45 days were performed after planting. In all evaluated parameters, the observed results were statistically significant ($p < 0.05$) for treatments T2, T4 and T6. Also, the presumptive aerobic bacteria counts of *Azotobacter* showed significant differences ($p < 0.05$), giving the highest values for treatment T2, which demonstrate that ability of bacteria to stimulate plant growth depends not only of its abundance, but also of its ability to proliferate through root and efficiency in its promotion mechanisms. The role of *Azotobacter chroococcum* in this study suggests that biofertilizers can be used as an efficient and appropriate alternative for the traditionally used nitrogen fertilizers.

Keywords: Biofertilizer, Nitrogen Fertilization, *Azotobacter chroococcum*

INTRODUCCIÓN

En Colombia el cultivo de maíz es uno de los renglones más importantes de la producción agrícola nacional y ha sido el cultivo colonizador en muchas regiones del país. Para el año 2009, la superficie sembrada fue de 542.053 ha con una producción de 1.446.879 ton. (Fenalce, 2010). El cultivo del maíz y su fertilización se maneja de acuerdo con las condiciones socioeconómicas de cada zona agroecológica; se siembra principalmente como monocultivo y una menor parte en asociación con ñame y arveja, en relevo con frijol y papa; e intercalado con yuca, caña, café y otros cultivos perennes en su etapa de instalación.

La fertilización nitrogenada de síntesis química como única estrategia correctiva y de nutrición vegetal, cada día genera mayores inconvenientes por su inadecuado uso. Según estudios de FENALCE en el año 2008, se ha reconfirmado que el elemento más importante para la producción de maíz es el nitrógeno, con requerimientos en

promedio para Colombia de 120 a 180 kg/ha.

En este sentido, de los nutrientes minerales el nitrógeno es el de mayor costo, el que consume mayor energía en su producción, distribución, y potencialmente el más contaminante, siendo el más limitante en la producción de los cultivos. Además, se ha evidenciado la baja eficiencia de utilización de las fuentes nitrogenadas de síntesis (12-74%) la cual está asociada a elevada lixiviación y desnitrificación (Ben *et al.*, 2007).

Existe evidencia de que diversas alternativas de tecnologías sostenibles de naturaleza biológica, están desarrollándose lentamente en nuestro país. No obstante, el descubrimiento del crecimiento asociativo de microorganismos promotores del crecimiento vegetal con capacidades particulares de fijación de nitrógeno de ciertas plantas C4, principalmente en los trópicos, se ha avisado como una herramienta aplicable. Los microorganismos del suelo tienen una importancia sobresaliente en condiciones naturales, principalmente por su amplio espectro de actividades, que repercuten en el

desarrollo y nutrición vegetal (Box, 1996). *Azotobacter* sp. en particular, resulta ser un microorganismo nativo con grandes posibilidades de recuperación de sistemas degradados en nuestro país, que participa mediante diversos mecanismos como complemento en la fertilización tradicional en numerosos cultivos de importancia agrícola, incluyendo las gramíneas (Bonilla *et al.*, 2002; Bonilla & Morales, 2007; Obando *et al.*, 2010; Rivera *et al.*, 2011, Rivera *et al.*, 2012). Por tal razón, el objetivo de esta investigación fue determinar la respuesta fisiológica a la fertilización biológica y nitrogenada del maíz (*Zea mays* L.) y su posible contribución como herramienta complementaria a la fertilización tradicional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla 1. Características fisicoquímicas del suelo utilizado en los ensayos en invernadero

P	S	Ca	Mg	K	Na	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Materia orgánica	pH
mg/kg					cmol-/kg							
4.1	3.1	4.23	0.86	1.44	0.26	123	1.9	2.9	2.8	0.06	15.3	5.9

Ensayo en invernadero

El material vegetal utilizado fueron semillas de maíz variedad certificada ICA-V508. El suelo se obtuvo de Corpoica C.I. Tibaitatá, Mosquera (Cundinamarca). Se

Condiciones de crecimiento bacteriano e inoculación

Se realizaron suspensiones celulares a partir del ingrediente activo del fertilizante biológico comercial Monibac® (*Azotobacter chroococcum* AC1). El microorganismo se cultivó en medio de cultivo LB (Bertani, 1952) sin fuente de nitrógeno durante 24 h y se agitó a 120 rpm a 30 °C. Los controles de calidad presentaron 100% de pureza y viabilidad celular de 1×10^8 UFC/mL. El proceso de inoculación se realizó mediante imbibición de la semilla e inoculación a razón de 5 mL por plántula en condiciones semicontroladas de invernadero. Por otra parte, se realizó el análisis del suelo con el fin de examinar las propiedades y características presentes (Tabla 1).

utilizaron bolsas de plástico con capacidad de 3 kg con 2.5 kg de suelo. Para este estudio, el plan de fertilización fue modificado de acuerdo al análisis de suelo obtenido previamente (Tabla 1).

Los tratamientos evaluados para determinar la respuesta del maíz a la fertilización biológica y nitrogenada fueron los siguientes: **T1**: testigo absoluto; **T2**: fertilización biológica 100% (*A. chroococcum* AC1); **T3**: fertilización nitrogenada 100% (urea); **T4**: fertilización nitrogenada 100% (nitrato de amonio); **T5**: fertilización nitrogenada 100% (urea) + fertilización biológica 100% (*A. chroococcum* AC1); **T6**: fertilización nitrogenada 100% (nitrato de amonio) + fertilización biológica 100% (*A. chroococcum* AC1). Los muestreos se realizaron a los 15, 30 y 45 días después de la siembra (dds) y las variables evaluadas fueron: longitud parte aérea (LPA), longitud de la raíz (LR), peso fresco parte de la parte aérea (PFA), peso fresco de la raíz (PFR) y el recuento de bacterias aeróbicas tentativas de *Azotobacter* sp. en medio LG (Döbereiner *et al.*, 1995). Así mismo, se midieron los contenidos de nitrógeno total y de clorofila a los 45 días después de la siembra.

Análisis estadístico

Para el diseño, se establecieron seis tratamientos con 20 réplicas mediante un diseño de bloques completos al azar (DCA). Los datos fueron analizados utilizando el análisis de varianza ANOVA y Tukey HSD ($p < 0.05$) utilizando el software estadístico SAS 9.0 para Windows.

RESULTADOS

Variables de longitud de la planta

En la medición de longitud de raíz-LR se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) de los tratamientos T6 para 15 y 30 días después de la siembra (dds) (Figura 1a). Así mismo, los tratamientos con inoculación biológica (T2 y T6) presentaron diferencias significativas a los 45 dds, superando hasta en un 50% a los tratamientos T1 y T3. Para la longitud de la parte aérea-LPA a los 15 dds, los tratamientos T2, T3, T5 y T6 estimularon la elongación de la parte aérea, presentando valores estadísticamente significativos en comparación con los demás tratamientos evaluados. A los 30 dds el tratamiento con 100% de inoculación biológica (T2), presentó diferencias estadísticamente significativas, superando en 12% y 15% los tratamientos T3 y T4 respectivamente. Para el caso de los 45 dds, los tratamientos T2 y T5 presentaron los mejores valores de longitud, lo cual evidencia que las variables de longitud para los tres tiempos muestreados tuvieron una incidencia significativa de los tratamientos con inoculación de *A. chroococcum* (Figura 1b).

Variables de peso en la planta

En cuanto al peso seco aéreo-PSA a los 15 dds, se presentaron diferencias representativas para los tratamientos T4 y T6; mientras que, a los 30 dds, el comportamiento en ganancia de biomasa seca aumentó significativamente para los tratamientos T1, T3, T5 y T6; y disminuyó la eficiencia en acumulación para el tratamiento T4. Por su parte, los tratamientos T2, T4 y T6

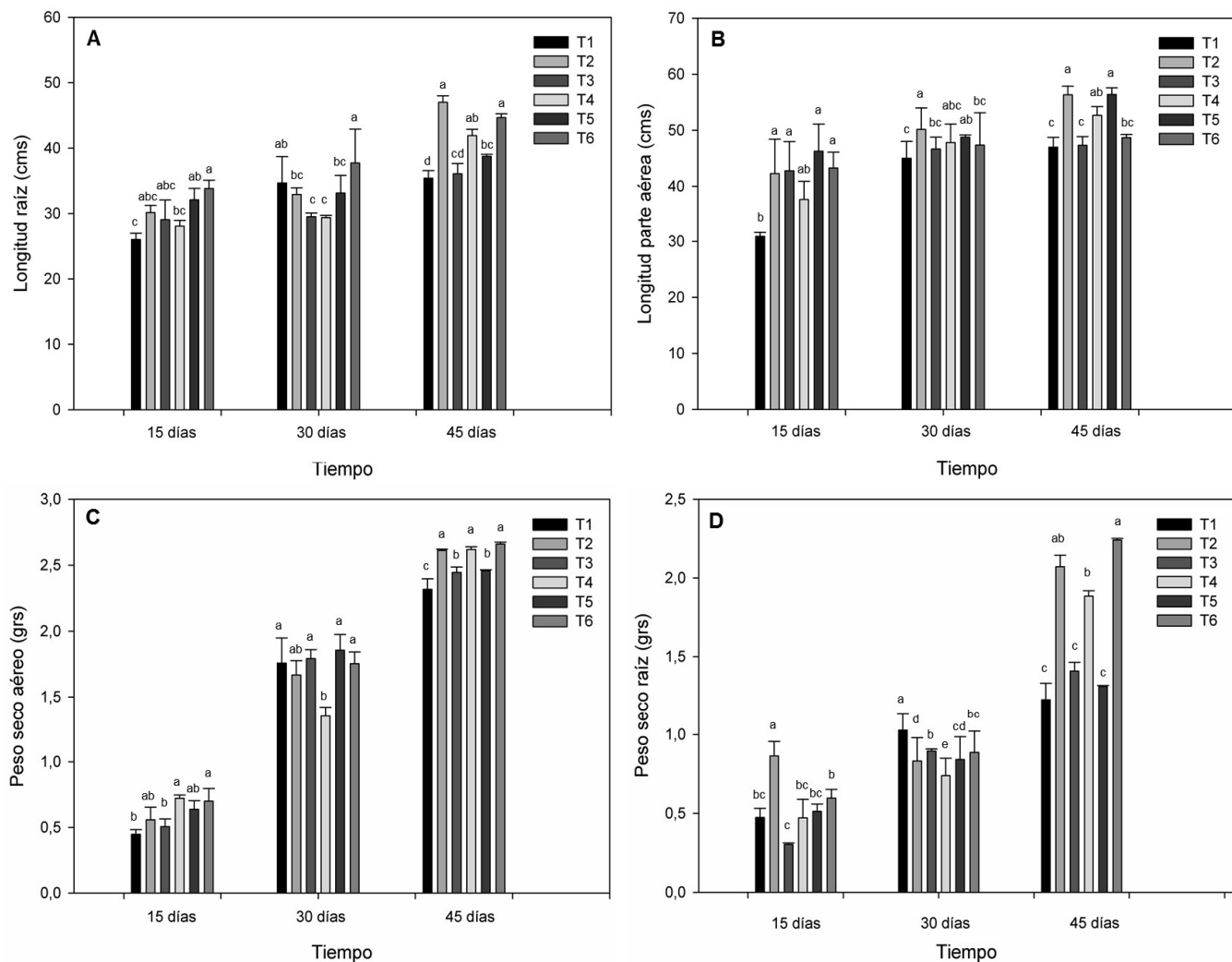


Fig 1. Respuesta del maíz a la fertilización biológica y química en tres épocas de muestreo. **a)** Longitud de la raíz **b)** Longitud de la parte aérea **c)** Peso seco de la parte aérea **d)** Peso seco de la raíz.

T1: testigo absoluto; **T2:** fertilización biológica 100% (AC1); **T3:** fertilización nitrogenada 100% (urea); **T4:** fertilización nitrogenada 100% (nitrato de amonio); **T5:** fertilización nitrogenada 100% (urea) + fertilización biológica 100% (AC1); **T6:** fertilización nitrogenada 100% (nitrato de amonio) + fertilización biológica 100% (AC1). ± Desviación estándar - Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas en relación a cada variable evaluada de acuerdo a la prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$).

mostraron valores estadísticamente significativos en peso seco aéreo-PSA; es decir, los tratamientos con fertilización combinada (100% nitrato de amonio y 100%

de *A. chroococcum* AC1) puede igualar los valores de biomasa de los tratamientos con solamente 100% de fertilización nitrogenada

de nitrato de amonio e incluso, el tratamiento 100% biológico estimuló este parámetro igualando tratamientos que son fertilizados químicamente (Figura 1c). Para el peso seco de raíz-PSR, el tratamiento T2 presentó diferencias estadísticamente significativas a los 15 dds. No obstante, el testigo absoluto-TA aumentó significativamente la acumulación de nutrientes en raíces a los 30 dds, superando los demás tratamientos evaluados. A los 45 dds, los patrones de acumulación mejoraron en todos los tratamientos, presentando los valores más representativos, el tratamiento T6, el cual supera el contenido de biomasa seca

radicular en más del 50 % en los tratamientos T3 y T4 y duplicó al testigo absoluto (Figura 1d).

Recuento de bacterias aerobias presuntivas de Azotobacter sp.

El tratamiento T2 presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto a todos los tratamientos y épocas de muestreo evaluadas. No obstante, el tratamiento T5 presentó valores representativos que aumentaron paulatinamente hasta los 45 dds, evidenciando que las poblaciones aeróbicas lograron establecerse en la rizósfera del maíz en presencia de nitrato de amonio (Tabla 2).

Tabla 2. Recuento de bacterias aerobias presuntivas de *Azotobacter* sp.

Tratamientos	15 dds (*) UFC/mL	30 dds (*) UFC/mL	45 dds (*) UFC/mL
T1	2.39 ± 0.53c	2.64 ± 0.14d	3.80 ± 0.05d
T2	7.74 ± 0.17a	8.66 ± 0.35a	7.90 ± 0.08a
T3	2.42 ± 0.09c	3.59 ± 0.22c	2.87 ± 0.01e
T4	4.52 ± 0.06b	4.46 ± 0.11b	3.71 ± 0.03d
T5	4.67 ± 0.17b	4.67 ± 0.17b	6.85 ± 0.06b
T6	2.79 ± 0.10c	2.90 ± 0.04d	4.89 ± 0.03c

(*) Análisis estadísticos con datos transformados en Log - UFC/ml: Unidades formadoras de Colonia por mililitro. ± Desviación estándar - Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas en relación a cada variable evaluada de acuerdo al test de Tukey HSD ($p < 0.05$). **T1:** testigo absoluto; **T2:** fertilización biológica 100% (AC1); **T3:** fertilización nitrogenada 100% (urea); **T4:** fertilización nitrogenada 100% (nitrato de amonio); **T5:** fertilización nitrogenada 100% (urea) + fertilización biológica 100% (AC1); **T6:** fertilización nitrogenada 100% (nitrato de amonio) + fertilización biológica 100% (AC1).

Determinación del contenido de pigmentos (clorofila) y nitrógeno total – 45 dds

La producción de pigmentos fotosintéticos (Clorofilas A+B), presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el

tratamiento con 100% de inoculación con *A. chroococcum*. Así mismo, los resultados evidencian una baja producción de estos compuestos cuando la fertilización es 100% nitrogenada de síntesis, que incluso son

superados por el testigo absoluto (T1). En relación con el contenido de nitrógeno total, el tratamiento T5 presentó el mayor contenido de nitrógeno con respecto a los demás tratamientos evaluados, revelando que en un gran número de parámetros la combinación de fuentes tipo

nitrate de amonio junto con *A. chroococcum* ejercen un efecto benéfico en la promoción de crecimiento del maíz, de acuerdo a las variables estudiadas en esta investigación (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido de pigmentos (clorofila) y nitrógeno total a los 45 dds

Tratamientos	Clorofilas A+B	Nitrógeno total
T1	6.08 ± 0.47c	1.95 ± 0.02d
T2	8.49 ± 0.17a	2.76 ± 0.05b
T3	5.18 ± 0.27d	2.71 ± 0.02b
T4	4.07 ± 0.15e	2.70 ± 0.05b
T5	6.95 ± 0.42b	2.82 ± 0.05a
T6	7.23 ± 0.17b	2.52 ± 0.03c

T1: testigo absoluto; **T2:** fertilización biológica 100% (AC1); **T3:** fertilización nitrogenada 100% (urea); **T4:** fertilización nitrogenada 100% (nitrate de amonio); **T5:** fertilización nitrogenada 100% (urea) + fertilización biológica 100% (AC1); **T6:** fertilización nitrogenada 100% (nitrate de amonio) + fertilización biológica 100% (AC1). ± Desviación estándar - Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas en relación a cada variable evaluada de acuerdo a la prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

Biomasa y longitud de la planta

Las variables más influyentes en la evaluación de la acumulación de nutrientes y fotoasimilados se refleja en los incrementos de biomasa seca. Bajo las condiciones de evaluación de este estudio, los tratamientos con inoculación biológica incrementaron esta variable, aun cuando la fertilización fue 100% biológica. Investigaciones previas han demostrado que los microorganismos benéficos estimulan los procesos de

germinación y el vigor de diferentes cultivos (Amruthesh *et al.*, 2003). En las últimas décadas, se ha investigado el papel de las bacterias de la rizósfera o rizobacterias de diversas gramíneas como caña de azúcar (Boddey *et al.*, 1995; Arteaga, 1997), trigo y sorgo (Baldani *et al.*, 1986), cebada y pastos tropicales (Döbereiner *et al.*, 1995; Bonilla, 2000) y maíz (Seldin *et al.*, 1998).

El efecto promotor de *Azotobacter chroococcum* expresado en el incremento de biomasa, longitud y contenido de nutrientes

se ha evidenciado en reportes recientes y en varios cultivos de importancia agronómica. Mehnaz y Lazarovits (2006) encontraron un aumento del 12% en biomasa seca en plantas de maíz inoculadas con *A. lipoferum* N7 con respecto a las plantas no inoculadas. Así mismo, Chandrasekar *et al.* (2005) reportaron con inoculantes a base de *Azotobacter* sp. un incremento del 12,1% en peso seco total en pastos del género *Echinochloa*. Castilla (2005) realizó la evaluación de líneas interespecíficas de arroz (*Oryza* spp.) a la inoculación con *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum amazonense* en el mismo suelo, concluyendo que esta inoculación con 50% de la fertilización nitrogenada produjeron plantas de arroz más vigorosas, con mayor biomasa aérea y radical.

El incremento del vigor de las plantas en sus primeras etapas de desarrollo, mediante la inoculación de cepas de *A. chroococcum* ha sido estudiado por Martínez *et al.* (1997) quienes reportan incremento en la altura del tomate desde un 34% hasta el 100%, de acuerdo a la variedad utilizada. Esto podría atribuirse a una mayor absorción de nutrientes y posterior producción mayor de fotoasimilados (Dibut, 2000; Pulido, 2002).

Recuento de bacterias aerobias presuntivas de Azotobacter sp.

El tratamiento inoculado con *A. chroococcum* presentó los mejores recuentos de bacterias aeróbicas en medio LG con respecto a todos los tratamientos y épocas de BioTecnología, Año 2013, Vol. 17 No. 1

muestreo evaluadas. El tratamiento con fertilización con nitrato de amonio y *A. chroococcum* (T5), presentó los valores más representativos que aumentaron paulatinamente hasta los 45 dds, evidenciando que las poblaciones aeróbicas lograron establecerse en la rizósfera del maíz en presencia del fertilizante nitrogenado. De igual forma, la eficiencia en la estimulación de factores de crecimiento del maíz no estuvo estrictamente relacionado con el número de microorganismos obtenido en el recuento presuntivo de bacterias tipo *Azotobacteriaceae*, como lo mencionan Loper *et al.* (1985) quienes afirman que la capacidad de las bacterias para afectar el crecimiento de las plantas no sólo depende de su abundancia, sino de su capacidad para proliferar a través de la raíz e interactuar con la misma.

Según Kloepper & Beauchamp (1992) la dinámica de colonización de las raíces por las bacterias inoculadas es esencial para su establecimiento efectivo, siendo un factor crítico para la promoción del crecimiento vegetal. En las gramíneas, la composición cuantitativa y cualitativa de los microorganismos en la rizósfera varía entre especies e incluso entre genotipos de la misma especie, lo cual se atribuye principalmente a las variaciones intrínsecas de cada planta en particular, en términos de la cantidad y calidad de los exudados radicales (Rengel, 1997).

Contenido de pigmentos (clorofila) y nitrógeno total – 45 dds

El aumento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) de la extracción de nitrógeno por el maíz se observó en el tratamiento T5. En diversos reportes se han evidenciado la mejor asimilación de nutrientes cuando se complementa la fertilización con componentes biológicos, como lo mencionan Das *et al.* (2003) donde encontraron valores significativos de mayor acumulación de nitrógeno N_2 por el algodón con una aplicación combinada junto con *Azotobacter* M4 en comparación con la aplicación individual del fertilizante nitrogenado.

La absorción eficiente de nutrientes como el nitrógeno, puede verse estimulado por microorganismos promotores de crecimiento vegetal con capacidades en la fijación biológica del nitrógeno. Según Biswas *et al.* (2000) los microorganismos fijadores de nitrógeno (dentro de los cuales se encuentra el género *Azotobacter*) pueden promover el crecimiento vegetal mediante la transferencia del nitrógeno fijado, o mediante el mejoramiento de la absorción de nutrientes a través de la modulación de actividades hormonales en las plantas inoculadas. En este sentido, Bashan (1998) menciona que los microorganismos promotores de crecimiento vegetal como *Azospirillum* sp. provocan una absorción más efectiva de los nutrientes, lo que explica la acumulación de compuestos nitrogenados en la planta sin existir una aparente fijación de nitrógeno.

Por otro lado, el papel de *Azotobacter* sp. en la asimilación del nitrato podría estar relacionado por la elongación de pelos

radiculares, lo cual mejoraría la capacidad para captar asimilados y agua. Como lo mencionan Larson & Ingemarsson (1989) quienes reportaron que la captación inicial de nitrato se produce través de la membrana plasmática de las células epidérmicas y corticales de la raíz; además, la absorción de nitrato depende de la eficiencia de las raíces en absorción de NO_3 (Parween *et al.*, 2011).

En relación al maíz, factores como tipo y época de aplicación del fertilizante nitrogenado (Monelik *et al.*, 1994) afectan el rendimiento del maíz y la disponibilidad de nitrógeno. Según las especificaciones de la variedad utilizada en este estudio, se recomienda llevar un programa fraccionado de fertilización a los 15, 30 y 45 días después de la siembra (dds) para obtener los mejores rendimientos (Guerrero, 1995; Campuzano, 2009). De acuerdo a esto, los resultados podrían servir como base para complementar fuentes combinadas que aseguren un óptimo patrón de acumulación y absorción de nutrimentos, en posteriores períodos de crecimiento del cultivo.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente estudio se concluye que *Azotobacter chroococcum* puede ser utilizado como alternativa complementaria del uso eficiente y adecuado de los fertilizantes nitrogenados (tipo nitrato de amonio) aplicados tradicionalmente y además, se sugiere evaluar la dosificación de las fuentes de naturaleza nitrogenada química

complementada con biofertilizantes para la evaluación de modelos sostenibles de bajo costo sin aplicaciones excesivas de agroquímicos.

REFERENCIAS

- Amruthesh K, Raj S, Kiran B, Shetty H & Reddy M (2003) Growth promotion by plant growthpromoting rhizobacteria in some economically important crop plants. VI International PGPR Workshop. Calicut. India. pp 97–103.
- Baldani JI, Baldani VLD, Seldin L, Döbereiner J (1986) Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36: 86-93.
- Bashan Y (1998) Interaction of *Azospirillum* spp. in soil: a review, *Biol. Fertil. Soils.* 29: 246-256.
- Ben R, Prévost D, Yezza, A & Tyagi RD (2007) Agro-industrial waste materials and wastewater sludge for rhizobial inoculant production: a review. *Biores. Technol.* 98: 3535-3546.
- Biswas JC, Ladha JK & Dazzo FB (2000) Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:1644.
- Boddey RM., O.C. de Oliveira, S. Urquiaga, V.M. Reis, F.L. Olovaes, V.L.D. Baldani and J. Döbereiner, 1995. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: Contribution and prospects for improvements. *Plant Soil*, 174: 195-209.
- Bonilla R, Novo R, Vanegas N, Galvis A, Martínez MM, Parra D & Vanegas O (2000) Generación de tecnologías para la utilización de la fijación no simbiótica de nitrógeno como alternativa de fertilización. Disponible en: http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/2006718144013_Fijacion%20no%20simbiotica%20de%20nitrogeno%20en%20torigo.pdf.
- Bonilla R, Murillo J, Gnecco M, Valero L, Aaron M & Orozco G (2002) Mejoramiento y conservación de suelos algodoneros: Técnicas de labranza e Incorporación de abonos verdes. *Inn. y Camb. Tecn.* 2:53-59.
- Bonilla R & Morales JG (2007) Monibac: Biofertilizante con base en cepas nativas de *Azobacter sp.* para incrementar la productividad y sostenibilidad del algodonero. *Inn. y Camb. Tecn.* 4:30–34.
- Box JE (1996) Modern methods for root investigations. In: Y. Waisel *et al.*, Plant roots the hidden half. Marcel Dekker Publishers, New York, USA, p. 193-237.
- Chandrasekar B, Ambrose G & Jayabalan N (2005) Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of *Echinochloa frumentacea* (Roxb.). *J. Agric. Technol.* (2): 223-234.
- Campuzano DL (2009) Épocas de fraccionamiento de la fertilización N-P-K para mejorar la producción de grano de híbridos de maíz liberados por

Artículos

- CORPOICA. Oferta tecnológica. Disponible en: http://www.semicol.co/semillas/agricolas/maiz-ica-v-%E2%80%9393-508/flypage_new.tpl.html.
- Castilla LA (2005) Evaluación de líneas interespecíficas de arroz (*Oryza spp*) a la inoculación con las bacterias fijadoras de nitrógeno *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum amazonense* en un *Typic haplustaf* de la meseta de Ibagué, Colombia. Tesis de Doctorado en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. Colombia. pp. 1-156.
- Das A, Prasad M, Shivay YS & Subha KM (2004) Productivity and Sustainability of Cotton (*Gossypium hirsutum L.*) – Wheat (*Triticum aestivum L.*) Cropping System as Influenced by Prilled Urea Farmyard Manure and *Azotobacter*. *J. Agron. Crop. Sci.* 190: 298-304.
- Dibut B (2000) Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento para el beneficio de la cebolla (*Allium cepa*). Tesis de Doctorado en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. INIFAT. La Habana. Cuba. pp. 1-100.
- Döbereiner J, Baldani VL & Baldani JI (1995) Como isolar e identificar bacterias diazotróficas de plantas ñao leguminosas. Seropédica. EMBRAPA-SPI. pp. 12-28.
- FENALCE (2008). Programa de producción de maíz en zona cafetera. Disponible en: www.agro.unalmed.edu.co
- FENALCE (2010) El cultivo de Maíz. Historia y su importancia. Disponible en: www.fenalce.org/arch_public/maiz93.pdf
- Guerrero R (1995) Fertilización de cultivos en clima medio. Segunda edición. 1995. Agriculturas para la vida. Cali.
- Kloepper, JW & Beauchamp CJ (1992). A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38: 1219–1232.
- Kumar V, Behl RK & Narula N (2001). Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiol. Res.* 156: 87–93.
- Larson CM & Ingemarsson B (1989) Molecular aspects of nitrate uptake in higher plants. In: Wray JL, Kinghorn JR (ed). Molecular and genetic aspects of nitrate assimilation. Oxford Science Publication. pp. 3–14.
- Loper JE, Haack C & Schoth MN (1985) Population dynamics of soil *pseudomonas* in the rhizosphere of potato. *Appl. Environ. Microb.* 49: 416-422.
- Martínez R, Dibut B, Casanova I & Ortega M (1997) Acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* sobre el cultivo del tomate en suelos Ferralítico Rojo. Efecto sobre los semilleros. *Agrotecnia de Cuba.* 27(1): 23-26.
- Mehnaz S & Lazarovits G (2006). Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and

Artículos

- Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. *Microb. Ecol.* 51:326-335.
- Monelik G, Reneau RB & Martens DC (1994) Com yield and nitrogen uptake as influenced by tillage and applied nitrogen. *Plant. Nutr.* 17: 911-913.
- Obando M, Burgos L, Rivera D, Garrido M, Baldani VL & Bonilla R (2010) Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al Eucalipto (*Eucalyptus sp.*) en Codazzi, Cesar. *Acta Biol. Colomb.* 15(3):105-120.
- Parween T, Jan S, & Mahmooduzzafar & Fatma T (2011) Alteration in nitrogen metabolism and plant growth during different developmental stages of green gram (*Vigna radiata* L.) in response to chlorpyrifos. *Acta Physiol. Plant.* 33:2321–2328.
- Rengel Z (1997) Root exudation and microflora populations in rhizosphere of crop genotypes differing in tolerance to micronutrient deficiency. *Plant Soil* 196: 255–260.
- Rivera D, Obando M, Garrido M & Bonilla R (2011) Efecto de agroquímicos peletizados en semillas de algodón sobre el biofertilizante Monibac®, con base en *Azotobacter chroococcum*. *Rev. Bio. Agro* 9(2): 130 – 138.
- Rivera D, Obando M, Bonilla R (2012) Estandarización de un medio de cultivo a partir de fuentes agroindustriales para la multiplicación de *Azospirillum brasilense*. *Revista Respuestas* 17(2): 31-38.
- Seldin L, Rosado AS, da Cruz DW, Nobrega A, van Elsas JD & Paiva E (1998) Comparison of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from rhizoplane, rhizosphere and non-root-associated soil from maize planted in two different Brazilian soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(10): 3860-3868.



www.smbb.com.mx