

# Respuesta del cultivo de maíz a la bio-inoculación y fertilización química reducida en campo

## Maize yield response to bio-inoculation and chemical fertilization reduction under field conditions

Ramón Zulueta-Rodríguez<sup>1</sup> , Fernando Carlos Gómez-Merino<sup>2</sup> , Isabel Alemán-Chávez<sup>1</sup> ,  
María del Carmen Núñez-Camargo<sup>1</sup>  y Liliana Lara-Capistrán<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup> Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Agrícolas, Campus Xalapa. Circuito Universitario Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria. 91090 Xalapa, Veracruz, México.

\* Autora para correspondencia / Corresponding author (llara\_capistran@hotmail.com)

<sup>2</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, congregación Manuel León. 94946 Amatlán de Los Reyes, Veracruz, México.

---

### RESUMEN

El efecto de los microorganismos del suelo suele ser de gran trascendencia ecológica y económica en los sistemas de producción agrícola. Por ello se estimó la respuesta agrobiológica de la inoculación o coinoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), rizobacterias (*Azospirillum brasilense*, *Ab*) y dosis reducida de fertilizante inorgánico (FI) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) en campo. El experimento se realizó en el campo experimental “La Bandera” ubicado en el municipio de Actopan, Veracruz, México, los tratamientos fueron: T1: (Manejo tradicional del productor, MT), T2: (inoculación de los HMA), T3: (inoculación de *Ab*), T4: (coinoculación de HMA + *Ab*), T5: (inoculación de HMA + 50% FI), T6: (inoculación de *Ab*+50% FI y T7: (coinoculación de HMA + *Ab* + 50% FI). Las variables registradas fueron altura de la planta (cm), largo y ancho de la hoja bandera (cm), diámetro del tallo (mm), porcentaje de colonización micorrízica arbuscular, unidades formadoras de colonias (UFC) y producción total de granos de maíz (kg). Dichas variables se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba LSD de Fisher con un nivel de significación del 5% ( $\alpha = 0.05$ ) fue utilizada para la comparación de medias. El ANOVA reveló significación estadística entre los tratamientos (LSD a  $P \leq 0.05$ ) para las variables altura, largo y ancho de la hoja bandera, con incrementos de

### SUMMARY

Soil microorganisms often play a strong ecological and economic role in agricultural production systems. In this study the agro-biological response to inoculation or co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), rhizobacteria (*Azospirillum brasilense*, *Ab*), and reduced dose of inorganic fertilizer (IF) on maize (*Zea mays* L.) crop was evaluated under field conditions. This study was conducted within the experimental field La Bandera in the municipality of Actopan, Veracruz, Mexico, property of the School of Agricultural Science, Universidad Veracruzana, Campus Xalapa (FCA-UV). The evaluated treatments were: T1: (Traditional management of the producer (control group), TM) with total inorganic fertilization (100% IF); T2: (inoculation of the AMF); T3: (inoculation of *Ab*); T4: (co-inoculation of AMF + *Ab*); T5: (inoculation of AMF + 50% IF); T6: (inoculation of *Ab* + 50% IF); and T7: (co-inoculation of AMF + *Ab* + 50% IF), analyzing plant height (cm), length and width of the flag leaf (cm), stem diameter (mm), arbuscular mycorrhizal colonization percentage, colony forming units (CFU) and total maize grain production (kg). These variables were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and the post-hoc Fisher's Least Significant Difference (LSD) test with a significance level of 5% ( $\alpha = 0.05$ ) for comparison of means. The results indicated significant differences between

---

#### Cita recomendada / Recommended citation:

Zulueta-Rodríguez, R., F. C. Gómez-Merino, I. Alemán-Chávez, M. C. Núñez-Camargo y L. Lara-Capistrán. 2020. Respuesta del cultivo de maíz a la bio-inoculación y fertilización química reducida en campo. Terra Latinoamericana Número Especial 38-3: 597-612.  
DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.656>

---

Recibido / Received: octubre / October 14, 2019.

Aceptado / Accepted: diciembre / December 12, 2019.

Publicado en / Published in Terra Latinoamericana 38: 597-612.

75.59, 75.43 y 28.68% en el tratamiento HMA + *Ab* + 50% FI respecto a las plantas-testigo. En diámetro del tallo y peso del grano el tratamiento que promovió incrementos de 44.73%, 74.21% y una mayor presencia de UFC mL<sup>-1</sup> (198) fue *Ab*+50% FI. La interacción entre HMA y *Ab* presentó un mayor porcentaje de colonización micorrízica (62.7%) en forma comparativa entre los demás tratamientos. Los mejores resultados se presentaron en la mayoría de las variables evaluadas donde estos microorganismos interactuaron en dosis reducida de fertilización (HMA + *Ab* + 50% FI).

**Palabras clave:** *Azospirillum brasilense*, hongos micorrizógenos arbusculares, inoculación simple y dual, *Zea mays*.

## INTRODUCCIÓN

En 2017 el estado de Veracruz ocupó el octavo lugar en la producción de maíz grano (*Zea mays* L.) a nivel nacional, con 1 268 916 toneladas (Mg) y variación porcentual negativa del volumen cosechado (-0.5%) entre 2012 y 2017 (SAGARPA-SIAP, 2018), con rendimiento promedio anual de 2.292 Mg ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2018). A pesar de ello, los métodos agrícolas tradicionales y de subsistencia suelen no ser suficientes para satisfacer el creciente consumo que la población demanda, de tal modo que prácticamente es imposible dar el impulso requerido para aumentar la productividad de este cultivo.

Aunque diversas son las variables relacionadas con la rentabilidad y competitividad de esta Poaceae, se requieren de ciertos factores ambientales y nutrimentales para su adecuado crecimiento y desarrollo (CIMMYT, 2016), los cuales a menudo no están en buen balance para que el productor tenga asegurada las características agronómicas y de calidad deseables, lo que hace necesario recurrir al manejo integral de fertilizantes químicos y orgánicos, complementados con inoculantes microbiológicos, para conseguir una respuesta más eficiente al momento de la cosecha (Alvarado *et al.*, 2018).

Sin embargo, ante los graves efectos negativos para la salud pública y el ambiente que del uso indiscriminado de agroquímicos y plaguicidas se derivan (Zepeda-Jazo, 2018; CCMSS, 2019), los biofertilizantes se convierten en una alternativa ecológica y tecnológicamente sostenible (Tomer *et al.*,

the treatments (Fisher's LSD,  $P \leq 0.05$ ) for height, flag leaf length and width with increments of 75.59, 75.43, and 28.68% in the AMF + *Ab* + 50% IF treatment compared to the control group. For stem diameter (44.73%) and grain weight (74.21%), the *Ab* + 50% IF treatment showed increased presence of CFU·mL<sup>-1</sup> (198). The positive interactions between AMF and *Ab* had a higher percentage of mycorrhizal colonization (62.7%) compared to the other treatments. The best results were observed in the majority of the variables evaluated where these microorganisms interacted in reduced fertilization dose (AMF + *Ab* + 50% IF).

**Index words:** *Azospirillum brasilense*, arbuscular mycorrhizal fungi, simple and dual inoculation, *Zea mays*.

## INTRODUCTION

In 2017, the State of Veracruz occupied eighth place in maize (*Zea mays* L.) crop production at national level with 1 268 916 tons (Mg) and a negative percentage in harvested volume (-0.5%) from 2012-2017 (SAGARPA-SIAP, 2018) with an average annual yield of 2.292 Mg ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2018). Nevertheless, the traditional and subsistence agricultural methods are usually non-sufficient to satisfy the growing consumption demand of the population, in such a way that it is practically impossible to boost the productivity of this crop.

Although the variables related to feasibility and competitiveness of the Poaceae family are diverse, certain environmental and nutritional factors are required for its adequate growth and development (CIMMYT, 2016). These factors are not often in a good balance to assure the desirable quality and agronomic characteristics to the producers, which makes it necessary to turn to integral management of chemical and organic fertilizers, supplemented with microbiological inoculants to achieve a more efficient response at harvest (Alvarado *et al.*, 2018).

However, facing the serious negative effects for the environment and public health that derive from the indiscriminate use of agrochemicals and pesticides (Zepeda-Jazo, 2018; CCMSS, 2019), biofertilizers have become a technologically and ecologically sustainable alternative (Tomer *et al.*, 2016; Okur, 2018) to increase productivity and reduce soil deterioration and harm

2016; Okur, 2018) para incrementar la productividad, aminorar el deterioro de los suelos y reducir daños ocasionados por insectos-plaga y patógenos (Kumar *et al.*, 2017; Apeh, 2018).

En dicho contexto, la respuesta positiva de las plantas de maíz a la inoculación con microorganismos como *Azospirillum brasilense* (*Ab*) no solo es valiosa para promover su floración (Uribe *et al.*, 2007) e incrementar la producción de grano (Portugal *et al.*, 2016) sino que al constatar su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico (Brusamarello-Santos *et al.*, 2017), adherirse a las raíces y modular la interacción *A. brasilense*-*Z. mays* (D'Angioli *et al.*, 2017), reduce los costos de fertilización en campo (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012), acrecienta la rentabilidad del cultivo y, con ello, garantiza su consumo como alimento para los seres humanos, la cría de aves y de hatos ganaderos (García-Olivares *et al.*, 2012).

Por otro lado, entre la comunidad científica se ha divulgado que los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en realidad inciden sobre el crecimiento y desarrollo de sus hospederas al mejorar los mecanismos fisiológicos que promueven la capacidad fotosintética, la captación de nutrimentos y la producción de biomasa con valor agrícola (Anozie y Orluchukwu, 2018; Xu *et al.*, 2018), incluso cuando la disposición para la adquisición de fósforo en condiciones de campo es una limitante para su cultivo (Wang *et al.*, 2018), o el suelo se encuentre infestado de nematodos fitoparásitos como *Pratylenchus zae* y *P. brachyurus* (Brito *et al.*, 2018).

Sin embargo, la interacción simultánea de este tipo de microorganismos, también conocida como sinergismo, puede potencializar los beneficios que de ellos pueden derivarse (Zambrano y Díaz, 2015; Pérez de Luque *et al.*, 2017). Dentro de estos merecen destacarse la micorrización temprana y el mutualismo que se establece con las rizobacterias (Cano, 2011), lo que permite reducir significativamente la aplicación de fertilizantes de síntesis química en las parcelas sembradas con estas poáceas.

De igual forma, Uribe y Dzib (2006) y Rojas y Fernández (2011) aplicaron varios inoculantes microbianos en maíz y obtuvieron beneficios similares a los que se reportan en el presente estudio. Además, estos bioinoculantes regeneran más pronto las condiciones naturales del suelo sin ocasionar merma importante en el rendimiento de los cultivos (Díaz *et al.*, 2008), y mejoran el crecimiento y la biomasa de

caused by pest insects and pathogens (Kumar *et al.*, 2017; Apeh, 2018).

In such context, the positive response of the maize plants to microorganism inoculation – as with *Azospirillum brasilense* (*Ab*) – is not only valuable to promote its flowering (Uribe *et al.*, 2007) and increase crop production (Portugal *et al.*, 2016) but also – because of its proven capacity to fix atmospheric nitrogen (Brusamarello-Santos *et al.*, 2017) – adhere to roots and modulate *A. brasilense*-*Z. mays* interaction (D'Angioli *et al.*, 2017), reduce field fertilization costs (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012), increase cultivation feasibility, and with it guarantee its consumption as food for humans, poultry farming and livestock herd (García-Olivares *et al.*, 2012).

On the other hand, among the scientific community, research has spread out that arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) have a real bearing on their host growth and development by improving the physiological mechanisms that promote photosynthetic capacity, nutrient capture, and biomass production with agricultural value (Anozie and Orluchukwu, 2018; Xu *et al.*, 2018), even when the disposition for phosphorus acquisition in field conditions is a limiting factor for its cultivation (Wang *et al.*, 2018) or soil is infested by phytoparasite nematods, such as *Pratylenchus zae* and *P. brachyurus* (Brito *et al.*, 2018).

Nonetheless, the simultaneous interaction of this type of microorganisms – also known as synergism – may strengthen the benefits that may derive from them (Zambrano and Díaz, 2015; Pérez de Luque *et al.*, 2017), among which those that stand out are early mycorrhization and mutualism established with rhizobacteria (Cano, 2011); it may also allow reducing significantly the application of chemical synthesis for fertilizers in the plots sown with these Poaceae.

Similarly, Uribe and Dzib (2006) and Rojas and Fernández (2011) applied several microbial inoculants in maize and obtained similar benefits to those that are reported in this study. Additionally, these bioinoculants regenerate the natural soil conditions earlier without causing an important decrease in crop yield (Díaz *et al.*, 2008), improving growth and grain biomass per maize cob with the addition of only 50% of the fertilizer dosage recommended (142-70-00 kg ha<sup>-1</sup>) (Montejo-Martínez *et al.*, 2018). Therefore, the objective of this research was to prove the influence of inoculation and co-inoculation of the AMF, *A. brasilense*, and the reduced inorganic fertilizer dosage in the agronomic

granos por mazorca con la adición de solo el 50% de la dosis recomendada de fertilizante (142-70-00 kg ha<sup>-1</sup>) (Montejo-Martínez *et al.*, 2018). El objetivo del presente trabajo fue probar la influencia de la inoculación y coinoculación de los HMA, *A. brasilense* y dosis reducida de fertilizante inorgánico en el comportamiento agronómico del maíz (*Zea mays* L.) en campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización y Condiciones Ambientales del Sitio Experimental

La investigación se realizó durante el ciclo primavera-verano 2015, en el campo experimental “La Bandera” de la Facultad de Ciencias Agrícolas (FCA) de la Universidad Veracruzana (UV), *Campus* Xalapa, ubicado en el municipio de Actopan, Veracruz, a 19° 27' 50" N y 96° 33' 12" O (Zulueta-Rodríguez *et al.*, 2015).

El tipo de suelo donde se estableció el experimento es el Feozem calcárico-vértico más o menos profundo (41-60 cm), casi plano (<2%), con las siguientes características distintivas determinadas en el Laboratorio de Suelos de la FCA-UV según la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2002): pH moderadamente ácido (5.8), fósforo no detectable, reserva de carbono orgánico 36.54 Mg ha<sup>-1</sup>, carbonatos activos (0-20 cm) 9.4%, materia orgánica 0.1% y nitrógeno 0.05%.

El clima que se presenta en el lugar es tropical cálido subhúmedo Aw<sub>0</sub>(w)(i')gw" con temperatura media anual de 24.8 °C, precipitación pluvial cercana a los 900 mm anuales (Zulueta-Rodríguez *et al.*, 2015); régimen de lluvias en verano, poca oscilación térmica (entre 5 y 7 °C), marcha anual de la temperatura tipo Ganges y sequía intraestival (García, 1987).

### Aplicación de Tratamientos

Se utilizó un diseño experimental en bloques al azar con siete tratamientos: 1) manejo tradicional del productor (MT) con fertilización inorgánica total (100%FI); 2) hongos micorrízicos arbusculares (HMA); 3) *Azospirillum brasilense* (*Ab*); 4) HMA+*Ab*; 5) HMA+50%FI; 6) *Ab*+50%FI y 7) HMA+*Ab*+50%FI. Cada tratamiento contó con cuatro repeticiones, formando un total de 28 bloques.

behavior of maize (*Zea mays* L.) crop in field conditions.

## MATERIALS AND METHODS

### Location and Environmental Conditions of the Experimental Site

Research was performed in the experimental field “La Bandera” of the School of Agricultural Science (FCA, for Facultad de Ciencias Agrícolas), Universidad Veracruzana (UV), *Campus* Xalapa, located in the municipality of Actopan, Veracruz, at 19° 27' 50" N and 96° 33' 12" W during the 2015 spring-summer cycle (Zulueta-Rodríguez *et al.*, 2015).

The experiment was established on Vertic Calcaric type Phaeozem soil more or less deep (41-60 cm) in mostly flat terrain (<2%) with the following distinctive characteristics determined in the Soil Laboratory of the FCA-UV, according to the Mexican norm NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2002): pH moderately acid (5.8); phosphorus not detectable; organic carbon reserve 36.54 Mg ha<sup>-1</sup>; active carbonates (0-20 cm) 9.4%; organic matter 0.1%; and nitrogen 0.05%.

The climate in the site is tropical, warm, sub-humid Aw<sub>0</sub>(w)(i')gw" with average annual temperature of 24.8 °C, annual precipitation close to 900 mm (Zulueta-Rodríguez *et al.*, 2015); summer rainfall regime, little thermal oscillation (5-7 °C), and the temperature has an intertropical pattern with midsummer drought (García, 1987).

### Treatment Application

A randomized complete block design was used with seven experimental treatments: (T1) Traditional product management (TM), control group with total inorganic fertilization (100% IF); (T2) Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF); (T3) *Azospirillum brasilense* (*Ab*); (T4) AMF + *Ab*; (T5) AMF + 50% IF; and (T6) *Ab* + 50% IF; and (7) AMF + *Ab* + 50% IF. Four replicates were performed for each treatment, with a total of 28 blocks.

### Seed Selection

The selected maize seeds were the hybrid KS E-103 because of its yield potential and the adaptation area assessed as reliable and endorsed for the State of

## Selección de Semillas

La semilla de maíz elotero seleccionada fue el híbrido KS E-103 por su potencial de rendimiento y área de adaptación evaluada, confiable y avalada para el centro del estado de Veracruz (King Seeds, 2016<sup>1</sup>). A continuación, las simientes se humedecieron e introdujeron en bolsas de plástico, donde se dejaron reposar durante 24 h antes su siembra.

## Inoculación de Semillas

La inoculación de las semillas se llevó a cabo con el consorcio micorrizógeno proporcionado en 2015 por el Laboratorio de Organismos Benéficos (LOB) de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana, Campus Xalapa, compuesto por las cepas de HMA taxonómicamente identificadas como *Acaulospora morrowiae*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *Funneliformis geosporum*, *F. mosseae*, *Gigaspora decipiens*, *G. rosea*, *Glomus aggregatum*, *Gl. macrocarpum*, *Cetraspora pellucida* y *Claroideoglossum etunicatum*, con un porcentaje de colonización radical del 85%; y la rizobacteria provista fue *A. brasilense*, con 500 millones de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) g<sup>-1</sup> de inóculo seco.

Con la finalidad de mejorar la impregnación del inóculo micorrizico en las semillas de maíz previamente lavadas, se aplicó un adherente a base de carboximetilcelulosa sódica (CAS number 9004-32-4) a razón de 25 mL bolsa<sup>-1</sup>. A continuación, se procedió a suministrar el inóculo a las bolsas, las cuales contenían ca. 1250 semillas con un peso aproximado de 520 g bolsa<sup>-1</sup>. Posteriormente, inoculante (20 g bolsa<sup>-1</sup>) y semillas se mezclaron de forma manual.

La inoculación e impregnación rizobacteriana del mismo número de semillas con *A. brasilense* (15 g bolsa<sup>-1</sup>) se realizó del mismo modo en que se procedió con el consorcio micorrizógeno.

## Siembra de Semilla Inoculada

La siembra de la semilla inoculada se hizo en una superficie de 693 m<sup>2</sup>. Previo a la siembra se aplicó glifosato 36% (Glyphos®, 1.5 L ha<sup>-1</sup>) por tratarse de un herbicida de amplio espectro, no selectivo y sistémico. Sin embargo, y debido a las condiciones meteorológicas existentes, no fue posible realizar prácticas mecanizadas para la preparación del terreno,

Veracruz (King Seeds, 2016<sup>1</sup>). Subsequently, the seeds were moistened, introduced in plastic bags, and then left to rest for 24 h before sowing.

## Seed Inoculation

Seed inoculation was performed with the mycorrhizal consortium provided by the Beneficial Organism Laboratory (LOB for Laboratorio de Organismos Benéficos) of the FCA-UV, Campus Xalapa in 2015; the inoculum was composed by the AMF strains taxonomically identified as *Acaulospora morrowiae*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *Funneliformis geosporum*, *F. mosseae*, *Gigaspora decipiens*, *G. rosea*, *Glomus aggregatum*, *Gl. macrocarpum*, *Cetraspora pellucida* and *Claroideoglossum etunicatum* with a radicle colonization percentage of 85% and the rhizobacteria *A. brasilense* with colony forming units (CFU) of 500 million·g<sup>-1</sup> of dry inoculant.

With the purpose of improving impregnating the previously washed maize seeds with the mycorrhized inoculant, an adherent based on carboxymethylcellulose sodium salt (CAS number 9004-32-4) was applied at a ratio of 25 mL bag<sup>-1</sup>. Subsequently, the inoculant was applied to the bags containing ca. 1250 seeds with an approximate weight of 520 g bag<sup>-1</sup>. After that, the inoculant (20 g bag<sup>-1</sup>) and seeds were mixed manually.

The rhizobacterial inoculation and impregnation to the same number of seeds with *A. brasilense* (15 g bag<sup>-1</sup>) was performed in the same manner as that followed with the mycorrhizal consortium.

## Sowing Inoculated Seeds

The inoculated seeds were sown on a surface of 693 m<sup>2</sup>. Previous to sowing, Glyphos® (FMC, Philadelphia, PA, USA) 36% (glyphosate, 1.5 L ha<sup>-1</sup>) was applied because it is a wide-spectrum, non-selective, and systemic herbicide. Nonetheless, due to the existing meteorological conditions, it was not possible to perform mechanical practices to prepare the land, which is why zero tillage was used. The size of the blocks for each replicate was 24.75 m<sup>2</sup>.

Manual sowing was performed by handspike, making holes with a long-handle narrow spade and depositing two seeds per hole. Sowing distance was 80 cm between furrows, 30 cm between plants, and 80 cm between blocks, which were labeled with a different color for each treatment.

<sup>1</sup> King Seeds. 2016. Maíces híbridos; El principio de un cultivo exitoso. King Seeds Cía. SA de CV. Guadalajara, Jal., México.

por lo que se utilizó cero labranzas. El tamaño de los bloques para cada repetición fue de 24.75 m<sup>2</sup>.

La siembra manual se realizó a espeque haciendo hoyos con una coa, depositando dos semillas por cada golpe-“cepa”. La distancia de siembra fue de 80 cm entre surcos, 30 cm entre plantas y 80 cm entre bloques, los cuales fueron marcados con etiquetas de distinto color para cada tratamiento.

### Labores Culturales en el Sitio Experimental

La limpieza del terreno se hizo a mano usando machete, lima rastrillo, azadón y carretilla; y durante la progresión de etapas por las que atraviesa el cultivo se hicieron riegos de auxilio rodados (por gravedad) cada semana, con la finalidad de contar con la humedad suficiente para el aprovechamiento eficiente del fertilizante inorgánico aplicado.

La fertilización inicial se realizó a los 20 días después de la siembra (DDS) con súper fosfato de calcio simple (00-20-00) a razón de 15 g planta<sup>-1</sup> y la segunda se produjo a los 35 DDS con súper fosfato simple (00-20-00) y urea (46-00-00) a razón de 5 y 20 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente.

También se realizó una aplicación foliar de Paratión metílico (Foley 2%, 5 mL L<sup>-1</sup>) con aspersora manual de 20 L de capacidad debido a que hubo ataque de gusano cogollero durante las distintas fases de desarrollo del cultivo.

### Toma y Manejo de Muestras para Determinar Colonización Radicular

Colonización micorrízica: las raicillas recolectadas a los 60 DDS se fijaron en formaldehído: ácido acético: etanol (FAA, 10:5:85) y, para su clareo y tinción se siguió la metodología propuesta por Phillips y Hayman (1970), y la colonización micorrízica se cuantificó de acuerdo con la técnica presencial de estructuras fúngicas dentro de la raíz descrita por Giovannetti y Mosse (1980).

Cuantificación de UFC: para obtener un óptimo crecimiento de *Azospirillum*, los aislamientos fueron purificados y triplicados en sustrato NFB (nitrogen free broth) utilizando malato como fuente de carbono (Dobereiner *et al.*, 1976). Más tarde se tomaron muestras compuestas de suelo y raíces en cada bloque (10 g), las cuales se diluyeron en serie (con base en 10) y homogeneizaron con movimientos circulares en 90 mL

### Cultural Work in the Experimental Site

Land clearing was made by hand, using machete, file, rake, mattock, and a wheel-barrow; during the cultivation stage progression, auxiliary flood irrigation (by gravity) was performed weekly with the purpose of having sufficient humidity for the efficient use of the inorganic fertilizer applied.

Initial fertilization was performed with Simple Superphosphate Calcium (00-20-00) at a ratio of 15 g plant<sup>-1</sup> at 20 days after sowing (DAS); the second one was produced with Simple Superphosphate (00-20-00) and urea (46-00-00) at a ratio of 5 and 20 g plant<sup>-1</sup>, respectively, at 35 DAS.

Additionally, methyl parathion (Foley 2%, 5 mL L<sup>-1</sup>) was applied to leaves with a 20 L capacity manual sprayer due to the attack of the fall armyworm during the different stages of the crop development.

### Sampling Collection and Management to Determine Radicle Colonization

Mycorrhizal colonization. The rootlets collected at 60 DAS were fixed in formaldehyde; acetic acid; ethanol (FAA, 10:5:85), and for clearing and staining, the methodology proposed by Phillips and Hayman (1970) was used; mycorrhizal colonization was quantified within the root, according to the on-site fungal structure technique described by Giovannetti and Mosse (1980).

Colony Forming Units (CFU) quantification. To obtain an optimum growth of *Azospirillum*, the isolates were purified and tripled in NFB (nitrogen-free broth) substrate, using malate as carbon source (Dobereiner *et al.*, 1976). Afterwards, soil and root compound samples were taken from each block (10 g), which were diluted in series (based on 10) and homogenized with circular movements in 90 mL of sterile water contained in a 250-mL Erlenmeyer flask up to  $1 \times 10^{-8}$ .

Subsequently, 0.1 mL of decimal dilution was taken from each sample and placed in the center of a sterile Petri box with solid-specific Red Congo culture medium (Rodríguez, 1982), distributed with a Drigalski spatula (NEOLAB®, Andover, MA, USA). The viable cell count per sowing surface was performed with a colony counter (Darkfield Quebec, Optical American Company, Fischer Scientific Company, Ottawa, Ontario, CAN) and transformed to CFU g<sup>-1</sup> of dry soil.

de agua estéril contenida en un matraz Erlenmeyer de 250 mL hasta  $1 \times 10^{-8}$ .

A continuación, se tomó 0.1 mL de cada dilución decimal y se colocó en el centro de una caja de Petri estéril con medio de cultivo sólido-específico Rojo Congo (Rodríguez, 1982), distribuido con espátula de Drigalski (NEOLAB<sup>®</sup>, Andover, MA, USA). El conteo de células viables por siembra en superficie se efectuó con un contador de colonias Darkfield Quebec (Cia American Optical) y transformándose a UFC  $g^{-1}$  de suelo seco.

Las variables evaluadas fueron altura de la planta (cm), largo y ancho de la hoja bandera (cm), diámetro del tallo (mm) y porcentaje de colonización micorrizógena a los 60 DDS; unidades formadoras de colonias (UFC  $mL^{-1}$ ) (Madigan *et al.*, 2015) y producción total de granos de maíz (kg) a los 90 DDS.

Los resultados se procesaron por análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, y para la comparación de medias se utilizó la prueba de comparación múltiple de medias LSD de Fisher ( $P \leq 0.05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica v. 9.1 (StatSoft, Inc., 2010) para Windows.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico mostró significancia estadística entre los distintos tratamientos para las variables evaluadas (LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ). Para altura de la planta el tratamiento dominante fue HMA+Ab+50%FI tras constatar diferencias notables en casi todos los tratamientos (Cuadro 1), a excepción de Ab+50%FI debido a que *A. brasilense* es una rizobacteria que se especializa en la fijación de nitrógeno atmosférico y, de este modo, incide sobre la captación de la energía lumínica en las células fotosintéticas e intensificación de la actividad de diferenciación y crecimiento del maíz (Naresh y Singh, 2001), sobre todo si se pretende disminuir la dosis de fertilizantes químicos requeridos por estas poáceas para producir rendimientos de grano más comerciales y remunerativos (González *et al.*, 2011; García-Olivares *et al.*, 2012).

No obstante, Rojas y Fernández (2011) confirman que el uso de inoculantes microbianos (*Gl. intraradices* y *A. brasilense*) permite reducir hasta en un 50% la fertilización mineral al suelo y con ello optimizar

The variables assessed were plant height (cm); flag leaf length and width (cm); stem diameter (mm); and mycorrhizal colonization percentage at 60 DAS; CFU ( $CFU mL^{-1}$ ) (Madigan *et al.*, 2015), and total maize crop production (kg) at 90 DAS.

The results obtained were processed by means of one-way analysis of variance (ANOVA) and Fisher's multiple comparison of mean (LSD ( $P \leq 0.05$ )) was used. The statistical analyses were carried out with the computer program Statistica v. 9.1 for Windows (StatSoft, Inc., 2010).

## RESULTS AND DISCUSSION

The statistical analysis showed significant differences among treatments for the variables assessed (Fisher's LSD,  $P \leq 0.05$ ). For plant height the dominant treatment was AMF + Ab + 50% IF after confirming notable differences in almost all the treatments (Table 1), with the exception of Ab + 50% IF because *A. brasilense* is a rhizobacteria that specializes in fixing atmospheric nitrogen. In this manner, it has a bearing on light energy capture in the photosynthetic cells and intensification of the maize plant differentiation and growth activity (Naresh and Singh, 2001), above all, if the intention is to reduce the dose of the chemical fertilizers required by these Poaceae to produce more commercial and profitable crop yield (González *et al.*, 2011; García-Olivares *et al.*, 2012).

Nonetheless, Rojas and Fernández (2011) confirmed that the use of microbial inoculants (*Gl. intraradices* and *A. brasilense*) allowed reducing up to 50% of mineral fertilization to the soil and with it optimizing financial-agro-productive feasibility of maize crop. Furthermore, phytostimulation is feasible with *Pseudomonas* friendly to the natural environment and useful in modern biological processes that promote the sequence of the crop stages (Couillerot *et al.*, 2013).

For stem diameter the best treatment was Ab + 50% IF as revealed by the statistical significance (Fisher's LSD,  $P \leq 0.05$ ) test when compared with the rest of the treatments (Table 1), which agrees with Zarazúa *et al.* (2009) who reported that maize plant inoculation with *A. brasilense* conferred plant development, and above all, increased in stem length and weight. However, Xiu (2014<sup>2</sup>) and Montejo-Martínez *et al.* (2015; 2018) reported satisfactory increments in stem diameter

la rentabilidad agroproductivo-financiera del maíz grano. Además, es muy factible la fito-estimulación con *Pseudomonas* amigables con el entorno natural y útiles en procesos biológicos modernos que fomenten la sucesión de etapas por las que atraviesa el cultivo (Couillerot *et al.*, 2013).

Para diámetro del tallo el mejor tratamiento fue *Ab*+50%FI al revelar significación estadística (LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ) en comparación con los demás tratamientos (Cuadro 1). Ello concuerda con lo expuesto por Zarazúa *et al.* (2009) quienes refieren que la inoculación de plantas de maíz con *A. brasilense* les confiere desarrollo vegetativo y, sobre todo, aumento en la longitud y peso del tallo. Sin embargo, Xiu (2014<sup>2</sup>) y Montejó-Martínez *et al.* (2015; 2018) reportan incrementos satisfactorios en el diámetro del tallo cuando se les inocula con HMA, *A. brasilense* y reduce la dosis del fertilizante a la mitad.

Para la variable largo y ancho de la hoja bandera el mejor tratamiento fue HMA+*Ab*+50%FI con

when plants were inoculated with AMF, *A. brasilense*, and the reduced dose (50%) of the fertilizer.

For flag leaf length and width, the best treatment was AMF + *Ab* + 50% IF with increments of 75.43 and 27.68%, with respect to control-plants (Table 1), which could have been related precisely to the mycorrhizal inoculant, rhizobacterium (*A. brasilense*), and the reduced dose of the inorganic fertilizer (50%) since they tend to provide their benefits on plant growth.

In this manner, it is worth to point out that the AMF produce plant growth promoter phytohormones (Díaz *et al.*, 2014) and *A. brasilense* acts upon the host metabolism, which implies a significant increase in root, stem, and leaf formation (Mendoza-Herrera and Cruz-Hernández, 2012). This last variable is of considerable importance in cereals, such as wheat, barley, oats (Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2015), and maize (Tanaka *et al.*, 1972) crop because the flag leaf develops a fundamental role in photo-assimilated translocation toward the fruit in development (Sánchez-

**Cuadro 1. Variables de respuesta del cultivo de maíz a la bio-inoculación y fertilización química reducida en campo. La Bandera, municipio de Actopan, Veracruz, México.**

**Table 1. Response variable of maize crop to bio-inoculation and chemical fertilization reduction in field, La Bandera, Municipality of Actopan, Veracruz, Mexico.**

Tratamientos / Treatments	Variables evaluadas / Variables assessed			
	Altura / Height	Largo de la hoja bandera / Flag leaf length	Ancho de la hoja bandera / Flag leaf width	Diámetro del tallo / Stem diameter
	----- cm -----			mm
MT / TM	86.52c	40.29d	6.10c	6.10c
HMA / AMF	112.50b	49.70c	6.87b	6.87b
<i>Ab</i>	112.57b	45.16c	7.02b	7.02b
HMA+ <i>Ab</i> / AMF+ <i>Ab</i>	115.34b	58.96b	7.32ab	7.32ab
HMA+50% FI / AMF+50% IF	123.59b	61.31b	7.66a	7.66a
<i>Ab</i> +50% FI / <i>Ab</i> +50% IF	144.90a	47.14c	7.03b	7.03b
HMA+ <i>Ab</i> +50% FI / AMF+ <i>Ab</i> +50% IF	151.93a	70.68a	7.79a	7.79a
CV (%)	29.58	25.97	16.48	26.65
SE	2.39	0.95	0.07	0.03
SD	3.81	1.85	1.17	0.46

MT = manejo tradicional del productor; HMA = hongos micorrizicos arbusculares; *Ab* = *Azospirillum brasilense*; FI = fertilización inorgánica; CV = coeficientes de variación, SE = error estándar, SD = desviación estándar. Columnas con la misma letra son estadísticamente iguales entre si (LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ).

TM = traditional management (control); AMF = arbuscular mycorrhizal fungi; *Ab* = *Azospirillum brasilense*; IF = inorganic fertilizer; CV = coefficient variation; SE = standard error; SD = deviation standard. Columns with the same letter are statistically equal among them (Fisher's Least Significant Difference [LSD]  $P \leq 0.05$ ).

<sup>2</sup> Xiu, K. A. 2014. Evaluación del crecimiento del maíz VS-536 inoculado con microorganismos (Micorrizas y *Azospirillum*), y con la adición de fertilizantes químicos en un suelo Luvisol. Informe Técnico de Residencia Profesional, SEP/ITZM. Quintana Roo, México.



incrementos de 75.43 y 27.68% con respecto a las plantas-testigo (Cuadro 1) lo cual pudo deberse precisamente a la aplicación del inoculante micorrízico, las rizobacterias (*A. brasilense*) y la dosis reducida de fertilizante inorgánico (50%), ya que estos tienden a proveer sus beneficios sobre el crecimiento vegetativo de la planta.

En dicho sentido, cabe destacar que los HMA producen fitohormonas reguladoras del crecimiento vegetal (Díaz *et al.*, 2014) y *A. brasilense* actúa sobre el metabolismo del hospedero que conlleva a un incremento significativo en la formación de raíz, tallo y hojas (Mendoza-Herrera y Cruz-Hernández, 2012), siendo esta última variable de considerable importancia en el cultivo de cereales como trigo, cebada, avena (Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2015) y maíz (Tanaka *et al.*, 1972) debido a que la hoja bandera desempeña un papel fundamental en la traslocación de foto-asimilados hacia los frutos en formación (Sánchez-Mendoza *et al.*, 2017) y, en consecuencia, la relación entre su emisión, tamaño y formación de granos es muy estrecha, tal y como Hernández *et al.* (2015) lo consignan para esta Gramineae (hoy Poaceae) en términos de índice de área foliar y tasa absoluta de crecimiento y producción.

Estos resultados coinciden con lo descrito por Aguirre-Medina *et al.* (2011) quienes al incorporar de manera simultánea a estos microorganismos no solo se acrecentó la dimensión de las hojas bandera, sino también la altura, el diámetro del tallo y, por ende, el rendimiento.

De hecho, en la literatura especializada no solo se afirma y generaliza que el crecimiento de las plantas, su fisiología o su fenología pueden ser estimulados por una relación simbiótica entre HMA y estas rizobacterias dentro de la rizosfera (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011), sino que también aumenta y mantiene la fertilidad del suelo (Okonji *et al.*, 2018).

Por otro lado, aunque el diámetro del tallo del maíz en campo fue mayor en los tratamientos donde se utilizó la dosis reducida de fertilizante (50% FI), el tratamiento *Ab*+50%FI fue el mejor de todos al revelar significación estadística (LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ) que superó al testigo en más del 44% (*ca.* 44.73%) (Cuadro 1).

Ello concuerda con los resultados de la valoración experimental detallada con antelación por Zarazúa *et al.* (2009), Xiu (2014<sup>2</sup>) y Montejo-Martínez *et al.* (2015; 2018).

Mendoza *et al.*, 2017); consequently, the relationship among crop emission, size, and development is very close, as Hernández *et al.* (2015) recorded for this Gramineae (today Poaceae) in terms of leaf index and absolute growth and production rate.

These results agree with that described by Aguirre-Medina *et al.* (2011) who found that by incorporating these microorganisms simultaneously, not only flag leaf dimension increased but also stem height and diameter, and thus yield.

In fact, specialized literature not only confirms and generalizes that plant growth, physiology or phenology may be stimulated by a symbiotic relationship between AMF but also these rhizobacteria within the rhizosphere (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011) increases and maintains soil fertility (Okonji *et al.*, 2018).

On the other hand, although maize stem diameter in field was greater in the treatments where the reduced (50%) IF fertilizer dose was used, the treatment *Ab* + 50% IF was the best of all when the statistical significance (Fisher's LSD,  $P \leq 0.05$ ) test revealed that it went beyond the control group with more than 44% (*ca.* 44.73%) (Table 1).

These results agree with those of the experimental valuation detailed in advanced by Zarazúa *et al.* (2009), Xiu (2014<sup>2</sup>) and Montejo-Martínez *et al.* (2015; 2018).

In comparison with the different treatments and the control group, the AMF + *Ab* treatment recorded a significant statistical difference in mycorrhizal colonization percentage (70.83%, Fischer's LSD,  $P \leq 0.05$ ) – behavior that agrees with that reported by Patil *et al.* (2013) and Ramakrishnan and Bhuvaneshwari (2014) when they confirmed that dual inoculation with these microorganisms favored radicle colonization in their hosts.

Furthermore, it is worth to point out the following aspects: (1) such tendency prevailed even when the reduced fertilization (AMF + *Ab* + 50% IF) caused a lower root mycorrhization (54.63%), which diverse research studies on mycorrhizal symbiosis behavior and additional supply of mineral nutrients have described in detail (Cruz *et al.*, 2014; Castillo *et al.*, 2016); and (2) in the traditional management (TM, control group without inoculation) the roots showed a radicle colonization of 7.83% coming from the native mycorrhization response that even went beyond the one detected in the treatment *Ab* (2.65%) (Figure 1).

En la comparación de distintos tratamientos con el control, se observó que el tratamiento HMA+*Ab* registró significación estadística en el porcentaje de colonización micorrízica (70.83%, LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ), comportamiento que coincide con lo expuesto por Patil *et al.* (2013) y Ramakrishnan y Bhuvaneshwari (2014) al precisar que la inoculación doble con estos microorganismos favorece la colonización radicular en sus hospederas.

Además, cabe destacar los aspectos siguientes: 1) que dicha tendencia prevaleció aun cuando la fertilización reducida (HMA+*Ab*+50%FI 50%) ocasionó una menor micorrización de las raíces (54.63%), aspecto que en diversas investigaciones sobre el comportamiento de la simbiosis micorrízica y el suministro adicional de nutrimentos minerales se ha descrito al detalle (Cruz *et al.*, 2014; Castillo *et al.*, 2016), y 2) que en el tratamiento testigo (MT, sin inocular) las raíces presentaron una colonización radicular del 7.83% proveniente de la micorrización nativa, respuesta que incluso superó a la detectada en el tratamiento *Ab* (2.65%) (Figura 1).

En relación a la variable UFC, la mejor dilución fue  $10^{-6}$  g<sup>-1</sup> de suelo seco pues en los tratamientos *Ab*+50%FI y HMA+*Ab*+50%FI se cuantificaron 198 y 142 UFC respectivamente, en contraste con los tratamientos HMA+*Ab* (UFC 17) y *Ab* (UFC 7).

Tales resultados se suman a las evidencias dadas a conocer por Castañeda-Saucedo *et al.* (2013) tras aplicar distintas dosis de *A. brasilense* más fertilización química y denotar que el número de colonias incrementó, en comparación con los tratamientos sin fertilizar, debido a que la cantidad de nitrógeno presente en el suelo coadyuvó al desarrollo y supervivencia de las rizobacterias. Por otro lado, y a pesar de que el contenido de este elemento fue bajo donde se estableció el experimento, González *et al.* (2011) señalan que *A. brasilense* es capaz de compensar la deficiencia y con ello afectar positivamente su disponibilidad para la planta.

En el peso de grano, *Ab*+50%FI (74.21%) y HMA+50%F (47.42%) fueron superiores al compararlos con los demás tratamientos (LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ) (Figura 2), y ello concuerda con lo reportado por García-Olivares *et al.* (2012) y Babaoglu *et al.* (2012) quienes al inocular la semilla de maíz con esta rizobacteria acentuaron la producción de grano y, por ende, el rendimiento (Oliveira *et al.*, 2018).

With respect to the CFU variable, the best dilution was  $10^{-6}$  g<sup>-1</sup> of dry soil since the treatments *Ab* + 50% IF and AMF + *Ab* + 50% IF, 198 and 142 CFU were quantified, respectively, in contrast with the AMF + *Ab* (CFU 17) and *Ab* (CFU 7) treatments.

Such results, add up to the evidence made known by Castañeda-Saucedo *et al.* (2013) after they applied different doses of *A. brasilense* plus chemical fertilization, and denoted that the number of colonies increased compared with the non-fertilized treatments because the nitrogen quantity in soil contributed to the development and survival of the rhizobacteria. On the other hand, despite the content of this element was low where the experiment was established, González *et al.* (2011) pointed out that *A. brasilense* was capable of compensating the deficiency and thus affecting its availability positively for the plant.

In grain weight, *Ab* + 50% IF (74.21%) and AMF + 50% F (47.42%) were higher when compared with the rest of the treatments (Fisher's LSD,  $P \leq 0.05$ ) (Figure 2); these results agree with those reported by García-Olivares *et al.* (2012) and Babaoglu *et al.* (2012) who inoculated maize seed with this rhizobacteria and increased crop production and consequently yield (Oliveira *et al.*, 2018).

With respect to sufficiency and limited phosphorous availability (P) in soils where this experiment was established, different field studies have proven how beneficial the mycorrhizal association is in crops of economic importance, above all because the agronomic efficiency of P and biomass production with agricultural value increases (Deguchi *et al.*, 2007, 2012), without excluding the positive relationship influenced by the microbial inoculants in *Z. mays* (Díaz-López *et al.*, 2014; Battini *et al.*, 2017).

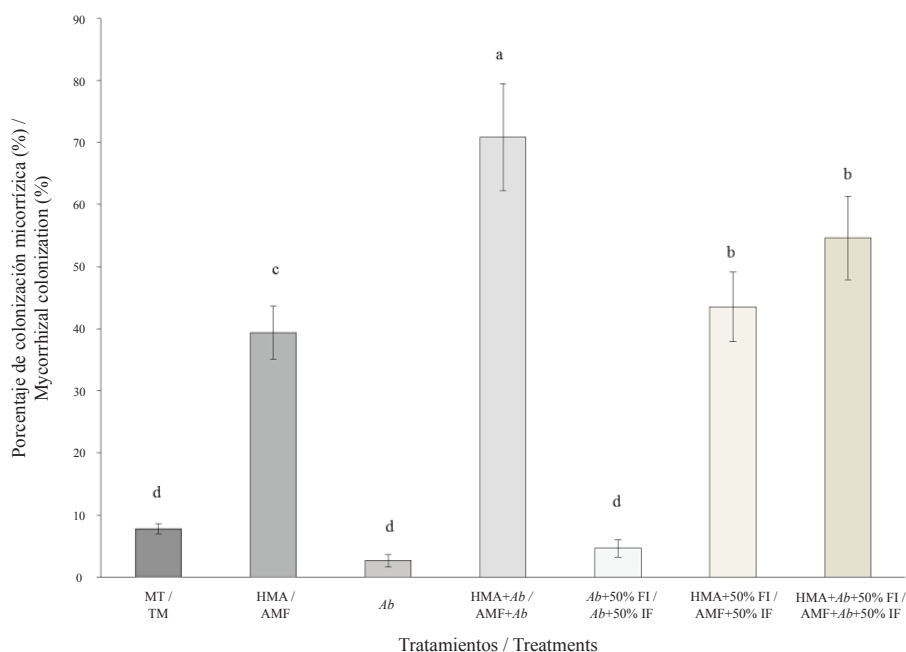
Likewise and despite the deficient soil nitrogen content, the rhizobacteria (*A. brasilense*) and rhizosphere microbiota not only may contribute to P solubilization but also N fixation (Cruz and Ishii, 2012; Rouphael *et al.*, 2015) with the supply of essential nutrients to corn, reducing the quantity of chemical fertilizers that is used to obtain the most satisfactory yields required in plant growth and development (Mazen *et al.*, 2018).

Similarly, the critical or very low levels of organic matter in soil (1.1%) may have influenced the scarce and even null root colonization where inoculation was not performed since such soil condition tends

Respecto a la suficiencia y disponibilidad limitada de fósforo (P) en los suelos donde se estableció el presente experimento, en diversos estudios de campo se ha comprobado cuan benéfica resulta la asociación micorrizica en cultivos de importancia económica, sobre todo porque aumenta la eficiencia agronómica del P y la producción de biomasa con valor agrícola (Deguchi *et al.*, 2007, 2012), sin exceptuar la relación positiva influenciada por los inoculantes microbianos en *Z. mays* (Díaz-López *et al.*, 2014; Battini *et al.*, 2017).

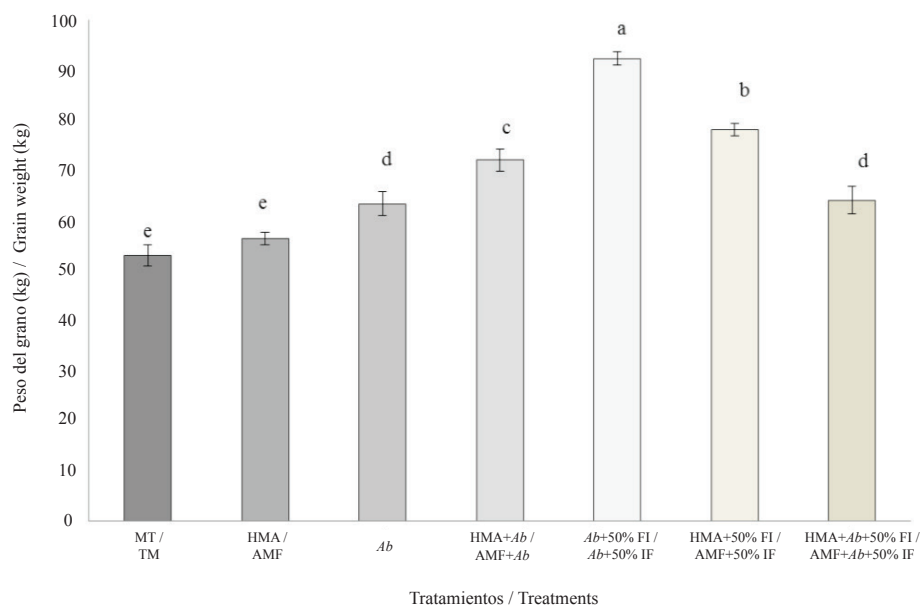
to limit the functionality of the symbionts (AMF) and rhizobacteria – as *A. brasilense* – just as Peña-Venegas *et al.* (2007) have mentioned.

Based on the results of this study, the proposed methodology implemented by the dual application of these microorganisms with reduced inorganic fertilization could be a technically feasible alternative to be promoted among the producers, not only because it is eco-friendly but also simple and inexpensive, reducing the use of agrochemicals and high production costs. Furthermore, another alternative that could be



**Figura 1. Colonización micorrizógena en raíces de maíz (*Zea mays*) a los 60 DDS.** MT = manejo tradicional del productor; HMA = inoculación con el consorcio micorrizógeno; Ab = inoculación con *Azospirillum brasilense*; HMA+Ab = inoculación con el consorcio micorrizógeno y *Azospirillum brasilense*; Ab+50% FI = inoculación con *Azospirillum brasilense* y dosis reducida de fertilizante inorgánico; HMA+50% FI = inoculación con el consorcio micorrizógeno y dosis reducida de fertilizante inorgánico; HMA+Ab+50% FI = inoculación con el consorcio micorrizógeno y *Azospirillum brasilense* más dosis reducida de fertilizante inorgánico. Valores con letra distinta en la misma columna, indican diferencia significativa (LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ). Las líneas verticales son el error estándar ( $\pm$ ).

**Figure 1. Mycorrhizal colonization in maize (*Zea mays*) roots at 60 days after sowing (DDS).** TM = traditional management of the producer, control group; AMF (Arbuscular mycorrhizal fungi) = inoculation with the mycorrhizal consortium; Ab = inoculation with *Azospirillum brasilense*; AMF + Ab = inoculation with the mycorrhizal consortium and *Azospirillum brasilense*; Ab + 50% IF = inoculation with *Azospirillum brasilense* and reduced dose of the inorganic fertilizer; AMF + 50% IF = inoculation with the mycorrhizal consortium and reduced dose of the inorganic fertilizer; AMF+Ab+50% IF = inoculation with the mycorrhizal consortium and *Azospirillum brasilense* plus reduced dose of inorganic fertilizer. Values with different letter in the same column denote significant difference (Fisher's Least Significant Difference [LSD],  $P \leq 0.05$ ). Vertical lines are the standard error ( $\pm$ ).



**Figura 2. Peso del grano (kg) en plantas de maíz (*Zea mays*) a los 90 DDS.** MT = manejo tradicional del productor; HMA = inoculación con el consorcio micorrizógeno; Ab = inoculación con *Azospirillum brasilense*; HMA+Ab = inoculación con el consorcio micorrizógeno y *Azospirillum brasilense*; Ab+50% FI = inoculación con *Azospirillum brasilense* y dosis reducida de fertilizante inorgánico; HMA+50% FI = inoculación con el consorcio micorrizógeno y dosis reducida de fertilizante inorgánico; HMA+Ab+50% FI = inoculación con el consorcio micorrizógeno y *Azospirillum brasilense* más dosis reducida de fertilizante inorgánico. Valores con letra distinta en la misma columna, indican diferencia significativa (LSD de Fisher,  $P \leq 0.05$ ). Las líneas verticales son el error estándar ( $\pm$ ).

**Figure 2. Grain weight (kg) in maize (*Zea mays*) plants at 90 days after sowing (DDS).** TM = traditional management of the producer, control group; AMF (Arbuscular mycorrhizal fungi) = inoculation with the mycorrhizal consortium; Ab = inoculation with *Azospirillum brasilense*; AMF + Ab = inoculation with the mycorrhizal consortium and *Azospirillum brasilense*; Ab + 50% IF = inoculation with *Azospirillum brasilense* and reduced dose of the inorganic fertilizer; AMF + 50% IF = inoculation with the mycorrhizal consortium and reduced dose of the inorganic fertilizer; AMF+Ab+50% IF = inoculation with the mycorrhizal consortium and *Azospirillum brasilense* plus reduced dose of inorganic fertilizer. Values with different letter in the same column denote significant difference (Fisher's Least Significant Difference [LSD],  $P \leq 0.05$ ). Vertical lines are the standard error ( $\pm$ ).

De igual manera, y a pesar del deficiente contenido edáfico de nitrógeno, las rizobacterias (*A. brasilense*) y microbiota rizosférica no solo pueden coadyuvar a la solubilización de P sino también a la fijación de N (Cruz e Ishii, 2012; Rouphael *et al.*, 2015) y, con el suministro de nutrientes esenciales al maíz, reducir la cantidad de fertilizantes químicos que se deben usar para obtener rendimientos más satisfactorios requeridos en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Mazen *et al.*, 2018).

También los niveles críticos o muy bajos de materia orgánica en el suelo (1.1%) pudieron haber influido sobre la escasa e incluso nula colonización de las raíces

viable is decreasing the very harmful environmental threats that the excessive use of chemical supplies – pesticides and synthetic fertilizers – causes, of which those that stand out are soil compaction and degradation (Massah and Azadegan, 2016), fertility decline (Timsina, 2018), pollution of underground water, air, and soil (Pérez-Lucas *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018) and its acidification (Goulding, 2016) without excluding damage and harm caused to human health (Kumari *et al.*, 2014; Silveira-Gramont *et al.*, 2018).

Lastly, the AMF and *A. brasilense* frequently have a synergic interaction when applied jointly; good

donde no se realizó inoculación, toda vez que dicha condición edáfica tiende a limitar la funcionalidad de los simbiontes (HMA) y las rizobacterias (como *A. brasilense*), tal y como Peña-Venegas *et al.* (2007) lo mencionan.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, la propuesta metodológica implementada mediante la aplicación dual de estos microorganismos con dosis reducida de fertilización inorgánica podría ser una alternativa técnicamente factible de promover entre los productores, no solo por ser amigable con el ambiente, sino por tratarse de una práctica simple y barata que reduce el uso de agroquímicos y los altos costos de producción. Además, otra alternativa que pudiere ser viable es la disminución de las amenazas ambientales tan nocivas que ocasiona el uso excesivo de insumos químicos, como plaguicidas y fertilizantes sintéticos, entre los que se resaltan la degradación y compactación del suelo (Massah y Azadegan, 2016), el declive de su fertilidad (Timsina, 2018) la contaminación de las aguas subterráneas, aire y suelo (Pérez-Lucas *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018) y su acidificación (Goulding, 2016), sin descartar los daños y perjuicios que ocasionan a la salud humana (Kumari *et al.*, 2014; Silveira-Gramont *et al.*, 2018).

Por último, los HMA y *A. brasilense* a menudo interactúan sinérgicamente al ser aplicados de manera conjunta, aunque también se han registrado buenos resultados cuando se aplican por separado y con una dosis reducida de fertilización inorgánica.

## CONCLUSIÓN

El principal tratamiento para la mayoría de las variables evaluadas en esta investigación fue HMA+Ab+50%FI, lo cual representa una alternativa potencial para favorecer el crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz en condiciones de campo. Por otro lado, en la producción de grano el tratamiento Ab+50%FI sugiere la posibilidad de optimizar la relación costo-beneficio al reducir la cantidad de fertilizante químico necesario para incrementar la producción.

## AGRADECIMIENTOS

A la M. en C. Teresita de Jesús May Mora, por el apoyo brindado con sus equipos e instalaciones durante

results have been reported though when they are also applied separately and with a reduced dose of inorganic fertilization.

## CONCLUSION

The main treatment for the majority of the variables assessed in this research study was AMF + Ab + 50% IF, which represented a potential to favor growth and development of maize plants in field conditions. On the other hand, in crop production the Ab + 50% IF treatment suggested the possibility of optimizing the relationship cost-benefit when the quantity of chemical fertilizers was reduced, as necessary, to increase production.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Teresita de Jesús May Mora for the support offered with equipment and facilities during the soil sampling analyses in the Soil Laboratory of the FCA-UV; to Diana Fischer for translation-edition services provided.

-End of english version-

el análisis de las muestras de suelo en el Laboratorio de Suelos de la FCA-UV; a Diana Fischer por sus servicios editoriales en inglés.

-Fin de la versión en español-

## REFERENCIAS / REFERENCES

- Aguado-Santacruz, G. A., Q. Rascón-Cruz y A. Luna-Bulbarela. 2012. Impacto económico y ambiental del empleo de fertilizantes químicos. pp: 1-22. In: G. A. Aguado-Santacruz (ed.). Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura. CIRCE-INIFAP. Celaya, Guanajuato, México. ISBN: 978-607-425-807-3.
- Aguirre-Medina, J. F., D. M. Moroyoqui-Ovilla, A. Mendoza-López, J. Cadena-Iñiguez, C. H. Avendaño-Arrazate y J. F. Aguirre-Cadena. 2011. Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea arabica* en vivero. Agron. Mesoam. 22: 71-80.

- Alvarado T., R., E. Aceves R., J. D. Guerrero R., J. I. Olvera H., Á. Bustamante G., S. Vargas L. y J. H. Hernández S. 2018. Respuesta de variedades de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes fuentes de fertilización en el Valle de Puebla. *Terra Latinoamericana* 36: 49-59. doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.309>.
- Anozie, H. I. and J. A. Orluchukwu. 2018. Response of three varieties of maize (*Zea mays*) to arbuscular mycorrhizal fungi (*Gigaspora gigantea*) in the Humid Tropics. *Int. J. Agric. Earth Sci.* 4: 30-36.
- Apeh, C. C. 2018. Farmers' perception of the health effects of agrochemicals in southeast Nigeria. *J. Health Pollut.* 8: 180901. doi: <https://doi.org/10.5696/2156-9614-8.19.180901>.
- Babaoglu, F., F. R. Khoeai, and Y. Mehrdad. 2012. Effect of biological fertilizer on yield and yield components of corn (*Zea mays*) CV. S.C. 504 in drought condition. *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 2: 117-122.
- Battini, F., M. Grønlund, M. Agnolucci, M. Giovannetti, and I. Jakobsen. 2017. Facilitation of phosphorus uptake in maize plants by mycorrhizosphere bacteria. *Sci. Repor.* 7: 4686. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04959-0>.
- Brito, O. D. C., I. Hernandez, J. C. A. Ferreira, M. R. Cardoso, O. Alberton, and C. R. Dias-Arieira. 2018. Association between arbuscular mycorrhizal fungi and *Pratylenchus brachyurus* in maize crop. *Chil. J. Agric. Res.* 78: 521-527. doi: <https://doi.org/10.4067/S0718-58392018000400521>.
- Brusamarello-Santos, L. C., F. Gillard, L. Brulé, I. Quilleré, B. Gourion, P. Ratet, E. Maltempi de Souza, P. J. Lea, and B. Hirel. 2017. Metabolic profiling of two maize (*Zea mays* L.) inbred lines inoculated with the nitrogen fixing plant-interacting bacteria *Herbaspirillum seropedicae* and *Azospirillum brasilense*. *Plos One* 12: e0174576. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174576>.
- Cano, M. A. 2011. A review of interaction of beneficial microorganisms in plants: Mycorrhizae, *Trichoderma* spp. and *Pseudomonas* spp. *Rev. U.D.C.A. Act. Divulg. Cient.* 14: 15-31.
- Castañeda-Saucedo, M. C., G. Gómez-González, E. Tapia-Campos, O. Núñez M., J. S. Barajas y M. L. Rujano S. 2013. Efecto de *Azospirillum brasilense* y fertilización química sobre el crecimiento, desarrollo, rendimiento y calidad de fruto de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch). *Interciencia* 38: 737-744.
- Castillo, C., D. Morales, F. Fuentealba y V. San Martín. 2016. Colonización temprana de hongos micorrízicos arbusculares en trigo con aplicación de productos naturales en un Andisol de La Araucanía. *Idesia* 34: 63-68. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292016005000009>.
- CCMSS (Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible). 2019. Recomendación de la CNDH, primer paso para frenar el uso de agroquímicos altamente peligrosos que ponen en riesgo los medios de vida de comunidades campesinas e indígenas. <http://www.ccmss.org.mx/recomendacion-de-la-cndh-primer-paso-para-frenar-uso-de-agroquimicos-altamente-peligrosos-que-ponen-en-riesgo-los-medios-de-vida-de-comunidades-campesinas-e-indigenas/> (Consulta: marzo 8, 2019).
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 2016. Calidad de grano para técnicos postcosecha. Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz. CIMMYT. Texcoco, Edo. de México, México.
- Couillerot, O., A. Ramírez-Trujillo, V. Walker, A. von Felten, J. Jansa, M. Maurhofer, G. Défago, C. Prigent-Combaret, G. Comte, J. Caballero-Mellado, and Y. Moëgne-Loccoz. 2013. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum-Pseudomonas-Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 4639-4649. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-012-4249-z>.
- Cruz H., Y., M. Garcia R., Y. León G. y Y. Acosta A. 2014. Influencia de la aplicación de micorrizas arbusculares y la reducción del fertilizante mineral en plántulas de tabaco. *Cult. Trop.* 35: 21-24.
- Cruz, A. F. and T. Ishii. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal spores host bacteria that affect nutrient biodynamics and biocontrol of soil-borne plant pathogens. *Biol. Open* 1: 52-57. doi: <http://dx.doi.org/10.1242/bio.2011014>.
- D'Angioli, A. M., R. A. Gorne Viani, H. Lambers, A. C. H. Frankland Sawaya, and R. Silva Oliveira. 2017. Inoculation with *Azospirillum brasilense* (Ab-V4, Ab-V5) increases *Zea mays* root carboxylate-exudation rates, dependent on soil phosphorus supply. *Plant Soil* 410: 499-507. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-3044-5>.
- Deguchi, S., Y. Shimazaki, S. Uozumi, K. Tawarayama, H. Kawamoto, and O. Tanaka. 2007. White clover living mulch increases the yield of silage corn via arbuscular mycorrhizal fungus colonization. *Plant Soil* 291: 291-299. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-007-9194-8>.
- Deguchi, S., S. Uozumi, E. Touno, M. Kaneko, and K. Tawarayama. 2012. Arbuscular mycorrhizal colonization increases phosphorus uptake and growth of corn in a white clover living mulch system. *Soil Sci. Plant Nutr.* 58: 169-172. (doi: <https://doi.org/10.1080/00380768.2012.662697>).
- Díaz F., A., I. Garza C., V. Pecina Q. y N. Montes G. 2008. Respuesta del sorgo a micorriza arbuscular y *Azospirillum* en estrés hídrico. *Rev. Fitotec. Mex.* 31: 35-42.
- Díaz F., A., H. M. Cortinas E., J. Vadez G. y M. Á. Peña del Río. 2014. Micorriza arbuscular como alternativa en la producción de sorgo en Tamaulipas, México. *Invest. Cienc.* 62: 56-68.
- Díaz-López, E., J. M. Loeza-Corte, I. Brenda-Hernández, J. M. Campos P., I. J. Orlando-Guerrero y G. Salgado-Benítez. 2014. Eficiencia agronómica de fósforo, biomasa y rendimiento de dos variedades nativas de maíz y un híbrido en el centro de México. *Phyton* 83: 171-178.
- Dobereiner, J., I. E. Marriel, and M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Can. J. Microbiol.* 22: 1464-1473. doi: <https://doi.org/10.1139/m76-217>.
- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM. México, D. F.
- García-Olivares, J. G., A. Mendoza-Herrera y N. Mayek-Pérez. 2012. Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento del maíz en el norte de Tamaulipas, México. *Univ. Cienc.* 28: 79-84.
- Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>.

- González H., A., D. J. Pérez L., O. Franco M., A. Balbuena M., F. Gutiérrez R. y H. Romero S. 2011. Respuesta de tres cultivares de maíz a la inoculación con *Azospirillum brasilense* bajo cuatro diferentes dosis de nitrógeno. *Cienc. Ergo Sum* 18: 51-58.
- Goulding, K. W. T. 2016. Soil acidification and the importance of liming agricultural soils with particular reference to the United Kingdom. *Soil Use Manage.* 32: 390-399. doi: <https://doi.org/10.1111/sum.12270>.
- Gutiérrez-Rodríguez, M., M. P. Reynolds, J. A. Escalante E. y A. Larqué-Saavedra. 2015. Algunas consideraciones en la relación entre fotosíntesis y el rendimiento de grano en trigo. *Cienc. Ergo Sum* 12: 149-154.
- Hernández C., N., F. Soto C. y R. Plana L. 2015. Comportamiento del crecimiento y rendimiento del cultivo del trigo (*Triticum aestivum* L.) en tres fechas de siembra. *Cult. Trop.* 36: 86-92.
- Kumar, R., N. Kumawat, and Y. K. Sahu. 2017. Role of biofertilizers in agriculture. *Popular Kheti* 5: 63-66.
- Kumari, K. A., K. N. R. Kumar, and CH. N. Rao. 2014. Adverse effects of chemical fertilizers and pesticides on human health and environment. *J. Chem. Pharmac. Sci. (Special Issue)* 3: 150-151.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, K. S. Bender, D. H. Buckley y D. A. Stahl. 2015. *Brock: Biología de los microorganismos*. Pearson. Madrid, España. ISBN: 9788490352809.
- Massah, J. and B. Azadegan. 2016. Effect of chemical fertilizers on soil compaction and degradation. *Ama Agric. Mechanizat. Asia Afr. Latin. Am.* 47: 44-50.
- Mazen, M. B. H., T. Ramadan, N. A. Nafady, A. Zaghlol, and S. H. A. Hasan. 2018. Comparative study on the effect of chemical fertilizers, bio-fertilizers and arbuscular mycorrhizal fungi on maize growth. *Biol. For. An Int. J.* 10: 182-194.
- Mendoza-Herrera, A. y M. A. Cruz-Hernández. 2012. Empleo de *Azospirillum* como biofertilizante. pp. 171-194. *In: G. A. Aguado-Santacruz* (ed.). *Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura*. CIRCE-INIFAP. Celaya, Guanajuato, México. ISBN: 978-607-425-807-3.
- Montejo-Martínez, D., F. Casanova-Lugo, I. Oros-Ortega y K. A. Xiu. 2015. Respuesta foliar y radicular del maíz a la fertilización biológica y química en un suelo luvisol. pp. s/n. *In: J. A. Villanueva J. y R. Jarquín Gálvez* (coord.). *Agricultura sostenible. Armonía entre el hombre y la naturaleza*. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, México.
- Montejo-Martínez, D., F. Casanova-Lugo, M. García-Gómez, I. Oros-Ortega, V. Díaz-Echeverría y E. R. Morales-Maldonado. 2018. Respuesta foliar y radical del maíz a la fertilización biológica-química en un suelo Luvisol. *Agron. Mesoam.* 29: 325-341. doi: <http://dx.doi.org/10.15517/ma.v29i2.29511>.
- Naresh Kumar, S. and C. P. Singh. 2001. Growth analysis of maize during long and short duration crop seasons: Influence of nitrogen source and dose. *Ind. J. Agric. Res.* 35: 13-18.
- Okonji, C. J., O. S. Sakariyawo, K. A. Okeleye, A. G. Osunbiyi, and E. O. Ajayi. 2018. Effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on soil properties and yield of selected rice varieties. *J. Agric. Sci.* 63: 153-170. doi: <http://dx.doi.org/10.2298/JAS1802153O>.
- Okur, N. 2018. A review: Bio-fertilizers- power of beneficial microorganisms in soils. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* 4. doi: [10.26717/BJSTR.2018.04.001076](https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.04.001076).
- Oliveira, I. J., J. R. A. Fontes, B. F. F. Pereira, and A. W. Muniz. 2018. Inoculation with *Azospirillum brasilense* increases maize yield. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 5: 6. doi: <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0118-z>.
- Patil, G. B., H. C. Lakshman, R. M. Mirdhe, and B. S. Agadi. 2013. Effect of co-inoculation of AM fungi and two beneficial microorganisms on growth and nutrient uptake of *Eleusine coracana* Gaertn. (Finger millet). *As. J. Plant Sci. Res.* 3: 26-30.
- Peña-Venegas, C. P., G. I. Cardona, J. H. Arguelles y A. L. Arcos. 2007. Micorrizas arbusculares del sur de la amazonia colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. *Acta Amaz.* 37: 327-336. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672007000300003>.
- Pérez de Luque, A., S. Tille, I. Jhonson, D. Pascual-Pardo, J. Ton, and D. D. Cameron. 2017. The interactive effects of arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting rhizobacteria synergistically enhance host plant defenses against pathogens. *Sci. Rep.* 7: 16409. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16697-4>.
- Pérez-Lucas, G., N. Vela, A. El Aatik, and S. Navarro. 2018. Environmental risk of groundwater pollution by pesticide leaching through the soil profile. pp. 1-27. *In: W. Manyilizu* (ed.). *Pesticides, Anthropogenic Activities and the Health of our Environment*. IntechOpen. doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.82418>.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161. doi: [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3).
- Portugal, J. R., O. Arf, A. R. Peres, D. C. Gitti, R. A. F. Rodrigues, N. F. S. Garcia, and L. M. Garé. 2016. *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn production. *Afr. J. Agric. Res.* 11: 1688-1698. doi: <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10723>.
- Ramakrishnan, K. and G. Bhuvaneshwari. 2014. Effect of inoculation of AM fungi and beneficial microorganisms on growth and nutrient uptake of *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. (Finger millet). *Int. Lett. Nat. Sci.* 13: 59-69. doi: <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.13.59>.
- Rodríguez C., E. A. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 990-991.
- Rojas M., I. y R. Fernández S. 2011. Efecto del *Azospirillum brasilense* y micorriza INIFAP en el rendimiento de maíz en el estado de Tlaxcala. INIFAP/SAGARPA, México. (Desplegable para productores no. 12). INIFAP. Sitio Experimental Tlaxcala. Tlaxcala, México.
- Rouphael, Y., P. Franken, C. Schneider, D. Schwarz, M. Giovannetti, M. Agnolucci, S. Pascale, P. Bonini, and G. Colla. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Sci. Hort.* 196: 91-108. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.002>.
- Ruiz-Sánchez, M., E. Armada, Y. Muñoz, I. E. García de Salamone, R. Aroca, J. M. Ruiz-Lozano, and R. Azcón. 2011. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *J. Plant Physiol.* 168: 1031-1037. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.12.019>.

- SAGARPA-SIAP (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación-Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2018. Atlas agroalimentario 2012-2018. SIAP, México.
- Sánchez-Mendoza, S. M., J. A. S. Escalante-Estrada y M. T. Rodríguez-González. 2017. Área y ángulo foliar, coeficiente de extinción de luz y su relación con la biomasa y rendimiento en genotipos de maíz. pp. 1-15. In: F. Pérez, E. Figueroa, L. Godínez y R. García (eds.). Ciencias de la economía y agronomía. Handbook T-II. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. ISBN: 978-607-8534-33-3.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 (antes NOM-021-RECNAT- 2000) que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos; Estudio, muestreo y análisis. México: Diario Oficial de la Federación, 31 diciembre de 2002. México, D.F.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2018. Avance de siembras y cosechas; Resumen nacional por estado: Riego+Temporal, Año agrícola 2018, Maíz grano. [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do). (Consulta: marzo 8, 2019).
- Silveira-Gramont, M. I., M. L. Aldana-Madrid, J. Piri-Santana, A. I. Valenzuela-Quintanar, G. Jasa-Silveira y G. Rodríguez-Olibarria. 2018. Plaguicidas agrícolas: Un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en el estado de Sonora. *Rev. Int. Contam. Amb.* 34: 7-21. doi: <http://dx.doi.org/10.20937/rica.2018.34.01.01>.
- StatSoft Inc. 2010. STATISTICA version 9.1 for Windows. Stat Soft Inc. (<http://www.statsoft.com>). Tulsa, OK, USA.
- Tanaka, A., J. Yamaguchi, P. Goldsworthy, and D. Bork. 1972. Dry matter production, yield components and grain yield of the maize plant. *J. Facult. Agric. Hokkaido Univ.* 57: 71-132.
- Timsina, J. 2018. Can organic sources of nutrients increase crop yield to meet global food demand? *Agronomy* 8: 214. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy8100214>.
- Tomer, S., D. C. Suyal, and R. Goel. 2016. Biofertilizers: A timely approach for sustainable agriculture. pp. 375-395. In: D. K. Choundary, A. Varma, and N. Tuteja (eds.). *Plant-microbe interactions: An approach to sustainable agriculture*. Springer. Singapore. doi: [https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0\\_17](https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0_17).
- Uribe V., G. y R. Dzib E. 2006. Micorriza arbuscular (*Glomus intraradices*), *Azospirillum brasilense* y brassinoesteroide en la producción de maíz en suelo luvisol. *Agric. Téc. Méx.* 32: 67-76.
- Uribe V., G., J. Petit A. y R. Dzib E. 2007. Respuesta del cultivo de maíz a la aplicación de biofertilizantes en el sistema roza, tumba y quema en suelo alfisol (*chac-lu'um*, nomenclatura maya), en Yucatán, México. *Agric. Andina* 13: 3-18.
- Wang, X.-X., X. Wang, Y. Sun, Y. Cheng, S. Liu, X. Chen, G. Feng, and T. W. Kuyper. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi negatively affect nitrogen acquisition and grain yield of maize in a N deficient soil. *Front. Microbiol.* 9: 418. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00418>.
- Xu, H., Y. Lu, and S. Tong. 2018. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of maize seedlings under salt stress. *Emir. J. Food Agric.* 30: 199-204. doi: <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i3.1642>.
- Zambrano, J. A. y L. A. Díaz. 2015. Efecto de la inoculación de *Azospirillum brasilense* y *Glomus* sp. en *Gmelina arborea* durante su germinación y manejo en vivero. *Univ. Sci.* 13: 162-170.
- Zarazúa A., E., A. Tiessen F., D. Padilla C. y C. Martínez M. 2009. La bacteria *Azospirillum brasilense* inoculada en plantas de maíz sometidas a estrés hídrico, propicia el aumento de tamaño del tallo, peso del fruto e induce cambios en los metabolismos de azúcares. *Memorias del Programa Verano en la Ciencia 2009*. Universidad Autónoma de Querétaro. [https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2009/11VCRC\\_46/38\\_Zarazua\\_Arvizu.pdf](https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2009/11VCRC_46/38_Zarazua_Arvizu.pdf) (Consulta: marzo 15, 2019).
- Zepeda-Jazo, I. 2018. Manejo sustentable de plagas agrícolas en México. *Agric. Soc. Desarro.* 15: 99-108.
- Zhang, L., C. Yan, Q. Guo, J. Zhang, and J. Ruiz-Menjivar. 2018. The impact of agricultural chemical inputs on environment: global evidence from informetrics analysis and visualization. *Int. J. Low-Carbon Technol.* 13: 338-352. doi: <https://doi.org/10.1093/ijlct/cty039>.
- Zulueta-Rodríguez, R., L. G. Hernández-Montiel, B. Murillo-Amador, M. V. Córdoba-Matson, L. Lara, and I. Alemán-Chávez. 2015. Survival and growth of *Jacaratia mexicana* seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi in a tropical dry forest. *Madera Bosques* 21: 161-167.