



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

Universidad de Sonora
Unidad Regional Centro

Volumen 10 No. 1 (Enero-Junio 2015):10-17

INVURNUS

"En busca del conocimiento"

INVESTIGACIÓN

Los fertilizantes biológicos en la agricultura

Rueda Puente Edgar Omar¹, Ortega García Jesús*², Barrón Hoyos Jesús Manuel³, López Elías Jesús¹,
Murillo Amador Bernardo⁴, Hernández Montiel Luis Guillermo⁴, Alvarado Martínez Ana Gabriela¹,
Valdez Domínguez Ramón Dolores¹

¹Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.

²Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Sonora. Unidad Regional Norte
H. Caborca, Sonora, México.

³Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.

⁴Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Programa de Agricultura de Zonas Áridas. La Paz, Baja California Sur, México

Resumen

La agricultura orgánica es un sector de creciente importancia agrícola en muchos países. La reducción de apoyos para adquirir insumos agrícolas conlleva a la conversión de sistemas de agricultura orgánica más productivos. La diversidad biológica estabiliza el ecosistema agrícola brindando protección contra la tensión ambiental y aumentando la capacidad de adaptación de las economías agrícolas. La demanda de alimentos, fibras orgánicas y el desarrollo sostenible de la sociedad, ofrece oportunidades de desarrollo a agricultores y empresas a nivel mundial. Considerando lo anterior, y la problemática actual de la agricultura, mal uso de agroinsumos, utilización excesiva de fertilizantes y contaminación de suelos y aguas, conduce al deterioro de recursos y a una dificultad para renovarlos, promoviendo realizar un uso integral y diversificado de los recursos naturales, en un ambiente fluctuante y restrictivo. En las últimas décadas, algo que impacta en la agricultura, es la aplicación de biofertilizantes mediante microorganismos benéficos (bacterias y hongos), los cuales intercambian nutrientes con las plantas, resultando positivo para fertilizar diversos cultivos, que tienen potencial como agentes biocontroladores y biofertilizantes. Se destacan, tres grandes grupos: microorganismos fijadores de nitrógeno, hongos micorrízicos y bacterias promotoras de crecimiento (PGPB-Plant Growth-Promoting Bacteria) (BPCP: Bacterias promotoras de crecimiento de plantas).

Palabras clave: agricultura orgánica, conversión de sistemas agrícolas, biofertilizantes, bacterias promotoras de crecimiento.

Biological fertilizers in agriculture

Abstract

Organic agriculture is a sector of growing importance in many agricultural countries. The reduction of financial assistance to acquire agricultural inputs, leads organic systems to be more productive. Biodiversity stabilizes the agricultural ecosystem providing protection against environmental stress and increasing the resilience of agricultural economies. Demand for food, organic fibers and a sustainable development of society, provides development opportunities for farmers and companies worldwide. Considering this, and the current problems of agriculture, as excessive use of fertilizers and soil and water pollution, which leads to the deterioration and difficulty of resources renewal. This situation promotes an integrate and diversified use of natural resources in a fluctuating and restrictive environment. In recent decades, something that has had an impact on agriculture is the application of biofertilizers by beneficial microorganisms (bacteria and fungi), which exchange nutrients with plants. There are three outstanding groups: nitrogen-fixing microorganisms, mycorrhizal fungi and growth promoting bacteria (PGPB-Plant Growth-Promoting Bacteria).

Key words: Organic agriculture, conversion of agricultural systems, bio-fertilizers, growth-promoting bacteria.

*Autor para envío de correspondencia: Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias. H. Caborca, Sonora.

E-mail: jortega@guayacan.uson.mx

© 2015 Editorial UNISON — URN. Derechos reservados.

Introducción

La agricultura orgánica constituye un sector de creciente importancia en el sector agrícola; sus ventajas ambientales y económicas han atraído la atención de muchos países subdesarrollados y en vía de desarrollo. La reducción del apoyo gubernamental a los insumos agrícolas brinda una oportunidad de conversión de sistemas agrícolas de bajos insumos en sistemas de agricultura orgánica más productivos. La diversificación biológica resultante de los sistemas orgánicos aumenta la estabilidad del ecosistema agrícola y brinda protección contra la tensión ambiental, lo que a su vez aumenta la capacidad de adaptación de las economías agrícolas. La demanda de alimentos y fibras de producción orgánica por parte de los consumidores y la exigencia de un desarrollo más sostenible que plantea la sociedad, ofrecen nuevas oportunidades a agricultores y empresas de todo el mundo (Izquierdo, 2002).

La agricultura orgánica representa sin duda una oportunidad importante para los pequeños productores agrícolas. En América Latina este enfoque de producción se asocia cada vez más a las estrategias de desarrollo de la producción familiar. Sin embargo, plantea importantes desafíos por su orientación, cada vez mayor a la exportación, con las debidas exigencias de normas y gestión de calidad que esto implica. Lo anterior significa, tanto para las organizaciones de apoyo como para las organizaciones de productores, fortalecer su conocimiento en las técnicas de producción y normas de comercialización de los productos orgánicos.

La agricultura orgánica también plantea desafíos nuevos para las instituciones de investigación. En particular, en aquellos relacionados con el sector agrícola sobre las posibilidades reales que estos tienen al contribuir en el desarrollo de una agricultura sostenible, a la calidad del medio ambiente, la generación de ingresos y la seguridad alimentaria. Una elección bien documentada sobre la agricultura orgánica, dentro de una gama de opciones agrícolas sostenibles haría que los gobiernos orientaran sus investigaciones y sus actividades de extensión y aprovechar, en forma integrada con otras alternativas sostenibles de agricultura, las oportunidades comerciales disponibles en el ámbito nacional e internacional.

En relación a lo recomendado por los países miembros de la FAO, el Programa sobre una Agricultura Orgánica incluye cuatro áreas de acción: a) Sistemas y redes para proveer información sobre aspectos de producción, conservación, procesamiento, etiquetado y mercadeo de productos orgánicos; información técnica sobre requerimientos de producción, e información comercial sobre oportunidades de mercado; b) Herramientas de apoyo a políticas; c) Nuevas alternativas en la implementación de agro-insumos respaldados científicamente para su aplicación técnicas en

los sistemas orgánicos productivos y eficientes y d) Asistencia técnica a los países para: estudios y apoyo a los gobiernos sobre la producción, certificación y comercialización de productos orgánicos certificados; obtener acceso a mercados internacionales; capacitación en el proceso de producción orgánica; asistencia técnica para desarrollar una legislación nacional apropiada, desarrollar capacidad de certificación, de investigación, y extensión y promover el intercambio de experiencias entre países (Agrupación Orgánica de Chile, 2002). Lo anterior debido, que a nivel mundial, la agricultura orgánica es uno de los varios enfoques de agricultura sostenible y una de las alternativas de producción de alimentos que enfoca a la inocuidad o la neutralidad de sus efectos al medio ambiente. Asimismo, compartiendo otros enfoques de la agricultura sostenible como son: promover agroecosistemas que son social y ecológicamente sostenibles, lo que significa diversificar y estabilizar los ingresos rurales; aumentar la biodiversidad y la sostenibilidad del medio ambiente.

Biofertilizantes

Considerando lo anterior, y la problemática actual que constituye para la agricultura el mal uso de agroinsumos (anualmente se utilizan en el mundo más de 100 millones de toneladas de fertilizantes nitrogenados y más de 90 millones de potasio y fósforo para obtener cultivos con altos rendimientos. La utilización excesiva de fertilizantes resulta en mayores costos de producción y en la contaminación de suelos y aguas), han conducido a un proceso de deterioro de sus escasos recursos y una creciente dificultad para renovarlos, promoviendo realizar un uso integral y diversificado de los recursos naturales, en un ambiente fluctuante y restrictivo (Puente y col., 1993).

El suelo como base de los recursos y de la producción se encuentra enmarcado en un ambiente complejo, heterogéneo y frágil, que evidencia una alta susceptibilidad a la erosión y una baja fertilidad natural, con efectos en la producción de los cultivos, en la productividad del trabajo y en la factibilidad del establecimiento de sistemas productivos sustentables (Levanony y col., 1989).

La recuperación y mantenimiento de la fertilidad de los suelos sobre una base sostenible, constituyen un factor de gran importancia en el desarrollo de la producción agropecuaria a nivel mundial. De ahí la importancia de intensificar los estudios que permitan mejorar su estabilidad y productividad a largo plazo (Castellanos y col., 1997).

En las dos últimas décadas, una de las áreas de estudio que actualmente están impactando en la agricultura, es la aplicación de biofertilizantes a través del empleo de microorganismos como bacterias y hongos que viven

en intercambio con las plantas, lo cual ha resultado muy positivo para fertilizar diversos cultivos (Crossman y col., 1987).

Las bacterias promotoras del crecimiento de plantas, en las dos últimas décadas, han sido objeto de estudio con un alto grado de interés. En años recientes se ha despertado cierta controversia con este grupo, ya que no se sabe hasta qué punto se puede considerar a una rizobacteria como una bacteria promotora de crecimiento, por lo que se han establecido cuatro características generales que definen este grupo: a) Que no requieran de la invasión interna de tejidos en plantas, como ocurre en hongos micorrízicos con la formación de nódulos o arbuscúlos en el caso de *Rhizobium*; b) Que tengan una elevada densidad poblacional en la rizósfera después de su inoculación, ya que una población que declina rápidamente tiene una baja capacidad competitiva con la microflora nativa del suelo; c) Que presenten capacidad de colonización efectiva en la superficie de la raíz y como consecuencia puedan influir positivamente en el crecimiento de la planta y d) Que no produzcan daño en el hombre ni a otros microorganismos (Rueda-Puente y col., 2009).

En cuanto al efecto positivo sobre el crecimiento por las plantas, las BPCP pueden actuar de manera directa o indirecta:

Mecanismos indirectos: Los metabolitos producidos por las BPCP pueden funcionar como determinantes antagónicos, involucran aspectos de control biológico, suprimen o inhiben el crecimiento de microorganismos perjudiciales para el desarrollo de la planta, vía de producción de sideróforos, antibióticos, acción de enzimas líticas (gluconasa y quitinasas) o inducción de mecanismos de resistencia (Rueda-Puente y col., 2009).

Mecanismos directos: Ocurren cuando los metabolitos producidos por algunas cepas de las bacterias son utilizados como reguladores de crecimiento o precursores de estos por parte de la planta.

La conjunción de ambos mecanismos de acción ha dado como resultado la promoción evidente del crecimiento de plantas; se ha observado un incremento en la emergencia, el vigor y el peso de plántulas, un mayor desarrollo en sistemas radiculares y un incremento hasta de 30% en la producción de algunos cultivos de interés comercial (Rueda-Puente y col., 2009).

Bacterias Promotoras del Crecimiento de Plantas

Las principales actividades benéficas llevadas a cabo por bacterias de la rizosfera asociadas a raíces o asociativas

incluyen la solubilización de minerales y nutrimentos, fijación de nitrógenos, producción de fitohormonas reguladoras del crecimiento, interacción sinérgica con otros microorganismos benéficos de la rizosfera y la inhibición de fitopatógenos; todas estas actividades incrementan la productividad vegetal (Gaskins y col., 1985; Rueda y col., 2009). La mayor parte de las investigaciones dirigidas a mejorar la respuesta vegetal ha enfatizado el uso de bacterias fijadoras de nitrógeno nativas en cereales y pastos de forraje y, recientemente ha incluido a otras plantas de cultivo. Bajo ciertas circunstancias, la cantidad de nitrógeno fijado por estos microorganismos puede ser significativa, pero no explica por sí misma el incremento del crecimiento de las plantas (Ramírez-Elías y col., 2014).

Hace más de 20 años se especuló por primera vez sobre hacer extensivo el uso de bacterias del género *Rhizobium* en las plantas agrícolas más importantes. Desde entonces la complejidad de la biología molecular del sistema nitrógenasa ha obligado a reconsiderar esa especulación (Brown, 1982; Quispel, 1991) y a explorar la posibilidad de utilizar bacterias fijadoras de nitrógeno asociadas de manera natural a plantas de cultivos particulares (de-Bashan y col., 2010).

En una revisión, realizada hace doce años por Ramírez-Elías y col., (2014), declaró que la única manera de obtener una respuesta positiva de inoculación bacteriana en el desarrollo y rendimiento vegetal es que la población bacteriana alcance una biomasa significativa en la raíz. Por tanto la característica más importante que debe tener una bacteria fijadora de nitrógeno que pretenda utilizarse con fines prácticos, es que sea un colonizador agresivo de raíces. Al evaluar la capacidad de colonización radicular de bacterias de la rizosfera, es necesario distinguir entre adaptación a la rizosfera y la habilidad para continuar desarrollándose a la par con la raíces en proceso de desarrollo. Solamente aquellos organismos capaces de trasladarse de las semillas a la raíces e incrementar su biomasa en la rizosfera pueden ser considerados colonizadores de raíces competitivos (Lifshitz y col., 1986; Trejo y col., 2012). Con el objeto de encontrar esta bacteria ideal se consideró importante el estudio de diferentes asociaciones entre bacterias benéficas y diferentes tipos de plantas la investigación en esta dirección ha sido promovida, se ha enfocado en la interacción a *Azospirillum*-planta, la cual puede servir como modelo para todas las bacterias asociativas. Existen algunos estudios sobre otros géneros bacterianos como *Bacillus*, *Azotobacter*, *Klebsiella* y otras bacterias no muy estudiadas del género *Azotobacter* y *Azoarcus*, la especie *Alcaligenes* y otros grupos bacterianos tales como cianobacterias, bacterias solubilizadoras de fosfato, bacterias sulfooxidantes y bacterias diazotróficas patógenos en plantas (Trejo y col., 2012).

***Azospirillum* spp-Planta: un Modelo de Interacción Planta-Microorganismo**

La primera especie del género *Azospirillum* fue aislada por Beijerinck en 1925 a partir de suelos pobres en nitrógeno en Holanda, llamada originalmente *Spirillum lipoferum*. Posteriormente Schroder en 1932, aisló especies de este género en suelos de Indonesia (Becking, 1963). Döbereiner en 1976 reportaron haber aislado bacterias de este género de la rizósfera y raíces de plantas forrajeras y cereales, colectadas en Sudamérica, África, y Estados Unidos (Döbereiner, 1976). Desde entonces, han sido aisladas especies de este género de numerosas especies de pastos silvestres y cultivados, cereales y leguminosas, en climas tropicales y subtropicales (Bally y col., 1983, Döbereiner, 1976). Actualmente han sido caracterizadas cinco especies dentro del género *Azospirillum*: *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, y *A. irakense*. La asociación entre bacterias del género *Azospirillum* y las raíces de pastos y otras plantas, ha sido estudiada extensivamente a partir del reporte de Döbereiner en 1976. Investigaciones realizadas en la década pasada han reportado el efecto benéfico de esta bacteria en forraje y grano de pastos así como en otras especies de plantas bajo una gran variedad de ambientes y condiciones de suelo. Los efectos de inducción del crecimiento en planta por *Azospirillum* son principalmente derivados de algunos cambios morfológicos y fisiológicos ocurridos en la raíz de las plantas inoculadas, resultando en mayor retención de agua y disponibilidad de nutrientes. Datos reportados y analizados indican que la inoculación de *Azospirillum* podría beneficiar a la planta por varios mecanismos involucrados (Bashan, 1997a,b).

Azospirillum se adhiere a la raíz (Castellanos y col., 1997) y prolifera en el rizoplasma (Bashan y col., 1989), y aparentemente invade la parte interna de la raíz (Levanony y col., 1989). De esta forma se promueve el desarrollo de pelos radiculares y ramificación de la raíz (Dubrovsky y col., 1994), causando alteraciones en el ordenamiento de las células corticales de la raíz (Levanony y col., 1989), incrementando la disponibilidad de nutrientes para las raíces inoculadas (Bashan y col., 1990), incrementando la acumulación de materia seca en partes de la raíz (Bashan, 1996), favoreciendo la disponibilidad de agua de la planta, mejorando la actividad biológica de fijación de nitrógeno por la asociación raíz-*Azospirillum* (Rennie, 1987), principalmente en la floración y, en muchas ocasiones, incrementa el rendimiento de cereales, hierbas forrajeras y legumbres (Okon, 1994). Del Gallo (1990) ha estudiado la respuesta de *Azospirillum brasilense* Cd en chícharo (*Cicer arietinum*). Los resultados muestran un efecto positivo, significativo estadísticamente de la inoculación en raíz y vástago de planta, comparado con plantas no inoculadas (control) ó inoculadas con *Rhizobium* (pero no nodulada).

Aunque regularmente *Azospirillum* puede mostrar alta actividad de nitrogenasa bajo condiciones de laboratorio (Holguín, 1996). La contribución de nitrógeno para la planta es todavía discutida ó es, al parecer, muy poco el aporte de este elemento (Okon, y col., 1983; Rennie, 1987; Trejo y col., 2012). El incremento observado sucesivamente en crecimiento y desarrollo de plantas inoculadas, es inducido al parecer por sustancias producidas por la bacteria, más que por el aporte de nitrógeno (Bashan, 1997). Esto ha sido observado en cultivos puros de *Azospirillum brasilense* que producen grandes cantidades de auxinas y, un poco de giberelinas y citoquininas (Tient y col., 1979; Rueda y col., 2009).

La respuesta a la inoculación depende también de la planta seleccionada y genotipo de bacteria (García, 1996). Algunas especies de *Azospirillum* aisladas de diversos suelos ó raíces de plantas de cactáceas de diferentes regiones geográficas de México (Yucatán, Tabasco, Guerrero y Tlaxcala), cuyas características han sido reportadas previamente (Mascarrua-Esparza y col., 1988), producen durante su actividad microbiana antibióticos, bacteriodoxinas, sideróforos y vitaminas del grupo B. (Tapia-Hernández y col., 1990) Las bacteriodoxinas son proteínas con un rango de actividad contra especies homólogas, pero inactivas contra la cepa que la produce. La producción de bacteriodoxinas ha sido evaluada en medio base agar con zonas de inhibición del crecimiento. Los sideróforos son productos metabólicos terminales de bajo peso molecular, comúnmente de menos de 1kD, con tres grupos funcionales y grupos conectados por un enlace flexible. Cada grupo funcional presenta dos átomos de oxígeno, ó menos frecuente, nitrógeno, que secuestra al hierro. En términos químicos, los grupos funcionales son hierro bivalente y trivalente (férrico) que puede acomodar tres de estos grupos para formar un complejo seis-coordinado. Con algunas excepciones, los grupos funcionales en sideróforos microbianos son hidrosamatos ó catecolatos (uno u otro); combinaciones diferentes de estos podrían estar presentes en un sólo sideróforo. Otros grupos funcionales incluyen carboxilatos tales como citratos y etilendiamina (Glick y col., 1999). Estos sideróforos secuestran el hierro de ambientes complejos, haciéndolo menos favorable para ciertos microorganismos que poseen en su biosíntesis, un mecanismo regulado por concentraciones de hierro; y pueden ocasionar zonas de inhibición similares a las formadas por la acción de bacteriodoxinas. Junto con la actividad de colonización de raíz ha sido analizada la quimotaxis de *Azospirillum*, con relación a diferentes nutrientes también ha sido demostrada y al parecer, esto es debido a que la membrana externa juega un papel importante en la quimiotaxis y simbiosis asociativas, posiblemente por el reconocimiento específico de propiedades inherentes en algunas de las proteínas de la membrana externa. Por ejemplo, cuando el hierro limita el crecimiento, se ha observado la inducción de la síntesis de

un gran número de proteínas; algunas de estas actúan como receptoras por la afinidad de adsorción de sideróforos (Trejo y col., 2012).

Ecología de *Azospirillum* en el suelo y en la rizosfera

Azospirillum es una bacteria de amplia distribución, puede ser encontrada en áreas tropicales, en áreas de climas templados y fríos (Döbereiner y col., 1976), e inclusive, en tundras y sitios semidesérticos del casquete polar ártico. Ha sido aislada particularmente de la rizosfera de la superficie de la raíz y en menor grado del interior de la raíz, se conoce bien su relación con las plantas pero poco acerca de la amplitud de su nicho ecológico y si es capaz de multiplicarse sin estar asociada a la planta.

La sobrevivencia de *Azospirillum* en suelos ha sido reconocida como una de las preguntas básicas a responder, debido a la inconsistencia de las evidencias reportadas. Recientemente, se evaluó la sobrevivencia de *A. brasilense* Cd y Sp-245 en la rizosfera de plantas de trigo y tomate en 23 tipos de suelos provenientes de un amplio rango de ambientes de Israel y México (Bashan y col., 1995). Sus conclusiones fueron que *A. brasilense* Cd sobrevive pobremente en la mayoría de los suelos por períodos de tiempo prolongados y que fuera de la rizosfera, la cantidad de arena y calcio determinan el grado de sobrevivencia de la bacteria en el suelo.

Estudios sobre la fisiología de la bacteria han sugerido la existencia de alternativas fisiológicas que podrían operar a fin de que *Azospirillum* sobreviva bajo condiciones ambientales desfavorables, como son enquistamiento, acumulación de poli- β -hidroxibutirato, producción de melanina, o protección dentro de esporas micorrízicas (Del Gallo, 1994). *Azospirillum* era específico para especies de cereales, sin embargo, posteriormente se encontró que abarca el sistema radicular de una variedad amplia de especies vegetales (Bashan y col., 1989; Crossman, 1987; Mascarrua y col., 1988; Hadas, 1987; Puente, 1993; Rao y col., 1990; Trejo y col., 2012).

Adhesión

Evidencias experimentales han puesto de manifiesto que los microorganismos tienen primero que adherirse a células o tejidos vegetales o animales para poder colonizar. El éxito de la colonización o de la infección dependerá de la habilidad que tenga el microorganismo para adherirse a una superficie sólida. Las estructuras o componentes de los microorganismos que comúnmente están involucrados en el proceso de adhesión son: fimbria, flagelo, lectinas lipopolisacáridos, hidrofobinas (Ofek, 1994).

La capacidad de *Azospirillum* para colonizar la rizosfera, se presume que depende de algunas propiedades de las bacterias como quimiotaxis, hacia exudados de raíz, un metabolismo versátil incluyendo fijación de nitrógeno, antagonismo hacia competencia con microorganismos, formación de quistes permitiendo sobrevivir bajo condiciones adversas, y más importante, la habilidad para ligar las raíces de las plantas y partículas del suelo, ha sugerido que la unión de *Azospirillum* a raíces involucra dos fases distintas: adsorción y anclaje (Michiel y col., 1991; de-Bashan y col., 2010). Sin embargo no está claro como se lleva a cabo la adhesión inicial o adsorción de *Azospirillum* a raíces de pastos u otras plantas, aunque la etapa de anclaje está mucho mejor caracterizada (Gafny y col., 1986). Componentes de la cápsula de la bacteria como glicoproteínas, polisacáridos y organelos como fimbria y flagelo se supone están involucrados en los procesos de anclaje (Madi y col., 1988). Los polisacáridos fueron las primeras moléculas que se reportaron como candidatos involucrados en los procesos de adhesión de *Azospirillum* a tejidos vegetales, e inclusive, para formar agregados celulares de ella misma bajo ciertas condiciones de cultivo en medios ricos en fructosa como fuentes de carbono y KNO_3 como fuente de nitrógeno (Sadasivan, 1987). Los autores creen que está relacionado con la producción de polímeros exocelulares, particularmente β -polisacáridos y que posiblemente también estuvieran involucrados en la adhesión a otras superficies. Posteriormente, Madis (1989) encontró que compuestos de naturaleza proteica estaban involucrados en procesos de adhesión celular, al observar *A. Azospirillum* Cd. formando agregados conectados con proteínas.

Fijación de Nitrógeno

Se ha calculado que el total de N_2 fijado por los microorganismos diazotróficos es del orden de 10^{11} Kg. por año, alrededor del 60% del nitrógeno fijado de nuevo en el suelo. La luz y la radiación ultravioleta fijan otro 15%, y el 25% restante proviene de procesos industriales. La fijación biológica de nitrógeno se define como la reducción del nitrógeno atmosférico a amonio realizada por un grupo de bacterias, las cuales han evolucionado hacia sistemas enzimáticos complejos para la reducción del N_2 a NH_4 . Estos microbios del suelo incluyen dos variedades: los fijadores de nitrógeno de vida libre que generan amonio para su propio uso, y los fijadores de nitrógeno simbióticos que fijan nitrógeno asociados con plantas y proveen a la planta de nitrógeno a cambio de carbono y de un hábitat de protección. Esta última variedad incluye las bacterias Gram negativas: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, que se asocian con algunas plantas leguminosas, bacterias del género *Azospirillum*, *Azotobacter*, que se asocian con plantas de cereales; la bacteria Gram positiva *Frankia*, que se asocia con ciertos árboles de crecimiento rápido

y cianobacterias, que se asocian con helechos acuáticos. La enzima responsable de la reducción de N_2 a NH_4 es el complejo de la nitrogenasa, la cual está formada por tres diferentes polipéptidos. Se han encontrado diferentes sistemas de nitrogenasa en diversos microorganismos, los cuales difieren, por ejemplo, en su especificidad por metales. La meta de la investigación en la fijación biológica de nitrógeno es contribuir al desarrollo de la agricultura. Actualmente, se producen fertilizantes biológicos con *Rizhobium* como inoculantes efectivos para ciertos cultivos de leguminosas (<http://www.cifn.unam.mx/literature/folleto/cap3.esp.html#Biological>).

Aplicación en la Agricultura experimental


Las bacterias del género *Azospirillum* poseen la capacidad de fijar N_2 atmosférico, lo cual proporciona a las plantas nitrógeno asimilable y además de promover la liberación de hormonas, como ácido indolacético (AIA) y auxinas, lo que da como resultado una estimulación para la ramificación de las raíces y desarrollo de pelos radicales (33-40%) adicionales. Además, se ha sugerido que están involucradas en una mejor absorción de minerales y agua por parte de la planta lo que contribuye al crecimiento y aumento del rendimiento de las plantas (Kapulnik y col., 1981; Bashan, 1997b).

Los resultados experimentales y prácticos en el uso de las especies de *Azospirillum* han concluido que estas especies son capaces de promover la producción agrícola en diferentes suelos y condiciones de clima. El efecto de *Azospirillum* sobre las plantas parece ocurrir al inicio del desarrollo y la intensidad de dicho efecto depende de las condiciones del medio ambiente, del suelo, de la especie de vegetal, de las formas de cultivo y de la concentración óptima del inóculo (1×10^5 a 1×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC/semilla o planta) (Bashan y col., 1989). Los resultados han sido significativos en varios parámetros de crecimiento, los cuales en numerosos casos aumentan el rendimiento del cultivo desde un 5% hasta un 30%, cuando reemplazan fertilizantes con alto porcentaje de nitrógeno (Okon, 1994). En la Universidad Autónoma de Puebla se inocularon grandes extensiones de suelos agrícolas cultivados con maíz y trigo con diferentes cepas de *Azospirillum* obteniéndose incrementos significativos en el rendimiento de la cosecha de ambos granos. Los estudios demostraron que la inoculación en la gramíneas *Triticum aestivum* L. con una cepa de *Azospirillum brasilense*, aislada de la rizósfera de *Brachiaria mutica*, mostró mejores resultados que la inoculación con cepas de colecciones aisladas de otras partes del mundo (Okon, 1994). Otro estudio demostró que la respuesta de inoculaciones de *Azospirillum spp* es influenciada por fertilizantes a base de N, P y K, ya que estos incrementan la población de esta bacteria, lo cual repercute en una mayor producción de biomasa en las plantas (Kapulnik y col., 1981).

Actualmente en zonas agrícolas donde el efecto de sales es un problema, de los diferentes géneros se destaca *Azospirillum halopraeferens* cuya característica importante es su adaptación a suelos o ambientes con altos contenidos de sales, gracias a que posee un mecanismo osmótico para regular la acumulación de solutos orgánicos; esta propiedad de este tipo de microorganismos es importante, ya que los suelos agrícolas de zonas áridas son afectados por problemas de salinidad. Rueda y col., 1993 y Rueda y col., 1994 reporta que la inoculación de bacterias halotolerantes tales como *A. halopraeferens* en plantas que se desarrollan en ambientes áridos salinos, son una opción a la fertilización química-nitrogenada, repercutiendo en efectos del tipo de producción como del tipo ambiental.

Conclusiones

La agricultura a nivel mundial, constituye una actividad fundamental para la subsistencia de la población humana. Diversos factores han conducido a un proceso de deterioro de sus escasos recursos y a una creciente dificultad para renovarlos. El suelo como base de los recursos y de la producción se encuentra enmarcado en un ambiente complejo, heterogéneo y frágil, que evidencia una alta susceptibilidad a la erosión y una baja fertilidad natural, con efectos en la producción de los cultivos, en la productividad del trabajo y en la factibilidad del establecimiento de sistemas productivos sustentables. La recuperación y el mantenimiento de la fertilidad de los suelos sobre una base sostenible constituyen un factor de gran importancia en el desarrollo de la producción agropecuaria mundial. De ahí la importancia de intensificar los estudios que permitan mejorar su estabilidad y productividad a largo plazo. La agricultura orgánica se ha caracterizado por hacer un uso integral y diversificado de los recursos naturales, en un ambiente fluctuante y restrictivo. La agricultura orgánica permite nuevas estrategias en el manejo de los recursos que están siendo actualmente utilizadas por los nuevos sistemas de producción agrícola. Entre las estrategias se encuentran el uso de Biofertilizantes que apoyan el uso sostenido de los recursos en los sistemas productivos.

En los últimos años, la utilización de biofertilizantes en la producción de cultivos es una práctica en amplia expansión. Existe un grupo específico de bacterias que se han denominado de diversas formas, pero la más aceptada y difundida es la de bacterias promotoras del crecimiento de las plantas. Estos biofertilizantes han presentado diversos efectos sobre los cultivos y sobre la rizósfera, incrementando significativamente la producción agrícola y aplicando dosis bajas de fertilizantes a las recomendadas de manera tradicional. Resultados que enfatizan y orientan al productor e investigador a seguir estudiándolos en su interacción, ampliando la gama de estos microorganismos y evaluando su inoculación. 

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, el apoyo número 245853, otorgado al Dr. Murillo-Amador mediante el programa modalidad de visitas cortas nacionales dentro del marco de la convocatoria estancias sabáticas nacionales, estancias sabáticas al extranjero y estancias cortas para la consolidación de grupos de investigación (Convocatoria 2014, segunda fase).

Referencias

- Agrupación Orgánica de Chile. 2002. Agricultura Orgánica. Ed: Comité de la Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Chile. 219 p.
- Bally, R.; Thomas-Bauzon, D.; Heullin, T. and Balandreau, J. 1983. Of the most frequent N_2 -fixing bacteria in a rice rhizosphere. *Can. J. Microbiol.* 29:881-887.
- Bashan, Y., Sing, M. and Levanony, H. 1989. Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. *Can. J. Botany.* 67: 2429-2434.
- Bashan, Y. and Dubrovsky, J.G. 1996. *Azospirillum* spp. Participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level. *Biology and Fertility of Soils* 23: 435-440.
- Bashan, Y. and Holguin, G. (1997 a). *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Can. J. Microbiol.* 3: 103-121.
- Bashan, Y. and Holguin, G. (1997 b). Short-and medium term avenues for *Azospirillum* inoculation. In: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-present status and future prospects. (Eds) A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino. Published by; Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan. p. 130-149.
- Bashan, Y. and Levanony, H. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36: 591-608.
- Bashan, Y., Puente, M.E., Rodríguez-Mendoza, M.N., Toledo, G., Holguín, G., Ferrera-Cerrato, R. and Pedrin, S. 1995. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. *App. Environ. Microbiol.* 61:1938-1945.
- Becking, J. H. 1963. Fixation of molecular nitrogen by an aerobic *Vibrio* or *Spirillum*. *Antonie van leewenhoek. J. Microbiol. Serol.* 29:326.
- Brown, M. E. 1982. Nitrogen fixation by free-living bacteria associated with plants-fact or fiction? In: Bacteria and plants. M.E. Rhodes-Robert y J.A. Skinner (Eds). Academic Press New York. p. 25-41.
- Castellanos, T., Ascencio, F., and Bashan, Y. 1997. Bacterial cell-surface hydrophobicity, charge, and lectins as possible means for the initial attachment of *Azospirillum* spp. To surfaces. In: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-presents status and future prospects. (Eds) A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino. Published by: Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan. Pp. 389-393.
- Crossman, S.M., and W.A. Hill. 1987. Inoculation of sweet potato with *Azospirillum*. *Hort. Sci.* 22:420-422.
- Del Gallo, M. and Fabbri, P. 1990. Inoculation of *Azospirillum brasilense* Cd on Chick Pea (*Cicer arietinum*). *Symbiosis* 9:283-287. Balaban Publishers, Philadelphia/Rehovot.
- Del Gallo and Fendrik. 1994 The rhizosphere and *Azospirillum*. In *Azospirillum* plant associations. Edited by Y. Okon. CRC Press. Boca Raton, Fla. pp. 57-75.
- Döbereiner, J. and Day, J.M. 1976. Associative symbioses in Tropical grasses; Characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. p. 518-538. In W. E. Newton and C.J. Nyman (ed.) Proceeding of The First International Symposium on Nitrogen-Fixation, vol. 2 Washington State University. Press Pulman.
- Dubrovsky, J.G., Puente, M.E. and Bashan, Y. 1994. *Arabidopsis Thaliana* as a model system for the study of the effect of inoculation by *Azospirillum brasilense* Sp-245 on root hair growth. *Soil Biol. Biochem.* Vol 26, No. 12, p. 1657-1664.
- de-Bashan, L.E., Hernandez, J.-P., Bashan, Y. and Maier, R. 2010. *Bacillus pumilus* ES4: Candidate plant growth-promoting bacterium to enhance establishment of plants in mine tailings. *Environmental and Experimental Botany* 69: 343-352
- Gafny, R., Y. Okon, and Y. Kapulnik. 1986. Adsorption of *Azospirillum brasielense*
- Garcia de Salomone and Döbereiner 1996. Maize Genotype Effects on the response to *Azospirillum* Inoculation. *Biol. Fertil. Soils.* 21: 193-196.
- Gaskins, M., Albretch S. and Hubbel D. 1985. Rhizosphere bacteria and their use to increase plant productivity: A review *Agriculture, Ecosystems and Environment* 12: 99-116.
- Glick, B.R., Patten, C.L., Holguin, G. and Penrose, D.M. 1999. Siderophores. In Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth- promoting bacteria. Imperial College Press, London. 560 p.
- Hadas, R., and Y. Okon. 1987. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on root morphology and respiration in tomato seedling. *Biol. Fertil Soil* 5: 241-247.
- Holguin, G. and Bashan, Y. 1996. Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium (*Staphylococcus* sp.). *Soil Biology and Biochemistry* 28: 1651-1660.
- Izquierdo J., Crampi L., and De García E. 2002. Biotecnología apropiable: Racionalidad de su desarrollo y aplicación en América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Santiago de Chile. 250 p.

- Kapulnik, Y.; Sarig, S.; Nur, I.; Okon, Y.; Kiegel, J. and Henis Y. 1981. Yield increases in summer cerealcrops of Israeli Fields inoculated with *Azospirillum*. *Experimental Agriculture*, 17: 179-187.
- Kloepper, J. Schippers, B., and Bakker P. 1992. Proposed elimination of the term endorhizosphere. *Phytopathology*, 82: 726-727.
- Levanony, H., Bashan, Y., Romano, B. and Klein, E. 1989. Ultrastructural localization and identification of *Azospirillum brasilense* Cd on and within wheat root by inmuno-gold labeling. *Plant and Soil*. 117:207-218.
- Lifshitz, R., Loepper J., Scher, F., and Laliberte, M. 1986. Nitrogen fixing pseudomonas isolated from roots of plants grown in the Canadian high arctic. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 251-255.
- Madi, L., and Y. Henis. 1989. Aggregation in *Azospirillum brasilense* Cd: conditions and factors involved in cell-to-cell adhesion. *Plant soil* 115: 89-98.
- Madi, L., M. Kessel, E. Sadvnik, and Y. Henis 1988. Electron microscopic studies of aggregation and pellicle formation in *Azospirillum* spp. *Plant soil*. 109: 115-121.
- Mascarrua-Esparza, M.A., R. Villa-Gonzalez, and J. Caballero-Mellado. 1988. Acetylene reduction and indolacetic acid proction by *Azospirillum* isolated from Cactaceous plants. *Plant Soil* 106:91-95.
- Michiel, K.; Chris L. and Jos Vanderleyden. 1991. Two different modes of attachment of *Azospirillum brasilense* Sp7 to wheat roots. *J. of Microb.* 137: 2241-2246.
- Ofek, I., and R.J. Doyle. 1994. Bacterial adhesion to cells and tissues. Chapman & Hall New York.
- Okon, Y. and Labandera, G.C.A. 1994. Agronomic Applications of *Azospirillum* and Evaluation of 20 years Worldwide Field Inoculation. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 26, No. 12, pp. 1591-1601.
- Okon Y., Nur I., and Henis Y. 1983. Effect of oxygen concentration on electron transport components and microaerobic properties of *Azospirillum brasilense*. En *Azospirillum* II, Genetics, Physiology, Ecology (W. Klingmuller, Ed.). Birkhauser Verlag, Basel, pp. 115-126.
- Puente, M.E., and Y. Bashan. 1993. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* strains on the germination and seedling of the giant columnar Cardon cactus (*Pachycereus pringlei*). *Symbiosis* 15:49-60.
- Quispel, A. 1991. A critical evaluation of prospects or nitrogen fixation with non-legumes. *Plant and Soil* 137: 1-11
- Ramírez-Elias, M.A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Almaráz, J.J., Ramírez-Valverde, G., de-Bashan, L.E., Esparza-García, F.J., and García-Barradas, O. 2014. Identification of culturable microbial functional groups isolated from the rhizosphere of four species of mangroves and their biotechnological potential. *Applied Soil Ecology* 82: 1-10
- Rao, P.S.K., V. Arrunachalan, and K.V.B.R. Tilak. 1990. Genotype dependent response to *Azospirillum* treatment in yield and nitrogenase activity in Brassica juncea L. *Curr. Sci.* 59:607-609.
- Rennie, R.J., and Thomas, J.B. 1987. ¹⁵N-determined effect of inoculation with N₂ fixing bacteria on nitrogen assimilation in western Canadian wheats. *Plant Soil*, 100:213-223.
- Rueda-Puente, T. Castellanos, E. Troyo-Diéguéz, J. L. Díaz de León-Álvarez, and B. Murillo-Amador. 1993. Effects Of A Nitrogen-Fixing Indigenous Bacterium (Klebsiella pneumoniae) On The Growth And Development Of The Halophyte Salicornia bigelovii As A New Crop For Saline Environments. *J Agronomy Crops Sc.*
- Rueda-Puente, Thelma Castellanos C., Enrique Troyo-Diéguéz, and Jose Luis Díaz De León-Álvarez. 1994. Effect Of Klebsiella pneumoniae And Azospirillum halopraeferens On The Growth And Development Of Two Salicornia bigelovii Genotypes. *Australian Journal Of Experimental Agriculture.*
- Rueda-Puente Edgar Omar, Barrón-Hoyos Jesús Manuel and Jojanés Halmann. 2009. Bacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal. Editorial Plaza y Valdes. México D.F.112 p.
- Sadasivan, L., and C. A. Neyra.1987. Cyst production and brown pigment formation in aging cultures of *Azospirillum brasilense* ATCC 29145. *Journal Bacteriol.* 169:1670-1677.
- Tapia-Hernández, A., Mascarúa-Esparza, M.A. and Caballero- Mellado, J. 1990. Production of bacteriocins and siderophore-like activity by *Azospirillum brasilense*. *Microbios* 64:73-83.
- Tient, T.M., Gaskinns, M.H., and Hubbel, D.H. 1979. Plant Growth Substances Produced by *Azospirillum brasilense* and Their Effect on the Growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum*). *Appl. Environmen Microbiol.* 37:1016-1024.
- Trejo, A., de-Bashan, L. E., Hartmann, A., Hernandez, J.P., Rothballer, M., Schmid, M. and Bashan, Y. 2012. Recycling waste debris of immobilized microalgae and plant growth-promoting bacteria from wastewater treatment as a resource to improve fertility of eroded desert soil. *Environmental and Experimental Botany* 75 : 65-73.