

UNIVERSIDAD NACIONAL
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGRICULTURA ECOLÓGICA

**EVALUACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN EL
CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

Ana Irene García Solís

Heredia, 2026

**Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador del Posgrado en Agricultura Ecológica
de la Escuela de Ciencias Agrarias, para optar por el grado de *Magister Scientiae* en
Agricultura Ecológica**

**EVALUACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN EL
CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

Ana Irene García Solís

**Tesis presentada para optar al grado de *Magister Scientiae* en Agricultura Ecológica. Cumple
con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad
Nacional, Heredia, Costa Rica.**

MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

[M.Sc. Randall Gutiérrez Vargas /Dra. Damaris Castro García /Dr. Jorge Herrera Murillo/ Dr. José Vega Baudrit /Dr. Greivin Rodríguez Calderón/ Dra. Rocío Castillo Cedeño]
Representante del Consejo Central de Posgrado

Ph.D. Gerardo Cerdas Vega
Coordinador Maestría en Agricultura Ecológica

M.Sc. José Alonso Calvo Araya
Tutor de tesis

Ph.D. Martha Orozco Aceves
Miembro del Comité Asesor

M.Sc. Romel Vega Obando
Miembro del Comité Asesor

Ana Irene García Solís
Sustentante

Descriptores

Pseudomonas fluorescens, *Azospirillum brasilense*, co-inoculación, bacterias promotoras del crecimiento, maíz.

Resumen

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos estratégicos para la seguridad alimentaria mundial; sin embargo, su producción depende en gran medida del uso de fertilizantes sintéticos, especialmente nitrogenados y fosfatados, cuya disponibilidad y costo se han visto seriamente afectados por crisis globales recientes. En este contexto, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) emergen como una alternativa biológica sostenible para mejorar la eficiencia nutricional y el crecimiento del cultivo. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*, sobre la germinación, el crecimiento y la nutrición mineral del maíz en condiciones *in vitro* y de campo.

En las pruebas *in vitro*, el porcentaje de germinación no presentó diferencias significativas entre tratamientos confirmando que la inoculación no afectó negativamente la viabilidad de las semillas. Se observó que *A. brasilense* (T2) promovió la elongación de la raíz primaria, mientras que *P. fluorescens* (T1) indujo una mayor ramificación radicular y promovió un mejor desarrollo de la plúmula. La co-inoculación (*A. brasilense* + *P. fluorescens*) mostró respuestas positivas, aunque no estrictamente sinérgicas, sugiriendo que las interacciones microbianas dependen de la compatibilidad funcional entre cepas y del contexto fisiológico de la plántula.

En los ensayos de campo, no hubo diferencia significativa entre co-inoculación (T3) y tratamiento químico (T4) a los 65 DDS para longitud de raíz. Tampoco se presentó diferencia significativa entre el T2, T3 y T4 en biomasa radicular y tallo. Para la longitud del tallo, T4 presentó diferencia significativa con respecto a T3 y T5. Los análisis de nitrógeno y fósforo foliar mostraron concentraciones dentro de rangos estándares en todos los tratamientos, incluyendo el testigo absoluto, indicando que, bajo condiciones no limitantes de nutrientes, los beneficios de las BPCV se expresan más como eficiencia fisiológica que como incrementos nutricionales.

Abstract

Maize (*Zea mays* L.) constitutes one of the most strategic crops for global food security. However, its productivity relies heavily on the intensive use of synthetic fertilizers—particularly nitrogenous and phosphate-based inputs—whose availability and cost have been severely affected by recent global crises. Within this framework, plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) have emerged as a sustainable biological alternative to enhance nutrient use efficiency and crop performance.

The present study aimed to evaluate the effects of *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum brasilense* on seed germination, early growth, and mineral nutrition of maize under both *in vitro* and field conditions. Under *in vitro* assays, germination percentage did not show statistically significant differences among treatments, confirming that bacterial inoculation did not negatively affect seed viability. *A. brasilense* (T2) significantly promoted primary root elongation, whereas *P. fluorescens* (T1) induced greater lateral root branching and enhanced plumule development. Co-inoculation (*A. brasilense* + *P. fluorescens*) resulted in positive growth responses; however, the interaction was not strictly synergistic. These findings suggest that microbial interactions are highly dependent on functional compatibility between strains and the physiological status of the seedling.

In field trials, no statistically significant differences were observed between co-inoculation (T3) and chemical fertilization (T4) at 65 days after sowing (DAS) with respect to root length. Likewise, no significant differences were detected among T2, T3, and T4 for root and stem biomass. Regarding stem length, T4 showed a statistically significant increase compared to T3 and T5. Leaf nitrogen and phosphorus analyses revealed concentrations within standard sufficiency ranges across all treatments, including the absolute control. This outcome indicates that under non-limiting nutrient conditions, the benefits of PGPB are primarily expressed through enhanced physiological efficiency rather than through measurable increases in tissue nutrient accumulation.

Agradecimiento

Agradezco a Dios que, a pesar de todos los obstáculos encontrados en el camino, me mantuvo en pie para finalizar este trabajo final de graduación. También le agradezco a Greivin por ser un compañero de vida que me apoyó no solo emocionalmente sino también con su conocimiento técnico en el campo, a Juan y Kevin que me colaboraron con mediciones de laboratorio, a Maribel y Mariana por su apoyo y paciencia y a la familia que a pesar de todo siempre está ahí.

Agradezco a cada uno de los académicos de la Universidad Nacional, que de una u otra forma me han apoyado a lo largo de este trabajo de graduación (Martha Orozco y Alonso Araya), transfiriéndome sus conocimientos y experiencias, y a mi amigo Romel Vega que siempre me ha apoyado en estos temas.

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico a mi hijo y a mi empresa porque empecé esta maestría con muchos sueños que espero puedan nutrir nuestro futuro.

Índice

Capítulo I: Introducción	1
Objetivos de la investigación	5
Capítulo II: Marco Teórico	6
El cultivo de maíz	6
Fertilización del cultivo de maíz	8
Bacterias promotoras del crecimiento vegetal	10
Mecanismos de acción de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal	10
Los microorganismos y el papel de las fitohormonas	14
El futuro de una fertilización sostenible	15
Capítulo III: Metodología	16
Localización de los ensayos	16
Análisis químico de suelo	17
Cepas bacterianas por evaluar	17
Semillas de maíz	17
Ensayo <i>in vitro</i> para la evaluación de germinación y vigor de semillas de maíz	18
Variables de respuesta	19
Análisis estadístico	19

Ensayo de promoción del crecimiento en campo	20
Mantenimiento del cultivo en campo	20
Diseño experimental	20
Evaluación de tratamientos	21
Variables de respuesta	22
Análisis estadístico	23
Capítulo IV: Resultados y discusión	24
Ensayo <i>in vitro</i> para la evaluación de germinación y vigor de semillas de maíz	24
Porcentaje de germinación	24
Longitud de la raíz primaria	25
Número de raíces	28
Longitud de la plúmula	30
Ensayo de promoción del crecimiento en campo	32
Longitud de raíz	32
Biomasa radical	33
Longitud de tallo	35
Biomasa del tallo	36
Niveles de fósforo foliar	38
Niveles de nitrógeno foliar	39

Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones	42
Conclusiones	42
Recomendaciones	43
Bibliografía	45
Anexos	54

Lista de figuras

Figura 1: Fenología del maíz	8
Figura 2. Parcela para el ensayo de campo	16
Figura 3. Distribución de los tratamientos en campo para la evaluación de las BPCV sobre las variables de respuesta medidas en plantas de maíz	21
Figura 4. Efecto de los tratamientos en la longitud de la raíz en ensayo in vitro. T1 (<i>P. fluorescens</i>), T2 (<i>A. brasilense</i>), T3 (<i>P. fluorescens</i> con <i>A. brasilense</i>), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua)	24
Figura 5. Pelos radicales presentes en las raíces germinadas de las semillas expuestas a la bacteria <i>A. brasilense</i> (T2)	25
Figura 6. Efecto de los tratamientos en el número de raíces en ensayo in vitro. T1 (<i>P. fluorescens</i>), T2 (<i>A. brasilense</i>), T3 (<i>P. fluorescens</i> con <i>A. brasilense</i>), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua) ...	27
Figura 7. Efecto de <i>P. fluorescens</i> (T2) en el número de raíces en ensayo in vitro	29
Figura 8. Efecto de los tratamientos en la longitud de la plúmula en ensayo in vitro. T1 (<i>P. fluorescens</i>), T2 (<i>A. brasilense</i>), T3 (<i>P. fluorescens</i> con <i>A. brasilense</i>), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua) ...	30
Figura 9. Porcentaje de germinación según los tratamientos en ensayo in vitro. T1 (<i>P. fluorescens</i>), T2 (<i>A. brasilense</i>), T3 (<i>P. fluorescens</i> con <i>A. brasilense</i>), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua)	31
Figura 10. Longitud de las raíces según los distintos tratamientos a los 65 DDS. T1 (<i>P. fluorescens</i>), T2 (<i>A. brasilense</i>), T3 (<i>P. fluorescens</i> con <i>A. brasilense</i>), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua)	32

Figura 11. Comparación de biomasa radicular en peso húmedo y seco según los distintos tratamientos a los 65 DDS. T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua) 34

Figura 12. Longitud de tallo según los distintos tratamientos a los 65 DDS. T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua) 35

Figura 13. Comparación de biomasa del tallo en peso húmedo y seco según los distintos tratamientos a los 65 DDS. T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua) 37

Figura 14. Análisis de fósforo foliar (en porcentaje de masa) según los distintos tratamientos a los 65 DDS. T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua) 38

Figura 15. Análisis de nitrógeno foliar (en porcentaje de masa) según los distintos tratamientos a los 65 DDS. T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua) 40

Lista de anexos

Anexo 1. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable para la variable "Longitud de la raíz <i>in vitro</i> "	54
Anexo 2. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Número de raíces <i>in vitro</i> "	54
Anexo 3. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable para la variable "Longitud de la plúmula"	55
Anexo 4. Comparaciones múltiples de medias marginales estimadas con ajuste de Tukey para la variable "Germinación"	55
Anexo 5. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Longitud de la raíz"	56
Anexo 6. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Peso fresco de la raíz"	56
Anexo 7. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Peso seco de la raíz"	57
Anexo 8. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Longitud del tallo"	57
Anexo 9. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Peso fresco del tallo"	58
Anexo 10. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Peso seco del tallo"	58
Anexo 11. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Fósforo"	59

Anexo 12. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Nitrógeno".....	59
Anexo 13. Evaluación de los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene)	60
Anexo 14. Resultados de las pruebas estadísticas	61
Anexo 15. Resultados del análisis químico de suelo antes de la siembra.....	62
Anexo 16. Resultados de análisis foliares a los 65 DDS	63
Anexo 17. Colocación de las semillas en la cámara de germinación.....	64

Lista de abreviaturas

ABA: ácido abscísico.

ACC: 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa, enzima.

Agar F: medio de cultivo para *P. fluorescens*.

Agar NFB: medio de cultivo libre de nitrógeno para *A. brasilense*.

ATP: molécula energética llamada adenosina trifosfato.

BPCV: bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

CIA: Centro de Investigaciones Agronómicas.

Covid-19: enfermedad por coronavirus del año 2019.

DDS: días después de siembra.

DAPG: 2,4-diacetilfloroglucinol (metabolito secundario).

ECA: Escuela de Ciencias Agrarias.

EJN2: variedad de maíz.

FBN: fijación biológica de nitrógeno

Fe: hierro como elemento químico.

Fe²⁺: hierro insoluble.

Fe³⁺: hierro soluble.

HPLC: siglas en inglés high performance liquid chromatography.

IAA: ácido indol acético.

N: nitrógeno.

N₂: nitrógeno atmosférico.

NH₄: amonio.

NH₄ – N: nitrógeno amoniacal.

NO: óxido nítrico.

NO₃: nitrato.

NO₃ - N: nitrógeno nitrato.

P: fósforo.

SARS-CoV-2: siglas en inglés severe acute respiratory síndrome coronavirus 2.

UCR: Universidad de Costa Rica.

UFC: unidades formadoras de colonias.

UNA: Universidad Nacional.

VE: etapa vegetativa de la planta de maíz.

V1: etapa vegetativa de la planta de maíz con 1 hoja presente.

V2: etapa vegetativa de la planta de maíz con 2 hojas presentes.

V3: etapa vegetativa de la planta de maíz con 3 hojas presentes.

VN: etapa vegetativa de la planta de maíz con la hoja antes de que emerja la flor masculina.

VT: etapa vegetativa de la planta de maíz con flor masculina.

R1: etapa reproductiva de la planta que absorbe nutrientes y energía.

R2: etapa reproductiva de la planta en la que tiene un tamaño adecuado y humedad del 85% en grano.

R3: etapa reproductiva de la planta en la que el grano acumula almidón.

R4: etapa reproductiva de la planta en la que empieza la formación pastosa del grano.

R5: etapa reproductiva de la planta en la que inicia el secado natural de la planta.

R6: etapa reproductiva de la planta en la que los granos empiezan a endurecerse e inicia la etapa final de maduración.

Capítulo I: Introducción

El cultivo de maíz (*Zea mays L.*) es un cultivo milenario y uno de los principales cereales producidos a nivel mundial debido a sus cualidades alimenticias para el consumo humano y animal, constituyéndose en la base de la dieta de millones de personas, y por tanto es un alimento crítico para promover la seguridad alimentaria de los países (Leyva et ál., 2020). Cifras de la División de Estadística de la Organización de las Naciones Unidas (FAOSTAT, por sus siglas en inglés) indican un aumento en la producción de maíz en la última década, Estados Unidos encabeza la lista con un 40 % en la producción de maíz mundial para el año 2014, seguido por China con un 30 % para el mismo año (Santana et ál., 2018).

El incremento en la producción de maíz por parte de países como Estados Unidos se debe a los subsidios que los países desarrollados dedican a la producción agrícola, los gobiernos otorgan pagos directos en dinero, crédito a tasas preferenciales, financiamiento público para investigación científica y desarrollo tecnológico, recursos para estudios de mercado o exoneración de impuestos. Esto permite que quienes reciben estos subsidios puedan colocar sus productos tanto en el mercado nacional como internacional a precios más bajos (Valenciano et ál., 2020).

En el caso de Costa Rica sucedió un fenómeno de cambio de estructura agropecuaria que pasó de un sistema centrado fundamentalmente en el cultivo de granos básicos (arroz, frijol, maíz) y unos pocos productos de exportación (café y banano), a uno orientado a la producción de frutas frescas (piña, banano, sandía, melón) para su comercialización en el mercado internacional y productos para la agroindustria (café, palma aceitera, caña de azúcar y naranja). Este cambio generó una disminución de la superficie orientada a la actividad agrícola; entre 2016 y 2023 la extensión de cultivos disminuyó un 14,8 %, la mayor afectación se presentó en el área para el cultivo de granos básicos como arroz, frijol y maíz en un 51,5 %. Por el contrario, se incrementó el área dedicada a cultivos para la exportación o la agroindustria; piña, palma aceitera y caña de azúcar.

En conjunto estos tres cultivos pasaron a ocupar un 48,4 % de la superficie agrícola en 2023. También se dio una concentración del área agrícola en pocos cultivos: en 2023, 8,6 hectáreas de cada 10 se dedicaron al cultivo de: café, palma aceitera, caña de azúcar, piña y banano. El cambio estuvo acompañado de un incremento de las importaciones de granos básicos para cubrir la demanda interna (95 % de la importación de granos básicos proviene de Estados Unidos, El Salvador, Colombia, Nicaragua, China, Guatemala y México).

Específicamente para el cultivo del maíz en Costa Rica durante los años 80 se cultivaban 85 mil hectáreas de maíz criollo amarillo y blanco (Chacón, 2022). Con la aprobación del tratado de libre comercio entre Estados Unidos y Centroamérica (CAFTA), la producción disminuyó a 15.750 hectáreas para el año 2014 y esta tendencia a la baja se ha mantenido como consecuencia de un incremento de las importaciones (Chacón, 2017). Para el año 2020, Costa Rica importó 928.995.935,28 toneladas de maíz, posicionándose en segundo lugar en importaciones a nivel centroamericano (Ministerio de Hacienda de Costa Rica, 2022). Actualmente, las siembras de maíz en Costa Rica son para autoconsumo o mercado local (Chacón, 2017).

A pesar del panorama planteado, luego de la pandemia debido al virus SARS-CoV-2, la caída en los ingresos económicos a nivel general ha tenido un efecto en los patrones de consumo y uso de alimentos a nivel mundial (Valenciano et ál., 2020). Por tanto, es probable que el sector agrícola retome la producción de granos básicos utilizando tecnologías más rentables y locales para hacer frente a la crisis. Dentro de los aspectos críticos en la producción del maíz se encuentra la fertilización del cultivo, ya que, por ejemplo, se estima que el 70 % de N total se extrae en el periodo previo a la floración (Castellanos et ál., 2017), lo que se traduce en un alto consumo de fertilizantes nitrogenados sintéticos en esta etapa del cultivo. Sin embargo, la disponibilidad y precio de este insumo ha variado considerablemente debido a las diversas crisis globales acontecidas (crisis de contenedores, conflictos bélicos en Europa del Este).

Para hacer frente a la coyuntura actual, diversas investigaciones se han centrado en las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (BPCV), que establecen asociaciones benéficas con las raíces de las plantas, desde donde estimulan el crecimiento vegetal y reducen la incidencia de enfermedades. El efecto de las BPCV fue descrito por primera vez por los científicos Kloeppler y Schroth (1981) en su ensayo realizado en rábanos (Molina et ál., 2015). A través del tiempo se ha descubierto que el crecimiento, la producción y salud vegetal se da por mecanismos moleculares producidos por estos microorganismos influyendo de forma directa o indirecta en el metabolismo y fisiología de la planta.

Normalmente, las BPCV habitan la rizosfera y se alimentan de los exudados de las raíces (aminoácidos, ácidos grasos, ácidos orgánicos, reguladores del crecimiento, azúcares, vitaminas entre otros), por lo que se genera una interacción benéfica para ambas partes (mutualismo), ya que estos microorganismos disponibilizan nutrientes inaccesibles para las plantas (Molina et ál., 2015). Por su parte, las BPCV como *Azospirillum brasilense* y *Bradyrhizobium japonicum* excretan fitohormonas como ácido indol acético (AIA), giberelinas (GA3) y zeatina (Z), además producen cambios morfológicos y fisiológicos en tejidos de semillas logrando germinaciones tempranas (Cassan et ál., 2009).

A nivel comercial en países como Brasil, Argentina y Uruguay, se ha demostrado que bacterias como *B. japonicum*, pueden integrarse de forma complementaria al uso de fertilizantes sintéticos en programas de manejo en finca, así como suplir al 100 % la fertilización en fincas de formato orgánico y llegar a sustituir el uso de fertilizantes sintéticos en cultivos como arroz, soya, maíz y pastos (Torres et ál., 2022). De tal manera que las BPCV se vislumbran como una herramienta útil en la agricultura de cara a la crisis de los fertilizantes sintéticos. No obstante, a nivel nacional se requiere investigar y validar la tecnología en diversos contextos, cultivos y condiciones ambientales. Generar tecnología que sustituya el uso de fertilizantes sintéticos es especialmente deseable en la producción de maíz, ya que la situación mundial actual demanda incrementar el área de producción de granos básicos, ya sea para consumo humano y/o animal, con el objetivo de promover la seguridad alimentaria, la cual debe involucrarse en

este tema tecnológico ya que aumentos en los precios de agroinsumos y en general de los alimentos harán que muchas personas no puedan tener acceso a una alimentación adecuada, nutritiva y orgánica (Chacón, 2022).

Con base en lo anterior, esta investigación propone evaluar las capacidades de promoción de crecimiento de las BPCV: *Pseudomonas fluorescens* y *A. brasilense* mediante la determinación de su efecto en la germinación de semillas de maíz y aporte de nitrógeno (N) y fósforo (P) a plantas del mismo cultivo, para determinar su potencial para sustituir (parcial o totalmente) el uso de fertilizantes sintéticos, favoreciendo la salud del suelo y estimulando el crecimiento natural del cultivo.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de promoción de crecimiento de las BPCV *P. fluorescens* y *A. brasilense* en maíz en condiciones *in vitro* y en campo.

Objetivos específicos

Determinar el efecto de *P. fluorescens* y *A. brasilense* sobre la germinación y vigor de semillas de maíz en condiciones *in vitro*.

Establecer el aporte de nitrógeno y fósforo de *P. fluorescens* y *A. brasilense* a plantas de maíz en condiciones de campo, para determinar su potencial en la sustitución (parcial o total) del uso de fertilizantes sintéticos.

Cuantificar el efecto global de promoción de crecimiento de *P. fluorescens* y *A. brasilense* sobre parámetros morfológicos de plantas de maíz.

Capítulo II: Marco Teórico

El cultivo de maíz

Se considera que el maíz es de origen Mesoamericano y al igual que muchas plantas comestibles de hoy en día, pasó por un proceso de adaptación para su posterior consumo (Carrillo, 2009). El maíz es un cereal que contiene una alta variabilidad genética debido a que no se autopoliniza dando así variedades de muchos colores, formas de dientes, sabores y usos distintos según el tipo de maíz cosechado. Esta variabilidad le ha otorgado la característica de ser cosmopolita en todo el continente americano ya que se ha adaptado a diferentes suelos, climas y alturas, por eso su importancia alimentaria (Carrillo, 2009).

Por otro lado, el maíz como cultivo llegó a ser base alimentaria de los pueblos que se iban formando en el continente americano, por lo que llegó a ser un símbolo cultural y tradicional en las diferentes tribus americanas (Carrillo, 2009). Sin embargo, este cultivo siempre fue la base de la actividad agrícola por lo que hoy en día se sigue considerando el cultivo que mantiene las comunidades indígenas y otros pueblos rurales del continente unidos (Carrillo, 2009).

Actualmente el maíz se considera como el segundo cultivo agrícola en importancia alimentaria ya que se utiliza para consumo humano, consumo animal, principalmente rumiantes y es materia prima de gran cantidad de productos industriales: proteínas, dextrosa, etanol, jarabe de alta fructuosa, aceites de uso doméstico, almidón, glucosa, colorante, maltodextrinas y sorbitol por mencionar algunos (Santana., et ál 2018). El cultivo aumentó su producción en un 18,11 % para el 2013 y se pronosticó que para el 2018 se necesitarían 899.591.768 toneladas de maíz con uso en producción de etanol, consumo humano y animal, comercio de granos y oleaginosas (Santana et ál., 2018).

El maíz es una gramínea perteneciente a la familia Poaceae, su nombre científico es *Zea mays* L, monocotiledónea y hermafrodita, beneficiando de esta manera la polinización cruzada (Deras, 2018). Es un cultivo que se adapta muy bien a distintos tipos de suelos, climas y alturas, pero de forma general se da bien en suelos francos, con buen drenaje, profundos y que retengan agua, el pH edáfico óptimo para el cultivo puede oscilar entre los 5,5 y 7,8. Es un producto de alto valor proteico, de ahí su importancia para la alimentación (Deras, 2018).

Es un cultivo anual, aunque si hay disponibilidad de agua puede darse más veces en el año. Se siembra de forma manual en espeque colocando dos semillas por hueco, manteniendo una distancia entre surcos de 0,8 a 0,9 m y de 0,4 a 0,5 metros entre posturas. Las plantas pueden variar en alturas, pero pueden alcanzar hasta los 5 metros, es un cultivo muy bueno para rotar el terreno e inclusive para que sus rastrojos se descompongan como materia orgánica y liberen nutrientes al suelo (Deras, 2018).

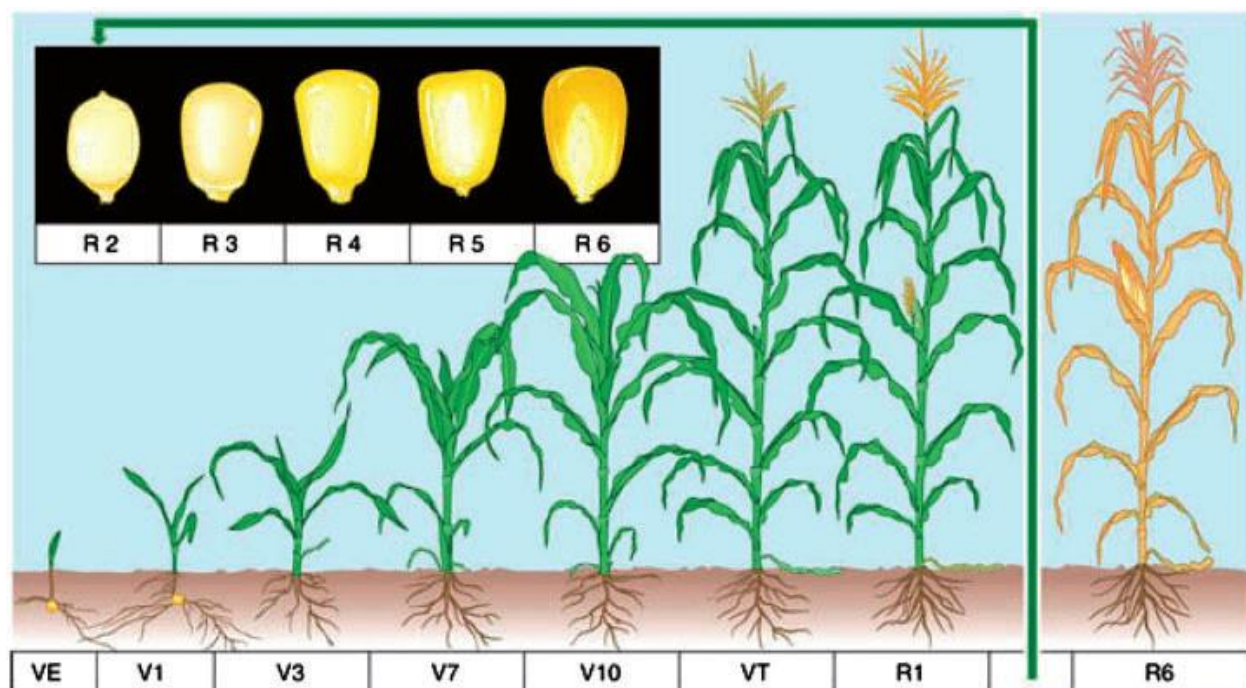
El maíz presenta una fenología que se puede dividir en dos etapas: a) etapa vegetativa y b) etapa reproductiva (Figura 1). La etapa vegetativa empieza con la germinación de la semilla y desarrollo de la plántula, la absorción de nutrientes y energía serán destinados a la formación de hojas, tallo y raíces (Chávez, 2018). Esta etapa es denominada VE. A partir de VE se inician varias fases representadas con V y que siguen la secuencia de 1, 2 y 3, indicando el número de hojas que debe la planta presentar. VN representa la hoja antes de que emerja la panoja o flor masculina del maíz y esta última se representa como VT (Chávez, 2018).

La segunda etapa es la reproductiva en donde nuevamente los nutrientes y energía serán absorbidos y canalizados para el desarrollo de la mazorca (flor femenina) y maduración del grano, iniciando así el proceso de polinización, a esta parte de la fenología se le denomina R1 (Chávez, 2018). Una vez que la planta alcanza el tamaño necesario el grano llega a poseer un 85 % de humedad, esta etapa fenológica es la R2. Para R3 el grano empieza a acumular almidón por lo que en su interior se

almacena un fluido lechoso, a esta etapa se le denomina “grano lechoso”. En R4 continua la acumulación de almidón, pero su fluidez disminuye y se convierte en un líquido más espeso por lo que al grano se le llama “grano pastoso”. En la etapa R5 inicia el proceso natural de secado del grano la cual se da de forma externa y su apariencia es como en forma de dientes humanos por lo que al grano se le llama “grano dentado”. Finalmente, para R6 ya los granos alcanzaron una dureza indicando que llegaron a su peso seco esperado y por lo tanto a la etapa final de maduración. A los granos en esta etapa se les denomina “granos maduros”. Posteriormente, se da la senescencia de la planta (Chávez, 2018).

Figura 1

Fenología del maíz.



Nota: Tomado de Zhao et ál. (2012).

Fertilización del cultivo de maíz

El maíz es un cultivo que requiere una fertilización suficiente para crecer rápido y brindar una alta producción, al ser altamente demandante de nutrientes, se debe abastecer lo necesario. Primero,

debe realizarse un análisis químico de suelo para ver las concentraciones y disponibilidad de los nutrientes ya existentes y con base en esto preparar un plan de fertilización adecuado para obtener un buen rendimiento. La forma más conveniente de fertilizar el maíz es incorporándolo de manera tal que interactúe con la humedad y se cubra con la tierra para evitar evaporación (Deras, 2018).

Dentro de los elementos más importantes para el desarrollo del maíz está el nitrógeno (N). Este es el elemento más importante para el crecimiento del maíz, ayuda a mantener la capacidad fotosintética y la acumulación de biomasa para un mejor rendimiento (Castellanos et ál., 2017). La eficiencia de uso de N puede ser baja debido a que es un nutriente dinámico y sufre numerosos cambios como pérdidas, ganancias y transformaciones (Barbieri et ál., 2018).

Las moléculas como el amonio (NH_4^+) y el nitrato (NO_3^-) son las formas inorgánicas de N que absorben las plantas durante su crecimiento. En el suelo la forma predominante es $\text{NO}_3\text{-N}$ y es afectado por la lixiviación porque no son moléculas que logren unirse fuertemente a las partículas de suelo, aunque también el $\text{NH}_4\text{-N}$ puede lixivarse, logra más uniones con partículas del suelo (Verhulst et ál., 2015).

El fósforo (P) es el macronutriente de mayor importancia después del N (Saravanan et ál., 2020). El P participa en procesos esenciales como la fotosíntesis, síntesis de macromoléculas y transferencia de energía. Además, el P promueve el desarrollo radicular, facilita la formación de flores, favorece la producción de frutos de calidad e incluso puede mejorar la resistencia de la planta ante enfermedades y condiciones ambientales de estrés (Khan et ál., 2013). A su vez, el P es un componente estructural de la membrana, participa en el metabolismo de carbohidratos y en la transducción de señales (Kour et ál., 2021).

Se estima que entre el 90-95 % del P presente en el suelo se encuentra en forma insoluble, dicha forma no puede ser aprovechada directamente por las plantas (Ghorai et ál., 2022). Por ejemplo, en las

zonas tropicales, el P es el nutriente que más limita la producción agrícola debido a la alta proporción fijada en suelo (Gordon et ál., 2016).

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) son microorganismos que interactúan con las plantas beneficiando los cultivos si se les brinda las condiciones y manejo adecuado (Benjumeda, 2017). Este tipo de relaciones pueden darse en las partes aéreas (tallo, hojas, flores y frutos), a las cuales se denomina filosfera; en la endosfera (conjunto de xilema y floema) y rizosfera (conjunto de raíces) (Benjumeda, 2017).

Específicamente en la rizosfera, la riqueza bacteriana es alta, principalmente en los dos milímetros de suelo que circundan la raíz, aquí es posible encontrar hongos, levaduras, bacterias y protozoos (Benjumeda, 2017). Por tanto, la actividad biológica y química es alta debido a los exudados de las raíces (ácidos orgánicos, aminoácidos, metabolitos secundarios, entre otros) que son fuentes de carbono. Los beneficios para la planta por parte de esta simbiosis se mencionan a continuación; no obstante, es importante mencionar que la actividad conjunta con los microorganismos forma un complejo sistema de alimentación y estimulación vegetal (Benjumeda, 2017).

Mecanismos de acción de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las BPCV tienen modos de acción extracelulares (ocurren sobre o alrededor de la rizosfera) o intracelulares (por ejemplo, los ocurridos dentro del sistema de transporte de nutrientes de la planta desde la raíz), y según el modo de acción se dividen en mecanismos directos o indirectos (Benjumeda, 2017). Dentro de los mecanismos directos están la solubilización del P, K y otros elementos, así como la fijación de N atmosférico. Con base en lo anterior, es posible establecer que los microorganismos de la rizosfera pueden mejorar la fertilidad del suelo, además, cumplen un rol fundamental en el ciclo de nutrientes, el cual es un proceso de vital importancia para el desarrollo de la vida (Yadav et ál., 2021).

Las BPCV son capaces de aumentar el rendimiento de los cultivos y aligerar los efectos negativos que produce el uso excesivo de agroquímicos (Yadav et ál., 2021). Por estas razones, los inóculos microbianos han sido sugeridos como una alternativa a los fertilizantes convencionales (Yadav et ál., 2021).

La fijación biológica de N realizada por bacterias es una alternativa viable, económica y ambientalmente amigable, para suplir la inclusión de fuentes de nutrientes de origen sintético. Las BPCV fijadoras de N, también llamadas diazotróficas se han encontrado en el suelo de diferentes regiones del mundo y se ha demostrado que tienen una alta especificidad con raíces de gramíneas (Garrido et ál., 2010). Estas bacterias se asocian a las raíces de las plantas y además de fijar N tienen la capacidad de producir fitohormonas (auxinas, giberelinas, citoquininas) y otras sustancias orgánicas de importancia vegetal, traduciéndose en un mayor desarrollo de la planta y reduciendo de esta manera la necesidad del uso de fertilizantes (Domínguez et ál., 2021).

La fijación biológica de N (FBN) se define como la conversión de nitrógeno atmosférico (N_2) a NH_4^+ compuesto químico del N que puede ser utilizado por la planta (Molina et ál., 2015). La transformación de N_2 a N biodisponible se consigue mediante la enzima denominada nitrogenasa, la cual puede ser producida por ciertos géneros bacterianos que se asocian a plantas y en bacterias de vida libre (Molina et ál., 2015).

Actualmente existen investigaciones sobre el uso de bacterias diazotróficas, las cuales constituyen la base de los llamados biofertilizantes, que son una alternativa tecnológica multifuncional, pues estimulan el crecimiento vegetal de la planta y el rendimiento del cultivo mediante diversos mecanismos (Acosta et ál., 2018). Bacterias como *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* sp. y *Rhizobium* sp. están siendo ampliamente estudiadas para sacar el máximo provecho de sus atribuciones naturales en lo que a FBN se refiere.

Azospirillum brasilense es una bacteria que destaca entre los microorganismos más estudiados y utilizados comercialmente en el mundo como biofertilizante. Los microorganismos pertenecientes a este género favorecen el desarrollo de raíz, incrementan el peso de brotes y rendimiento del grano de maíz (Ayvar et ál., 2020). Esto porque además de la capacidad de fijar N, esta especie produce sideróforos (solución quelante de hierro que secuestra el ion Fe^{3+} insoluble y lo convierten en Fe^{2+} soluble para las plantas), mejorando la nutrición mineral, produce indoles (ácido indol-3-acético, fitohormona relacionada con elongación y división celular vegetal) que promueven el crecimiento, y aumentan la concentración de clorofila en el follaje, incrementando el rendimiento (Lovaisa et ál., 2018). Por ejemplo, Maidana et ál. (2020) realizaron un trabajo de investigación basado en la inoculación de *A. brasilense* en maíz y determinaron un aumento en el rendimiento de 3.976 kg por hectárea en el área testigo contra 7.592 kg por hectárea en el área donde se inocularon dos litros de microorganismos en una concentración de 1×10^9 UFC mL^{-1} en 100 kg de semilla de maíz, dando como resultado final un incremento del 80 %.

En el caso del P, es un elemento importante para el desarrollo inicial de la planta, la incorporación de microorganismos solubilizadores de P son empleados en la agricultura con el objetivo de aumentar la disponibilidad del mismo y otros nutrientes esenciales para las plantas (Yadav et ál., 2021).

Entre los diversos mecanismos empleados por las BPCV solubilizadoras de P, la secreción de ácidos orgánicos ha sido el más aceptado como estrategia principal de la solubilización de P de baja disponibilidad (Khan., et ál 2013). Algunos de los ácidos orgánicos que producen las BPCV son: ácido aspártico, cítrico, láctico, oxálico, glucónico, entre otros (Kour et ál., 2021). Estos ácidos actúan sobre el P inorgánico insoluble y disminuyen el pH del suelo facilitando su disponibilidad para ser absorbido por las plantas. Estas bacterias son capaces de secuestrar los iones metálicos (calcio, hierro, aluminio) de los fosfatos y de esta forma liberar el P no disponible para las plantas (Corrales et ál., 2014).

Por otro lado, el fosfato orgánico es un componente de gran relevancia en el ciclo del P y su mineralización posibilita que el P orgánico insoluble pueda ser aprovechado por la planta (Ghorai et ál., 2022). Este proceso está mediado por la enzima fosfatasa, la cual es producida por microorganismos en ciertas condiciones como la presencia de materia orgánica y bajos niveles de P (Corrales et ál., 2014). La fosfatasa actúa defosforilando los enlaces fosfoéster o fosfoanhídrido de los sustratos orgánicos presentes en el suelo (Ghorai et ál., 2022).

Entre las fosfatasas se encuentra un subgrupo de enzimas que también son capaces de aumentar la disponibilidad del P. Estas enzimas se denominan fitasas, las cuales son en su mayoría fosfatasas ácidas de alto peso molecular que ejercen su actividad sobre el ácido fítico (Kour et ál., 2021). Cabe destacar que las fitasas han sido mencionadas como moléculas de interés en el área biotecnológica debido a su potencial en el mejoramiento de cultivos (Corrales et ál., 2014).

Un gran número de diferentes especies de bacterias presentes en el suelo, sobre todo las que se encuentran en el área circundante a la rizosfera, son muy eficientes para transformar el P orgánico e inorgánico insoluble a formas solubles accesibles para las plantas. Algunos de los géneros más representativos son *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, entre otros (Zhang et ál., 2020).

Pseudomonas fluorescens es una bacteria rizosférica que promueve el crecimiento mediante muchos mecanismos, entre ellos la solubilización del P fijado del suelo, promoviendo así el crecimiento vegetal (Álvarez et ál., 2020). Su mecanismo de solubilización se da por la secreción de ácidos orgánicos e inorgánicos, así como de enzimas fosfatasas que facilitan la conversión del P insoluble en formas más accesibles para las plantas en general (Domínguez et ál., 2020). Yadav et ál. (2016), evaluaron la capacidad de solubilización de P de *P. fluorescens* determinando que la cepa posee la facultad de solubilizar P a partir de un medio que contiene fosfato tricálcico. En otra investigación, Park et ál. (2009) examinaron los mecanismos que emplea *P. fluorescens* para solubilizar P. Los resultados mostraron que

existía una correlación entre la producción de ácidos orgánicos y la solubilización de P insoluble. Además, por medio del análisis de cromatografía líquida de alta resolución, lograron determinar que los ácidos producidos por la bacteria eran principalmente glucónico y tartárico.

Los microorganismos y el papel de las fitohormonas

Las fitohormonas son compuestos señalizadores de bajo peso molecular que regulan el crecimiento, desarrollo y respuestas a procesos y estrés en plantas mediante rutas de señalización específicas. Las principales clases de fitohormonas incluyen auxinas (IAA) que controlan elongación celular y formación de raíces; giberelinas que promueven la germinación y el crecimiento entre nudos; las citocininas regulan la división y diferenciación celular, ácido abscísico (ABA) implicado en respuestas al estrés hídrico y cierre estomático; el etileno modula la maduración y senescencia y las llamadas hormonas “jóvenes” implicadas en la defensa de la planta como las brasinoesteroides, jasmonatos y ácido salicílico (Taiz y Zeiger, 2015).

Diversos microorganismos de la rizosfera sintetizan fitohormonas influyendo directamente en la fisiología vegetal. Bacterias como las pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum* y *Rhizobium* pueden producir IAA, giberelinas, citocininas o enzimas que modulan el etileno (ACC desaminasa) favoreciendo enraizamiento y crecimiento (Vessey, 2003).

Aplicaciones agronómicas aprovechan inoculantes microbianos productores de fitohormonas para bioestimulación, manejo integrado de estrés abiótico y aumento de productividad, aunque la eficiencia depende del contexto edáfico, genotipo vegetal y compatibilidad microbiana, por lo que ensayos como este son necesarios para comprender aún más su uso en agricultura (Santoyo et ál., 2016).

El futuro de una fertilización sostenible

Aunque en Costa Rica está iniciando la exploración, uso y validación de biofertilizantes a base de BPCV en cultivos, esta práctica se ha ido implementando ampliamente a nivel mundial. Las BPCV han demostrado a través de los años sus diversos efectos sobre cultivos aumentando la productividad utilizándolos solos y también acompañados de dosis mínimas de fertilizantes sintéticos (Omar et ál., 2015). Los biofertilizantes son una tecnología prometedora para transformar el P de baja disponibilidad en formas asimilables por las plantas para solventar los problemas de deficiencia de P en el suelo y cubrir la demanda de este nutriente en las plantaciones agrícolas, o bien tomar el N atmosférico y transformarlo en N asimilable para las plantas y así disminuir la carga de N sintético de los suelos agrícolas.

Los biofertilizantes no solamente ayudarán a mejorar el rendimiento de los cultivos, si no también poseen la capacidad de restaurar la fertilidad del suelo y disminuir el uso de agroquímicos, disminuyendo la contaminación. Aprovechar las características de la microbiota rizosférica como alternativa a los fertilizantes sintéticos, de los que depende fuertemente la agricultura, puede resultar ser una estrategia efectiva tanto en el aspecto ecológico como en el económico (Kalay, 2019; Kour et ál., 2021).

Capítulo III: Metodología

Localización de los ensayos

La investigación se realizó en dos fases; una de laboratorio mediante un ensayo *in vitro* y otra en campo abierto. La fase *in vitro* se desarrolló en el Laboratorio de Recursos Fitogenéticos de la Escuela de Ciencias Agrarias (ECA) de la Universidad Nacional (UNA). La fase de campo se realizó en la Finca Experimental Santa Lucía, también perteneciente a la ECA-UNA, la cual está ubicada en Santa Lucía de Barva en Heredia, con coordenadas: 10° 01' 20" latitud norte y 84° 06' 45" longitud oeste (Escuela de Ciencias Agrarias, s.f.).

Específicamente el trabajo en campo se realizó en la parcela localizada al costado norte del invernadero (zona blanca) (Figura 2). Las condiciones ambientales se generalizaron para toda la finca de 32 hectáreas, las cuales son: altura de 1200 msnm, temperatura promedio de 21,5 °C, precipitación anual promedio de 2371 mm, humedad relativa promedio del 78 % y suelo con características volcánico-pedregoso (Escuela de Ciencias Agrarias, s.f.).

Figura 2

Parcela para el ensayo de campo.



Nota: Elaboración propia, 2023.

Análisis químico de suelo

Se realizó un análisis químico al suelo de la parcela para determinar los valores iniciales de las propiedades del suelo previo al establecimiento del ensayo (anexo 15). Para lo anterior se realizó un muestreo en zigzag a manera de cubrir el área total de la parcela, se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 20 cm en 10 puntos, al final del recorrido se vaciaron las muestras en una superficie limpia, se mezclaron y luego se cuartearon para tomar uno de los cuartos, este cuarto constituyó la muestra que se envió al laboratorio del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica (UCR).

Cepas bacterianas por evaluar

Se evaluaron las cepas bacterianas *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense* pertenecientes a la empresa Simbiosis Biotecnológica Laboratorios S.R.L. Las cepas se mantuvieron en agar F para *P. fluorescens* y agar NFB para *A. brasilense*. Para establecer los ensayos se prepararon fermentaciones de un litro en versiones líquidas de los medios de cultivos mencionados, cada fermentación se inoculó con una asada según correspondiera. Luego de cuatro días de fermentación a temperatura ambiente, se obtuvo una alícuota para medir su concentración microbiana por medio de plaqueo y se determinaron las concentraciones finales en unidades formadoras de colonias (UFC) por cada mililitro de fermento. Las formulaciones que se aplicaron en el ensayo de campo se ajustaron a concentraciones de 10^6 UFC/ml tanto para *P. fluorescens* como para *A. brasilense*.

Semillas de maíz

Se utilizó la variedad EJN2 (maíz amarillo) libre de plaguicidas producida por la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit de la UCR. Esta variedad es un material genético desarrollado en la década de los años 80 por funcionarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería para la región Chorotega. Presenta características de adaptación a condiciones de alta temperatura y humedad,

tolerancia a las plagas y enfermedades, y buenas características para su uso en forraje, ensilaje y producción de elote (Bonilla, 2019).

Ensayo *in vitro* para evaluación de germinación y vigor de semillas de maíz

Las semillas de maíz se desinfectaron por sumersión en una solución de hipoclorito de sodio (0,024 %) por un periodo de dos minutos, posteriormente fueron sometidas a dos lavados con agua destilada estéril. Seguidamente, se colocaron en platos Petri estériles conteniendo en la base de la placa un papel toalla para absorber el exceso de agua de lavado, dos minutos después fueron sumergidas en las suspensiones bacterianas de acuerdo con los tratamientos descritos a continuación. Se inocularon 150 semillas por cada tratamiento. Se establecieron tres repeticiones para cada tratamiento.

Los tratamientos evaluados fueron:

Tratamiento 1 (T1): Suspensión de *P. fluorescens*.

Tratamiento 2 (T2): Suspensión de *A. brasilense*.

Tratamiento 3 (T3): Suspensión de *P. fluorescens* y *A. brasilense* en partes iguales.

Tratamiento 4 (T4): Testigo positivo, germinador químico comercial. La dosis se calculó de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Tratamiento 5 (T5): Testigo absoluto, agua destilada estéril.

Las semillas permanecieron en las suspensiones por 24 horas a temperatura ambiente; 12 horas de oscuridad y 12 horas luz según el protocolo de International Seed Testing Association (ISTA) (2007). Transcurrido este tiempo, se retiraron las semillas de las suspensiones, se escurrieron en papel toalla por dos minutos y posteriormente se colocaron en bandejas con papel de germinación previamente humedecido con agua destilada estéril. Las bandejas contaban con orificios, junto a los cuales se colocaron las semillas con el punto de salida del embrión en dirección a los orificios, para que las raíces

salieran por dichos orificios. Las semillas se cubrieron con papel de germinación húmedo. Se colocaron 50 semillas por bandeja, cada bandeja constituyó una repetición de cada tratamiento. Las bandejas se colocaron en la cámara bioclimática del laboratorio de Recursos Fitogenéticos a 25 °C y humedad constante (ISTA, 2007).

Variables de respuesta

A los siete días de incubación se realizaron las evaluaciones para determinar el porcentaje de germinación y el vigor de las semillas. Primeramente, se contabilizaron las plántulas anormales (que no germinaron o que no se desarrollaron bien) y las plántulas normales; es decir, que presentaron raíz y tallo, y superaron en longitud al tamaño de la semilla. A estas se les midió la longitud de la plúmula y la radícula con una regla.

Análisis estadístico

Los datos de germinación se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con distribución binomial y enlace logit, evaluando el efecto del tratamiento mediante un análisis de desviación. Las comparaciones múltiples se realizaron utilizando medias marginales estimadas con ajuste de Tukey. Los cálculos estadísticos y gráficos se realizaron mediante el software RStudio (R Core Team, 2025).

Las variables del ensayo *in vitro* (longitud de la raíz primaria, número de raíces, longitud de la plúmula) fueron sometidos a la verificación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza mediante ANOVA o Kruskal-Wallis según el cumplimiento de los supuestos. El efecto de los tratamientos se determinó mediante las pruebas post hoc de Tukey o Dunn, según correspondiese. Se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

Ensayo de promoción del crecimiento en campo

El terreno seleccionado para el ensayo de campo tenía un área 224 m² y ha sido cultivado con hortalizas manejadas de forma convencional. En el terreno se trazaron 20 surcos de 14 m de largo y 0,8 m de ancho, equivalente a 11,2 m² cada uno. El suelo se desinfectó con un tratamiento químico a base de peróxido de hidrógeno al 15% y cal viva al 85% para reducir la carga microbiana inicial del suelo y disminuir una posible interferencia con los microorganismos a evaluar. En total se sembraron tres semillas por esqueje (760 semillas en total) a 0,4 m de distancia entre una planta y otra, a una distancia de 0,8 m entre surcos.

Mantenimiento del cultivo en campo

El control de arvenses se realizó de forma manual cada ocho días durante cuatro semanas para evitar un incremento en la presencia de estas. El control de plagas se realizó de forma química para evitar el uso de agentes de control biológico que pudieran tener algún efecto que se confundiera con el de los tratamientos, provocando falsos positivos. El riego fue manual, la finca no contaba con un sistema de riego para bastecer el sector de forma apropiada, por lo que el riego se realizó con manguera con la siguiente frecuencia: i) primeras cuatro semanas de siembra: tres veces por semana más las lluvias de la época lluviosa, ii) segundas cuatro semanas: cuatro veces por semana, las lluvias típicas disminuían, iii) terceras cuatro semanas: dos veces por semana y iv) últimas cuatro semanas: sin riego alguno, ya el ensayo estaba en época seca y secando de forma natural.

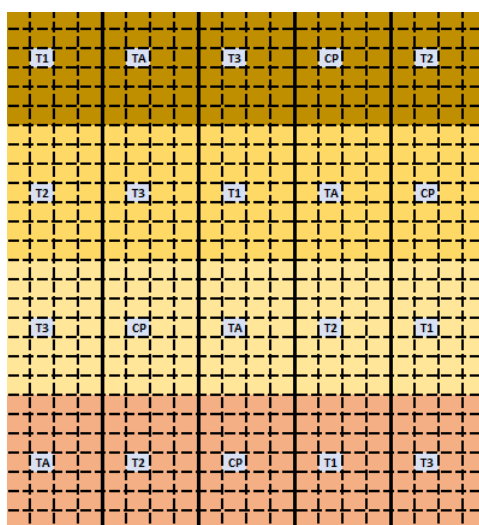
Diseño experimental

Se estableció un diseño completamente al azar (Figura 3), en el cual las unidades experimentales estuvieron conformadas por parcelas de 8,96 m², con 28 plantas de maíz cada una. Los tratamientos, los cuales se describen a continuación, fueron asignados a las unidades experimentales al azar y se

establecieron cuatro repeticiones por tratamiento, por lo tanto, el ensayo contó con un total de 20 unidades experimentales.

Figura 3

Distribución de los tratamientos en campo para la evaluación del efecto de las BPCV sobre las variables de respuesta medidas en plantas de maíz.



Nota: Elaboración propia, 2022.

Evaluación de tratamientos

Los tratamientos para evaluar fueron los siguientes:

Tratamiento 1 (T1): Suspensión de *P. fluorescens*.

Tratamiento 2 (T2): Suspensión de *A. brasilense*.

Tratamiento 3 (T3): Suspensión de *P. fluorescens* y *A. brasilense* en partes iguales.

Tratamiento 4 (T4): Testigo positivo, uso de fertilizante sintético granulado 18-46-0.

Tratamiento 5 (T5): Testigo absoluto, agua de riego.

La aplicación para cada tratamiento se realizó con una bomba de espalda manual marca Carpi de 18 L de capacidad. Para cada tratamiento la bomba fue lavada y enjuagada adecuadamente para evitar contaminación cruzada. Para cada tratamiento se agregaron 350 ml de la suspensión bacteriana correspondiente en la bomba y se completó el volumen con agua. Para T3 se agregaron 350 ml a la bomba de *P. fluorescens* y 350 ml de *A. brasilense*.

Se aplicaron los tratamientos sobre las semillas a los 0 días (el día de la siembra, las semillas no fueron previamente sumergidas en los inoculantes), posteriormente a los 15 y 30 días después de siembra por el método de “drench”.

Variables de respuesta

A los 65 días después de siembra (DDS) se cosecharon cinco plantas por cada tratamiento, se extrajeron desde la raíz con ayuda de un palín y una pala. Se trató de sacar la raíz lo más completa posible, evitando cortes alrededor y a profundidad. Se evaluaron las siguientes variables:

- Longitud de la planta: medición con cinta métrica a partir de la punta de la hoja más larga a la punta de la raíz más larga.
- Longitud de la raíz: medición con cinta métrica a partir de la punta de la raíz más larga a la parte de inicio del tallo.
- Peso fresco de las raíces: sin tierra ni partes de otras plantas que alteraran el resultado final mediante balanza.
- Peso seco de las raíces: sin tierra ni partes de otras plantas que alteraran el resultado final mediante balanza.
- Peso fresco del tallo: sin tierra ni partes de otras plantas que alteraran el resultado final mediante balanza.
- Peso seco del tallo: sin tierra ni partes de otras plantas que alteraran el resultado final balanza.

- Análisis foliar: se determinó el contenido de fósforo y nitrógeno presente en el tejido vegetal.

Para determinar el peso seco, las plantas se colocaron en un horno de convección del Laboratorio de Docencia de Fitopatología de la ECA-UNA. las muestras fueron colocadas en bolsas de papel craft por 48 horas a una temperatura constante de 60 °C. Luego las muestras fueron pesadas una por una en una balanza.

Para el análisis foliar, se tomó la hoja durante la etapa fenológica V6-V8, se muestreó desde la lígula la segunda hoja y antes de la espiga, se tomaron 16 hojas por tratamiento.

Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos en campo fueron sometidos a la verificación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza mediante ANDEVA o Kruskal-Wallis según el cumplimiento de los supuestos. El efecto de los tratamientos se determinó mediante las pruebas post hoc de Tukey o Dunn, según correspondiese. Se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

Capítulo IV: Resultados y discusión

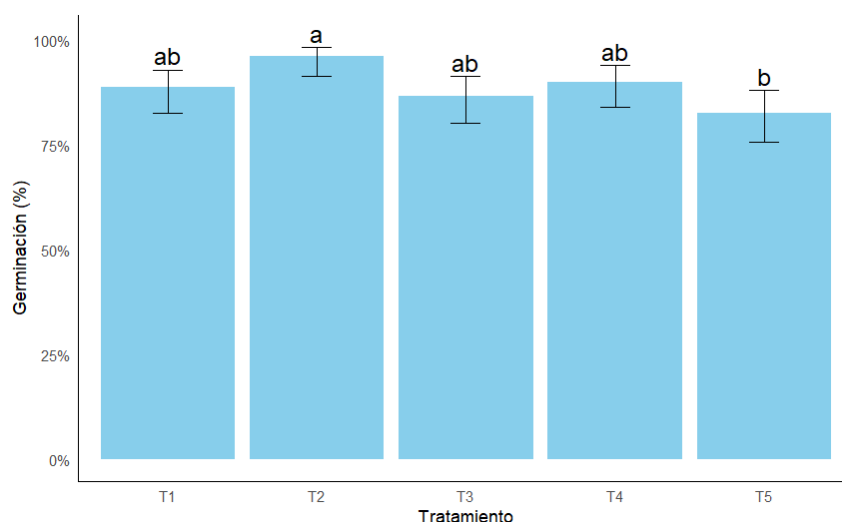
Evaluación de germinación y vigor de semillas de maíz

Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación registrado fue del 82,7 % al 96 %, siendo el tratamiento 2 (*A. brasilense*) el que presentó el mayor porcentaje y el tratamiento 5 (testigo absoluto) presentó el menor porcentaje de germinación (Figura 4). El análisis estadístico evidenció que no hubo diferencias significativas entre tratamientos excepto por el T5 en el cual la germinación sí presentó diferencias significativas ($p = 0.0052$) con respecto a los demás tratamientos. Los resultados confirmaron que la inoculación con BPCV favoreció la activación metabólica de las semillas, este efecto fue similar al producido por el producto comercial (T4).

Figura 4

Porcentaje de germinación promedio de semillas de maíz de acuerdo con los tratamientos en ensayo *in vitro*. T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

Durante los estadíos tempranos de la germinación existe una activación metabólica intensa del embrión, regulada por la disponibilidad de agua, hidratación controlada, disponibilidad de oxígeno, respiración celular y señales hormonales que son procesos clave que determinan la protrusión de la radícula y el desarrollo de la plúmula (Gey Wei, 2023). En este contexto, es probable que la espermósfera actuara como un microambiente altamente dinámico donde los exudados de la semilla facilitaron el establecimiento de microorganismos funcionales como las BPCV evaluadas (Gey Wei, 2023).

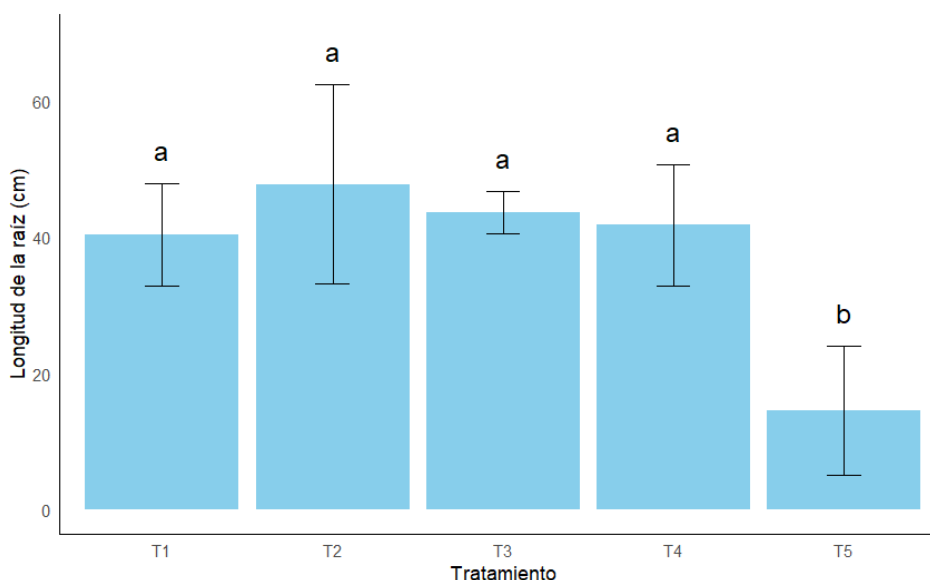
Los resultados refuerzan el papel de los bioinoculantes a base de BPCV como herramientas clave en sistemas de producción agrícola sostenible. Esto debido a que la germinación representa una etapa determinante en el establecimiento del cultivo, ya que condiciona el vigor inicial, la arquitectura radicular temprana y la capacidad de la plántula para explorar el sustrato y absorber nutrientes (Chávez et ál., 2023). En sistemas agrícolas sostenibles, el uso de BPCV tiene el potencial de consolidarse como una estrategia eficaz para modular estos procesos fisiológicos desde las etapas iniciales del desarrollo vegetal como la germinación (Chabbi et ál., 2024; Khoso et ál., 2024).

Longitud de la raíz primaria

Los análisis de resultados evidenciaron que todos los tratamientos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto al testigo absoluto (T5). El T2 (*A. brasilense*) indujo la mayor elongación de la raíz primaria ($47,75 \pm 14,62$ cm), superando incluso al T4 (tratamiento químico) ($41,79 \pm 8,88$ cm) (Figura 5).

Figura 5

Longitud promedio de la raíz de semillas de maíz en ensayo *in vitro* de acuerdo con los tratamientos: T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

Este comportamiento concuerda con estudios recientes que demuestran que especies del género *Azospirillum* sp. promueven el crecimiento radicular mediante la producción de fitohormonas, especialmente la auxina AIA que induce la formación de células epidérmicas como los pelos radicales (Figura 6) y las giberelinas que fomentan la elongación de las raíces, así como por su influencia en rutas metabólicas asociadas con la absorción de nutrientes (García et ál., 2013). Esta respuesta morfofisiológica incrementa el área efectiva de absorción y confiere ventajas adaptativas tempranas, particularmente relevantes bajo esquemas de agricultura ecológica donde la eficiencia biológica del sistema radicular es crítica (Khoso et ál., 2024). De manera similar, Barbosa, et ál. (2022), determinaron que *A. brasilense* causó efectos significativos en crecimiento de raíces, pelos absorbentes y otros

parámetros radiculares mejorando la adquisición de agua y nutrientes, y otorgaron estas respuestas a la síntesis de fitohormonas.

Figura 6

Pelos radicales presentes en las raíces germinadas de las semillas expuestas a la bacteria *A. brasilense* (T2).



Nota: Elaboración propia, 2023.

La co-inoculación de *A. brasilense* y *P. fluorescens* (T3) mostró un efecto positivo, aunque inferior al esperado si se considerara una respuesta estrictamente sinérgica. Este resultado refuerza la evidencia de que las interacciones microbianas no siempre generan efectos aditivos y que su eficacia depende de la compatibilidad funcional entre cepas, de la proporción de inoculación y del contexto fisiológico de la planta hospedera (Chabbi et ál., 2024). Estudios recientes han señalado que, aunque los consorcios microbianos pueden potenciar respuestas fisiológicas específicas, también pueden presentarse interacciones competitivas o redundantes que atenúan el efecto esperado, especialmente en las primeras fases del desarrollo vegetal (Khosro et ál., 2024).

Por otro lado, gran variedad de BPCV producen metabolitos secundarios que interfieren en la ruta de producción de auxina, por ejemplo, Chu, et ál. (2020), mencionan el 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG) y el óxido nítrico (NO). *A. brasilense* puede producir NO como metabolito secundario durante la

colonización de la raíz primaria que funciona como control de la auxina alterando su ruta de producción, lo anterior puede explicar el por qué la co-inoculación no fue tan efectiva como se esperaba.

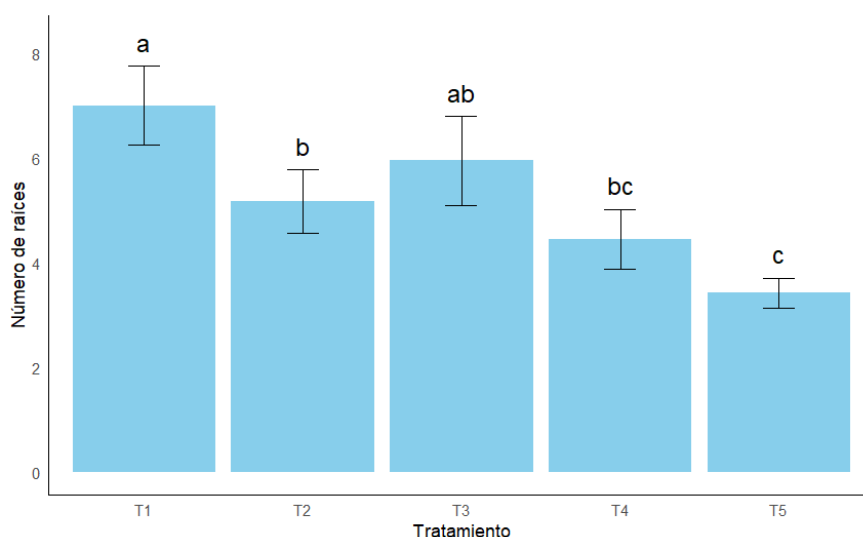
P. fluorescens (T1), se caracteriza por su capacidad de producir fitohormonas como la AIA y la ACC (Molina et ál., 2015). Sin embargo, en el presente ensayo no presentó diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos, se mantuvo en rango menor con respecto al T4 (tratamiento químico), pero puede considerarse una bacteria que interviene positivamente en la elongación de raíz.

Número de raíces

En relación con el número de raíces (Figura 7), todos los tratamientos superaron significativamente ($p < 0,05$) al testigo absoluto (T5). El T1 (*P. fluorescens*) fue el más eficiente en la inducción de ramificación radicular ($7,00 \pm 0,75$), lo cual se puede atribuir a su capacidad para producir AIA y ACC, hormonas estrechamente relacionadas con la diferenciación celular y la formación de raíces laterales (Molina et ál., 2015).

Figura 7

Número promedio de raíces de semillas de maíz en ensayo *in vitro* de acuerdo con los tratamientos: T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

Este patrón coincide con reportes que demuestran que cepas de *Pseudomonas* spp. con alta producción de AIA inducen cambios significativos en la arquitectura radicular (Figura 8), promoviendo un sistema de raíces más ramificado y funcional durante las etapas tempranas del crecimiento (Lee et ál., 2025). Chu, et ál. (2020), indican que la formación de raíces laterales fue el efecto más característico de la presencia de *P. fluorescens*, inclusive otros reportes recientes mencionan el mismo efecto con más de 25 aislamientos de *Pseudomonas* spp., por lo que se sugiere que la acción de la auxina para el desarrollo de raíces laterales o secundarias es consecuencia de una redistribución de esta fitohormona en la planta, mermando el crecimiento de la raíz primaria y aumentando en los laterales (Chu, et ál., 2020). Esta característica representa una ventaja agronómica relevante, ya que incrementa la capacidad de exploración del sustrato y mejora la eficiencia en la absorción de nutrientes de los cultivos.

Figura 8

Efecto de *P. fluorescens* (T2) en el número de raíces en ensayo *in vitro*.



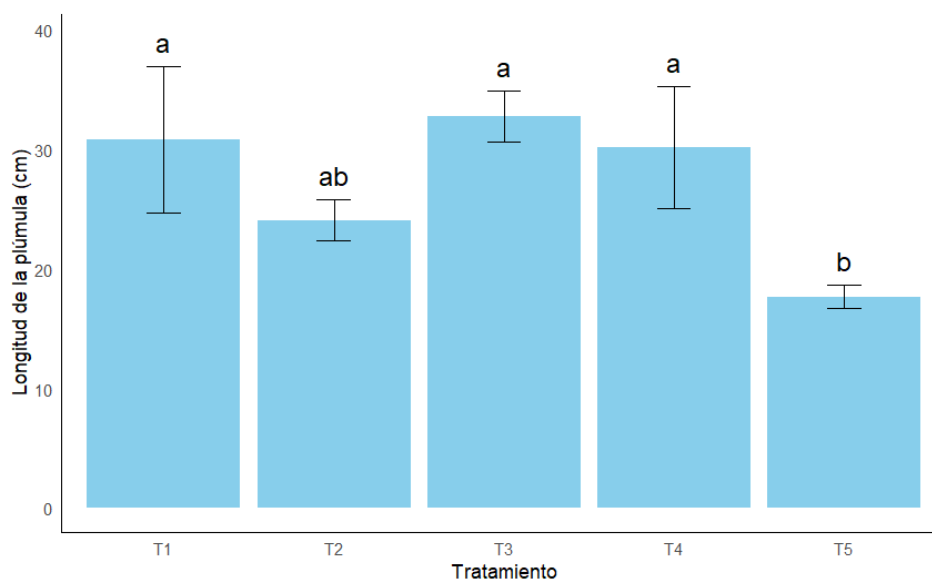
Nota: Elaboración propia, 2023.

Longitud de la plúmula

La longitud de la plúmula mostró diferencias significativas de todos los tratamientos con respecto al tratamiento químico (T5) ($17,71 \pm 0,95$ cm). El T1, T3 y T4 no presentaron diferencias significativas entre sí, mientras que T2, aunque no es significativamente diferente ($p = 0,26$) mostró una respuesta inferior con respecto a los tratamientos mencionados y una respuesta mayor ($p = 0,30$) al T5 (Figura 9).

Figura 9

Longitud promedio de la plúmula de semillas de maíz en ensayo *in vitro* de acuerdo con los tratamientos: T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

En el caso del tratamiento de co-inoculación, la combinación de la producción de auxinas por *A. brasilense* y la modulación del etileno por *P. fluorescens* probablemente generó un efecto complementario, promoviendo un mayor crecimiento de la plúmula (Cassán et ál., 2003).

El efecto positivo de T1 (*P. fluorescens*) sobre el desarrollo de la plúmula puede explicarse por la actividad de la enzima ACC desaminasa, la cual reduce los niveles de etileno en la planta. La disminución de etileno, una hormona asociada a respuestas de estrés y a la inhibición del crecimiento, favorece la elongación del eje aéreo y el desarrollo general de la plántula (Rajput et ál., 2016).

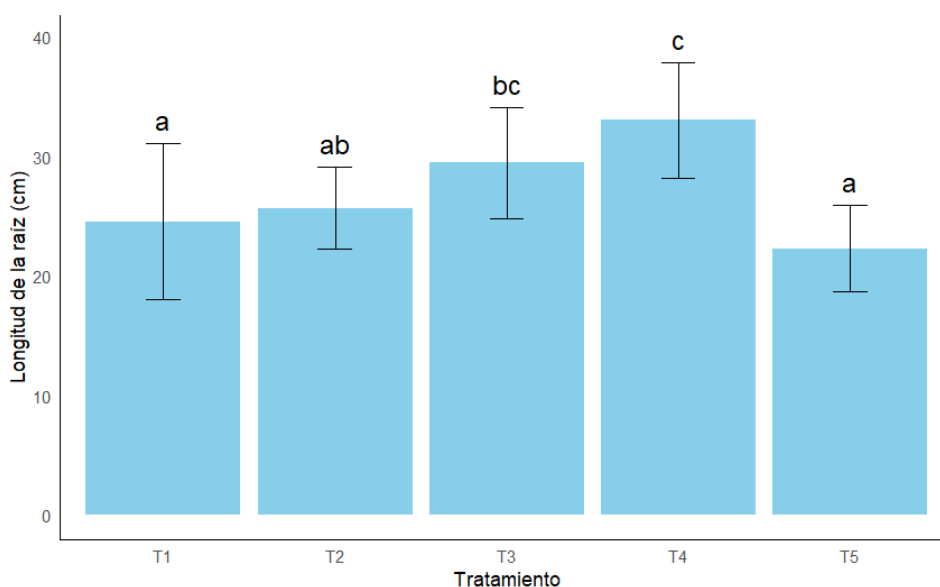
Ensayo de promoción del crecimiento en campo

Longitud de raíz

A los 65 DDS, la longitud de raíz no mostró diferencias significativas entre el control químico T4 ($33,06 \pm 4,81$ cm) y T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*) ($29,50 \pm 4,65$ cm), lo que sugiere que, bajo las condiciones del ensayo, la co-inoculación logró aproximarse al desempeño del manejo convencional en términos de exploración radicular (Figura 10). Aspectos como la fijación de N, solubilización de P y producción de fitohormonas como la auxina y citoquinina (necesaria en las primeras etapas de crecimiento de la planta) influenciados por la presencia del co-inóculo en la rizósfera, pueden considerarse como los factores responsables de la longitud radicular para T3 (Aguilar et ál., 2007).

Figura 10

Longitud promedio de las raíces de plantas de maíz a los 65 DDS de acuerdo con los tratamientos: T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

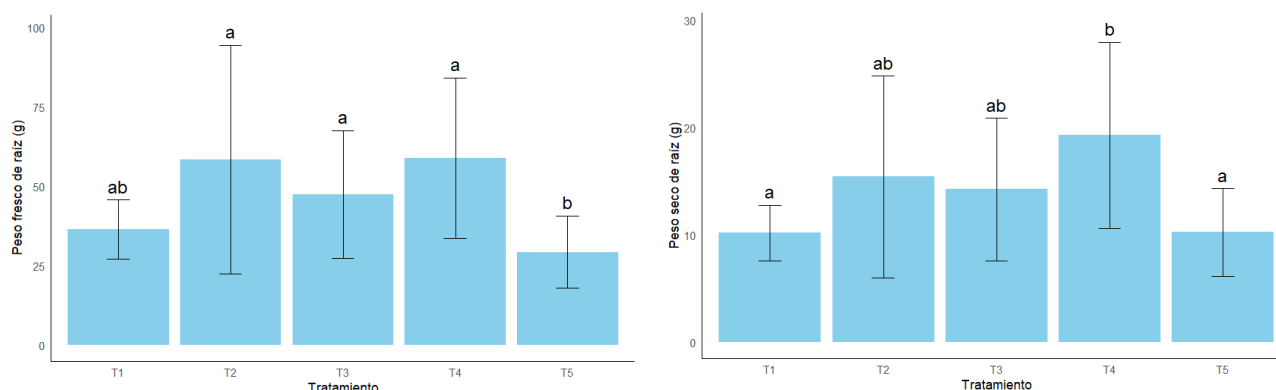
Para T2 (*A. brasilense*), hay que enfatizar en que la respuesta depende del cultivar, ambiente y manejo de N, y que el mayor beneficio suele expresarse en rasgos del sistema radical y en N foliar, especialmente cuando existen restricciones moderadas de fertilidad o eficiencia en el uso de nutrientes por optimizar (Barbosa et ál., 2022). Igualmente, la ausencia de diferencias estadísticas entre T1, T2 y T5 indica, además, que el efecto de inoculantes individuales sobre la elongación primaria puede estar condicionado por el contexto edáfico-nutricional, la capacidad de colonización microbiana en la rizosfera (Aguilar et ál., 2007), o por la expresión fenotípica en campo, la cual depende de si los factores bióticos o abióticos se traducen en ventaja funcional neta en el ambiente real del suelo (Khoso et ál., 2024; Singh et ál., 2023).

Biomasa radical

El T4 (tratamiento químico) fue el que presentó mayores resultados en cuanto a peso fresco y seco de raíces (Figura 11), ya que hay un efecto directo por la fertilización mineral que produce una disponibilidad inmediata de nutrientes, especialmente N y P con respuesta rápida en tejidos jóvenes y raíces activas (Singh et ál., 2023). No obstante, este tratamiento no presentó diferencias significativas en comparación con T2, T3 y T4. Con base en este resultado se sugiere que T2 y T3 podrían incorporarse en un plan de manejo para estimular el desarrollo radical en sustitución de productos sintéticos comerciales.

Figura 11

Biomasa radicular en peso húmedo y seco de plantas de maíz a los 65 DDS de acuerdo con los tratamientos: T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

Ojuederie et ál. (2023) mencionan que las BPCV pueden alterar la fisiología radicular y la eficiencia de captura de recursos sin necesariamente generar grandes diferencias de biomasa en escenarios donde la disponibilidad de nutrientes es adecuada (anexo 15). En estos casos, el beneficio puede observarse mejor como eficiencia (más crecimiento por unidad de nutriente) o como resiliencia bajo estrés (Khoso et ál., 2024).

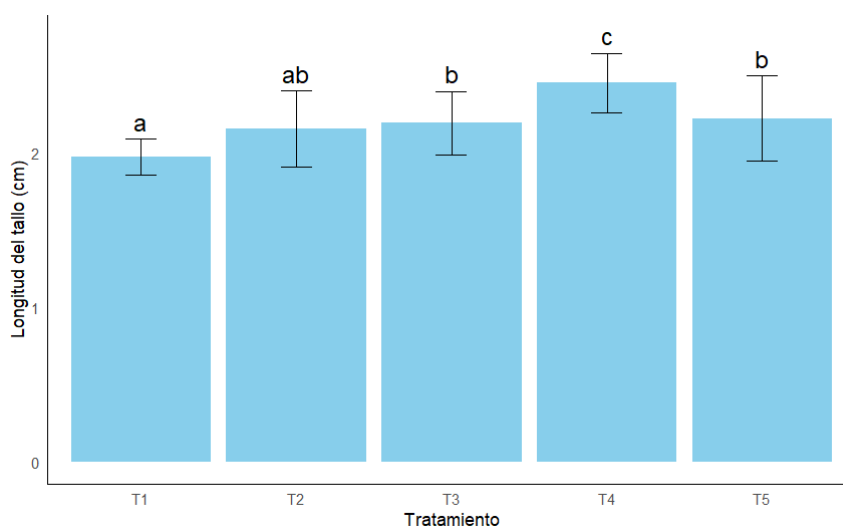
Por ejemplo, maíz bajo condiciones de limitación hídrica, donde se incorporan BPCV que producen ACC desaminasa, ha mostrado mejoras en variables de crecimiento y biomasa, destacando que el contexto de estrés hace más evidente la contribución fisiológica del inoculante (Ojuederie et ál., 2023). En casos donde el suelo tiene una fertilidad adecuada, como el terreno del ensayo (Tabla 1), el efecto del inoculante puede no ser tan evidente, produciendo incrementos sin alcanzar significancia (Singh et ál., 2023).

Longitud del tallo

La longitud del tallo presentó diferencias significativas ($p < 0.0000001$) con el mejor desempeño en T4, seguido de T3 y T2 (Figura 12). Esto es coherente con un escenario donde la nutrición mineral satisface de forma más inmediata los requerimientos para división y elongación celular en fase vegetativa, factor por el cual T5 (a pesar de ser testigo absoluto) logró entrar en el rango sin diferencia significativa. No obstante, el hecho de que T3 y T2 se aproximen al rango estándar de altura para la variedad de maíz EJN2 (213 cm) (Sánchez et ál., 2024), sugiere que *A. brasilense*, especialmente en combinación con *P. fluorescens*, podría contribuir a sostener el crecimiento aéreo mediante rutas alternas como la producción de fitohormonas, mejora en la adquisición de N y mayor desarrollo radical, aunque su impacto dependa del balance suelo–planta–microbioma (Barbosa et ál., 2022; Khoso et ál., 2024).

Figura 12

Longitud promedio de tallo de plantas de maíz a los 65 DDS según los tratamientos: T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

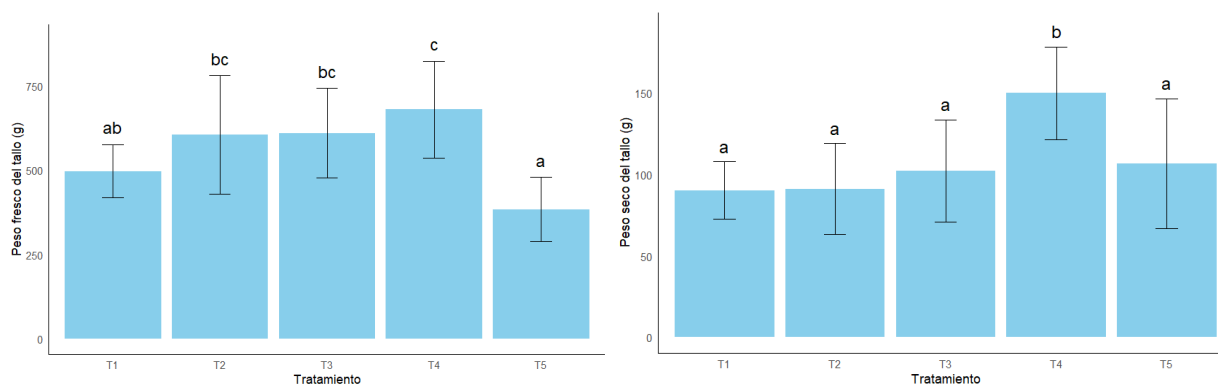
Con respecto a T1, mostró una longitud menor incluso por debajo del T5. En términos ecológicos, esto no invalida el potencial de *P. fluorescens*, sino que puede reflejar (i) incompatibilidad cepa–genotipo de la especie vegetal, (ii) competencia con microbiota nativa, (iii) dosis/vehículo no adecuados o condiciones que afectaron el establecimiento, o (iv) costo fisiológico transitorio por reacomodo de exudación/colonización en etapas tempranas (Singh et ál., 2023). Estos escenarios son precisamente la razón por la cual revisiones recientes recomiendan validar consorcios en múltiples ambientes y acompañar ensayos con verificación de colonización y rasgos funcionales del inoculante (Singh et ál., 2023).

Biomasa del tallo

Para el peso fresco del tallo no se encontró diferencia significativa entre T2, T3 y T4, indicando que la absorción de agua y nutrientes ha sido similar en estos tratamientos, esto indica una buena hidratación y vigor de la planta. Para el caso de peso seco, T4 presentó diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos incluyendo el testigo absoluto.

Figura 13

Biomasa del tallo de plantas de maíz en peso húmedo y seco a los 65 DDS de acuerdo con los tratamientos DDS. T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

Con respecto al peso fresco podemos mencionar que el trabajo de los microorganismos (T1, T2 y T3) en el desarrollo de raíz fue satisfactorio pues la absorción de agua y nutrientes se dio de una manera apropiada y similar al T4, afectando de forma positiva el crecimiento general de la planta (Sáez-Cigarruista et ál., 2024).

En el caso de peso seco, T4 superó en biomasa de tallo ($150,00 \pm 28,58$ g), mientras que los demás tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí (Figura 13). En maíz, la acumulación de biomasa aérea suele responder de forma marcada al N disponible en el suelo; por ello, la superioridad de T4 es esperable. Sin embargo, el interés agronómico en agricultura ecológica no es únicamente “superar” al tratamiento químico en un corte temprano, sino demostrar que los inoculantes pueden reducir la necesidad de N mineral manteniendo productividad (Condori et ál., 2024).

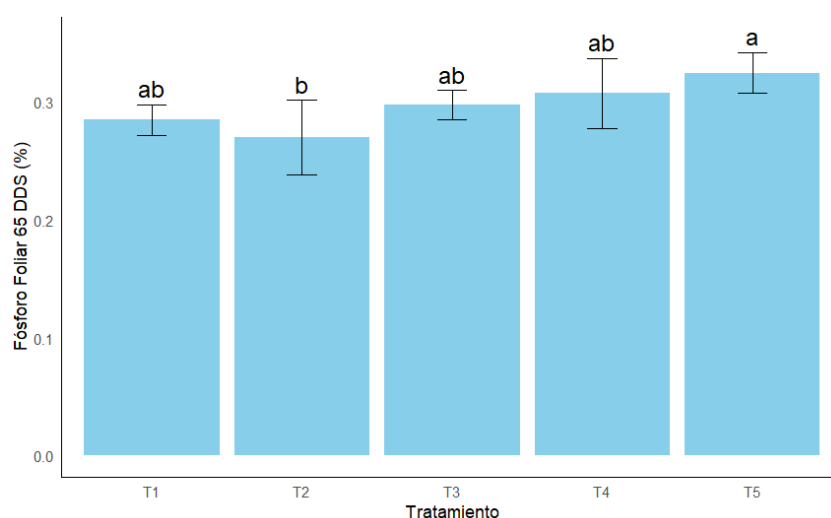
Como se mencionó en la sección de resultados de la biomasa de raíz cabe retomar que el suelo donde se efectuó el ensayo presentó una fertilidad adecuada por lo que los efectos en el T5 tienden a ser similares en ambos casos (Singh et ál., 2023).

Fósforo foliar

Los resultados obtenidos indican que ninguno de los tratamientos evaluados presentó deficiencias críticas de P foliar a los 65 DDS (Figura 14), lo cual es consistente con estudios que reportan que, bajo condiciones de adecuada fertilidad del suelo, las concentraciones foliares de P tienden a mantenerse dentro de rangos óptimos (0,25 a 0,45 % masa), aun cuando se modifiquen las estrategias de fertilización o se apliquen bioinoculantes (Ssemugenze et ál., 2025). A su vez, el P foliar no presentó diferencias significativas entre tratamientos (Figura 14).

Figura 14

Fósforo foliar (en porcentaje de masa) en plantas de maíz a los 65 DDS, de acuerdo con los tratamientos: DDS T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

El hallazgo anterior puede explicarse por la disponibilidad basal de P en el suelo, la cual era suficiente para satisfacer la demanda del cultivo. Esta hipótesis se apoya en el hecho de que incluso en el tratamiento testigo (T5), la concentración de P foliar fue adecuada. Lo anterior provoca una reducción de la expresión de efectos diferenciales asociados a los tratamientos con BPCV. Por otro lado, es importante señalar que la expresión microbiana en indicadores foliares depende de: (i) oferta de elementos nutricionales inicial del suelo, (ii) sincronía entre liberación o transformación microbiana y demanda de la planta, y (iii) persistencia o actividad del inoculante en la rizosfera (Khosro et ál., 2024; Singh et ál., 2023). En segundo lugar, el maíz presenta mecanismos homeostáticos que regulan la concentración interna de P, permitiendo mantener niveles relativamente estables en los tejidos foliares cuando el suministro externo no es limitante (Schjoerring y de Castro, 2023).

Para este trabajo, se eligió como variable de respuesta la concentración de P debido a que desempeña un papel central en procesos fisiológicos clave como la transferencia de energía (ATP), la síntesis de ácidos nucleicos, el metabolismo de carbohidratos y el desarrollo radicular temprano. Específicamente para el cultivo de maíz, un adecuado suministro de P durante las etapas vegetativas es esencial para el establecimiento del aparato fotosintético y para la posterior asignación de asimilados hacia los órganos reproductivos (Schjoerring y de Castro, 2023).

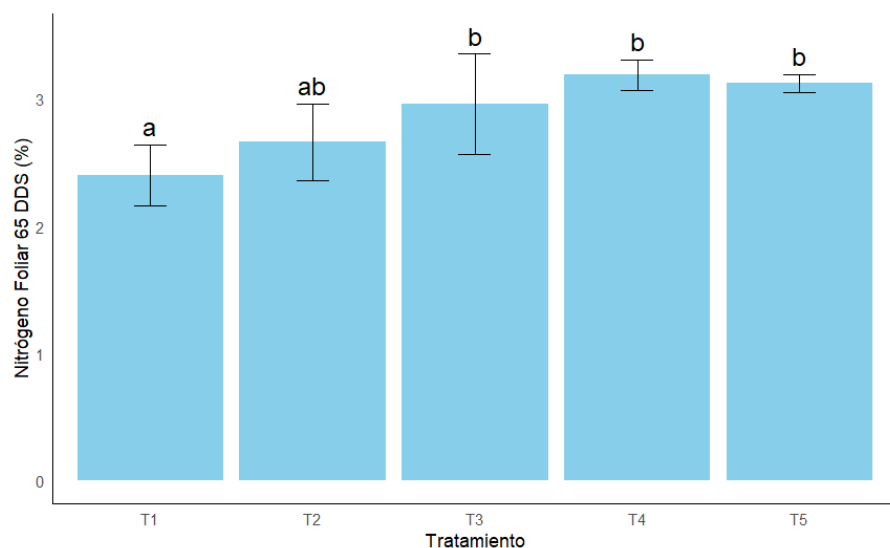
Nitrógeno foliar

La concentración de N foliar en las plantas de maíz presentó diferencias significativas de acuerdo con los tratamientos evaluados T2, T3, T4 y T5 (Figura 15). El tratamiento T1 presentó una concentración foliar de N significativamente menor ($2,40 \pm 0,24$ %) en comparación con los demás tratamientos, aunque se mantuvo dentro del rango estándar de N foliar para maíz (3,00 a 3,50 % masa; Bonilla, 2019). Lo anterior sugiere una menor eficiencia en la adquisición o asimilación de N durante la fase vegetativa de las plantas del T1, limitando la capacidad fotosintética y afectando negativamente la acumulación de

biomasa si esta condición se hubiera mantenido durante el resto del ciclo fenológico (Sánchez et ál., 2024). En el caso de *P. fluorescens*, es posible que no lograra colonizar el suelo circundante a las raíces, probablemente no se produjo quimiotaxis por parte de la planta, y probablemente la persistencia o actividad del inoculante en la rizosfera no fue suficiente como para observar efectos positivos (Khoso et ál., 2024; Singh et ál., 2023).

Figura 15

Nitrógeno foliar (en porcentaje de masa) en plantas de maíz a los 65 DDS de acuerdo con los tratamientos: T1 (*P. fluorescens*), T2 (*A. brasilense*), T3 (*P. fluorescens* con *A. brasilense*), T4 (tratamiento químico) y T5 (testigo/agua).



Nota: Elaboración propia, 2026.

Los tratamientos T3, T4 y T5 mantuvieron concentraciones elevadas y similares de N foliar, indicando que el suministro y la absorción de éste fueron adecuados, presentando ventajas competitivas durante las etapas posteriores del ciclo del cultivo (Ssemugenze et ál., 2025). El N es uno de los macronutrientes más determinantes para el crecimiento del maíz, su concentración en las hojas está

estrechamente relacionada con la capacidad fotosintética, la tasa de crecimiento y el rendimiento final del cultivo (Sánchez et ál., 2024).

El hecho de que las plantas del tratamiento control (T5) presentaran niveles adecuados de P y N, indican que un suelo con fertilidad y disponibilidad adecuada de nutrientes pueden mantener estas concentraciones foliares dentro de rangos adecuados, limitando el efecto diferencial de inoculantes sobre N y P en un solo momento de muestreo (Barbosa et ál., 2022).

Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

Los resultados obtenidos en los ensayos planteados permiten concluir que el uso de BPCV influyó, según el microorganismo utilizado, sobre variables morfológicas, fisiológicas y nutricionales del cultivo de maíz. En condiciones *in vitro*, *A. brasilense* promovió de forma consistente la elongación de la raíz primaria, este comportamiento confirmó que dicha bacteria actúa principalmente sobre procesos de elongación celular y desarrollo inicial del sistema radical, lo cual representa una ventaja funcional para la exploración temprana del sustrato.

Por su parte, *P. fluorescens* mostró un mayor efecto sobre la inducción de raíces laterales, lo que sugiere una acción predominante sobre procesos de diferenciación y ramificación radicular, otorgando a futuro un mejor anclaje al suelo, y un mayor flujo de agua y nutrientes a la planta. Para el consorcio *A. brasilense* más *P. fluorescens*, se presentó una respuesta positiva, aunque no estrictamente sinérgica, indicando que las interacciones microbianas no siempre generan efectos aditivos y que su eficiencia depende de la compatibilidad funcional entre cepas, del balance hormonal inducido y del estado fisiológico de la planta en las etapas tempranas de desarrollo. Aun así, este tratamiento se posiciona como una alternativa funcional frente a inoculaciones individuales y tratamientos químicos. A nivel de germinación las BPCV no afectaron la viabilidad de la semilla más bien manifestaron un vigor de mayor calidad más que en la tasa de germinación *per se*.

A nivel de campo, según las variables medidas, los tratamientos biológicos alcanzaron valores comparables con el tratamiento comercial o químico, dato relevante para el manejo de estrategias biológicas en agricultura sostenible, ya que es posible aproximarse a rangos funcionales con maneras de trabajo bien planificadas. Y aunque algunas variables no resultaron dentro del rango de significancia, se logró detectar el por qué (compatibilidades, nutrición edáfica, humedad del suelo, concentraciones de aplicación) y así mejorar futuros ensayos.

En el aspecto de concentraciones de P y N foliar, no existieron diferencias significativas, pero éstas se manejaron dentro de los rangos estándares utilizados para este cultivo, confirmando las condiciones de buena fertilidad del suelo, por lo tanto, no se logró atribuir mejora en nutrición foliar con respecto al uso de BPCV, pero si se pueden considerar para sustituir en cierta medida el uso de fertilizantes químicos.

Por último, los resultados indican que las BPCV evaluadas tienen un impacto claro en etapas tempranas del desarrollo y sobre rasgos funcionales del sistema radical, mientras que su efecto sobre biomasa y nutrición foliar en campo está condicionado por la fertilidad del suelo y el contexto ambiental. Esto refuerza la necesidad de evaluar estos microorganismos no solo por incrementos directos de biomasa, sino también por su contribución a la eficiencia y sostenibilidad del sistema productivo.

Recomendaciones

Con base en este trabajo, se pueden sugerir diversas recomendaciones para así brindar mejores resultados en campo y mayor convencimiento en el uso, total o parcial, de estos y otros microorganismos. Por lo tanto, es importante repetir el ensayo en donde:

a) el suelo presente un desbalance nutricional y así evaluar parámetros meramente nutricionales y comprobar el aporte a la planta por parte de los microorganismos involucrados,

b) evaluar diferentes gradientes de fertilización nitrogenada y fosfatada para así determinar si las BPCV pueden reducir parcial o totalmente la dependencia de fertilizantes minerales, complementando con mediciones fisiológicas dinámicas como eficiencia en el uso de N, P e inclusive de otros minerales, tasas de crecimiento, análisis de biomasa, variables fotosintéticas y así diferenciar entre efectos asociados a las BPCV y los asociados a la nutrición del suelo o exógena,

c) implementar muestreos secuenciales a lo largo del ciclo del cultivo para detectar en qué momentos las BPCV ejercen mayores efectos benéficos, así como su colonización y persistencia para un mejor efecto y así también mejorar proporciones de inoculantes, formulaciones y compatibilidades entre cepas para maximizar las respuestas en campo.

Bibliografía

- Acosta, A, Karajallo, J. (2018). Efecto de la aplicación de nitrógeno e inoculación con bacterias promotoras de crecimiento sobre el cultivo de maíz. XXVI Jornada de Jóvenes Investigadores. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.
- Aguilar Carpio, C., Arriaga Rubio, L. M., Cervantes Adame, Y. F., Arenas-Julio, Y. R., & Escalante-Estrada, J. A. S. (2022). Rentabilidad y producción del maíz VS-535 en respuesta a la fertilización química y biológica. *Acta universitaria*, 32.
- Álvarez-García, J. A., Santoyo, G., & del Carmen Rocha-Granados, M. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. *Revista Latinoamericana De Recursos Naturales*, 16(1), 01-10.
- Amezquita Aviles, C. F., Coronel Acosta, C. B., de los Santos Villalobos, S., Santoyo, G., & Parra Cota, F. I. (2022). Characterization of native plant growth-promoting bacteria (PGPB) and their effect on the development of maize (*Zea mays* L.). *Biotechnia*, 24(1), 15–22. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v24i1.1353>
- Armenta-Bojórquez, A.D., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J.R., Apodaca-Sánchez, M.A., Gerardo-Montoya, L, & Nava-Pérez, E. (2010). Biofertilizantes en el Desarrollo Agrícola de México. *Ra Ximhai*, 6(1), 51-56.
- Ayvar-Serna, S., J. F. Díaz-Nájera, M. Vargas-Hernández, A. Mena-Bahena, M. A. Tejeda-Reyes y Z. Cuevas-Apresa. (2020). Rentabilidad de sistemas de producción de grano y forraje de híbridos de maíz, con fertilización biológica y química en trópico seco. *Terra Latinoamericana* 38: 9-16. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.507>

- Barbieri, P. A., Echeverría, H. E., & Saíenz Rozas, H. R. (2018). Pérdidas por volatilización y eficiencia de uso de nitrógeno en maíz en función de la fuente, dosis y momento de aplicación. *Revista De La Facultad De Agronomía*, 117(1), 111-116. Recuperado a partir de <https://revistas.unlp.edu.ar/revagro/article/view/7323>
- Barbosa, J. Z., de Almeida Roberto, L., Hungria, M., Corrêa, R. S., Magri, E., & Correia, T. D. (2022). Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. *Applied Soil Ecology*, 170, 104276.
- Beltrán-Pineda, M. E. (2014). Bacterias solubilizadoras de fosfato con potencial biofertilizante en suelos cultivados con papa (*Solanum tuberosum*). *Agron*, 22(2), 7-20.
- Beltrán-Pineda, M. E. y Bernal-Figueroa, A. A. (2022). Biofertilizantes: alternativa biotecnológica para los agroecosistemas. *Mutis*, 12(1). <https://doi.org/10.21789/22561498.1771>
- Benjumeda Muñoz, Daniel. (2017). Bacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal: Mecanismos y Aplicaciones. Revisión bibliográfica. Trabajo final de grado. Universidad de Sevilla. España.
- Bonilla, N. (2019). Variedades e híbridos de maíz: Características y recomendaciones para su manejo agronómico. *San Jose, Costa Rica, Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria*.
- Buono, N. I., & Ulla, E. L. (2016). Efectos de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.) en condiciones controladas. *Revista agronómica del noroeste argentino*, 36(2), 45-54.
- Carrillo Trueba, César. (2009). El origen del maíz naturaleza y cultura en Mesoamérica. *Revista Ciencias*, Núm 92-93. 4-13 pp. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- Cassán, F. D., Piccoli, P., & Bottini, R. (2003). Promoción del crecimiento vegetal por *Azospirillum* sp. a través de la producción de giberelinas. Un modelo alternativo para incrementar la producción agrícola. *Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación en Argentina para la sociedad. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago*, 1-16.
- Cassan, F.; Perrig, D.; Sgroi, V.; Masciarelli, O.; Penna, C. y V. Luna. (2009). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of soil Biology* 45: 28-35. doi: 10.1016/j.ejsobi.2008.08.005
- Castellanos-Reyes, M. A., Valdés-Carmenate, R., López-Gómez, A., & Guridi-Izquierdo, F. (2017). Mediciones de índices de verdor relacionadas con área foliar y productividad de híbrido de maíz. *Cultivos Tropicales*, 38(3), 112-116.
- Chabbi, N., Chafiki, S., Telmoudi, M., Labbassi, S., Bouharroud, R., Tahiri, A., ... & Qessaoui, R. (2024). Plant-growth-promoting rhizobacteria improve seeds germination and growth of *Argania spinosa*. *Plants*, 13(15), 2025.
- Chacón Araya, Karen. (2019). Agricultura y Sostenibilidad Ambiental en Costa Rica. Informe Estado de la Nación en Desarrollo Humano Sostenible. Investigación de Base. San José. Costa Rica.
- Chacón Araya, Karen. (2022). ¿Está Costa Rica atendiendo los retos para garantizar su seguridad alimentaria y nutricional? Informe Estado de la Nación en Desarrollo Humano Sostenible. Investigación de Base. San José. Costa Rica.
- Chávez Marmolejo, Carlos Gerardo. (2018). Diversidad funcional de la población bacteriana rizosférica de maíz de temporal (*Zea mays* L.) en México. Tesis de Grado. Centro de investigación y de estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México.

<https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/1591/SSIT0015434.pdf?sequence=1>

Chu, T. N., Bui, L. V., & Hoang, M. T. T. (2020). *Pseudomonas* PS01 isolated from maize rhizosphere alters root system architecture and promotes plant growth. *Microorganisms*, 8(4), 471.

Corrales, L. C., Arevalo, Z. Y., & Moreno, V. E. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nova*, 12(21), 68-79.

Deras Flores, Héctor. (2018). Guía Técnica: El cultivo del maíz. [www.repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf]

Domínguez-Castillo, C., Alatorre-Cruz, J. M., Castañeda-Antonio, D., Munive, J. A., Guo, X., López-Olgún, J. F., ... & Carreño-López, R. (2021). Potential seed germination-enhancing plant growth-promoting rhizobacteria for restoration of *Pinus chiapensis* ecosystems. *Journal of Forestry Research*, 32(5), 2143-2153.

Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. (s. f.). Finca Experimental Santa Lucía.

<https://www.agrarias.una.ac.cr/index.php/pages/fesl>

Estrada, G. A., Baldani, V. L. D., de Oliveira, D. M., Urquiaga, S., & Baldani, J. I. (2013). Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. *Plant and soil*, 369(1-2), 115-129

Fernández, J. (2021). Afectación a disponibilidad de agroquímicos a nivel mundial. <https://www.croplifela.org/es/actualidad/noticias/afectacion-a-disponibilidad-de-agroquimicos-a-nivel-mundial>

- García, J. E., Puente, M. L., Maronichea, G. A., & Peticari, A. (2013). Estudio de Azospirillum como tecnología aplicable en los cultivos de trigo y maíz. *Microbiología Agrícola: un aporte de la investigación en Argentina*, 2, 351-366.
- Garrido, M. F., Cárdenas, D. M., Bonilla, R. R., & Baldani, V. L. (2010). Efecto de los factores edafoclimáticos y la especie de pasto en la diversidad de bacterias diazotróficas. *Pastos y forrajes*, 33(4), 1-1.
- Ge, M., & Wei, X. (2023). Spermosphere bacteria promote Ormosia henryi seed germination by activating metabolic pathways. *Forests*, 14(6), 1136.
- Ghorai, P., & Ghosh, D. (2022). Ameliorating the performance of NPK biofertilizers to attain sustainable agriculture with special emphasis on bioengineering. *Bioresource Technology Reports*, 101117.
- Gordon-Mendoza, Franco-Barrera, Villarreal-Núñez, Jot-Smith. (2016). Manejo de la fertilización fosforada en el cultivo de maíz, El Ejido, Panamá, 2004-2013. *Revista Agronomía Mesoamericana* 27(1):95-108. ISSN 2215-3608 DOI: <http://dx.doi.org/10.15517/am.v27i1.21889>
- International Seed Testing Association. (2007). International Rules for Seed Testing: Edition 2007: Adopted at the Ordinary Meeting 2006, Glattbrugg/Zurich, Switzerland, to Become Effective on 1st January 2007. International Seed Testing Association.
- Khan, M. S., Ahmad, E., Zaidi, A., & Oves, M. (2013). Functional aspect of phosphate-solubilizing bacteria: importance in crop production. In *Bacteria in agrobiolgy: Crop productivity* (pp. 237-263). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kalay, A. M., Kesaulya, H., Talahaturuson, A., & Osok, R. (2021). The properties of rhizobacteria from tomato rhizosphere as biocontrol and biofertilizer. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 883, No. 1, p. 012001). IOP Publishing.

- Khoso, M. A., Wagan, S., Alam, I., Hussain, A., Ali, Q., Saha, S., ... & Liu, F. (2024). Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. *Plant Stress*, *11*, 100341.
- Kour, D., Rana, K., Kaur, T., Yadav, N., Yadav, A., Kumar, M., ... & Saxena, A. (2021). Biodiversity, current developments and potential biotechnological applications of phosphorus-solubilizing and-mobilizing microbes: a review. *Pedosphere*, *31*(1), 43-75.
- Lee, S., Kim, Y. K., Nie, H., Ahn, J., Kim, N., Ko, S. R., ... & Shin, A. Y. (2025). Functional characterization of a novel plant growth-promoting rhizobacterium enhancing root growth and salt stress tolerance. *Scientific Reports*, *15*(1), 30405.
- Leyva-Trinidad, D.A., Pérez-Vázquez, A., Bezerra da Costa, I., & Formighieri Giordani, R.C.. (2020). El papel de la milpa en la seguridad alimentaria y nutricional en hogares de Ocotil Texizapan, Veracruz, México. *Polibotánica*, (50), 279-299. Epub 25 de noviembre de 2020.<https://doi.org/10.18387/polibotanica.50.16>.
- Lovaisa N.C, Guevara E.E, Delaporte-Quintana, P.G.A, Elías, J, Arroyo, J, Salazar, S.M. (2018). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal en plantas de maíz (*Zea mays* L.). Rev. Agron. Noroeste Argentino 38 (1): 33-38 ISSN 0080-2069 (impresa) ISSN 2314-369X (en línea).
- Maidana, E., Melgarejo, M., Amarilla, D., Ocampos, V., Colman, P., Mendoza, M., Bogado, M., Franco, R., & Silvero, O. (2020). Características agronómicas del maíz inoculado con diferentes dosis de *Azospirillum* brasiliense. *Revista De La Sociedad Científica Del Paraguay*, *25*(1), 49–57. <https://doi.org/10.32480/rscp.2020-25-1.49-57>
- Ministerio de Hacienda. (2022). Gobierno de Costa Rica. <https://www.hacienda.go.cr>

- Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales, M. D. R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y. E., Santiago-Sáenz, Y., Castañeda-Lucio, M., & Muñoz-Rojas, J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17(2), 24-34.
- Ojuederie, O. B., & Babalola, O. O. (2023). Growth enhancement and extenuation of drought stress in maize inoculated with multifaceted ACC deaminase producing rhizobacteria. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 1076844.
- Omar, R. P., Jesús, O. G., Manuel, B. H., Jesús, L. E., Bernardo, M. A., Guillermo, H. M., & Dolores, V. D. (2015). Los fertilizantes biológicos en la agricultura. *Invurnus*, 10, 10-17.
- Park, K. H., Lee, C. Y., & Son, H. J. (2009). Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Letters in applied microbiology*, 49(2), 222-228.
- PROGRESAN-SICA II. (2022). Boletín de Monitoreo de Precios de Alimentos Análisis a julio de 2022. Programa de Sistemas de Información para la Resiliencia en Seguridad Alimentaria y Nutricional de la Región del SICA segunda fase (PROGRESAN-SICA II) Agosto, 2022.
- Rajput, V. D., & Husain, R. (2023). Deepak Kumar, Sanjay K. Singh 2, Santosh K. Arya, Deepti Srivastava 3. *Rhizobiome*, 167.
- R Core Team (2025). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Sáez-Cigarruista, A., Morales-Guevara, D., Gordon-Mendoza, R., Jaén-Villarreal, J., Franco-Barrera, J., & Ramos-Manzané, F. (2024). Sensibilidad del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes períodos de déficit hídrico controlado. *Agronomía Mesoamericana*, 35(1).

- Santana Robles, F., Granillo Macías, R., Espinoza Sánchez, F. I., Aguilar Ortega, J. C., & Ortega Zavala, J. G. (2018). Caracterización de la cadena de valor del maíz. *Ingenio Y Conciencia Boletín Científico De La Escuela Superior Ciudad Sahagún*, 5(9). <https://doi.org/10.29057/ess.v5i9.2899>
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, 183, 92-99.
- Schjoerring, J.K., & de Castro, S.A.Q. (2023). *Knowledge synthesis on foliar nitrogen and phosphorus fertilization*. University of Copenhagen Report.
- Singh, P., Vaishnav, A., Liu, H., Xiong, C., Singh, H. B., & Singh, B. K. (2023). Seed biopriming for sustainable agriculture and ecosystem restoration. *Microbial Biotechnology*, 16(12), 2212-2222.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development* 6th ed Sinauer Associates Sunderland. MA, USA.
- Velázquez-Gurrola, A., & Ramos-Alegría, M. P. (2015). Beneficios de microorganismos solubilizadores de P y K en la recuperación y mantenimiento de suelos agrícolas. LIMA, PERU, Perú ProHass, 495-499.
- Valenciano Salazar, J. A., Pagani Centeno, L., & Álvarez Madrigal, N. (2020). Seguridad y soberanía alimentaria en Costa Rica. <https://repositorio.una.ac.cr/items/e44c4f4d-d711-4e48-a64b-655885a659e1>.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571-586.
- Verhulst, N, Francois, I, Grahmann, K, Cox, R, Govaerts, B. (2015). Eficiencia del uso de nitrógeno y optimización de la fertilización nitrogenada en la agricultura de conservación. Centro Internacional de Mejoramiento de maíz y trigo. CIMMYT. México. 1-6 pp.

Saravanan, A., Jeevanantham, S., Narayanan, V. A., Kumar, P. S., Yaashikaa, P. R., & Muthu, C. M. (2020).

Rhizoremediation—a promising tool for the removal of soil contaminants: a review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(2), 103543.

Torres, D., Donadio, F., López, G., Molina, R., Obando, M., Nievas, S., ... & Cassán, F. (2022). Previous incubation of *Bradyrhizobium japonicum* E109 and *Azospirillum argentinense* Az39 (formerly *A. brasilense* Az39) improves the *Bradyrhizobium*-soybean symbiosis. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(4), 4669-4682.

Yadav, A. N., Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A., Dikilitas, M., ... & Saxena, A. K. (2021). Biodiversity, and biotechnological contribution of beneficial soil microbiomes for nutrient cycling, plant growth improvement and nutrient uptake. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 102009.

Zhang, J., Feng, L., Ouyang, Y., Hu, R., Xu, H., & Wang, J. (2020). Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in relation to phosphorus availability under different land uses for some latosols from Guangdong, China. *Catena*, 195, 104686.

Zhao, X., Tong, C., Pang, X., Wang, Z., Guo, Y., Du, F., & Wu, R. (2012). Functional mapping of ontogeny in flowering plants. *Briefings in bioinformatics*, 13(3), 317-328

Anexos

Anexo 1. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Longitud de la raíz *in vitro*".

	Diff	lwr	upr	P. adj
2 - 1	7.393333	-18.08875	32.8754186	0.8688736
3 - 1	3.300000	-22.18209	28.7820853	0.9920153
4 - 1	1.433333	-24.04875	26.9154186	0.9996878
5 - 1	-25.793333	-51.27542	-0.3112481	0.0469749
3 - 2	-4.093333	-29.57542	21.3887519	0.9822155
4 - 2	-5.960000	-31.44209	19.5220853	0.9337180
5 - 2	-33.186667	-58.66875	-7.7045814	0.0108244
4 - 3	-1.866667	-27.34875	23.6154186	0.9991156
5 - 3	-29.093333	-54.57542	-3.6112481	0.0242582
5 - 4	-27.226667	-52.70875	-1.7445814	0.0352379

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 2. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Número de raíces *in vitro*".

	Diff	lwr	upr	P. adj
2 - 1	-1.826667	-3.5553814	-0.09795197	0.0374281
3 - 1	-1.046667	-2.7753814	0.68204803	0.3347713
4 - 1	-2.546667	-4.2753814	-0.81795197	0.0047205
5 - 1	-3.573333	-5.3020480	-1.84461864	0.0003523
3 - 2	0.780000	-0.9487147	2.50871470	0.5930671
4 - 2	-0.720000	-2.4487147	1.00871470	0.6576730
5 - 2	-1.746667	-3.4753814	-0.01795197	0.0474162
4 - 3	-1.500000	-3.2287147	0.22871470	0.0978177
5 - 3	-2.526667	-4.2553814	-0.79795197	0.0049880
5 - 4	-1.026667	-2.7553814	0.70204803	0.3513076

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 3. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Longitud de la plúmula".

	Diff	lwr	upr	P. adj
2 - 1	-6.720000	-16.922605	3.482605	0.2658929
3 - 1	1.946667	-8.255938	12.149272	0.9669947
4 - 1	-0.640000	-10.842605	9.562605	0.9995196
5 - 1	-13.120000	-23.322605	-2.917395	0.0117424
3 - 2	8.666667	-1.535938	18.869272	0.1071562
4 - 2	6.080000	-4.122605	16.282605	0.3483576
5 - 2	-6.400000	-16.602605	3.802605	0.3050754
4 - 3	-2.586667	-12.789272	7.615938	0.9137823
5 - 3	-15.066667	-25.269272	-4.864062	0.0046405
5 - 4	-12.480000	-22.682605	-2.277395	0.0160667

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 4. Comparaciones múltiples de medias marginales estimadas con ajuste de Tukey para la variable "Germinación".

Contraste	Estimado	SE	df	z. ratio	Valor P
1 - 2	-1.121	0.490	Inf	-2.288	0.1486
1 - 3	0.185	0.352	Inf	0.526	0.9847
1 - 4	-0.140	0.375	Inf	-0.374	0.9959
1 - 5	0.495	0.336	Inf	1.473	0.5800
2 - 3	1.306	0.481	Inf	2.716	0.0516
2 - 4	0.981	0.498	Inf	1.971	0.2803
2 - 5	1.616	0.469	Inf	3.444	0.0052
3 - 4	-0.325	0.363	Inf	-0.896	0.8983
3 - 5	0.310	0.323	Inf	0.959	0.8734
4 - 5	0.635	0.347	Inf	1.829	0.3569

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 5. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Largo de la raíz".

	Comparación	Z	P. unadj	P. adj
1	1 - 2	-0.8733187	3.824894e-01	1.0000000000
2	1 - 3	-2.8981817	3.753331e-03	0.0375333125
3	2 - 3	-2.0248629	4.288144e-02	0.4288144222
4	1 - 4	-4.2120240	2.530926e-05	0.0002530926
5	2 - 4	-3.3387053	8.416982e-04	0.0084169817
6	3 - 4	-1.3138424	1.888993e-01	1.0000000000
7	1 - 5	1.0096531	3.126615e-01	1.0000000000
8	2 - 5	1.8687706	6.165474e-02	0.6165473579
9	3 - 5	3.8607067	1.130595e-04	0.0011305954
10	4 - 5	5.1531844	2.561000e-07	0.0000025610

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 6. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Peso fresco de la raíz".

	Comparación	Z	P. unadj	P. adj
1	1 - 2	-1.7035362	0.0884677717	0.8846777717
2	1 - 3	-1.3821873	0.1669141935	1.0000000000
3	2 - 3	0.3213489	0.7479460243	1.0000000000
4	1 - 4	-2.3384906	0.0193618135	0.193618135
5	2 - 4	-0.6349544	0.5254581574	1.0000000000
6	3 - 4	-0.9563033	0.3389190386	1.0000000000
7	1 - 5	1.5996603	0.1096739705	1.0000000000
8	2 - 5	3.2754948	0.0010547704	0.010547704
9	3 - 5	2.9593715	0.0030826724	0.030826724
10	4 - 5	3.9001241	0.0000961434	0.000961434

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 7. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Peso seco de la raíz".

Comparación		Z	P. unadj	P. adj
1	1 - 2	-1.71778927	0.0858350585	0.858350585
2	1 - 3	-1.76400782	0.0777306626	0.777306626
3	2 - 3	-0.04621855	0.9631360611	1.0000000000
4	1 - 4	-3.24300128	0.0011827768	0.011827768
5	2 - 4	-1.52521200	0.1272062280	1.0000000000
6	3 - 4	-1.47899346	0.1391420637	1.0000000000
7	1 - 5	0.23188157	0.8166300000	1.0000000000
8	2 - 5	1.92173745	0.0546388025	0.546388025
9	3 - 5	1.96720442	0.0491596482	0.491596482
10	4 - 5	3.42214760	0.0006212858	0.006212858

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 8. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Longitud del tallo".

Diff		Lwr	Upr	P. adj
2 - 1	0.18437500	-0.02582308	0.3945731	0.1130042
3 - 1	0.22187500	0.01167692	0.4320731	0.0333945
4 - 1	0.47937500	0.26917692	0.6895731	0.0000001
5 - 1	0.25083333	0.03716067	0.4645060	0.0132328
3 - 2	0.03750000	-0.17269808	0.2476981	0.9872333
4 - 2	0.29500000	0.08480192	0.5051981	0.0017606
5 - 2	0.06645833	-0.14721433	0.2801310	0.9070669
4 - 3	0.25750000	0.04730192	0.4676981	0.0086477
5 - 3	0.02895833	-0.18471433	0.2426310	0.9955265
5 - 4	-0.22854167	-0.44221433	-0.0148690	0.0300596

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 9. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Peso fresco del tallo".

	Diff	Lwr	Upr	P. adj
2 - 1	107.1875	-21.77852	236.15352	0.1489277
3 - 1	112.8125	-16.15352	241.77852	0.1146920
4 - 1	182.5000	53.53398	311.46602	0.0015782
5 - 1	-113.1667	-244.26450	17.93117	0.1230658
3 - 2	5.6250	-123.34102	134.59102	0.9999489
4 - 2	75.3125	-53.65352	204.27852	0.4815578
5 - 2	-220.3542	-351.45200	-89.25633	0.0001126
4 - 3	69.6875	-59.27852	198.65352	0.5587832
5 - 3	-225.9792	-357.07700	-94.88133	0.0000718
5 - 4	-295.6667	-426.76450	-164.56883	0.0000002

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 10. Comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis con el ajuste del método Bonferroni (Dunn) para la variable "Peso seco del tallo".

	Comparación	Z	P. unadj	P. adj
1	1 - 2	-0.1465300	8.835030e-01	1.000000e+00
2	1 - 3	-0.9408771	3.467678e-01	1.000000e+00
3	2 - 3	-0.7943471	4.269934e-01	1.000000e+00
4	1 - 4	-4.5848481	4.543167e-06	4.543167e-05
5	2 - 4	-4.4383180	9.066460e-06	9.066460e-05
6	3 - 4	-3.6439709	2.684638e-04	2.684638e-03
7	1 - 5	-1.2801291	2.004998e-01	1.000000e+00
8	2 - 5	-1.1359818	2.559642e-01	1.000000e+00
9	3 - 5	-0.3545517	7.229254e-01	1.000000e+00
10	4 - 5	3.2301637	1.237194e-03	1.237194e-02

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 11. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Fósforo".

	Diff	Lwr	Upr	P. adj
2 - 1	-0.0150	-0.063986851	0.03398685	0.8745737
3 - 1	0.0125	-0.036486851	0.06148685	0.9301981
4 - 1	0.0225	-0.026486851	0.07148685	0.6260567
5 - 1	0.0400	-0.008986851	0.08898685	0.1377477
3 - 2	0.0275	-0.021486851	0.07648685	0.4443636
4 - 2	0.0375	-0.011486851	0.08648685	0.1789916
5 - 2	0.0550	0.006013149	0.10398685	0.0243984
4 - 3	0.0100	-0.038986851	0.05898685	0.9677069
5 - 3	0.0275	-0.021486851	0.07648685	0.4443636
5 - 4	-0.0175	-0.031486851	0.06648685	0.8023553

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 12. Comparaciones múltiples de Tukey para la variable "Nitrógeno".

	Diff	Lwr	Upr	P. adj
2 - 1	0.2600	-0.29609082	0.8160908	0.6110094
3 - 1	0.5600	0.00390918	1.1160908	0.0480167
4 - 1	0.7875	0.23140918	1.3435908	0.0042245
5 - 1	0.7225	0.16640918	1.2785908	0.0085043
3 - 2	0.3000	-0.25609082	0.8560908	0.4817826
4 - 2	0.5275	-0.02859082	1.0835908	0.0670219
5 - 2	0.4625	-0.09359082	1.0185908	0.1271849
4 - 3	0.2275	-0.32859082	0.7835908	0.7162061
5 - 3	0.1625	-0.39359082	0.7185908	0.8915879
5 - 4	-0.0650	-0.62109082	0.4910908	0.9959618

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 13. Evaluación de los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene).

Variable	Shapiro-Wilk (p-value)	Levene (p-value)
Longitud de la raíz	0.002589	0.3015
Peso fresco raíz	0.000221	0.002243
Peso seco raíz	0.0001151	0.01794
Longitud del tallo	0.3168	0.1411
Peso fresco tallo	0.5426	0.119
Peso seco tallo	0.04919	0.2416
Nitrógeno	0.6833	0.1688
Fósforo	0.9687	0.4095
Germinación	No aplica	No aplica
Plúmula	0.6487	0.4213
Longitud raíz <i>in vitro</i>	0.8332	0.6699
Número de raíces <i>in vitro</i>	0.5689	0.9142

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 14. Resultados de las pruebas estadísticas

Variable	Prueba	Estadístico	Grados de libertad	Valor de P
Longitud de la raíz	Kruskal-Wallis	$\chi^2 = 35.812$	4	3.163e-07
Peso fresco raíz	Kruskal-Wallis	$\chi^2 = 19.36$	4	0.0006678
Peso seco raíz	Kruskal-Wallis	$\chi^2 = 16.129$	4	0.00285
Longitud del tallo	ANOVA	F = 10.4	4	9.67e-07
Peso fresco tallo	ANOVA	F = 12.16	4	1.2e-07
Peso seco tallo	Kruskal-Wallis	$\chi^2 = 27.789$	4	1.377e-05
Nitrógeno	ANOVA	F = 6.746	4	0.00258
Fósforo	ANOVA	F = 3.512	4	0.0326
Germinación	Análisis de desviación	$\chi^2 = 15.936$	4	0.003106
Plúmula	ANOVA	F = 7.949	4	0.00377
Longitud raíz <i>in vitro</i>	ANOVA	F = 5.801	4	0.0111
Número de raíces <i>in vitro</i>	ANOVA	F = 13.61	4	0.00047

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 15. Resultados del análisis químico de suelo antes de la siembra.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

CIA Centro de
Investigaciones
Agronómicas

CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES

REPORTE DE ENSAYO

RE-R01 (V3)

Nº DE REPORTE: **88308**

USUARIO: IRENE GARCIA SOLIS

RESPONSABLE: IRENE GARCIA SOLIS
CORREO: iregarcias@gmail.com
TELÉFONO: 8939-2021

PROVINCIA: HEREDIA
CANTÓN: BARVA
LOCALIDAD: SANTA LUCÍA
CULTIVO: SIN CULTIVO

ANÁLISIS: QC,CN
FECHA RECEPCIÓN: 24/10/2023
EMISIÓN DE REPORTE: 02/11/2023
Nº DE MUESTRAS TOT: 1
PÁGINA: 1/2

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS

Solución Extractora:		pH	cmol(+)/L					%	mg/L				
KCl-Olsen Modificado		H ₂ O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn
ID USUARIO	ID LAB	5,5	0,5	4	1	0,2	5		10	3	1	10	5
FINCA ECA	S-23-09517	5,9	0,11	6,99	0,91	0,34	8,35	1	9	3,4	4	73	3

.....ÚLTIMA LÍNEA.....

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS

ID USUARIO	ID LAB	mS/cm	%		Relación
		CE	C	N	C/N
		1,5			
FINCA ECA	S-23-09517	0,1	7,20	0,71	10,1

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 16. Resultados de análisis foliares a los 65 DDS.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES
REPORTE DE ENSAYO
RE-R01 (V3)

CIA Centro de
Investigaciones
Agronómicas

**N° DE REPORT 89025**

USUARIO: IRENE GARCIA SOLIS
SUBCLIENTE: TFG - UNA
RESPONSABLE: IRENE GARCIA SOLIS
CORREO: iregarciaz@gmail.com
TELÉFONO: 8939-2021

PROVINCIA: HEREDIA
CANTÓN: BARVA
LOCALIDAD: BARVA
CULTIVO: MAIZ

ANÁLISIS: QC,B,S
FECHA RECEPCIÓN: 18/01/2024
EMISIÓN DE REPORTE: 25/01/2024
N° DE MUESTRAS TOTAL: 20
PÁGINA: 1/2

ANÁLISIS QUÍMICO FOLIAR												
ID USUARIO	IDLAB	% masa						mg/kg				
		N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
T1+S1	P-24-00358	2,71	0,27	0,27	0,14	2,20	0,15	73	10	23	15	12
T1+S2	P-24-00359	2,17	0,29	0,27	0,14	2,43	0,13	65	9	25	17	10
T1+S3	P-24-00360	2,47	0,30	0,33	0,16	2,10	0,15	68	9	29	23	16
T1+S4	P-24-00361	2,26	0,28	0,19	0,11	2,23	0,12	53	9	25	14	13
T2+S1	P-24-00362	2,32	0,23	0,27	0,16	1,36	0,12	53	7	24	15	15
T2+S2	P-24-00363	2,65	0,26	0,26	0,13	1,88	0,13	58	8	26	18	20
T2+S3	P-24-00364	2,62	0,29	0,26	0,16	2,09	0,14	59	9	29	24	15
T2+S4	P-24-00365	3,06	0,30	0,25	0,14	2,11	0,15	67	10	28	23	20
T3+S1	P-24-00366	2,54	0,30	0,23	0,14	2,21	0,15	58	8	28	21	14
T3+S2	P-24-00367	2,79	0,28	0,22	0,14	2,06	0,15	60	9	25	18	14
T3+S3	P-24-00368	3,06	0,30	0,30	0,17	2,01	0,17	68	10	30	17	16
T3+S4	P-24-00369	3,46	0,31	0,29	0,14	2,18	0,17	66	11	33	16	16
T4+S1	P-24-00370	3,36	0,28	0,22	0,12	2,21	0,15	89	8	26	31	16
T4+S2	P-24-00371	3,12	0,30	0,26	0,13	2,27	0,17	77	10	27	34	16
T4+S3	P-24-00372	3,10	0,35	0,23	0,13	2,28	0,18	66	10	31	30	17
T4+S4	P-24-00373	3,18	0,30	0,27	0,12	2,28	0,18	69	10	28	36	16
T5+S1	P-24-00374	3,11	0,31	0,19	0,12	2,71	0,17	69	9	22	15	10
T5+S2	P-24-00375	3,21	0,31	0,19	0,12	2,08	0,17	61	10	25	14	13
T5+S3	P-24-00376	3,14	0,34	0,27	0,14	2,27	0,18	67	10	31	22	17
T5+S4	P-24-00377	3,04	0,34	0,23	0,14	2,30	0,19	67	11	25	24	16

Nota: Elaboración propia, 2026.

Anexo 17. Porcentajes de germinación de semillas prueba *in vitro*.

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE GERMINACIÓN
T1	88,70
T2	96
T3	86,70
T4	90
T5	82,70

Nota: Elaboración propia, 2026.