

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN
(Modalidad tesina)

“Evaluación del efecto de *Azospirillum brasiliense* como inoculante sobre el crecimiento y rendimiento de maíz (*Zea mays*)”.



Alumna: Fogar, Maira Evelin

Asesora: Ing. Agr. M. Sc. Rojas, Julieta Mariana

Lugar de trabajo: EEA INTA Sáenz Peña

Año: 2018

INTRODUCCIÓN

La provincia del Chaco se ubica en la región nordeste argentina (NEA) y cuenta con una superficie de 99.633 km², la cual se la puede clasificar en función a tres subregiones: Chaco sub-húmedo, con un rango de precipitaciones que van entre 1200 y 700 mm; Chaco semiárido, con 700 a 500 mm y Chaco árido, con 500 a 300 mm (RedesChaco, 2012).

El área de estudio donde se ubica el ensayo se encuentra en el centro de la Provincia del Chaco, zona agropecuaria por excelencia, dentro del Dpto. Comandante Fernández. El mismo posee una superficie de 150.000 ha aproximadamente y aloja como ciudad principal a Presidencia Roque Sáenz Peña. El clima oscila según el año entre subhúmedo y continental seco. El promedio anual de precipitaciones es de 983 mm. La temperatura media de la región para el mes más cálido (enero) es de 27°-28°C y la media del mes más frío (julio) es de 14°-15°C, registrándose en verano temperaturas diarias mayores a 40°C y en invierno menores a 0°C, existiendo, por lo tanto, una gran amplitud térmica no sólo anual sino también estacional en los meses de otoño y primavera. La evapotranspiración anual es de 1686 mm que genera un déficit hídrico principalmente en los meses más cálidos (EEA INTA Sáenz Peña, 2015).

En esta región, el régimen pluvial es el principal factor para definir las actividades productivas. Dentro de los sectores productores de bienes en el Chaco se destacan las actividades ligadas al sector agropecuario, siendo el cultivo de algodón uno de los más relevantes históricamente y destacando también hoy la soja, el maíz, el girasol y el sorgo (Zurita *et al.*, 2010).

El maíz es actualmente en la provincia del Chaco uno de los cultivos de renta más importantes, tanto por la creciente superficie sembrada como por su papel dentro de las rotaciones dado que la soja y el girasol, que ocupan la mayor superficie sembrada de la provincia, significando 551.94 y 304.08 ha respectivamente (Datos Abiertos Agroindustria, 2017) son oleaginosas altamente extractivas que exportan gran cantidad de nutrientes en cada cosecha. El maíz aporta en la rotación gran cantidad de materia seca proveniente de los rastrojos y mayor volumen de raíces, ambos fundamentales para el retorno de la materia orgánica al suelo y la protección de la capa superficial del mismo (Rojas *et al.*, 2015). Asimismo, el maíz se ha convertido en uno de los mayores cultivos de interés debido a que es uno de los alimentos básicos más importante para el ser humano, y del cual pueden obtenerse varios productos derivados, tales como aceites, harinas y a su vez se lo puede utilizar como alimento para ganado que luego es consumido o utilizado como productor de alimentos. Cuando analizamos la evolución del uso del grano de maíz, diferenciando entre exportación y mercado interno, vemos que el mercado interno ha aumentado notablemente su consumo. Esto se relaciona con la evolución de las cadenas de agregado de valor ligadas al consumo de este cereal, principalmente la producción de carne tanto para consumo interno como exportación. La Figura 1 muestra la evolución del cultivo de maíz en nuestro país. Se observa cómo ha ido creciendo el área destinada a la siembra de maíz como grano comercial desde el año 2015, pasando de 3,4 millones de ha en la campaña 2014/2015 a 5,4 millones de ha en la 2017/2018, (De Emilio 2018).



Figura 1. Evolución del cultivo de maíz en Argentina para el período 2007-2018.

Obtener una mayor producción y mejoras en el rendimiento es un desafío constante y por ello es necesario buscar diferentes herramientas y alternativas. Una de las prácticas agrícolas usada en la actualidad es el uso de inoculantes, el cual permite ampliar las fronteras agropecuarias y es considerada una práctica sustentable, que podría reducir el impacto que ocasionan los fertilizantes químicos de síntesis (Jones, 2015).

Se sabe que en el suelo, en las zonas de las raíces denominada rizósfera, habita gran cantidad de microorganismos como bacterias, hongos, nematodos, los cuales interactúan entre sí y con la planta, ya sea de forma positiva como negativa. A los organismos que interactúan de forma positiva con los vegetales se las denomina Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés).

Es así como el género *Azospirillum*, perteneciente a la subclase α-proteobacteria la cual alberga un gran número de bacterias simbiontes asociadas a plantas, es considerado como PGPR. *Azospirillum* ha sido aislado colonizando la rizósfera de gramíneas, particularmente de cultivos de importancia económica tales como maíz, trigo y el arroz, desde climas tropicales hasta templados (Patriquin *et al.*, 1983, citado en Gómez *et al.*, 2014). Las raíces de las plantas producen exudados, los cuales son fuente de C que es tomada por las bacterias, y estas a su vez, benefician a la planta de varias maneras: producen secreciones de fitohormonas, fijan N atmosférico, proveen a la planta de macro y micronutrientes, producen sideróforos, solubilizan el fósforo haciéndolo disponible, reducen el daño ocasionado por patógenos, funcionando como agentes de control biológico, también ayudan a resistir a la planta a diferentes condiciones de estrés ambiental, como ser sequía o salinidad (Informe Rizobacter citado por Cracogna *et al.*, 2003; Bellone *et al.*, 2001, citado por Iglesias *et al.*, 2000; Asensio 2017).

La inoculación de plantas con *Azospirillum* ha demostrado tener cambios significativos en varios parámetros de crecimiento, tales como la aceleración de la germinación, aumento de la biomasa aérea de la planta (Canto *et al.*, 2004; Saubidet, 2002, citado en Gómez *et al.*, 2014), aumento del peso seco de raíz, incremento en la velocidad de respiración de la raíz, desarrollo del sistema radical como las raíces laterales, pelos radicales y diámetro de la raíz (Hadas y Okon, 1987; Jain y Patriquin, 1984, citado en Gómez *et al.*, 2014).

Los cambios morfológicos ocurridos en la planta después de la inoculación con *Azospirillum* se le atribuyen a la producción de sustancias que estimulan el crecimiento vegetal, tales como las auxinas, citocininas o citocinas, giberelinas y ácido abscísico (Gómez *et al.*, 2014). El ácido indol acético (AIA) es una auxina que controla procesos fisiológicos tales como el alargamiento y división celular y la diferenciación de tejidos. Si bien la producción de AIA en *Azospirillum* es la más documentada de todas las hormonas que promueven el crecimiento vegetal, no existe una evidencia directa de la participación de esta hormona como el principal mecanismo por el que la bacteria promueve el crecimiento de las plantas. Por lo tanto, la promoción del crecimiento puede ser el resultado de múltiples interacciones de mecanismos como la producción de fitohormonas, la fijación de nitrógeno, entre otros, (Gómez *et al.*, 2014). Otra de las hormonas de interés es el ácido abscísico (ABA), esta molécula juega un papel muy importante en las plantas; los niveles de ABA se incrementan cuando las plantas sufren estrés abiótico, como el estrés hídrico, lumínico, salino, o por heridas. Esta molécula es considerada una molécula de estrés y también es importante en condiciones de desarrollo normal de las plantas, (Gómez *et al.*, 2014). Recientemente se demostró que *A. brasiliense* Sp245 produce ABA en medio de cultivo y que esta producción se incrementa cuando el cloruro de sodio (NaCl) es incorporado al medio de cultivo (Cohen *et al.*, 2007, citado en Gómez *et al.*, 2014). En este mismo trabajo, la inoculación de *Arabidopsis thaliana* con *A. brasiliense* Sp245 incrementó dos veces la cantidad de ABA en la planta (Cohen *et al.*, 2007, citado en Gómez *et al.*, 2014). Estos resultados evidencian que el género posee la estructura necesaria para la síntesis de ABA y también pueden explicar los efectos benéficos de *Azospirillum* en plantas bajo condiciones de estrés.

Las evidencias de mitigación del estrés por parte de *Azospirillum* que fueron reportadas en el cultivo de maíz son diversas. A nivel plántula, (Casanovas *et al.*, 2002; Casanova et al., 2003, citado en García *et al.*, 2015) reportaron que la inoculación con esta bacteria en condiciones de estrés hídrico indujo a incrementos en altura, área foliar, peso fresco y peso seco, tanto aéreo como radicular, mayor superficie de la raíz, una mejora en el potencial agua y en el contenido relativo de agua, un mayor contenido de prolina (aminoácido) en raíces y parte aérea respecto a los controles sin inocular. En plantas adultas de maíz sometidas a estrés hídrico en floración, la inoculación con *Azospirillum* aumentó la conductancia estomática y el contenido de clorofila. Por otro lado, (Rodríguez Salazar *et al.*, 2009, citado en García *et al.*, 2015) demostró que la inoculación con una cepa transformada de *A. brasiliense* sobreexpresante de los genes de la biosíntesis de trehalosa incrementó la supervivencia, altura de planta y el largo de raíces y el contenido relativo de agua de plantas de maíz sometidas a estrés hídrico comparada con las plantas no inoculadas.

Respecto a otros factores como la presión de herbicidas, también se han reportado efectos de la inoculación con *Azospirillum*. Los microrganismos, tendrían la capacidad de realizar la mineralización de varios herbicidas, dependiendo de la habilidad, cantidad de microorganismos y la disponibilidad del herbicida (Entry *et al.*, 1996; Correa *et al.*, 2007; Hamaoui *et al.*, 2001, citado en Cardozo *et al.*, 2015). En este sentido se ha demostrado la capacidad de bacterias del género *Azospirillum* para tolerar presencia de herbicidas (Omar *et al.*, 1992, citado en Cardozo *et al.*, 2015) y degradar xenobióticos (Venkateswarlu *et al.*, 1984, citado en Cardozo *et al.*, 2015). La inoculación

de *Azospirillum* mitigaría los efectos deletéreos de estos herbicidas en semillas de maíz, principalmente a nivel de raíz (Cardozo *et al.*, 2015).

Es importante también destacar la importancia de algunas enfermedades en los cultivos, debido a las grandes pérdidas económicas que conllevan, es por eso que se han buscado alternativas para poder controlarlo de una manera amigable con el ambiente. En la actualidad ha cobrado un gran auge el uso de métodos alternativos no agresivos para el ambiente, siendo el control biológico uno de los más prometedores y es un componente importante en las iniciativas de agricultura sostenible (Di Barbaro *et al.*, 2014). Resultados de ensayos en maíz informaron que en parcelas inoculadas con *Azospirillum* se habría producido menor aborto de flores debido a *Ustilago maydis*, agente causal de la enfermedad conocida como “carbón común del maíz”. Si bien no se hallaron diferencias en biomasa, las plantas inoculadas tuvieron mayor rendimiento; de todos modos esta hipótesis no fue comprobada a campo (Di Salvo, 2015).

Los beneficios de la inoculación con *Azospirillum spp.* han sido demostrados en numerosas oportunidades, sin embargo la respuesta en condiciones de campo a menudo es poco consistente (Schulze & Pöschel, 2004; Kozdroj *et al.*, 2004, citado en Abril, 2006). Por tal motivo, la inoculación con *Azospirillum spp.* estaría asociada a resultados impredecibles e inconstantes (Bacilio Jiménez *et al.*, 2001; Kaushik *et al.*, 2002; Saubidet *et al.*, 2002, citado en Abril, 2006), lo que ha restringido el desarrollo comercial de inoculantes a gran escala (Dobbelaere *et al.*, 2002; Kozdroj *et al.*, 2004, citado en Abril, 2006).

En la provincia del Chaco no hay prácticamente experiencias documentadas sobre el efecto de la inoculación de maíz con *Azospirillum*. Dada la conveniencia económica y ambiental de esta práctica se ha desarrollado durante dos campañas (2015-16 y 2016-17) en el Ensayo de Rotaciones de Siembra Directa correspondiente a la EEA INTA Sáenz Peña, una experiencia de inoculación con una cepa de *Azospirillum* específica para maíz para evaluar el efecto en parámetros de crecimiento y rendimiento. En el primer año de esta experiencia (campaña 2016) se observó que las plantas inoculadas presentaron mayor promedio de altura de plantas, peso seco de hoja y tallo y alrededor de 1200 kg.ha⁻¹ más de rendimiento en grano respecto de las no inoculadas (datos no publicados), lo que generó la necesidad de corroborar estos datos con la misma variedad de maíz dentro de la siguiente rotación en el mismo ensayo en la siguiente campaña frente a un nuevo año climático. El costo de la inoculación fue de U\$S 22.74/L o U\$S 4.54/dosis de 200 cm⁻³ para una bolsa de semillas, lo cual lo vuelve además una práctica sumamente económica para los resultados que se pudieron observar en el primer año. El objetivo principal de la actual tesina fue comprobar el efecto de la inoculación de maíz con *Azospirillum brasiliense* para verificar en la campaña 2016-17 los resultados de la campaña previa 2015-16, donde la inoculación mostró un efecto significativo en el aumento de rendimiento en el cultivo, como fundamento para recomendar su utilización en este cultivo.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Evaluar el efecto de *Azospirillum brasiliense* como inoculante en el crecimiento y rendimiento del cultivo de maíz en el Ensayo de Rotaciones en Siembra Directa en el Departamento Comandante Fernández (Chaco) durante la campaña 2016-2017.

Objetivos específicos:

- Determinar la altura de plantas de maíz inoculadas y sin inocular con *A. brasiliense*.
- Determinar la biomasa de raíz, tallo y hojas en plantas de maíz inoculadas y sin inocular con *A. brasiliense*.
- Determinar el rendimiento de maíz inoculado y sin inocular con *A. brasiliense* mediante el número de espigas y peso de los granos.
- Comparar resultados de la campaña 2015-16 con los obtenidos por medio del presente trabajo para determinar la conveniencia de recomendar la práctica de la inoculación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se encontraba ubicado en el Campo Experimental de la EEA INTA Sáenz Peña ($26^{\circ} 51' 11.94''$ S, $60^{\circ} 25' 27.22''$ O), sobre tres series de suelo (Ledesma, 1996): Golondrina (*Argiustol Údico*), Matanza (*Argiustol Údico*) y Paz (*Albacualf Vértico*), representados en la figura 2, las tres series de textura franco-arcillo-limosa. Los suelos de las series Golondrina y Matanza son de origen forestal y pueden presentar problemas de erosión hídrica o salinidad.



Figura 2. Series de suelos del ensayo en el Campo Experimental de la EEA INTA Sáenz Peña.

En las figuras 3 y 4 se detallan las precipitaciones de la campaña 2015-16 y 2016-17, con un total de 468,1 mm y 812,3 mm respectivamente.

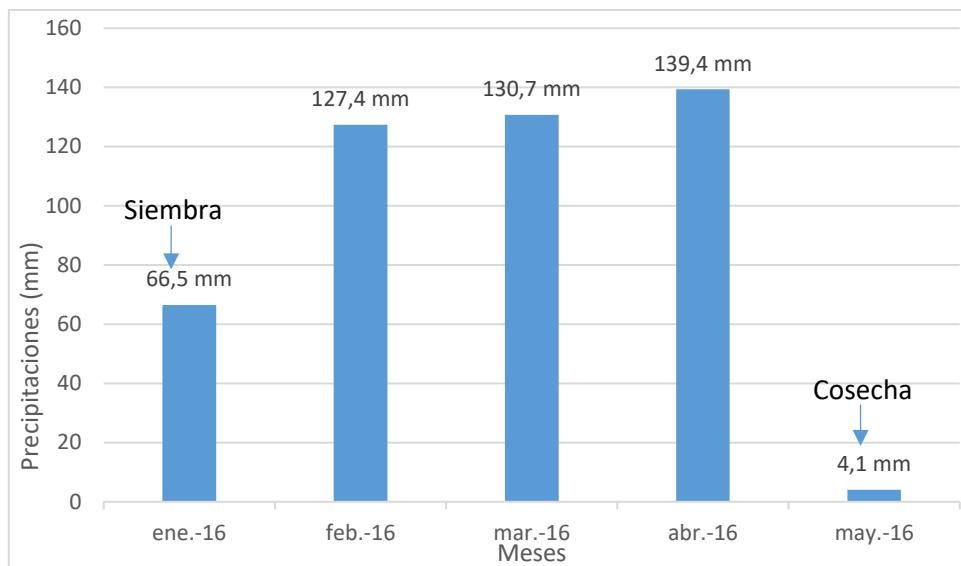


Figura 3. Precipitaciones en el ciclo del maíz, durante el período 01/2016 al 05/2016.

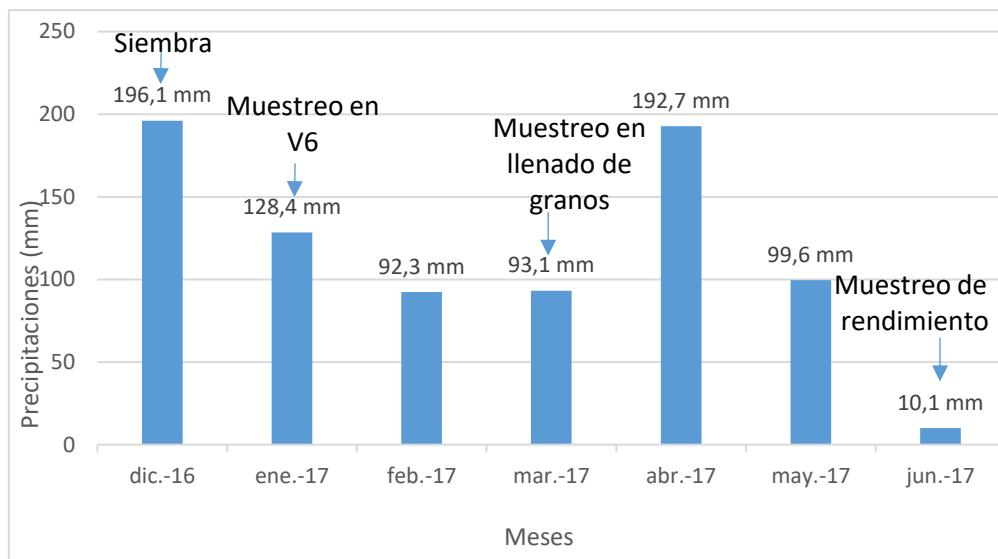


Figura 4. Precipitaciones en el ciclo del maíz, período 12/2016 al 06/2017.

El ensayo correspondiente a la campaña 2016-2017 consistía en un diseño de bloques completamente aleatorizados con 4 bloques que representan cada uno una repetición de dimensiones de 108 x 90 m, abarcando en total una superficie de 3,8 ha. Los bloques II, III y IV se sembraron con el híbrido SYN139VIPETRA3 el 22 de diciembre de 2016, el bloque I se sembró con el hijo de híbrido por inconvenientes en la siembra que luego impidieron continuar con la misma semilla. Se sembró a una distancia de 0,52 cm, intercalando cada 6 líneos, 3 líneos de semillas inoculadas con *Azospirillum*, cargando 3 cuerpos del extremo derecho de la sembradora de 9 cuerpos con la semilla inoculada. Como inoculante se utilizó el producto denominado Azollum M, cuyo principio activo es *Azospirillum brasiliense* Tuc 27/85, de formulación líquida producido por el Laboratorio San Pablo (Tucumán, Argentina) a una dosis de 200 cc cada 20 kg de semillas. El costo de la dosis por bolsa de semilla a diciembre de 2016 fue de \$85.

Durante el período de crecimiento del maíz, en V6 y en llenado de granos se midieron los siguientes parámetros en ambos tratamientos, inoculado y sin inocular en 3 submuestras por tratamiento y por bloque:

- Altura de plantas: se tomó la altura en m con la regla correspondiente de 7 plantas en cada franja inoculada y sin inocular, dando un número total de 168 plantas medidas.
- Biomasa de raíces: luego de ser cuidadosamente extraída 1 planta completa de cada franja inoculada y sin inocular, resultando en un total de 24 plantas evaluadas. Se lavaron las raíces, y se llevaron a estufa a 65°C durante 48 h. Se tomaron menos mediciones para biomasa dado el carácter destructivo de esta medición.
- Biomasa aérea (tallos y hojas por separado): luego de ser cuidadosamente extraída 1 planta completa de cada franja inoculada y sin inocular, resultando en un total de 24 plantas evaluadas. Se separaron los tallos de las hojas y se llevaron ambos a estufa a 65°C durante 48 h.
- Rendimiento de maíz en peso de granos y cantidad de espigas por planta: se tomaron muestras de dos líneas de un metro en cada franja inoculada y sin inocular, en un total de 32 muestras. Se pesaron los granos y se llevó el peso de los granos a kg/ha.

El análisis estadístico se realizó por medio del programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018). Se utilizó un enfoque de modelos mixtos, tomando como efecto fijo el efecto del tratamiento con y sin inoculante y como efecto aleatorio el bloque. Se utilizó el test LSD Fisher ($\text{Alfa}=0.05$) para determinar diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento.

RESULTADOS

A. Determinaciones en etapa vegetativa (V6)

La primer determinación se realizó en la fecha 27/01/2017, cuando la planta se encontraba en la etapa vegetativa denominada V6, o cuando 6 hojas se encuentran desplegadas y es posible observar sin romper, la ligula de la última hoja expandida. La tabla 1 contiene los valores medios, máximos y mínimos para cada parámetro medido, además de la significancia estadística.

Tabla 1. Medidas de resumen de altura de planta (AP), peso seco (PS) de raíz, tallo, hojas y biomasa aérea obtenidos en V6

Parámetro	Inoculado				Sin inocular				
	n	Mín	Máx	DE	CV	Mín	Máx	DE	CV
Altura de planta (m)	168	0,9	1,8	0,1	13,2	0,8	1,5	0,1	15,2
PS de raíz (g)	24	18,0	84,0	21,8	47,3	18,0	54,0	12,6	38,3
PS de tallo (g)	24	33,0	108,0	19,7	30,5	27,0	106,0	23,6	47,4
PS de hojas (g)	24	19,0	44,0	7,0	22,3	23,0	70,0	15,9	42,9
PS biomasa aérea (g)	24	66,0	152,0	23,3	24,3	50,0	144,0	25,1	28,8

Tabla 2. Medidas ajustadas, errores estándares y p- valores*para el tratamiento inoculado y sin inocular para las variables altura de planta (AP), peso seco (PS) de raíz, tallo, hojas y biomasa aérea obtenidos en V6

Tratamiento	Altura de planta (m)		PS de raíz (g)		PS tallo (g)		PS hojas (g)		PS biomasa aérea (g)	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Inoculado	1,21 a	0,07	46,0 a	5,14	64,6 a	8,00	31,3 a	3,55	95,8 a	7,81
Sin inocular	1,17 a	0,07	32,9 a	5,14	49,9 a	8,00	37,0 a	3,55	87,0 a	7,81
P- valor	0,0679		0,0860		0,0740		0,2669		0,3606	

*Test LSD Fisher (Alfa=0,05). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).



Figura 5. Estado del cultivo en V6.



Figura 6. Determinación de altura en V6.

Las siguientes figuras representan los resultados de los valores numéricos expresados en la tabla 2:

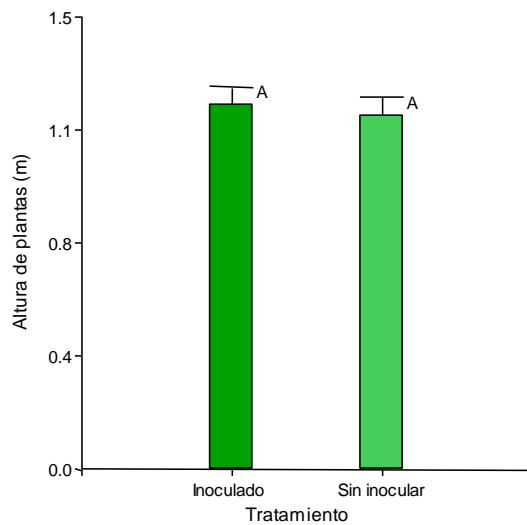


Figura 7. Altura media de planta (m) para el tratamiento inoculado sin inocular.

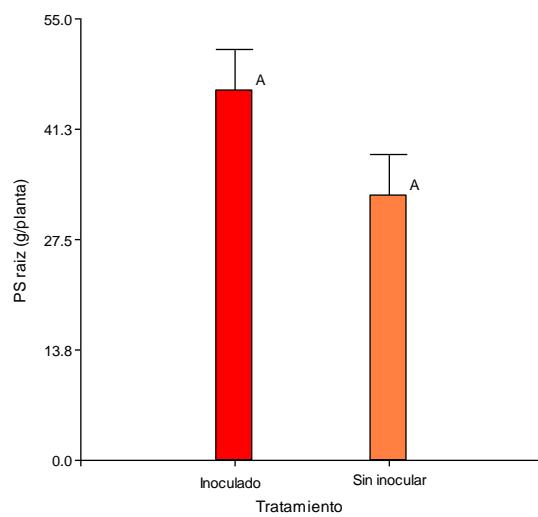


Figura 8. Peso seco promedio de raíz para el tratamiento inoculado y sin inocular.

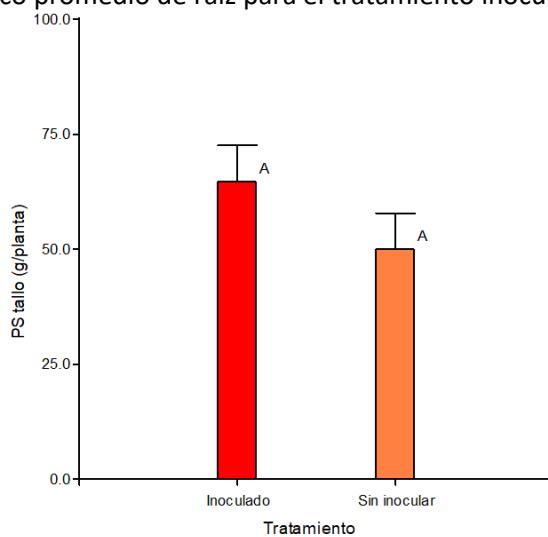


Figura 9. Peso seco promedio de tallo para el tratamiento inoculado y sin inocular.

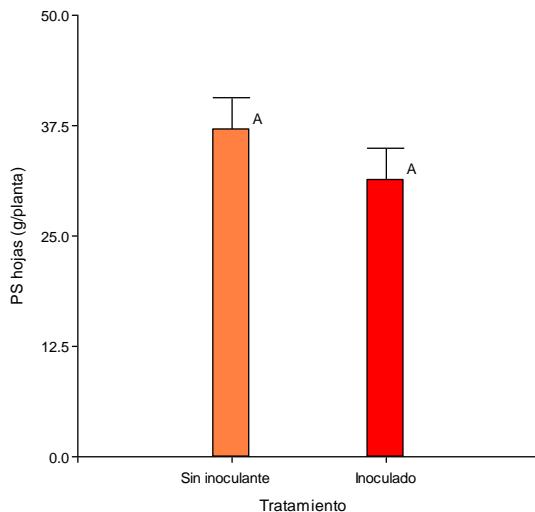


Figura 10. Peso seco medio de hojas para el tratamiento sin inocular e inoculado.

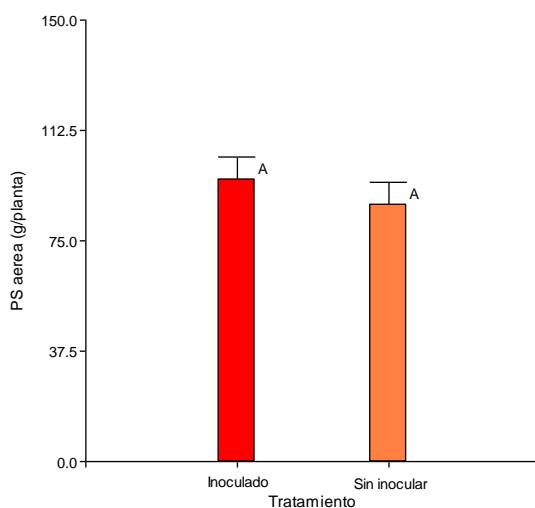


Figura 11. Peso seco promedio de parte aérea para el tratamiento inoculado y sin inocular.

B. Determinaciones en llenado de granos

Se realizaron el día 23/03/2017, a los 91 días después de la siembra. El llenado de los granos comienza luego de ocurrida la fecundación y finaliza una vez que se alcanza la madurez fisiológica.

Tabla 3. Medidas de resumen de altura de planta (AP), peso seco (PS) de raíz, tallo, hojas y parte aérea obtenidos en llenado de granos.

Tratamiento	Inoculado					Sin inocular				
	n	Mín	Máx	DE	CV	Mín	Máx	DE	CV	
Altura de planta (m)	168	1,9	2,8	0,1	7,1	1,9	2,8	0,2	8,5	
PS de raíz (g)	24	446,0	1131,0	241,8	34,5	200,0	900,0	182,4	30,6	
PS de tallo (g)	24	78,0	360,0	91,6	53,4	75,0	232,0	47,9	35,1	

PS hojas (g)	24	56,0	120,0	19,6	25,2	40,0	102,0	16,7	24,3
PS biomasa aérea (g)	24	136,0	460,0	107,4	43,0	122,0	304,0	59,5	29,0

Tabla 4. . Medidas ajustadas, errores estándares y p- valores*para el tratamiento inoculado y sin inocular para las variables altura de planta (AP), peso seco (PS) de raíz, tallo, hojas y parte aérea obtenidos en llenado de granos

Tratamiento	Altura de plantas (m)		PS de raíz (g)		PS tallo (g)		PS hojas (g)		PS biomasa aérea (g)	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Inoculado	2,51 a	0,09	700,0 a	86,6	171,6 a	27,3	77,8 a	5,5	249,0 a	32,0
Sin inocular	2,53 a	0,09	595,0 a	86,6	136,3 a	27,3	69,0 a	5,5	205,3 a	32,0
P- valor	0,253		0,164		0,187		0,242		0,0169	

*Test LSD Fisher (Alfa=0,05). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).



Figura 12. Extracción de plantas en llenado de granos.

Las siguientes representaciones gráficas corresponden a los valores numéricos detallados en la Tabla 4:

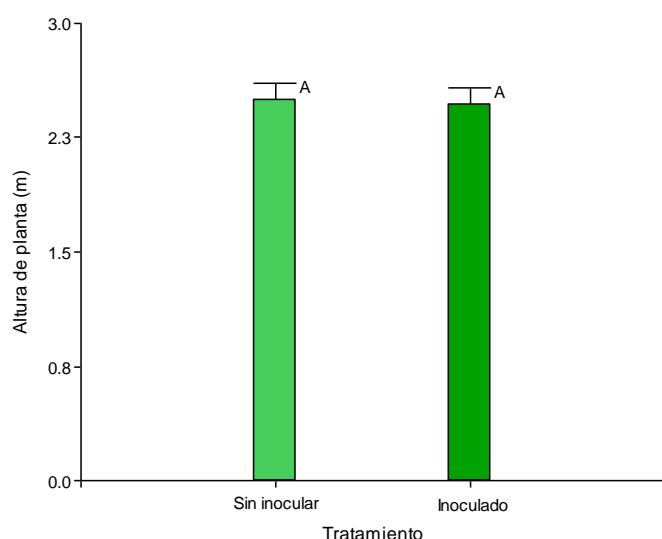


Figura 13. Altura promedio de plantas para el tratamiento sin inocular e inoculado.

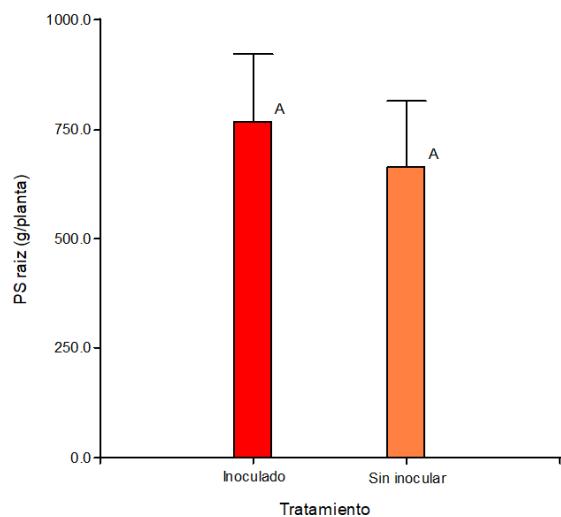


Figura 14. Peso seco promedio de raíz para el tratamiento inoculado y sin inocular.

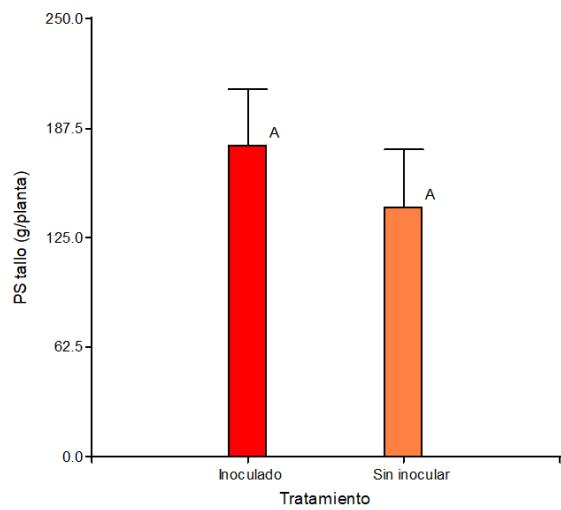


Figura 15. Peso seco promedio de tallos para el tratamiento inoculado y sin inocular.

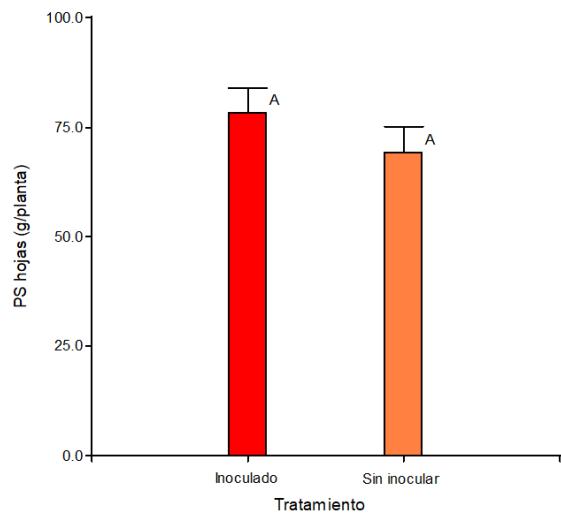


Figura 16. Peso seco medio de hojas para el tratamiento inoculado y sin inocular.

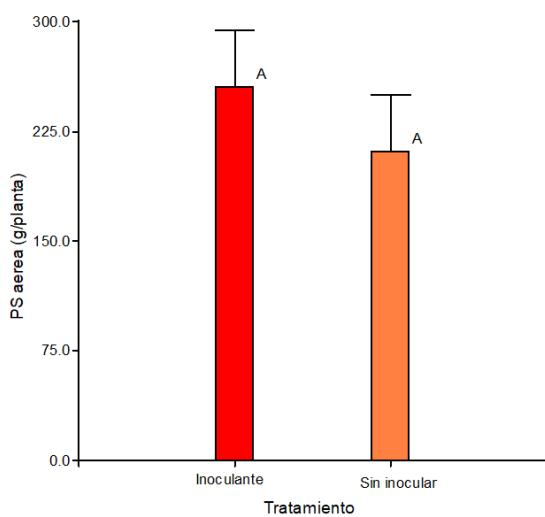


Figura 17. Promedio de peso seco de biomasa aérea para los tratamientos inoculado y sin inocular.

C. Determinaciones en secado de grano

Se realizaron el día 14/06/2017. El promedio de humedad fue de 20% y se corrigieron los pesos de grano en función de la humedad con la siguiente fórmula:

$$PS \text{ grano} = PHg + \frac{|(14.5 - \%H) * PHg|}{100}$$

Donde PHg es el peso de los granos en el momento de la medición y % H la humedad tomada por medio de humedímetro digital.

Tabla 5. Promedio del número de espigas tomadas en dos metros lineales y rendimiento (Kg/ha)

	Inoculado					Sin inocular			
	n	Mín	Máx	DE	CV	Mín	Máx	DE	CV
Número de espigas/m ²	32	7,0	10,0	0,96	11,42	5,0	11,0	1,46	17,18
Rendimiento (Kg/ha)	32	5503,8	12690,0	1873,4	18,5	5261,5	13756,3	2365,0	24,3

Tabla 6. Medidas ajustadas, errores estándares y p- valores*para el tratamiento inoculado y sin inocular obtenidos en secado de granos

Tratamiento	Rendimiento (kg/ha)	EE
Inoculado	10085,7 a	8,97
Sin inocular	9731,2 a	8,97
P- valor	0,530	

*Test LSD Fisher (Alfa=0,05). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).



Figura 18. Toma de las muestras de espigas.

La siguiente figura representa los resultados de los valores numéricos expresados en la Tabla 6:

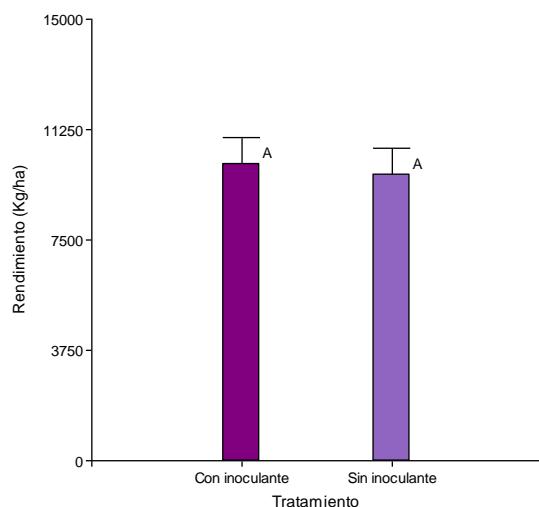


Figura 19. Rendimiento promedio para el tratamiento inoculado y sin inocular.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que hubo un incremento tanto en la biomasa aérea como radical en el tratamiento inoculado con respecto al tratamiento sin inocular, siendo el peso seco de hojas en etapa vegetativa el único valor que arrojó valores inferiores en el tratamiento inoculado. Con respecto a la altura de plantas se puede concluir que el tratamiento inoculado fue mayor en etapa vegetativa, pero contrariamente en llenado de granos arrojó valores inferiores. El rendimiento también fue mayor en el tratamiento inoculado en 354,5 kg/ha promedio. Todos los parámetros evaluados que fueron mayores en el tratamiento inoculado no fueron estadísticamente

significativos a diferencia de la campaña anterior 2015-2016 en el mismo ensayo de Rotaciones en Siembra Directa (Datos no publicados). Es importante dejar claro las diferencias entre precipitaciones en el ciclo de cada campaña evaluada, dado que en el 2016 las precipitaciones totales durante el ciclo sumaron 468,1 mm y en el 2017 sumaron 812,3 mm (Figura 20).

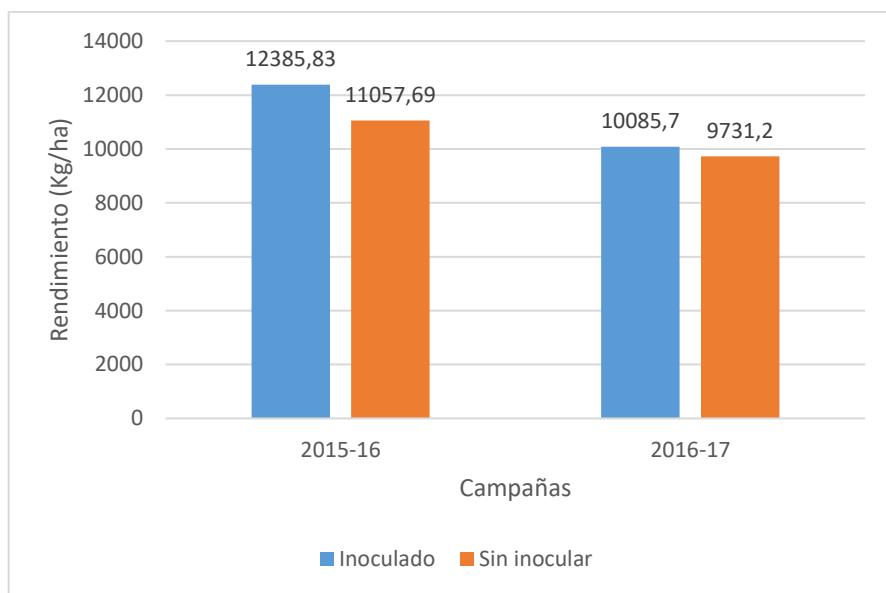


Figura 20. Rendimiento de maíz según tratamientos de semillas con *Azospirillum brasiliense*, en la localidad de Sáenz Peña, para dos ambientes hídricos diferentes. Las características de sitio y manejo de los experimentos fueron similares en las dos campañas.

En ensayos de INTA Pergamino realizados durante 10 campañas (2002-2012), la inoculación con *Azospirillum* generó en promedio un 8% de incremento en los rendimientos de trigo en (alrededor de 200 kg/ha), especialmente en años de sequía (Aapresid, 2013). En maíz se observaron resultados similares, con incrementos de rendimiento aproximado de 6,4% tanto en años secos como húmedos (Aapresid, 2013). A su vez, se halló que el grado de respuesta de la inoculación estuvo estrechamente relacionado con las lluvias durante el período vegetativo; menos lluvias en etapas tempranas, mayor porcentaje de respuesta, en tanto la relación con las lluvias en etapas reproductivas es menos clara (Aapresid, 2013). Esto coincide con lo ocurrido en la campaña 2015-16 informado en el presente trabajo, ya que meses anteriores a la siembra y en el momento de la misma, la media en precipitación estuvo por debajo del promedio histórico. Díaz-Zorita *et al.* (2012b, citado por Cassán *et al.*, 2016) basado en 298 ensayos experimentales de Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay, también concluyeron que las respuestas del maíz a la inoculación fueron mayores bajo condiciones estresantes durante el crecimiento temprano de los cultivos. En cultivos de trigo ha sido descripto que la respuesta del grano a la inoculación con *A. brasiliense* en la región pampeana semiárida y subhúmeda de Argentina disminuye cuando las lluvias aumentan (Rodríguez Cáceres *et al.*, 2008 citado por Cassán *et al.*, 2016). Esta información se considera muy valiosa para la zona donde se desarrolló el ensayo dada la variabilidad de las lluvias en las fechas óptimas de siembra de los cultivos de renta, donde muchas veces esperar la humedad necesaria compromete el desarrollo de los

mismos según la duración de su ciclo. Como se puntuó anteriormente, en la campaña evaluada (2016-2017) hubo óptimas precipitaciones, sin embargo el sistema radicular fue el parámetro de mayor incremento, lo cual podría sugerir que aún bajo buenas condiciones de humedad la inoculación con *A. brasiliense* promovió el crecimiento radical y esto redundó en una mejor exploración del suelo en busca de agua y nutrientes.

Cassán *et al.* (2016), mencionan que las respuestas a la inoculación con *Azospirillum sp.* varía entre tipos de suelo y cultivos. En observaciones realizadas en Minas Gerais, Brasil, fue la relación entre el volumen de la raíz y el peso seco de la raíz (VR: PSR) donde la inoculación con *Azospirillum* en suelos arcillosos aumentó indicando un mayor volumen explorado de suelo por las raíces y sugiriendo además que *A. brasiliense* puede mejorar el consumo de agua y nutrientes. No se observaron efectos similares de *A. brasiliense* en inoculación en suelo arenoso, esta respuesta podría estar asociada a la baja fertilidad y las propiedades fisicoquímicas del suelo arenoso; sin embargo, cuando se inoculó y además se agregaron nutrientes la relación VR:PSR aumentó significativamente (Ferreira, 2013). En el presente trabajo los resultados obtenidos en las dos campañas evaluadas corresponden a suelos *Argiustol Údico* de textura franco arcilloso y franco arcillo limoso, señalando que las raíces de maíz que se desarrollan en suelos de esta textura predominante en la zona responden a la inoculación.

Otras investigaciones hallaron que la inoculación de *A. brasiliense* tuvo el mismo rendimiento de grano de maíz en comparación con el tratamiento con nitrógeno. La producción de grano se incrementó además en un 29% en el tratamiento con *A. brasiliense* y nitrógeno en comparación con la fertilización con nitrógeno solo (Ferreira, 2013). Contrariamente, otros resultados de ensayos indican que la respuesta a la inoculación se dio tanto en condiciones fertilizadas como no fertilizadas, y que la inoculación no reemplazó el efecto del fertilizante inorgánico, por lo que debería pensarse como práctica complementaria (Aapresid, 2013).

Los beneficios reportados en el rendimiento del grano del cultivo se explican principalmente por el aumento en la cantidad de grano producido en respuesta a un mejor crecimiento vegetativo en cultivos inoculados (Cassán *et al.*, 2016). Durante la etapa de postfloración, la planta experimenta un proceso de removilización y translocación de reservas (carbohidratos y nutrientes) desde el resto de la misma hacia los granos, quizás teniendo entonces mayor peso seco en sus órganos incrementaría el rendimiento. En la campaña 2015-16, se tradujo en un aumento en el rendimiento del tratamiento inoculado de aproximadamente 2300 kg/ha comparado con el tratamiento inoculado de la campaña 2016-17. En lo que respecta al porcentaje de aumento del rendimiento del cultivo, el tratamiento inoculado fue superior en sólo un 3,54%, a diferencia de la campaña anterior donde el aumento había sido de 13,28%. Se ha informado previamente para maíz en otros trabajos aumentos de rendimiento sin diferencias significativas en los tratamientos con respecto al testigo (Valle *et al.*, 2006; García-Olivares *et al.*, 2007). Sin embargo Cassán *et al.* (2016), reportaron que en un estudio realizado en dos sitios representativos en las pampas semiáridas-subhúmedas cultivadas con centeno (*Secale cereale L.*) como cultivo de cobertura, se observó una respuesta media en producción de materia seca inoculada con *A. brasiliense* en un 13% de incremento, coincidiendo con el determinado para el presente ensayo para la campaña 2015-2016.

En general se puede decir que existen muchas inconsistencias en los resultados de la inoculación con *Azospirillum*, lo cual es el principal obstáculo que impide una amplia difusión comercial, pero por otra parte hay suficiente evidencia a favor de la conveniencia ecológica y económica de implementar esta práctica principalmente en ambientes climáticamente inestables o desfavorables.

CONCLUSIÓN

Aunque en la presente campaña no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en el rendimiento de maíz inoculado respecto del maíz sin inocular, se registró un aumento en el mismo y mayores valores en los parámetros como altura de plantas, biomasa aérea y radical en las plantas inoculadas. Este aumento se considera una respuesta positiva a la inoculación, favorable para el crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz.

Por otra parte, dado que las precipitaciones fueron óptimas durante el ciclo del cultivo respecto a la campaña anterior también se sugiere que la práctica puede ser favorable en años que se pronostican secos, y en suelos de textura arcillosa.

BIBLIOGRAFÍA

- Abril, A., Biasutti, C., Maich, R., Dubbini, L., & Noe, L. (2006). Inoculación con *Azospirillum spp.* en la Región Semiárida-Central de Argentina: factores que afectan la colonización rizosférica. Ciencia del suelo, 24(1), 11-19.
- Asensio, N. H. (2017). Los microorganismos: aliados de las plantas frente a los efectos del cambio climático y otros estreses abióticos. <https://aefa-agronutrientes.org/los-microorganismos-alizados-de-las-plantas-frente-a-los-efectos-del-cambio-climatico-y-otros-estreses-abioticos>. Fecha de consulta: 02/08/18.
- Asociación Argentina de Productores de Siembra Directa (AAPRESID). 2013. Aportes de la microbiología de suelos a la producción de cultivos. En: <http://www.aapresid.org.ar/blog/aportes-de-la-microbiologia-de-suelos-a-la-produccion-de-cultivos/>
- Bacilio- Jimenez, M; S Aguilar- Flores; MV Del Valle; A Perez; A Zepeda & E Zenteno. 2001. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasiliense*. Soil Biol. Biochem. 33:167-172.
- Bellone C H; Carrizo de Bellone S; Jaime M A; Manilla A M y Monzón de Ascorregui M A: 1999. Respuesta de dos cultivares de maíz (*Zea mays L*) a la inoculación con distintos aislamientos de *Azospirillum spp.* II Reunión Científico Técnica- Biología Del Suelo- Fijación biológica del Nitrógeno. Universidad Nacional de Catamarca – Facultad de Ciencias Agrarias. Pág. 283-286.
- Canto MJC, Medina PS, Morales AD. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum sp.* en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense Jacquin*). Trop. Subtrop Agroecosys. 4: 21-27.
- Casanovas E.M., Barassi C.A., Andrade F. H., Sueldo R.J. 2003. Azospirillum-inoculated maize plant responses to irrigation restraints imposed during flowering. Cereal research communications. 31:395-402.

- Casanovas E.M., Barassi C.A., Sueldo R.J. 2002. Azospirillum inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings. *Cereal Research Communications* 30:343-350.
- Cassán, F., & Diaz-Zorita, M. (2016). Azospirillum sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biology and Biochemistry*, 103, 117-130.
- Cohen A, Bottini CR, Piccoli PN. 2007. Azospirillum brasiliense Sp245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increase ABA content in *Arabidopsis* plants. *Int. J. Plant Growth Regul.* 12: 52-60.
- Correa, O., A. Romero, M. Montecchia, M. Soria 2007. Tomato genotype and Azospirillum inoculation modulate the changes in bacterial communities associated with roots and leaves. *Journal of Applied Microbiology* 781-786pp.
- Cracogna, M. F.; Iglesias, M. C.; Diaz, I.; González, N.; Carbajal, M. L. (2003). Utilización de Azospirillum y bacterias solubilizadoras de fósforo en el cultivo de trigo. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*.
- Datos Abiertos Agroindustria. 2017. Sitio Información Agropecuaria- Ministerio de Agroindustria: En: <https://datos.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>. Fecha de consulta: 16/02/17.
- De Emilio, M. S. (2018). El futuro del maíz argentino. INTA Las Rosas.
- Di Barbaro, G., & Paz, M. I. BIOLOGÍA EN AGRONOMÍA.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Di Salvo, A. L. L. P., de Estudios, C., & Gurni, A. A. (2015). Cátedra de Microbiología Agrícola Facultad de Agronomía–UBA.
- Díaz-Zorita, M., Micucci, F.G., Fernandez-Canigia, M.V., 2012b. Field performance of a seed treatment with Azospirillum brasiliense on corn productivity. In: Perez, J.C., Soler Arango, J., Posada Uribe, L.F. (Eds.), PGPR. 9th International and 1st Latinamerican PGPR Workshop. "Returning to Our Roots". Quirama, Medellín (Colombia), June 3rd-8th 2012.
- Dobbelaere, S; A Croonenborghs; A Thys; D Ptacek; Y Okon & J Vanderleyden. 2002. Effect of inoculation with wild type Azospirillum brasiliense and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biol. Fert. Soils* 36: 284-297.
- Entry, J. y W. Emmingham 1996. Influence of vegetation on microbial degradation of atrazine and 2,4-D in riparian soils. *Can. J. Soil.* 101-106pp.
- Ferraris, A. M. G. N. (2012). INOCULACIÓN CON MICROORGANISMOS CON EFECTO PROMOTOR DE CRECIMIENTO (PGPM) EN TRIGO. CONOCIMIENTOS ACTUALES Y EXPERIENCIAS REALIZADAS EN LA REGIÓN PAMPEANA ARGENTINA.
- Ferreira, A. S., Pires, R. R., Rabelo, P. G., Oliveira, R. C., Luz, J. M. Q., & Brito, C. H. (2013). Implications of Azospirillum brasiliense inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. *Applied soil ecology*, 72, 103-108.
- García, J. E.; Creus, C.; Suárez Rodríguez, R.; Ramírez-Trujillo, J. A.; Perticari, A. y Groppa, M. D. (2015). Respuesta temprana al estrés hídrico de plantas de maíz inoculadas con diferentes cepas de Azospirillum brasiliense. Trabajo presentado en II Congreso Nacional de Biología Molecular de Suelos, San Salvador de Jujuy.

- Gómez, M. M.; Mercado, E. C.; Pineda, E. G. 2014. Azospirillum una rizobacteria con uso potencial en la agricultura. Biológicas 16(1): 11 – 18.
- Hadas R, Okon Y. 1987. Effect of Azospirillum brasiliense inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. Biol. Fertil. Soils. 5: 241-247.
- Hamaoui, B., J.Abbadi, S. Burdman, A. Rashid, S. Sarig, Y. Okon 2001. Effects of inoculation with A.brasilense on chickpeas and faba beans under different growth conditions. Agronomie 553-560pp.
- Iglesias, M. C., Fogar, M. N., Cracogna, M. F., Rotela, D., & Ferrero, A. R. (2001). Inoculación con Azospirillum sp en cultivos comerciales. Trigo. Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Sec. Gral. de Ciencia y Técnica UNNE.
- Jain DK, Patriquin DG. 1984. Root hair deformation, bacterial attachment, and plant growth in wheat-Azospirillum associations. Appl. Environ. Microbiol. 48: 1208-13.
- Jones, C. 2015. SOS: Save our Soils.
[file:///C:/Users/evefo/Downloads/SOS%20Jones_ACRES_USA%20\(March2015\).pdf](file:///C:/Users/evefo/Downloads/SOS%20Jones_ACRES_USA%20(March2015).pdf). Fecha de consulta: 06/08/18.
- Kaushik, R; AK Saxena & KVBR Tilak. 2002. Can Azospirillum strains capable of growing at a sub-optimal temperature perform better in field-grown-wheat rhizosphere. Biol. Fert. Soils 35:92-95.
- Kozdroj, J; JT Trevor & JD Van Elsas. 2004. Influence of introduced potential biocontrol agents on maize seedling growth and bacterial community structure in the rhizosphere. Soil Biol.Biochem 36:1775-1784.
- Omar, M., O. Berge, E. Hassanein, S. Shalan 1992. In vitro and in situ effects of herbicide thiobencarb on rice-Azospirillum association. Symbiosis 55-63pp.
- Patriquin DG, Döbereiner J, Jain DK. 1983. Sites and processes of association between diazotrophs and grasses. Can. J. Microbiol. 29: 900-15.
- Redes Chaco. 2017. Gran Chaco Americano. En <http://www.redeschaco.org/index.php/el-gran-chaco-2/gran-chaco-americano>. Fecha de Consulta: 02/08/18
- Rizobacter “Desarrollo de la aplicación de Pseudomonas solubilizadoras de fósforo en los principales cultivos del norte de Buenos Aires, Trigo” Estación Experimental Agropecuaria Pergamino, On-line disponible www.rizobacter.com.ar conectado el 17/11/02.
- Rodríguez Caceres, E.A., Di Ciocco, C.A., Carletti, S.M., 2008. 25 años de investigación de Azospirillum brasiliense Az39 en Argentina (25 years of research about Azospirillum brasiliense Az39 in Argentina). In: Cassan, F.D., García de Salomone, I. (Eds.), Azospirillum sp.: Cell Physiology, Plant Interactions and Agronomic Research in Argentina. Asociacion Argentina de Microbiología, Buenos Aires (Argentina), pp. 179e188.
- Rodríguez-Salazar J., Suarez Rodríguez R., Caballero-Mellado J., Iturriaga G. 2009. Trehalose accumulation in Azospirillum brasiliense improves drought tolerance and biomass in maize plants. FEMS Microbiol Lett. 296:52-59.
- Rojas, J. M.; Guevara, G. S. & Roldán, M. F. 2017. Rotaciones en siembra directa con énfasis en la producción de algodón en el domo agrícola de la provincia del Chaco. En: Salvagiotti, F.; Krüger H. R.; Studdert, G. (Eds.), Ensayos de larga duración en Argentina: un aporte al logro de sistemas agrícolas sustentables. Vol.1. 1a edn Pp. 61-82. Ediciones INTA.

-Saubidet MI, Fatta N, Barneix AJ. 2002. The effect of inoculation with Azospirillum brasilense on growth and nitrogen utilization by wheat plants. Plant Soil. 245:215–22.

-Saubidet, M; N Fatta & AJ Barneix. 2002. The effect of inoculation whith Azospirillum brasilense on growth and nitrogen utilization by wheat plants. Plant Soil 245:215-222.

-Schulze, J & G Pöschel. 2004. Bacterial inoculation of maize affects carbon allocation to roots and carbon turnover in the rhizosphere. Plant Soil 267:235-241.

-Venkateswarlu y Sethunathan, 1984. Degradation of carbofuran by A.lipoferum and Streptomyces spp. isolatedfrom flooded alluvial soil. Bull Environ Contam Toxicol. 556-560pp.

-Zurita, J. J.; López, A.; Brest, E.; Rojas, J.; Goytía Y.; Bianconi A. E. 2010. Zonificación RIAN Chaco y Formosa. En: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-zonificacion_rian_chaco_y_formosa_2010.pdf. Fecha de consulta: 02/08/18.