

Universidad Nacional de Río Cuarto
Facultad de Agronomía y Veterinaria

“Trabajo Final Presentado para Optar al Grado de Ingeniero Agrónomo”

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INOCULACIÓN EN MAÍZ CON
***AZOSPIRILLUM BRASILENSE* BAJO DIFERENTES**
FORMULACIONES COMERCIALES Y DOSIS DE FERTILIZANTES

Alumno: Cantero, Julio Alberto
DNI: 28173506

Directora: Dra. Thuar, Alicia

Río Cuarto – Córdoba
Noviembre 2007

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del trabajo final:

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INOCULACIÓN
EN MAÍZ CON *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* BAJO
DIFERENTES FORMULACIONES COMERCIALES Y
DOSIS DE FERTILIZANTES**

**Autor: Cantero, Julio Alberto
DNI : 28173506**

Directora: Dra. Thuar, Alicia

**Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias del
Jurado Evaluador:**

Alcalde, Mónica _____

Bonadeo, Elena _____

Olmedo, Carmen _____

Fecha de presentación: ____/____/____.

Aprobado por Secretaría académica: ____/____/____.

Secretario Académico

DEDICATORIA

A esta tesis se la dedico a mi mamá, hermano, a mi novia y a toda su familia, por toda la ayuda y esfuerzo que me brindaron durante toda la carrera y mi formación como profesional, pero principalmente una dedicatoria muy especial para mi papá y a mi hermana que hoy no están con migo físicamente. También se lo quiero dedicar a todos mis amigos y compañeros por haber estado siempre y haber hecho de esta carrera aún más agradable.

AGRADECIMIENTO

A mi mamá y hermano por todo el apoyo que me brindaron durante estos años, y un agradecimiento muy especial para mi papá y mi hermana que hoy no están físicamente.

A mi novia y a su familia por darme fuerzas para que nunca baje los brazos.

A mi amigo, compañero y colega Cesar, por toda la ayuda brindada durante toda la carrera.

A mi directora Dra. Alicia Thuar por su dedicación, paciencia y colaboración en la realización de la tesis.

A la Dra. Carmen Olmedo, al Dr. Javier Andrés y Jorge Vázquez por su cooperación y optimismo.

A German Avancini y a su familia por haberme brindado la posibilidad de realizar los ensayos en su establecimiento.

A todos mis amigos y compañeros que me acompañaron durante estos años.

A todos un millón de GRACIAS !!!

RESUMEN

La inoculación con diferentes bacterias (PGPRs), se debe a que producen un aumento en las etapas tempranas del desarrollo del cultivo, como también en el rendimiento, indicando que el uso de microorganismos en no leguminosas es una alternativa como practica agrícola para mejorar el desarrollo de los cultivos. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en maíz a campo bajo distintas formulaciones y con diferentes dosis de fertilizantes. El ensayo se realizó en un campo ubicado a 25 Km. de la localidad de Sampacho y a 70 Km. al sudoeste de la Ciudad de Río Cuarto. Durante el ciclo de desarrollo del cultivo se realizaron las siguientes evaluaciones: longitud de tallos, diámetro de tallos, peso seco aéreo y radical (todo ello a los 90 días post-siembra), y a cosecha se evaluó rendimiento en qq/ha. La longitud de tallos y el diámetro de tallos a los 90 días post-siembra, mostraron diferencias importantes entre los testigos y los tratamientos inoculados, sucediendo lo mismo con el peso seco aéreo y radical. A cosecha, los rendimientos entre los testigos y los tratamientos inoculados, mostraron en general diferencias estadísticamente significativas. La inoculación con *Azospirillum brasilense* promovió el crecimiento del cultivo de maíz a campo.

Palabras claves: inoculación, *Azospirillum brasilense*, promoción, crecimiento.

SUMMARY

The inoculation with different bacteria (PGPRs), must to that they produce an increase in the early stages of the development of the culture, like also in the yield, indicating that the use of microorganisms in nonleguminosas is an alternative as practices agricultural to improve the development of the cultures. The objective of the work was to evaluate the effect of the inoculation with brasilense *Azospirillum* in maize to field under different formulations and with different doses from fertilizers. The test was made in a field located to 25 km of the locality of Sampacho and to 70 km to the southwest of the City of Rio Cuarto. During the development cycle of the culture the following evaluations were made: length of stems, diameter of stems, aerial and radical dry weight (all it to the 90 days post-sowing), and to harvest evaluated yield in qq/ha. The length of stems and the diameter of stems to the 90 days post-sowing, showed to important differences between the witnesses and the inoculated treatments, happening the same to the aerial and radical dry weight. Harvest, the yields between the witnesses and inoculated treatments, showed in general statistically significant differences. The inoculation with brasilense *Azospirillum* promoted the growth of the culture from maize to field.

Key words: inoculation, brasilense *Azospirillum*, promotion, growth.

INDICE DEL TEXTO

CERTIFICADO DE APROBACIÓN	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	III
RESUMEN	IV
SUMMARY	V
INTRODUCCIÓN	1
Importancia del cultivo de maíz	4
Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal	5
Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal	6
Mecanismos de promoción directa del crecimiento	6
Mecanismos indirectos de promoción del crecimiento	8
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS	10
MATERIALES Y METODOS	11
MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO	14
Determinaciones a los 90 días post-siembra	14
Medición de la Longitud del tallo	14
Medición del Diámetro del tallo	14
Determinación del peso seco aéreo y de la raíz	14
Determinaciones a cosecha	14
Rendimiento de grano en qq/ha	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
Resultados y discusión a los 90 días post-siembra	15
Resultados y discusión a cosecha	20
CONCLUSIONES	24
BIBLIOGRAFÍA	25
ANEXO	29

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1:	Precipitaciones ocurridas durante el ciclo del cultivo	11
FIGURA 2:	Longitud de tallos (cm.), según distintos tratamientos	16
FIGURA 3:	Diámetro de tallos (cm.), según distintos tratamientos	17
FIGURA 4:	Peso seco parte aérea (gr.), según distintos tratamientos	18
FIGURA 5:	Peso seco radical (gr.), según distintos tratamientos	19
FIGURA 6:	Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha (grupo 1)	21
FIGURA 7:	Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha (grupo 2)	22
FIGURA 8:	Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha (grupo 3)	22
FIGURA 9:	Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha (grupo 4)	23

INDICE DE FOTOS

FOTO 1:	Diferencias en el sistema radical de los tratamientos 6 y 2 producidas por los promotores del crecimiento	19
FOTO 2:	Diferencias en el sistema radical de los tratamientos 7 y 3 producidas por los promotores del crecimiento	19
FOTO 3:	Diferencias en el sistema radical de los tratamientos 8 y 4 producidas por los promotores del crecimiento	20

INTRODUCCIÓN

El maíz es un cereal de origen americano cultivado antiguamente por los Mayas, Aztecas e Incas, constituyendo la base de su alimentación, posteriormente se extendió por todo el mundo.

El maíz actual (*Zea mays*) es descendiente de una planta silvestre antigua llamada Teosinte (*Euchlena mexicana*), la cual presentaba una estructura con 12 o más macollos, portadores de numerosas espigas pequeñas y una sola hilera de granos de forma triangular.

A través de miles de años de selección y a medida que fue cultivado por las comunidades aborígenes, fue cambiando su estructura como por ejemplo el acortamiento de los entrenudos de los numerosos tallos, constituyendo la espiga que conocemos hoy. Luego este cultivo ha sido objeto de un intenso mejoramiento genético, lo que permitió multiplicar su rinde al desarrollarse híbridos convencionales y transgénicos.

Actualmente, junto al trigo y el arroz, se encuentra entre los tres cereales más importantes en cuanto a volúmenes de producción e importancia en la alimentación humana y animal.

El maíz es un cultivo de gran potencialidad, así lo demuestran más de 600 subproductos, que abarcan desde alimentos hasta plásticos, papeles y biocombustibles, en la Argentina, el valor bruto de la producción es de 1500 millones de dólares, cifra a la que hay que agregarle la facturación de su agroindustria: alrededor de 4500 millones (Álvarez y Mulin, 2004).

La cosecha 2004-2005 reportó una superficie sembrada que sobrepasó las 3.420.000 ha, de las cuales 2.740.000 ha se destinaron a la producción de granos y 680.000 ha. a la producción de forrajes, concretando un aumento del 14.6% por encima de la campaña anterior.

En el siglo pasado el aumento de la población mundial agudizó notablemente el problema de la distribución de alimentos, lo que ha tenido un impacto indudable sobre la agricultura. La tendencia mundial fue inclinarse hacia el uso de fertilizantes minerales, sobre todo nitrogenados, potásicos, fosfatados y, en menor proporción, a elementos como azufre, hierro y boro, para aumentar la productividad de los cultivos.

Esta tendencia comenzó a evidenciarse primero en los países desarrollados pero, especialmente en la década del 70 durante la llamada “revolución verde”, se hizo extensiva a los países en vías de desarrollo. En la actualidad, tanto en estos últimos como en las naciones desarrolladas, la práctica de la fertilización mineral es de uso corriente. El exceso en la utilización de los fertilizantes minerales es cuestionable por su impacto contaminante sobre el aire, agua y suelo. En el caso específico del sustrato edáfico, entre otros efectos éstos compuestos provocan alteraciones sobre el pH y potencial osmótico, lo que resulta perjudicial para la actividad de las especies microbianas predominantes. En la búsqueda de variantes para el uso de fertilizantes minerales, la investigación científica se ha orientado hacia el estudio de

sistemas alternativos con capacidad de aumentar la producción; pero con menores problemas de contaminación y costos (de producción) mas reducidos. La identificación y posible aplicación de las asociaciones entre bacterias fijadoras de N₂ atmosférico (diazotróficas) y plantas ha sido investigada durante muchos años. En la naturaleza se destacan como más exitosas las asociaciones de leguminosas con bacterias simbiotes de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, y de gramíneas con bacterias de vida libre como *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Azotobacter sp.* y *Azospirillum sp.*, que proliferan en la rizosfera de dichas plantas (Dobereiner y Pedroza, 1987). Entre estas últimas, la bibliografía en general considera a *Azospirillum* como uno de los géneros bacterianos más importantes por su capacidad de mejorar significativamente el crecimiento y desarrollo así como el rendimiento de ciertas gramíneas forrajeras (Okon, 1985, Fulchieri y Frioni, 1994), y por su aplicación (por ahora más potencial que real) en la agricultura para aumentar la producción de cereales (Okon y Labandera-Gonzalez, 1994).

La capacidad de *Azospirillum sp.* para estimular el crecimiento de las plantas ha sido demostrada en muchos experimentos en condiciones muy variadas. Varios mecanismos se han sugerido como responsables del efecto estimulante observado en las plantas inoculadas; entre ellos se mencionan fijación biológica del nitrógeno, actividad nitrato reductasa, mejoramiento del sistema de absorción radical y relación agua-planta, producción de sideróforos y producción de fitohormonas.

La práctica de la inoculación puede ser una metodología razonable de adoptar, con la finalidad de proveer al cultivo aportes de la fijación biológica del nitrógeno y otros estimuladores biológicos del crecimiento (Iglesias *et al.*, 2001).

Las bacterias del género *Azospirillum* son organismos fijadores de nitrógeno, los cuales pueden vivir en asociación en la rizosfera de plantas, pudiendo estar presentes tanto dentro como fuera de las raíces. La contribución de la fijación atmosférica de nitrógeno por *Azospirillum* localizado en el sistema radicular de plantas tiene menor relevancia agronómica de lo que se esperaba inicialmente, uno de los efectos de estas bacterias está en la promoción del crecimiento radicular de las plantas, por la producción de sustancias promotoras del crecimiento (Okon y Labandera-Gonzalez, 1994).

Los microorganismos solubilizadores de fosfatos inorgánicos desempeñan un importante papel en el suministro de fósforo para las plantas. La utilización de esos microorganismos como inoculante comercial o el manejo de sus poblaciones como forma de promover una mejor utilización del fósforo existente en el suelo o el adicionado como fertilizante es tema de diversas investigaciones (Silva Filho y Vidor, 2001).

La solubilización de fósforo mineral y orgánico se produce por la capacidad que presenta la bacteria de producir ácidos orgánicos y fosfatasa, respectivamente. Además produce estimulación del crecimiento vegetal por la presencia de citoquininas, giberelinas y ácido indolacético, así como protección fitosanitaria a los cultivos debido a la producción de antibióticos y presencia de sideróforos en la cepa (Bashan y Levanony, 1990; Okon y Labandera-Gonzalez, 1994).

Los resultados obtenidos por Rodríguez Cáceres *et al.* (1996) mostraron que la respuesta a la inoculación varía en función del grado de fertilidad y la disponibilidad de agua de los suelos, observando la gran importancia que puede adquirir la relación cepa - cultivar.

(Thuar y Salvagno, 2003) demostraron en el cultivo de maíz que la longitud de raíces, el peso seco de raíz y aéreo se incrementó con la inoculación de *A. brasilense* en relación con el testigo fertilizado y sin fertilizar, como también el rendimiento (con diferencias estadísticamente significativas).

La inoculación lleva a un aumento significativo del sistema radical, induce resistencia a agentes patógenos y provee elementos como el nitrógeno, además inhibe la proliferación de plantas parásitas y produce hormonas que estimulan el crecimiento vegetal, lo que permite un desarrollo más económico y saludable de los cultivos (Bouillant, 1997).

En el ámbito mundial, con datos que se han acumulado durante los últimos 20 años, se pudo concluir que esta bacteria es capaz de promover el crecimiento de cultivos de interés agronómico (maíz, sorgo, trigo, gramíneas y leguminosas forrajeras) en diferentes suelos, regiones climáticas, diferentes cultivares y con el uso de varias cepas de *Azospirillum brasilense* y *Azospirillum lipoferum*. El éxito de inoculación con *Azospirillum* en campo resulta en un orden del 60 – 70 %, incrementos significativos en rendimiento de 5 – 30 % sobre los controles no inoculados. Estos valores son adecuados para maíz, sorgo, trigo y gramíneas forrajeras. La magnitud de la respuesta es en general más alta que los costos de la inoculación, lo cual hace a ésta técnica atractiva para los agricultores (Okon, 1985; Fages, 1992; Sumner, 1990; Okon y Labandera-Gonzalez, 1994).

Importancia del cultivo de Maíz

El cultivo de maíz (*Zea mays*), junto al cultivo de soja son los cultivos que mayor área de siembra ocupan en la República Argentina, esto los convierte en los cultivos más importantes desde el punto de vista de la generación de divisas.

En el caso específico del maíz, además, es uno de los cultivos que aportan una importante cantidad de rastrojos en la rotación. Estos rastrojos voluminosos y de lenta descomposición, contribuyen a la sustentabilidad de los sistemas de producción agropecuaria.

Desde comienzo de los años 90, Argentina pasó a ocupar un lugar relevante en la producción y comercialización de granos, destacándose los logros alcanzados por el cultivo de maíz, que a comienzo de la década citada (campana 1990/91) totalizaba 7,7 millones de toneladas, mostró un constante crecimiento llegando a recolectarse en el ciclo agrícola 1997/98 19,4 millones de toneladas, es decir un volumen 152,9 % superior al de siete años atrás. En materia de rendimientos y para el mismo periodo, la mayor variación porcentual en las producciones medias por hectárea le corresponde al maíz con un 41,2 % de aumento.

Varias son las causas del crecimiento en la producción nacional. Entre las principales podemos citar: el aumento de la superficie dedicada a su cultivo, la disponibilidad en el mercado de nuevos híbridos de mayor potencial de rendimiento y mejor resistencia a enfermedades y plagas, el aumento en el área fertilizada, la creciente utilización del sistema de siembra directa, la incorporación de la práctica de riego complementario, el recambio del parque de cosechadoras con la incorporación de máquinas recolectoras de última generación y, a partir del ciclo agrícola 1998/99, el uso de materiales vegetales transgénicos.

En el contexto internacional en la actualidad, ocupamos el sexto lugar como país productor y el tercer puesto en el ranking de países exportadores.

El maíz es, sin lugar a dudas, el grano forrajero por excelencia, presentando además como una de sus principales características las múltiples posibilidades de utilización en diversos procesos industriales, de los que se obtiene una amplia gama de productos derivados de su procesamiento y, si bien es cierto que está sufriendo los embates de la expansión del cultivo de la soja, no se ha puesto en riesgo su supervivencia (SAGPyA, 2006).

Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) son bacterias aisladas de la rizosfera y cuando son inoculadas sobre los cultivos o en el suelo colonizan las raíces de las plantas, incrementan el crecimiento de la planta o reducen el daño de algunas enfermedades. El manejo de estos microorganismos del suelo, que están involucrados en varios ciclos biogeoquímicos (C, N, P, S, etc.), salud de las plantas, y recuperación de los suelos ofrece nuevas posibilidades de tratamientos biológicos. En suelos agrícolas, el mejoramiento de la calidad y la diversidad de las poblaciones microbianas a partir de la incorporación de cepas seleccionadas según sus funciones específicas es un proceso relevante que contribuye al mejor establecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos siendo una alternativa para lograr mejores cultivos (Caballero-Mellado, 2002).

Básicamente, son dos los mecanismos que explican las respuestas de los cultivos a la inoculación con cepas de PGPR: (a) procesos directos favoreciendo el estado nutricional de los cultivos (incluyendo agua) basados en incrementos en la disponibilidad de nutrientes o aumentando la superficie de raíces para una mejor captación de agua y nutrientes, y (b) indirectos a partir de la interacción con otros microorganismos o cambios en el metabolismo de las plantas que facilitan su crecimiento (Dobbelaere *et al.*, 2001).

Algunas PGPR han sido aisladas y multiplicadas permitiendo la formulación de inoculantes y su aplicación bajo condiciones extensivas de producción (Bashan, 1998; Lucy *et al.*, 2004). Uno de estos es *Azospirillum brasilense* y como resultado de su aplicación se muestran efectos positivos sobre el crecimiento y los rendimientos de cultivos a partir de la acción de fitohormonas, estimulaciones genéticas y también por su contribución en la fijación libre del nitrógeno (Bashan y Levanony, 1990, Okon y Labandera-González, 1994). Por ejemplo, en Argentina algunos estudios en trigo han mostrado beneficios sobre su crecimiento aéreo y de raíces, en los componentes del rendimiento (aumento en el número de granos) y en la producción de grano luego de la aplicación de una formulación líquida sobre las semillas; resultados similares se han descrito a partir de la aplicación de formulaciones líquidas específicas y con variados métodos de tratamiento en maíz, algodón, caña de azúcar, girasol y otros cultivos (Díaz-Zorita *et al.*, 2006).

Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal pueden actuar sobre las plantas de dos maneras diferentes, directa o indirectamente. La influencia directa, consiste en que las bacterias le proporcionan a la planta compuestos sintetizados por ellas mismas, produciéndole un beneficio a la planta. Estos compuestos pueden ser: producción de fitohormonas, liberación de fosfatos y micronutrientes, fijación de nitrógeno y producción de sideróforos. El efecto indirecto que causan las PGPR es la alteración de la ecología y el ambiente de la raíz (Bowen and Rovira, 1991; Glick, 1995; Hornby, 1990; Kapulnik, 1991; Lynch, 1990a, 1990b, 1990c; Okon and Hadar, 1987) por ejemplo, actuando como agentes de biocontrol y reduciendo las enfermedades mediante la liberación de sustancias antibióticas que matan microorganismos nocivos, por competencia con agentes deletéreos y metabolismo de productos tóxicos.

Estos métodos suponen una alternativa potencial porque es un método de control biológico y su utilización como herramienta biotecnológica parece una esperanzadora realidad que reduzca los impactos adversos de agroquímicos, y permita una gestión más razonable y sostenible del suelo.

Mecanismos de promoción directa del crecimiento

❖ Producción de fitohormonas:

Las PGPRs pueden beneficiar directamente el crecimiento vegetal a través de la producción de fitohormonas (Lippman *et al.*, 1995), entre ellas se encuentran auxinas, citocininas y giberelinas. Estos compuestos incrementan el número de raíces laterales y pelos radicales, aumentando notablemente la superficie de la raíz y, en consecuencia, favoreciendo una mayor absorción de nutrientes (Steenhoudt and Vanderleyden, 2000).

La atención principal ha sido enfocada en las auxinas (Brown, 1974; Tien *et al.*, 1979). Dentro de estas, la más común y mejor caracterizada, ha sido el ácido 3-indol acético (AIA), el cual se ha observado que estimula la respuesta vegetal, tanto en velocidad (por ejemplo, incrementando la elongación celular), como en tiempo (por ejemplo, la división celular y la diferenciación) (Cleland, 1990; Hagen, 1990).

La inoculación de plantas de trigo con la mutante de *A. brasilense* nif-AIA+ incrementa el número de raíces laterales comparado con la cepa salvaje, la cual no produce AIA (Barbieri *et al.*, 1986).

La síntesis de auxinas y giberelinas por microorganismos, incrementa la tasa de germinación de las semillas y el desarrollo de pelos radicales, siendo esta la principal característica de *Azospirillum* (Brown, 1974).

❖ Solubilización de Fosfatos:

El fósforo es un elemento químico esencial para la vida y muy abundante en la corteza terrestre, sin embargo una pequeña proporción está disponible para las plantas (5 %), por lo que debe ser suministrado por medio de fertilizantes minerales, pero gran parte de éste tiende a acumularse en el suelo en forma de compuestos insolubles (Richardson, 1994).

La disponibilidad de fósforo en el suelo depende principalmente de la actividad microbiana. Los estudios para mostrar que se podía mejorar la disponibilidad de fósforo fueron realizados con *Bacillus megaterium* y *P. fluorescens* mostrando que estas bacterias pueden incrementar la disponibilidad de fósforo para las plantas porque ellas solubilizan fosfato orgánico por la acción de fosfatasas (mineralización) o por solubilización de fosfatos inorgánicos no disponibles con ácidos orgánicos. (Gerretsen, 1948, Katznelson y Bose, 1959, Kloepper, 1993), han propuesto que se produce un mejor desarrollo del sistema radical de la planta y mejora la sanidad. Otros investigadores sugieren que mejora la absorción del mineral (Bashan *et al.*, 1990).

Diversos estudios han mostrado que la solubilización del fosfato por microorganismos solubilizadores es una importante característica de diversas cepas PGPR (Kloepper *et al.*, 1989, Kucey *et al.*, 1989).

En experimentos de invernáculo (Thuar, 2005), demostró que algunos microorganismos solubilizadores estimulan el crecimiento de maíz. La solubilización de fosfato puede ser importante para la planta porque es un elemento esencial y por su baja disponibilidad.

❖ Fijación de Nitrógeno:

La fijación biológica del nitrógeno es el proceso por el cual las plantas se asocian con bacterias capaces de transformar el nitrógeno atmosférico en amoníaco, y de esta forma las plantas asimilan el nitrógeno previamente fijado por las bacterias (Frioni, 1999).

La fijación de nitrógeno no simbiótica, es realizada por microorganismos como *Azospirillum*; estas son bacterias de vida libre que fijan nitrógeno bajo ciertas condiciones ambientales y de suelo, en asociación con las raíces (Frioni, 1999) y que influyen positivamente en el crecimiento y rendimiento de los cultivos.

Mecanismos indirectos de promoción del crecimiento – Supresión de agentes fitopatógenos

❖ Producción de sideróforos:

Dado que la cantidad de hierro del suelo que es aprovechable es demasiado baja para mantener el crecimiento microbiano, los microorganismos del suelo excretan moléculas quelantes (sideróforos) que se unen al Fe^{+3} , transportándolo al interior de la célula microbiana y luego lo hacen aprovechable para el crecimiento de la bacteria (Neilands and Leong, 1986; Briat, 1992). Una vía por la cual las PGPRs pueden evitar la proliferación de fitopatógenos, y por lo tanto facilitar el crecimiento vegetal es a través de la producción y secreción de sideróforos con una alta afinidad por el hierro (Castignetti and Smarelli, 1986).

❖ Inducción de Resistencia Sistémica:

Las Rizobacterias no patógenas pueden inducir una resistencia sistémica en las plantas similar a la resistencia sistémica adquirida (SAR) cuando son atacadas por patógenos. La medición de diferentes cepas bacterianas en la resistencia sistémica inducida (SIR) ha sido demostrada contra hongos, bacterias y virus en diversos cultivos (Van Loon *et al.*, 1998).

Determinadas bacterias inducen la resistencia sistémica, produciendo diferentes compuestos tales como los lipopolisacáridos, sideróforos y ácido salicílico; sin embargo, esta inducción depende de que las bacterias colonicen el sistema radical en número suficiente (Van Loon *et al.*, 1998).

❖ Producción de Antibióticos:

Son sustancias orgánicas sintetizadas por bacterias para eliminar o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos para las plantas.

Uno de los mecanismos más efectivos que puede emplear una PGPR para prevenir la proliferación de fitopatógenos es la síntesis de antibióticos, un gran número de compuestos antibióticos producidos por *Pseudomonas fluorescens* han sido caracterizados químicamente.

❖ Producción de Cianida de Hidrógeno:

Este compuesto puede producir dos efectos antagónicos, por un lado induce mecanismos de defensa frente a organismos fitopatógenos y por otro induce alteraciones en las actividades fisiológicas de las plantas.

La facultad de algunas *Pseudomonas* de sintetizar este compuesto (al cual ellas mismas son resistentes), puede estar vinculada a la capacidad de estas cepas para inhibir algunos hongos patógenos (Voisard *et al.*, 1989).

HIPÓTESIS:

La inoculación con *Azospirillum brasilense* en el cultivo de maíz a campo, favorece el crecimiento en biomasa y los rendimientos en grano.

OBJETIVOS:

Objetivo general:

* Evaluar el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en maíz a campo, bajo distintas formulaciones y con diferentes dosis de fertilizantes.

Objetivos específicos:

* Evaluar los efectos de promoción del crecimiento sobre el cultivo (medición de: longitud de tallos, diámetro de tallos, peso seco aéreo y radical a los 90 días post-siembra).

* Evaluar rendimiento en Kg/Ha en madurez fisiológica.

* Determinar el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* sobre los rendimientos en grano del cultivo de maíz según diferentes inoculantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en un campo ubicado a 25 Km. de la localidad de Sampacho y a 70 Km. al sudoeste de la Ciudad de Río Cuarto (por la ruta nacional número 8), provincia de Córdoba, Argentina. El suelo corresponde a un Haplustol típico.

El régimen de precipitaciones es monzónico; aproximadamente el 80 % de las precipitaciones se concentran en el semestre más cálido (Octubre a Marzo). El valor medio anual de las mismas es de 800 mm.

En la figura N°1 se presentan las precipitaciones ocurridas en el período comprendido entre Octubre 2005-Abril 2006, dichos datos fueron tomados por el dueño del campo, logrando de esta manera tener un mejor registro de lluvias, ya que esta es una zona de precipitaciones irregulares.

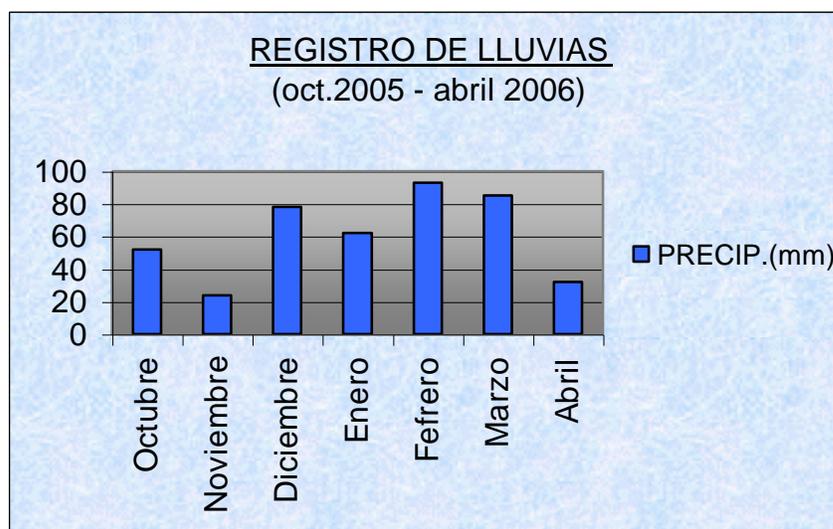


Fig. N°1: Precipitaciones ocurridas durante el ciclo del cultivo.

Previo a la siembra se realizó una caracterización inicial del suelo a través de un análisis físico-químico del mismo. Para ello se tomó una muestra compuesta de 20 submuestras de los primeros veinte centímetros de suelo. El muestreo se realizó siguiendo el tipo de muestreo simple al azar buscando obtener una muestra homogénea y representativa. Se determinó Materia Orgánica (%), Nitrógeno de Nitratos (ppm), Nitratos (ppm), Fósforo (ppm), pH en agua y Humedad actual (%).

Análisis físico-químico del suelo

Materia Orgánica	1,10 %
Nitrógeno de Nitratos	7,40 ppm
Nitratos	32,8 ppm
Fósforo	15,20 ppm
pH (en agua)	6,30
Humedad	9,00 %

Metodología utilizada:

- * Materia Orgánica _____ Método Walkley-Black.
- * N-Nitratos _____ Reducción por cadmio.
- * Fósforo _____ Método Kurtz y Bray 1.
- * pH _____ Potenciometria 1:2,5.

El ensayo se llevó a cabo en 42 parcelas de 5 metros de ancho por 15 metros de largo, a una distancia entre hileras de 0.7 metros; con tres repeticiones por cada tratamiento.

Los tratamientos que se realizaron son los siguientes:

Tratamiento 1: Testigo semilla sin fertilizar.

Tratamiento 2: Testigo con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 0 Kg. de UREA.

Tratamiento 3: Testigo con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 60 Kg. de UREA.

Tratamiento 4: Testigo con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 120 Kg. de UREA.

Inoculante comercial (Noctin)

Tratamiento 5: Azospirillum con 0 Kg. Fosfato Diamónico y 0 Kg. de UREA.

Tratamiento 6: Azospirillum con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 0 Kg. de UREA.

Tratamiento 7: Azospirillum con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 60 Kg. de UREA.

Tratamiento 8: Azospirillum con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 120 Kg. de UREA.

Inoculante comercial (Graminsoil L₁)

Tratamiento 9: Azospirillum con 0 Kg. Fosfato Diamónico y 0 Kg. de UREA.

Tratamiento 10: Azospirillum con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 60 Kg. de UREA.

Tratamiento 11: Azospirillum con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 120 Kg. de UREA.

Inoculante comercial (Graminsoil L₂)

Tratamiento 12: Azospirillum con 0 Kg. Fosfato Diamónico y 0 Kg. de UREA.

Tratamiento 13: Azospirillum con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 60 Kg. de UREA.

Tratamiento 14: Azospirillum con 90 Kg. Fosfato Diamónico y 120 Kg. de UREA.

La siembra se realizó el 27 de octubre de 2005. El sistema de siembra utilizado fue el de labranza cero (o directa), con una distancia entre hileras de 0.70 metros y con una disposición de 5 (cinco) semillas por metro lineal (71500 semillas/ha). La semilla utilizada es un maíz híbrido “Los Prados” cultivar Faraón, con curasemilla.

Todos los tratamientos están ubicados en el mismo lote, sobre rastrojo de soja de la campaña anterior (2004-2005). Previo a la emergencia del cultivo se realizó una aplicación de glifosato (herbicida sistémico de amplio espectro, no selectivo) a razón de (3 lts./ha.), atrazina (herbicida sistémico, selectivo para maíz, controla algunas gramíneas anuales y latifoliadas) a razón de (2 lts./ha.) y acetoclor (1,5 lts./ha.) herbicida sistémico, controla gramíneas anuales y algunas latifoliadas; estos herbicidas fueron aplicados mezclados y pulverizados en una sola aplicación, además junto con estos, se colocó 100 cm³/ha. de cipermetrina (insecticida, para el control de gusanos cortadores) para la prevención y control de isocas cortadoras durante los primeros estadios del cultivo.

La inoculación en todos los casos se realizó al momento de la siembra, de forma manual, teniendo en cuenta la dosis a utilizar y la cantidad de semilla a inocular en cada uno de los tratamientos respectivamente.

Todos los inoculantes están formulados con *Azospirillum brasilense*. El inoculante “Noctin” es a razón de 250cc/25 Kg. de semillas y los otros dos inoculantes “Graminsoil L₁ y Graminsoil L₂” es a razón de 1 litro / ha.

Métodos de Cuantificación de la promoción del crecimiento

Determinaciones a los 90 días post-siembra

** Longitud del tallo:*

Se midió la longitud en centímetros desde la base de la planta (sin incluir la raíz) hasta la punta.

** Diámetro del tallo:*

Se midió el diámetro en centímetros con un calibre, a 5 cm. de la base del tallo.

** Determinación del peso seco aéreo y de la raíz:*

Las plantas a las que se le efectuaron las mediciones antes mencionadas, fueron cortadas a fin de dividir la parte aérea y la raíz. Ambas se colocaron en estufa, por separado, durante 48 horas a 60° C, hasta peso constante. Luego de este tiempo se determinó el peso seco.

Determinaciones a cosecha

** Rendimiento de grano en qq/ha:*

Para la determinación del rendimiento de cada tratamiento se tomaron 3 metros de surco a 0.70 metros entre línea (totalizando una superficie de 2.10 m²), luego se desgranaron todas las espigas recolectadas de las plantas extraídas de dicha superficie y se pesaron los granos (sin incluir el marlo), posteriormente se realizó la extrapolación a 10.000 m².

Análisis de datos

El rendimiento fue la variable analizada estadísticamente mediante análisis de varianza, con el programa estadístico Infostat, con una (p = 0,05) con el cual se realizó ANOVA, (diseño experimental que se utilizó es el simple al azar), y se compararon los promedios con el Test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones a los 90 días post-siembra

A los fines prácticos de poder realizar las comparaciones correspondientes entre los distintos tratamientos, se los agrupó de la manera que figura a continuación; para que de este modo dentro de cada grupo se encuentren los diferentes inoculantes empleados con su correspondiente testigo.

GRUPO N°1

Tratamiento 1 (Testigo)	Testigo semilla sin fertilizar.
Trat.5 (Inoculante Noctin)	Azospirillum con 0 Kg. FDA y 0 Kg. de UREA
Trat.9 (Inoc. Graminsoil L ₁)	Azospirillum con 0 Kg. FDA y 0 Kg. de UREA
Trat.12 (Inoc. Graminsoil L ₂)	Azospirillum con 0 Kg. FDA y 0 Kg. de UREA

GRUPO N°2

Tratamiento 2 (Testigo)	Testigo con 90 Kg. FDA y 0 Kg. de UREA
Trat.6 (Inoculante Noctin)	Azospirillum con 90 Kg. FDA y 0 Kg. de UREA

GRUPO N°3

Tratamiento 3 (Testigo)	Testigo con 90 Kg. FDA y 60 Kg. de UREA
Trat.7 (Inoculante Noctin)	Azospirillum con 90 Kg. FDA y 60 Kg. de UREA
Trat.10 (Inoc. Graminsoil L ₁)	Azospirillum con 90 Kg. FDA y 60 Kg. de UREA
Trat.13 (Inoc. Graminsoil L ₂)	Azospirillum con 90 Kg. FDA y 60 Kg. de UREA

GRUPO N°4

Tratamiento 4 (Testigo)	Testigo con 90 Kg. FDA y 120 Kg. de UREA
Trat.8 (Inoculante Noctin)	Azospirillum con 90 Kg. FDA y 120 Kg. de UREA
Trat.11 (Inoc. Graminsoil L ₁)	Azospirillum con 90 Kg. FDA y 120 Kg. de UREA
Trat.14 (Inoc. Graminsoil L ₂)	Azospirillum con 90 Kg. FDA y 120 Kg. de UREA

En el grupo 1, se observó que ninguna de las variables evaluadas (longitud de tallos, diámetro de tallos, peso seco de la parte aérea y radical), arrojaron valores diferentes al testigo, aquí el inoculante no ejerció efecto alguno, puede haber influido las características del perfil del suelo, tales como el bajo contenido de materia orgánica de un 1,10 % que se determino del

análisis de suelo ó bien un nivel deficitario de nutrientes y acompañado con esto la falta de fertilización. En los otros grupos en los cuales si se fertilizó, se observó una muy buena respuesta de la bacteria *Azospirillum*. Esto nos demuestra la complementariedad que existe entre la aplicación de fertilizantes e inoculantes.

La longitud de tallos (Fig. N°2), fue diferente en los distintos tratamientos evaluados, el promedio de los tratamientos inoculados fue de 108,7 cm. y el promedio en los testigos fue de 96,7 cm. lo que equivale en porcentaje un incremento del 12,4 % esto es debido al efecto de *Azospirillum brasilense*, el cual actuó promoviendo el crecimiento. Si realizamos la comparación por grupos a los cuales se les aplicó diferentes dosis de fertilizantes, los resultados son los siguientes: en el grupo 2 el testigo arrojó 97,4 cm. y el inoculado 108,2 cm. lo que equivale a un 11 % de incremento, en el grupo 3 el testigo arrojó 98,2 cm. y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 122,3 cm. lo que equivale a un 25 % de incremento, y dentro del grupo 4 el testigo arrojó 94,7 cm. y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 119,6 cm. lo que equivale a un incremento del 26 %. Esto coincide con lo demostrado por Lucangelli y Bottini (1996), que observaron un incremento en el largo de los entrenudos en maíz y arroz cuando se inoculó con microorganismos fijadores de vida libre.

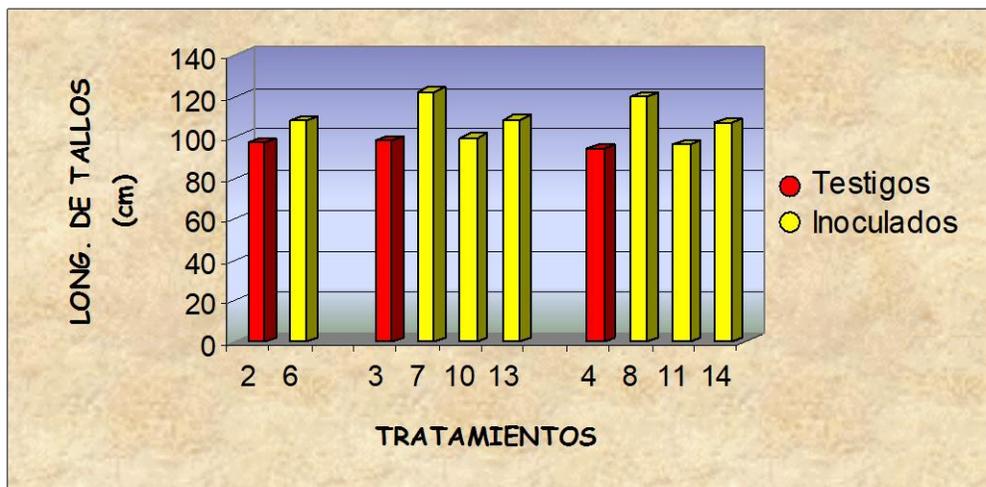


Fig. N°2: Longitud de tallos, según distintos tratamientos.

Con respecto al diámetro de tallos (Fig. N°3), fue diferente en los distintos tratamientos evaluados, el promedio de los tratamientos inoculados fue de 7,2 cm. y el promedio en los testigos fue de 6,5 cm. lo que equivale en porcentaje a un incremento del 11 %. si realizamos la

comparación por grupos a los cuales se les aplicó diferentes dosis de fertilizantes, los resultados son los siguientes: en el grupo 2 el testigo arrojó 6,53 cm. y el inoculado 7,94 cm. lo que equivale a un 22 % de incremento, en el grupo 3 el testigo arrojó 6,48 cm. y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 7,8 cm. lo que equivale a un 20 % de incremento, y dentro del grupo 4 el testigo arrojó 6,43 cm. y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 7,24 cm. lo que equivale a un incremento del 13 %; estos resultados ponen en evidencia la promoción del crecimiento que tiene *Azospirillum* sobre el cultivo de maíz.

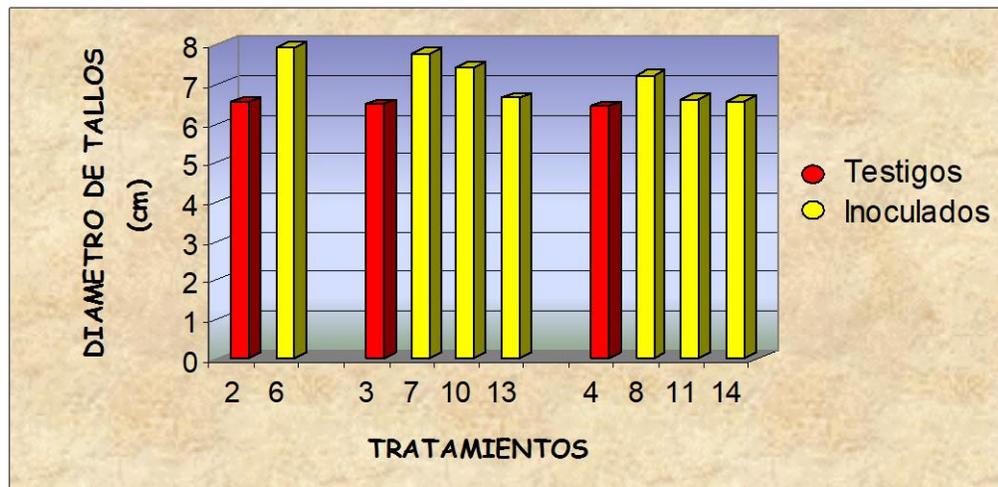


Fig. N°3: Diámetro de tallos, según distintos tratamientos.

En cuanto al peso seco de la parte aérea (Fig. N°4) se observaron diferencias en todos los tratamientos, habiendo una tendencia al aumento de peso de la parte aérea, principalmente en aquellos tratamientos que fueron inoculados; el promedio de los tratamientos inoculados fue de 77 gr. y el promedio de los testigos fue de 64 gr. lo que equivale en porcentaje un incremento del 20 %. Si realizamos la comparación por grupos a los cuales se les aplicó diferentes dosis de fertilizantes, los resultados son los siguientes: en el grupo 2 el testigo arrojó 82,98 gr. y el inoculado 86,32 gr. lo que equivale a un 4 % de incremento, en el grupo 3 el testigo arrojó 59,11 gr. y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 91,25 gr. lo que equivale a un 54 % de incremento, y dentro del grupo 4 el testigo arrojó 51,36 gr. y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 88,42 gr. lo que equivale a un incremento del 72 %. Esto coincide con lo observado por Tien *et al.* (1979) quien observó que la inoculación con *Azospirillum* tuvo efectos favorables sobre el crecimiento de mijo, al igual que Bellone *et al.* (1999) quien registró en maíz mejoras en los parámetros de la parte aérea. De igual manera, Chabot *et al.* (1993); y Kucey *et*

al. (1989) demostraron que inocular las plantas con microorganismos solubilizadores de fósforo, estimula el crecimiento vegetal.

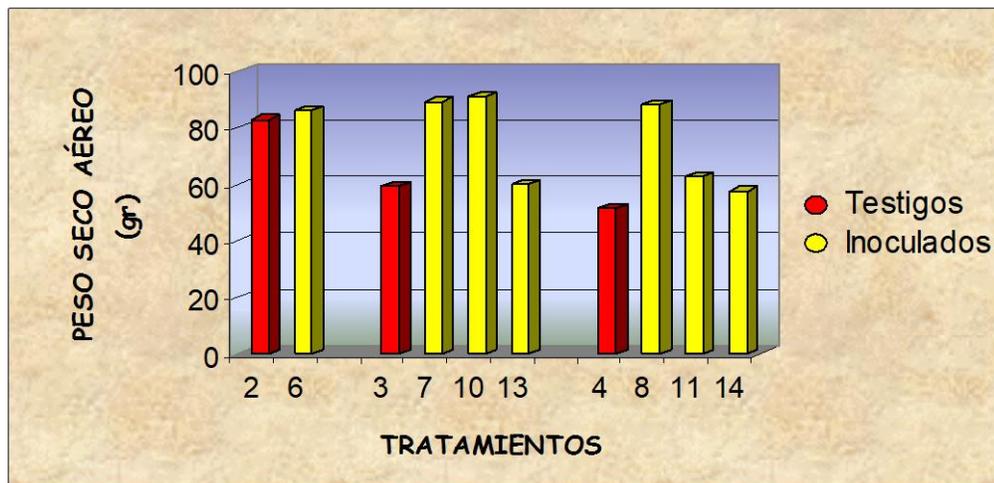


Fig. N°4: Peso seco parte aérea, según distintos tratamientos.

En cuanto al peso seco de la raíz (Fig. N°5) se observó, al igual que en el punto anterior, diferencias en todos los tratamientos; el promedio de los tratamientos inoculados fue de 14 gr. y el promedio de los testigos fue de 11 gr. lo que equivale a un 27 % de incremento. Si realizamos la comparación por grupos, como en los puntos anteriores, los resultados son los siguientes: en el grupo 2 el testigo arrojó 11,78 gr. (tratamiento N°2) y el inoculado 18,07 gr. (tratamiento N°6) lo que equivale a un 53,4 % de incremento (ver foto N°1), en el grupo 3 el testigo arrojó 11,38 gr. (tratamiento N°3) y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 18,12 gr. (tratamiento N°7) lo que equivale a un 59,2 % de incremento (ver foto N°2), y dentro del grupo 4 el testigo arrojó 10,37 gr. (tratamiento N°4) y entre los tratamientos inoculados el más elevado arrojó 16,88 gr. (tratamiento N°8) lo que equivale a un incremento del 63 % (ver foto N°3). Esto coincide con Nieto y Frankenberger (1989) quienes afirman que la producción de fitohormonas tales como auxinas, citocininas y giberelinas por las PGPRs como *Azospirillum*, incrementan el número de raíces laterales y pelos radicales lo que hace aumentar notablemente la superficie de la raíz favoreciendo una mayor absorción de nutrientes.

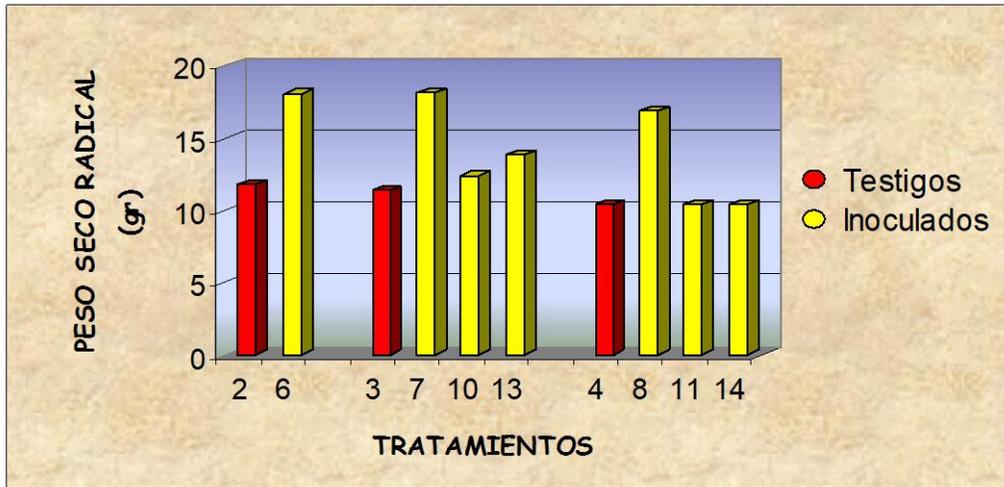


Fig. N°5: Peso seco radical, según distintos tratamientos.

Foto N°1



Foto N°2



Foto N°3



Determinaciones a cosecha

El rendimiento depende de numerosos factores tales como la densidad de siembra, la temperatura, los niveles de radiación, las precipitaciones (Fig. N°1), disponibilidad de nutrientes y el genotipo. Durante el período crítico del cultivo (esta etapa se extiende 20 días antes de floración y unos 15 días posteriores a la misma), la ocurrencia de estrés hídrico o lumínico, así como deficiencia de nutrientes provocarían una merma importante en el rendimiento, es por ello que se debería recurrir a todas las herramientas disponibles para que este período coincida con las condiciones óptimas.

Las condiciones climáticas transcurridas en la campaña 2005-2006 (Fig. N°1) no fueron las óptimas ya que se registraron 426 mm. en el período comprendido de octubre 2005 - abril 2006, mientras que en la campaña anterior se habían registrado 787 mm. esto permitiría afirmar que el cultivo no pudo expresar su máximo potencial; además, si se tiene en cuenta que la floración de este cultivo ocurrió entre el 25 y 30 de diciembre aproximadamente, se deduce que el cultivo estuvo extremadamente afectado durante el período crítico, esto explica el porque de los rendimientos tan bajos que expresó dicho cultivo.

En cuanto al rendimiento se puede observar que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos inoculados y el testigo. En el grupo 1, el tratamiento 12 presenta diferencias estadísticamente significativas en relación a los demás, del mismo modo los tratamientos 5 y 9 muestran diferencias estadísticamente significativas en relación con el tratamiento 1, sin observar diferencias entre ellos.

Es importante mencionar que lo observado en los datos de rendimientos de este grupo no se condice con los resultados obtenidos en las determinaciones que se efectuaron a los 90 días post-siembra, dado que aquí no se encontraron diferencias. Por tal motivo cabe aclarar que lo que puede haber ocurrido es que no se hizo un seguimiento por las diferentes etapas fenológicas por las que atraviesa el cultivo, logrando tener así más información para analizar y poder arribar de esta manera a un mejor resultado.

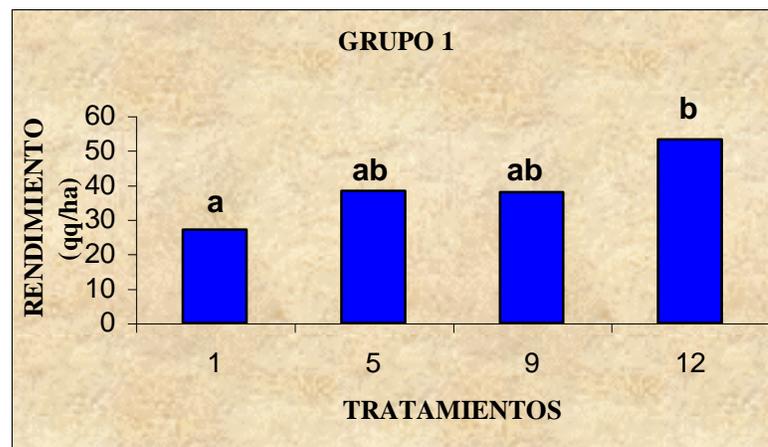


Fig. N°6: Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha, según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el Test de Tukey.

En el grupo 2, se han encontrado diferencias estadísticamente significativas con lo cual se evidencia que a una misma dosis de fertilizante, el tratamiento 6 (inoculado) arrojó un rinde promedio de 4876 Kg/Ha. Mientras que el testigo arrojó un rinde promedio de 3478 Kg/Ha.

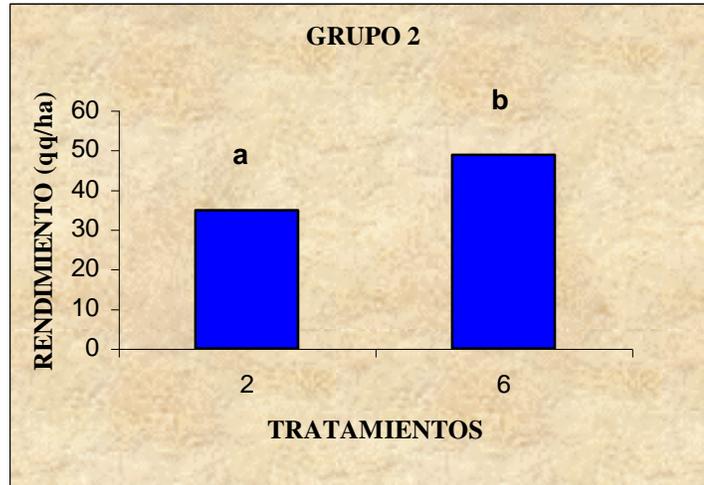


Fig. N°7: Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha, según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el Test de Tukey.

En el grupo 3, a diferencia del anterior se le incorpora urea. El tratamiento 13 presenta diferencias estadísticamente significativas en relación a los demás tratamientos, del mismo modo el tratamiento 7 muestra diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos 3 y 10. Entre estos dos últimos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

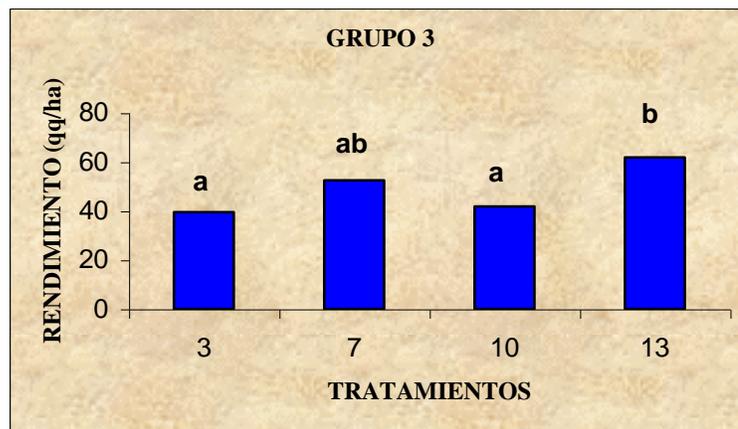


Fig. N°8: Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha, según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el Test de Tukey.

En el grupo 4, el tratamiento 14 fue el que arrojó el mayor rendimiento, sucediendo lo mismo con los tratamientos 12 y 13 nombrados anteriormente, ambos se corresponden con el inoculante que a diferentes dosis de fertilizantes evaluadas arrojó el mayor rendimiento en qq/ha.

El tratamiento 11 muestra diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos 4 y 8. Entre estos dos últimos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

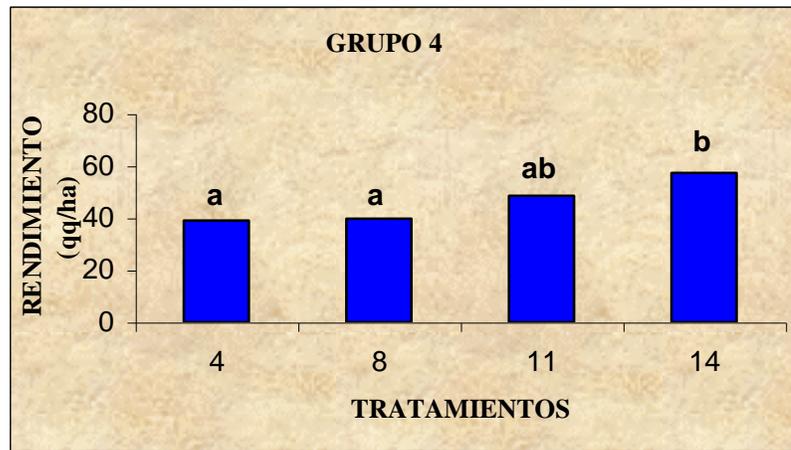


Fig. N°9: Rendimiento en quintales por hectárea a cosecha, según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el Test de Tukey.

Se puede observar que en todos los tratamientos inoculados (promedio 48 qq/ha.) los rendimientos fueron superiores en un 37 % en relación con los testigos sin inocular (promedio 35 qq/ha.), esto coincide con lo observado por Caballero Mellado *et al.* (2002) que en un ensayo de trigo a campo inoculado con *Azospirillum*, los rendimientos incrementaron con respecto al control no inoculado en un rango de 23 a 63 %, lo mismo sucede con lo propuesto por Okon y Labandera-Gonzales (1994), quienes afirman que la inoculación y la fertilización producen un incremento significativo en el rendimiento en el rango de 5-30%, o lo propuesto por Bashan y Levanyon (1990) quienes, en ensayos a campo, obtuvieron un incremento en el rendimiento del 10-30%.

Bouillant (1997), aseguró que la inoculación lleva a un aumento significativo del sistema radical, induce la resistencia a agentes patógenos, provee elementos como el nitrógeno, inhibe la proliferación de plantas parásitas y produce hormonas que estimulan el crecimiento vegetal, lo que permite un desarrollo más económico y saludable de los cultivos.

Rodríguez Cáceres *et al.* (1996) demostraron que la respuesta a la inoculación varía en función del grado de fertilidad y la disponibilidad de agua de los suelos, observando la gran importancia que puede adquirir la relación cepa - cultivar.

Los resultados analizados a lo largo del ciclo del cultivo y confirmados en el rendimiento nos permiten decir que la combinación del fertilizante en diferentes dosis, con el inoculante son significativas para el cultivo de maíz.

CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos podemos concluir:

- La longitud de tallos a los 90 días post-siembra, mostró diferencias entre los tratamientos inoculados-fertilizados y los no inoculados-fertilizados, dentro de los cuales cabe destacar que la mayor diferencia se observó dentro del grupo 4 con un 26 % de incremento.
- El diámetro de tallos a los 90 días post-siembra, también mostró diferencias entre los tratamientos inoculados-fertilizados y los testigos-fertilizados, la mayor diferencia se observó dentro del grupo 2 con un 22 % de incremento.
- El peso seco aéreo y radical a los 90 días post-siembra, sigue una tendencia similar mostrando una diferencia a favor de los tratamientos inoculados, obteniéndose el mayor porcentaje dentro del grupo 4 para ambas mediciones.
- El rendimiento en general, presentó diferencias estadísticamente significativas entre los testigos y los diferentes tratamientos inoculados.
- Podemos decir que: el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en el cultivo de maíz a campo favoreció el crecimiento en biomasa y los rendimientos en grano.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVAREZ C. y E. MULIN 2004. **El gran libro de la siembra directa**. Clarín (Ed.) Cap. 1 (pag. 3); Cap. 3 (pag. 34); Cap. 15 (pag. 166-189).
- BARBIERI, P., ZANELLI, GALLI, E. and ZANETTI, G. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* sp. and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. **FEMS Microbiol. Lett.** 36: 87-90.
- BASHAN, Y. and LEVANONY, H. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology; *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Can. J. Microbiol.** 36:591-608.
- BELLONE C. H.; CARRIZO DE BELLONES S.; JAIME M.A.; MANLLA A.M.; MONZON DE ASCONEGUI M.A.: 1999. Respuesta de dos cultivares de maíz a la inoculación con distintos aislamientos de *Azospirillum* spp. **II Reunión Científico Técnica de Biología de suelo-Fijación del Nitrógeno**. Universidad Nacional de Catamarca, Facultad de Ciencias Agrarias.
- BOUILLANT, M. 1997. Inhibition of *Striga* seed germination with sorghum growth promotion by soil bacteria. **Sciences de la Vie**. Vol. 320, no.2,p. 159-162.
- BOWEN, G.D. and ROVIRA, A.D. ; 1991. The rizosphere, the hidden half. pp.661-669. In :Y. waisel, A. Eshel and U. Kafkafi (eds). **Plant roots, the hidden half**. Marcel Dekker, New york.
- BRIAT, J.F.; 1992. Iron assimilation and storage in prokaryotes. **J. Gen. Microbiol.** 138 : 2475-2483.
- BROWN, ME.; 1974. Seed and root bacterization. **Annual Rev. of Phytopathology** 12 : 181-197.
- CABALLERO MELLADO N. 2002. Publicado en **actas 12th International Congress on Nitrogen Fixation**. 12-17 de Septiembre de 1999, Parana, Brasil.
- CASTIGNETTI, D. and SMARRELLI, J. JR.; 1986. Siderophes, the iron nutrition of plants, and nitrate reductase. **FEBS Lett.** 209: 147-151.
- CHABOT, R., ANTOUN, H. and CESCAS, M.P.; 1993. Stimulation de croissance du maïs et de la laitue romanie par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. **Can. J. Microbiol.** 39 : 941-947.
- CLELAND, R.E.; 1990. Auxin and cell elongation. In *Plant Hormones and their role plant growth and development*. Edited by P.J. Davies. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. pp. 132-148.
- DÍAZ-ZORITA, M., BALIÑA, R.M., FERNÁNDEZ CANIGIA, M.V., PERTICARI, A. 2006. Rendimiento de cultivos de trigo en la región pampeana inoculados con *Azospirillum brasilense*. **INPOFOS Informaciones agronómicas** 29: 17-19.

- DOBBELAERE, S. CROONENBERGHS, A., THYS, A., PTACEK, D., VANDERYDEN, J., DUTTO, P., LABANDERA-GONZALZ, C., CABALLERO-MELLADO, J., AGUIRRE, J.F., KAPULNIK, Y., BRENER, S., BURDMAN, S., KADOURT, D., SARIG., and OKON, Y. 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Plant Physiol.** 28:871-879.
- DOBEREINER, J. and F. PEDROZA 1987 Nitrogen-fixing bacteria in non leguminous crop plants Sci. Tech. Publishers/Springer Verlag, pp 1-155. Madison. Wis. USA.
- FAGES, J. 1992 An industrial view of *Azospirillum* inoculants: formulation and application technology. *Symbiosis* 13:15.
- FRIONI, L., 1999. **Procesos microbianos**. Tomo II. Ed. Fund. UNRC. ISBN: 950-665-109.
- FULCHIERI M. and FRIONI L., 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays*): effect on yield in a field experiment in central Argentina. **Soil Biol. Biochem** 26, 921-923.
- GERRETSEN F. C. 1948. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. **Plant and Soil** 1: 51-81.
- GLICK, B.R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Can. J. microbiol.** 41: 109-117.
- HAGEN, G., 1990. The control of gene expression by auxin. **In Plant hormones and their role in plant growth and development**. Edited by P.J. Davies. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. pp. 132-148.
- HORNBY, D., 1990. Root disease, pp. 233-528. In: J.M. Lynch (ed). **The rizosphere**. Wiley, Chichester, U.K.
- IGLESIAS M. C., FOGAR M. N., CRACOGNA M. F., ROTELA D., FERRERO A. R. 2001. Inoculación Con *Azospirillum sp* en cultivos comerciales. Reunión de comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Sec. Gral. de Ciencia y Técnica UNNE.
- KAPULNICK, Y., 1991. **Plant growth-promoting rhizobacteria**, pp. 717-729. In: Y. Waisel, A. Eshel and U. Kafkafi (eds). *Plant roots, the hidden half*. Marcel Dekker, New York.
- KATZNELSON, H. y B. BOSE 1959. Metabolic activity and phosphate-dissolving capability of bacterial isolates from wheat roots, rhizosphere soil. **Can. J. Microbiol.** 5:79-85.
- KLOEPPER, J. W. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. **Soil Microbial Ecology** (Ed) F, B. Metting Jr 255-274.
- KLOEPPER, J. W. and SCHROTH M.N., 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. Proc. 4th Int. Conf. Plant. Path. Bact. Angers. 879-882.
- KLOEPPER, J. W., LIFSHITZ, R. and SCHROTH, M.N., 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefic plant production. **ISI Atlas Sci. Anim. Plant. Sci.** Pp. 60-64.

- KLOEPPER, J. W., LIFSHITZ, R. and ZABLOTOWICZ, R.M.,1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnol.** 7: 39-43.
- KUCEY, R.M.N., JANZEN, H.H. and LEGGET, M.E., 1989. Microbially mediated increases in plant-available phosphorous. **Adv. Agron.** 42: 199-228.
- LIPPMAN, B., LEINHOS, V. and BERGMANN, H., 1995. Influence of auxin producing rhizobacteria on root morphology and nutrient accumulation of crops. I. Changes in root morphology and nutrient accumulation in maize (*Zea mays* L.) caused by inoculation with indole-3-acetic acid (IAA) producing *Pseudomonas* and *acinetobacter* strains or IAA applied exogenously. **Angew Bot.** 69: 31-36.
- LUCANGELLI, C. y R. BOTTINI 1996. **Actas** de la XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Pag. 466-467.
- LYNCH, J.M. (1990 c) Beneficial interactions between microorganisms and roots. **Biotech. Adv.** 8: 335-346.
- LYNCH, J.M. (1990 b) Introduction: Some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil, pp. 1-10. In: Lynch, J.M. (ed.). **The rhizosphere**. Wiley, Chichester U.K.
- LYNCH, J.M. (ed.) ,(1990 a). **The rhizosphere**. Wiley, Chichester U.K.
- NEILANDS, J.B. and LEONG, S.A.,1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. **Annu. Rev. Plant Physiol.** 37: 187-208.
- NIETO, K. and FRANKENBERGER, W. JR. 1989 Biosynthesis of cytokinins in soil; Soil Science Society of America Journal. 53: 735-740.
- OKON, Y., 1985. *Azospirillum* as a potential inoculant for agriculture. **Trends Biotechnol.** 3:223-228.
- OKON, Y., and HADAR, Y., 1987. Microbial inoculants as crop-yield enhancers. **CRC Critical Rev. In Biotechnol.** 6: 61-85.
- OKON, Y., LABANDERA-GONZALEZ. C.A., 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biol. Biochem.**, 26: 1591-1601.
- RICHARDSON, A.E., 1994. Soil microorganisms and phosphorus availability. In *Soil Biota. Management in sustainable Farming Systems*. Ed. C.E. Pankhurst. pp. 50-62.
- RODRIGUEZ CACERES E.D., DI COCO C., PACHECO BASURCO J.C., 1996. Influencia de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en trigo cultivado en un suelo de la provincia de la Pampa, Argentina. *Ciencia del Suelo* 14: 110-112.

- SAGPYA 2006 Estimaciones agrícolas – Cereales – Maíz . En www.sagpya.mecon.gov.ar/new/0-0/agricultura/otros/estimaciones/infmaíz. Consultado:07-09-2006.
- SILVA FILHO G. y C. VIDOR 2001 Actividad de microorganismos solubilizadores de fósforo en presencia de nitrógeno, hierro, calcio y potasio *Pesq. agropec. bras.*, Brasilia, v. 36, n. 12, p. 1495-1508.
- STEENHOUDT, O. and VANDERLEYDEN, J., 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associate with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiol. Rev.** 24: 487-506.
- SUMNER, M. R. 1990 Responses to *Azospirillum* inoculation. *Advances in Soil Science* 12:53.
- THUAR, A. 2005 **Desarrollo de la Aplicación de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en un Cultivo de Maíz**. Informe final ensayo Rizobacter Argentina-Universidad nacional de Río Cuarto. Campaña 2004-2005.
- THUAR, A. y Y. SALVAGNO 2003 **Efectos de la promoción del crecimiento en un cultivo de Maíz con Bacterias Simbióticas y de Vida Libre**. Tesis. Fac. de Ingeniería Agronómica, UNRC.
- TIEN T.M., GASKINS M.H. and D.H., HUBBEL., 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Appl. Environ. Microbiol.** 37: 1016-1024.
- VAN LOON, L.C. KABER P.A.H., PIETERSEN., C.M.J., 1998. Systematic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Ann. Rev., Phytopathol**, 3: 453-483.
- VOISARD, C., KEEL, C., HAAS, D. and DEFAGO, G., 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. **EMBO J.** 8: 351-358.

Anexo

Tablas de resultados de rendimientos

GRUPO N°1

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>N° DE MUESTRA</i>	<i>RTO. Kg/Ha</i>	<i>RTO. Kg/m²</i>
	1	2688	0,26876
<i>Tratamiento 1 (Testigo)</i>	2	2543	0,25428
	3	2859	0,28585
	1	3051	0,30509
<i>Trat.5 (Inoculante Noctin)</i>	2	4095	0,40952
	3	4344	0,43442
	1	3538	0,35380
<i>Trat.9 (Inoc. Graminsoil L₁)</i>	2	3867	0,38666
	3	3990	0,39904
	1	5305	0,53047
<i>Trat.12 (Inoc. Graminsoil L₂)</i>	2	7152	0,71523
	3	3486	0,34857

GRUPO N°2

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>N° DE MUESTRA</i>	<i>RTO. Kg/Ha</i>	<i>RTO. Kg/m²</i>
	1	3335	0,33347
<i>Tratamiento 2 (Testigo)</i>	2	3619	0,36190
	3	3479	0,34795
	1	4667	0,46666
<i>Trat.6 (Inoculante Noctin)</i>	2	5024	0,50238
	3	4938	0,49380

GRUPO N°3

TRATAMIENTOS	N° DE MUESTRA	RTO. Kg/Ha	RTO. Kg/m²
	1	3007	0,30071
<i>Tratamiento 3 (Testigo)</i>	2	4343	0,43428
	3	4459	0,44590
	1	5824	0,58238
<i>Trat.7 (Inoculante Noctin)</i>	2	5609	0,56095
	3	4328	0,43285
	1	3895	0,38952
<i>Trat.10 (Inoc. Graminosoil L₁)</i>	2	4700	0,47
	3	3971	0,39714
	1	5062	0,50619
<i>Trat.13 (Inoc. Graminosoil L₂)</i>	2	7095	0,70952
	3	6400	0,64

GRUPO N°4

TRATAMIENTOS	N° DE MUESTRA	RTO. Kg/Ha	RTO. Kg/m²
	1	4278	0,42780
<i>Tratamiento 4 (Testigo)</i>	2	4157	0,41571
	3	3237	0,32366
	1	4543	0,45428
<i>Trat.8 (Inoculante Noctin)</i>	2	3233	0,32333
	3	4157	0,41571
	1	4324	0,43238
<i>Trat.11 (Inoc. Graminosoil L₁)</i>	2	5209	0,52095
	3	5047	0,50476
	1	4905	0,49047
<i>Trat.14 (Inoc. Graminosoil L₂)</i>	2	5666	0,56666
	3	6628	0,66285

Tabla de resultados de determinaciones efectuadas a los 90 días post-
siembra

(longitud de tallos, diámetro de tallos, materia seca parte aérea y materia seca de raíz)

<i>Nº de Tratamiento</i>	<i>Long. de tallos (cm)</i>	<i>Diámetro de tallos (cm)</i>	<i>Materia seca parte aérea (gr.)</i>	<i>Materia seca raíz (gr.)</i>
GRUPO 2				
<i>Tratamiento 2 (Testigo)</i>	97,4	6,53	82,98	11,78
<i>Trat.6 (Inoculante Noctin)</i>	108,2	7,94	86,32	18,07
GRUPO 3				
<i>Tratamiento 3 (Testigo)</i>	98,2	6,48	59,11	11,38
<i>Trat.7 (Inoculante Noctin)</i>	122,3	7,8	89,22	18,12
<i>Trat.10 (Inoc. Graminsoil L₁)</i>	99,7	7,43	91,25	12,41
<i>Trat.13 (Inoc. Graminsoil L₂)</i>	108,6	6,66	59,98	13,87
GRUPO 4				
<i>Tratamiento 4 (Testigo)</i>	94,7	6,43	51,36	10,37
<i>Trat.8 (Inoculante Noctin)</i>	119,6	7,24	88,42	16,88
<i>Trat.11 (Inoc. Graminsoil L₁)</i>	96,11	6,63	62,96	10,46
<i>Trat.14 (Inoc. Graminsoil L₂)</i>	107	6,57	57,36	10,45