

**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 *Bacillus spp.* bajo
mínima labranza”**

Alumno: Juan Manuel Obrvan

DNI.: 27.294.706

Director: Dra. Carmen Olmedo

Co-director: Javier Andrés

Río Cuarto- Córdoba

Julio de 2008

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

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

**Titulo del trabajo final: EVALUACION DEL EFECTO DE LA
INOCULACIÓN EN MAIZ CON *BACILLUS spp.* BAJO MINIMA
LABRAZA.**

Autor: Juan Manual Obrvan

DNI: 27.294.706

Directora: Dra. Carmen Olmedo

**Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias del jurado
evaluador:**

Monica Grosso -----

Edgardo Zorza -----

Migel A. Di Renzo -----

Fecha de presentación: -----/-----/-----

Aprobado por secretaria académica: -----/-----/-----

Secretario académico

Dedicatoria:

Este trabajo se lo dedico a mis seres queridos por el apoyo que me brindaron durante mi preparación como profesional.

A mis amigos por haber estado siempre y estar en los momentos importantes de mi vida.

Agradecimientos:

A mi directora Dra. Carmen Olmedo por su dedicación y paciencia durante todo el tiempo empleado en la realización de esta tarea.

Al Dr. Javier Andres por la cooperación y consejos aportados para la culminación de la misma.

Al señor Hugo Reineri por ceder su establecimiento para realizar el ensayo.

A mis compañeros y amigos por el apoyo brindado.

RESUMEN

Labranzas mínimas, cultivos resistentes a patógenos y el moderado uso de agroquímicos es la nueva tendencia de la agricultura sustentable; a ello debemos sumar la inoculación con microorganismos PGPR's (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) que benefician el desarrollo de los cultivos a través de diversos mecanismos, todo esto tiene como finalidad preservar y mantener el recurso suelo en el tiempo. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación en maíz con *Bacillus spp.* solubilizadora de fósforo, bajo mínima labranza. El estudio se realizó en cercanías de Rodeo Viejo a 45 km. al oeste de Río Cuarto. Durante el ciclo de desarrollo del cultivo se realizaron las siguientes evaluaciones: en 5 hojas del estado vegetativo (V5) se evaluó densidad, altura, diámetro, longitud radical, peso seco de biomasa y raíz. A cosecha se evaluó rendimiento y sus componentes, espigas por plantas, hileras de granos por espigas, número de granos por hileras, peso de los 1000 granos y rendimiento. La densidad de plantas aumento en todos los tratamientos con respecto al tratamiento sin fertilizar ni inocular. El mayor diámetro se observó en el tratamiento inoculado con el microorganismo solubilizador de fósforo. La mayor longitud radical se obtuvo en el tratamiento fertilizado con 90 kg. de fosfato diamónico (PDA) . Los tratamientos inoculados y el inoculado más 52 kg. de PDA, tuvieron los mayores peso seco de biomasa aérea. Se destaca el tratamiento inoculado en el número y peso de granos por espiga. El mayor rendimiento se da en el tratamiento fertilizado con 90 kg. de PDA, luego le sigue el tratamiento inoculado + 52 kg. de PDA. El efecto de la fertilización fosforada, ya sea química o biológica, favoreció el crecimiento y desarrollo del cultivo de maíz bajo minima labranza.

Palabras claves: *Bacillus*, PGPR's (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

SUMMARY

Minimum tillage, pathogen resistant seeds and the moderating use of agrochemicals, are the new tendency of sustainable agriculture; at the same time the inoculation with PGPR's had a benefit on the crop development. The objective of the work was to evaluate the effect of inoculation with *Bacillus spp.* in a corn field in minimum tillage. The study was carried out in proximity of Rodeo Viejo, 45 km to the west of Río Cuarto. During the crop development the following evaluations were carried out: in five leaves density of plants, height of plants diameter of stems, length of roots, moists and dry weight air biomass and roots. In physiological maturity: spikes for plants, rows of spikes, number of grains for rows, weight of 1000 grains and crop yield. Density was largest than control in all treatments. The biggest diameter was in only inoculated. The largest root length was in fertilized with 90 kg. PDA. The biggest dry weight of air biomass was in only inoculated and inoculated + 52 kg. PDA. The larger number of grains for file and spike, and weight of 1000 grains was in only inoculated. The biggest yield was in fertilized with 90 kg. PDA, right after that inoculated + 52 kg PDA. We can say that the effect to fertilize with *Bacillus spp.* in corn field under minimum tillage increased growth and development.

Key word: *Bacillus spp.*, promotion, growth.

ÍNDICE DEL TEXTO

Resumen.....	V
Summary.....	VI
Introducción.....	1
Antecedentes.....	2
Hipótesis.....	16
Objetivos.....	16
Materiales y métodos.....	17
Resultados	21
Discusión.....	27
Conclusión.....	28
Bibliografía.....	29

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.....	18
Tabla 2.....	21
Tabla 3.....	24

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Densidad.....	22
Figura N° 2: Longitud radical/planta.....	23
Figura N° 3: Espigas por planta.....	25
Figura N° 4: Peso de los 1000 granos.....	26

Introducción:

Los alimentos que consume el hombre en su mayoría provienen del suelo. Esos alimentos son producidos en los primeros centímetros (cm.) del suelo, allí se encuentran la mayoría de los elementos que la planta necesita para crecer y desarrollarse, cuidar este recurso limitado, cuya formación demanda miles de años, es el primer requerimiento para la agricultura sustentable del nuevo siglo.

La mínima labranza ayuda a prevenir y amortiguar los perjuicios que le causan al suelo el uso excesivo, esta técnica permite preservar rastrojo en superficie y a su vez acelerar los procesos de descomposición de los restos de cosecha. Así mismo la magnitud de tales beneficios es proporcional al grado de cobertura y al espesor de la cubierta de rastrojos.

En primer lugar la presencia de rastrojo ejerce una protección directa al suelo de la erosión. Esto es bastante importante en nuestra zona que tiene suelos en pendiente y, en algunas épocas, recibe precipitaciones de alta intensidad.

La producción Argentina de granos se duplicó en la última década, como resultado de la aplicación, de numerosas técnicas tales como; genética de avanzada, fertilizantes, plaguicidas, control de plagas, enfermedades y malezas, y además siembra directa. Este importante aumento produjo un exceso en el uso de los minerales que se encuentran en el suelo.

Las áreas más productivas han sido sometidas a mayor diversidad y presiones en su uso a través de rigurosas prácticas de manejo como la fertilización con sales químicas y aquellas áreas no utilizadas anteriormente por su marginalidad, hoy, son transformadas y ocupadas para su aprovechamiento (Cantero y Cholaky 1997).

Ciertos microorganismos del suelo pueden incrementar la disponibilidad de nutrientes para las plantas, otros producen compuestos como vitaminas, hormonas y antibióticos que contribuyen a la salud del vegetal y a la obtención de altos rendimientos. El hombre con el desarrollo tecnológico estudió estos microorganismos bajo el nombre de biofertilizantes para utilizarlos en las prácticas agrícolas contemporáneas (Bashan, *et al*; 1990). Son elaborados a partir de microorganismos de distinto tipo que una vez aplicados al suelo ó a las plantas, y a través de distintos mecanismos, realizan funciones de fertilización al aumentar la disponibilidad de los nutrientes presentes en el suelo.

La práctica biotecnológica de la inoculación, ha abierto nuevos horizontes en cuanto a la aplicación de microorganismos que favorecen, la promoción del crecimiento de las plantas a través de la fertilización natural, entre los géneros más utilizados podemos mencionar; *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rizobium*. Con el uso de estos inoculantes se lograría un menor efecto negativo sobre el suelo permitiendo que su explotación sea sostenible a lo largo del tiempo.

Se ha demostrado que la aplicación de microorganismos fijadores de vida libre incrementó el largo de los entrenudos en maíz y arroz. (Lucagnelli y Bottini 1996 a)

Se conocen un gran número de bacterias de vida libre o asociativa que fijan nitrógeno, pero solo algunas se destacan por su potencial como biofertilizantes o promotoras del crecimiento (Ferrera- Cerrato *et al*; 1995; Rodríguez. 1995). Dentro de las bacterias asociativas más estudiadas se encuentran las pertenecientes al genero *Bacillus* que son utilizados desde hace tiempo por investigadores de Rusia y Cuba.

Antecedentes:

El término PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) se conoce desde 1978 (Kloeppers *et al*; 1978) y se acepta para describir a las bacterias que habitan en la rizosfera de las plantas y que pueden tener un efecto positivo sobre los cultivos (Dileep y Dubet. 1992)

Según Kloeppers *et al*; (1989), el efecto beneficioso de las rizobacterias radica en diferentes mecanismos mediante los cuales ellas ejercen su acción. Bashan y Levanony (1990) plantean que los cambios mas marcados de la inoculación ocurren en el sistema radical de las plantas, lo que produce un incremento en la adquisición de sustancias nutritivas y agua.

Según Fendrik *et al*; (1995) y Martínez-Viera y Dibut. (1997), las bacterias rizosfericas son capaces de producir sustancias fisiológicamente activas como vitaminas, giberelinas, citoquininas, ácido-indol-acético en cantidades importantes, las cuales mediante su acción conjunta estimulan la germinación de la semilla, aceleran el desarrollo de las plantas e incrementan el rendimiento de los cultivos.

Diversos estudios han demostrado que la solubilización del fosfato por microorganismos solubilizadores es una importante característica de diversas cepas PGPR (Kloepper *et al*; 1989 , Kucey *et al*; 1989, Subba Rao 1982).

En experimentos de invernáculo Giménez. *et al* (2007), demostró que algunos microorganismos solubilizadores estimulan el crecimiento de maíz.

Para que las plantas puedan utilizar el fósforo, las bacterias deben hidrolizar los compuestos fosfatados para dejar al fósforo en su forma inorgánica (PO₄H), para ello las bacterias producen enzimas llamadas fosfatasas ácidas, las cuales cambian el pH del entorno y así facilitan que el Pi (fósforo inorgánico) sea liberado por intercambio protónico al medio, reemplazando los Pi por iones Calcio.

Algunas de las especies de bacterias que han sido utilizadas como biofertilizantes, debido a la capacidad solubilizante de fósforo, son:

Bacillus megaterium, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus pulvifaciens*, *Bacillus circulans*, *Pseudomonas stiata*, *Rhizobium leguminosarium* y *Rhizobium loti*

Estudios realizados muestran que las especies de los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* son las que presentan mayor actividad solubilizadora de fósforo (Iglesias *et al*; 2001).

En los últimos años, la fijación del nitrógeno por especies del género *Azospirillum spp.* ha recibido considerable atención, por la capacidad de estos microorganismos de formar una estrecha relación con numerosas especies de plantas, especialmente gramíneas.

Las primeras infecciones por *Azospirillum spp.* fueron realizadas por (Döbereiner *et al*; 1973) en *Digitaria decumbens*. (Frioni 1999).

En trigo se ha detectado actividad nitrogenasa en plantas inoculadas con *Azospirillum spp.* se ha puesto en duda el hecho de que la bacteria aporte cantidades apreciables de nitrógeno a la planta pero se ha comprobado efectos benéficos sobre el crecimiento, reflejados en distintos parámetros, atribuidos a la producción de factores de crecimiento, especialmente giberelinas. (Iglesias *et al* 2001).

Döbereiner *et al*; (1973) confirmaron la infección en el tejido cortical central de maíz y a partir de entonces gran cantidad de estudios se realizaron y se hacen en relación con esta interacción planta-bacteria. Se sabe que la bacteria puede colonizar el interior de la raíz, siendo controvertida la forma de penetración y localización dentro del tejido de la planta. (Bellone *et al*; 1999).

En maíz, en cultivo de secano, la interacción maíz-*Azospirillum* resulto la mas efectiva dentro de los tratamientos con *Azotobacter*; *Beijerinckia* y *Azospirillum* , (Jaime. *et al*; 1999).

La presencia de *Azotobacter*, *Beijerinckia*, y *Azospirillum* en la rizosfera de *Allenrolfiera vaginata* en suelos de alta salinidad de la llanura deprimida de Tucumán permitiría la selección resistente para su posterior inoculación a otras especies vegetales, en particular esto seria mas factible con bacterias del género *Azospirillum*, que muestran una mejor adaptación al medio que las otras especies de microorganismos evaluados (Jaime *et al*; 1999).

Iglesias y colaboradores realizaron en algodón la co-inoculación con *Azospirillum* y *Sacharomyces* manifestando un mayor incremento en altura y número de pimpollos por plantas.

Los PGPR's tienen variados mecanismos para promover el desarrollo vegetal y por lo tanto el efecto benéfico es un resultado de los modos de acción que son los siguientes: fijación del nitrógeno atmosférico, producción de fitohormonas (giberelinas, auxinas, citocininas, etileno, ácido indol-3-acético), producción de nitritos y nitratos, solubilización de fósforo, producción de sustancias antimicrobianas y antifúngicas.

Producción de hormonas: Son compuestos que incrementan el crecimiento y desarrollo vegetal.

Entre ellas encontramos:

Auxinas: promueven el alargamiento celular, diferenciación vascular, promoción de la floración, de la respiración, incremento de la actividad enzimática y de la velocidad de crecimiento, división celular, elongación de raíces.

Giberelinas: estimula la división celular, induce de la germinación de las semillas, promueve la floración, etc.

Citoquininas: mejora la división celular, el desarrollo radical y formación de los pelos radicales, inhibe el alargamiento de la raíz, incrementa la tasa fotosintética, etc.

Etileno: inhibe el crecimiento, promoción del crecimiento, proliferación de tejidos, etc.

Acido abscisico: cierre de estomas, síntesis de proteínas de reserva, inducción de la dormancia de semillas, etc. (www.unne.edu.ar/biologia/plantas/hormonas 2007)

Bacterias solubilizadoras de fósforo:

Aunque muchas bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) se encuentran presentes en el suelo, su número no es suficiente para competir con la gran variedad de bacterias que se encuentran ya establecidas en diferentes rizosferas, por lo tanto para obtener una alta solubilización del elemento, es necesario inocular las BSF en una alta concentración; la experiencia ha demostrado que solo hay efecto por parte de la inoculación en suelos con 1,5 % de materia orgánica (Cracogna *et al*; 2003)

Se han realizado experimentos para demostrar los beneficios ofrecidos por las BSF, algunos ejemplos: *Burkholderia cepacia*, aumenta la producción de tomate, cebolla, papa, plátanos, cítricos y café. *Rizobium leguminosarium* mejora el desarrollo de raíces y el crecimiento de lechuga y maíz. *Pseudomonas putida* estimula el crecimiento del canelo. (Chabot *et al*; 1993)

Cuando se emplean mezclas de diferentes bacterias para utilizarlas como biofertilizantes, es preciso aclarar que los efectos benéficos que puede ocasionar una bacteria o mezcla de bacterias sobre una planta se deben a una combinación de procesos (fijación de N, fitohormonas, sustancias antimicrobianas, solubilización de fósforo, etc.), que en su conjunto dan como resultado un beneficio a la planta.

Estas bacterias poseen un metabolismo versátil y pueden usar diferentes sustratos liberados por las raíces, con un tiempo de generación corto, movilidad y capacidad para colonizar raíces, producen variedad de metabolitos secundarios incluidos reguladoras de crecimiento, antibióticos y sideróforos (Kloepper y Schroth 1978).

Debido a la poca movilidad del fósforo en el suelo y a su baja concentración en solución, los fertilizantes con fósforo se aplican en los suelos agrícolas y el resultado es la acumulación de gran cantidad de fósforo total en el suelo, con un 20 a 80% en forma orgánica (Richardson 1994).

El fósforo después del nitrógeno, es el nutriente inorgánico más requerido por las plantas y microorganismos y además, es el factor limitante del desarrollo vegetal a pesar de ser abundante en el suelo tanto en formas inorgánicas como orgánicas (Alexander 1980).

Es absorbido en forma iónica como H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} (ortofosfato). La absorción del fósforo en forma de H_2PO_4^- es mayor en suelos con valores de pH altos.

El fósforo participa de manera directa e indirecta en varias de las funciones vitales de las plantas, una de ellas es el papel que juega como componente de algunos compuestos orgánicos que están presentes en reacciones bioquímicas que permiten aprovechar parte de la energía luminosa, que llega a través de los rayos solares, en energía potencialmente útil (fotosíntesis). Esta energía es utilizada en varias reacciones dentro y fuera de las células de las plantas para producir tejidos y órganos vegetales incluyendo las raíces.

En otras palabras, no son máquinas que requieren energía generada por algún tipo de combustión, si no que son seres vivos capaces de generar su propia energía a partir de CO_2 de la atmósfera y el flujo de electrones provenientes de la luz solar, entonces, por medio de reacciones enzimáticas forman el ATP o trifosfato de adenosina, que es un compuesto rico en energía biológicamente útil. Este compuesto contiene fósforo en su estructura molecular.

El ATP es la moneda de energía de la célula en el metabolismo celular. Todas las reacciones que necesitan energía utilizan ATP. Por ejemplo la síntesis de las proteínas, grasas, carbohidratos y otras moléculas complejas que forman parte de las plantas consumidas por los seres humanos y los animales, utilizan ATP.

En el desarrollo inicial de las plantas, después de la germinación, uno de los lugares donde existe mayor actividad metabólica es en las raíces justamente en las puntas, donde se lleva a cabo la mayor absorción de minerales del suelo al interior de las plantas. Además, aquí ocurre mayor actividad respiratoria de las plantas en esta etapa, en realidad el crecimiento de las raíces viene de la traslocación (descenso) de los carbohidratos fabricados en las hojas, entonces la presencia del fósforo disponible en el suelo es vital para la formación de células nuevas. El ATP más los carbohidratos generados durante la fotosíntesis son indispensables para que se formen células nuevas mediante el proceso de mitosis, el cual requiere mucho ATP.

Además, está comprobado por numerosas investigaciones que un buen suministro de fósforo está asociado con el incremento de la tasa de crecimiento, de las raíces (Rodríguez Fraga 1999). Cuando se aplican compuestos fosfatados solubles en banda al suelo, las raíces de las plantas se extienden proliferando su desarrollo a las áreas de suelo tratado, de ahí viene la gran prioridad de considerar los niveles de este elemento en el suelo antes o durante la siembra, debido a que el fósforo es un elemento con poco movimiento en el perfil del suelo, se requiere dosificar en una sola aplicación, que quede cerca del lugar que ocuparan las raíces del cultivo, para que se facilite su aprovechamiento.

Índices bajos del nutriente se deben a que el fósforo soluble reacciona con iones como el calcio, el hierro o el aluminio que provocan su precipitación o fijación, disminuyendo su disponibilidad para los vegetales (Rodríguez Fraga 1999). Los fosfatos inorgánicos aplicados como fertilizantes químicos también son inmovilizados en el suelo y como consecuencia no son solubles para los cultivos (Peix *et al*; 2004). Por lo tanto se considera, que la solubilización de distintas rocas fosfatadas y otras fuentes de fósforo inorgánicos por los microorganismos del suelo es una alternativa fundamental para incrementar la cantidad de nutriente disponible para las plantas (Illmer and Schiner 1995).

El suelo debe proveer un medio para el crecimiento de las plantas, regular y particionar el flujo de agua y nutrientes, servir como buffer ambiental en la formación, atenuación y degradación de compuestos ambientales peligrosos. (Larson y Pierce 1994)

El uso indiscriminado de tratamientos químicos y sistemas de labranzas con el objetivo de aumentar los rendimientos de las cosechas ha provocado cambios en la microflora del suelo, es decir una destrucción de las asociaciones microbianas normales y cambios de su actividad funcional y bioquímica el fenómeno resultante es la degradación paulatina de la fertilidad de los suelos y la contaminación del ambiente incluyendo la obtención de alimentos de menor calidad para el consumo humano y animal (Larson y Pierce 1994).

La materia orgánica (MO) es la reserva de numerosos nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas. La MO contiene aproximadamente un 58% de carbono (C) y presenta una relación C/N/P/S estimada en 140:10:1,3:1,3.

Dados los contenidos de nutrientes en la MO, la misma actúa como fuente y destino de los nutrientes en el sistema, es así que en situaciones de balance de nutrientes negativos, cuando la exportación de nutrientes en productos de cosecha (granos y forrajes) es superior al aporte vía abonos orgánicos y fertilizantes, los niveles de MO disminuyen aportando los nutrientes necesarios para los cultivos. Esta situación se observa frecuentemente cuando se comienza a cultivar un área nueva con disminuciones importantes de MO en los primeros años que liberan cantidades importantes de nutrientes.

La aplicación de nutrientes vía fertilización y/o abonos orgánicos permite mantener y/o mejorar los niveles de MO.

La materia orgánica de los suelos a parte de resultar el sostén básico para la vida en este medio, define en última instancia la fertilidad, es por esta razón que se insiste en aplicar prácticas agrícolas para establecer, mantener y elevar la cantidad y calidad de la materia orgánica como vía para lograr mejores cosechas y elevar la fertilidad actual y potencial de los suelos (García 2003).

El humus es la fracción orgánica del suelo excluyendo a los restos animales y vegetales sin descomponer y le confiere al suelo propiedades físicas, químicas, particularidades estructurales, friabilidad, porosidad, baja densidad de los horizontes superiores y color lo cual

influye en el régimen térmico, es fuente de nutrientes para plantas y evita por su capacidad reactiva la pérdida de las mismas, es una fuente de energía para los microorganismos y posee actividad estimuladora del crecimiento vegetal.

Consecuentemente la fertilidad biológica de los suelos es un concepto muy importante a tener presente en los análisis que realizamos a nuestros suelos y por lo tanto el manejo de los inoculantes bacterianos en este caso particular para el cultivo de maíz se transforman en herramientas muy útiles para mejorar el estado nutricional general de las planta de maíz.

Los inoculantes bacterianos mejoran el crecimiento y desarrollo de los cultivos de maíz por que posibilitan aumentar la capacidad de solubilización de fósforo orgánico e inorgánico del suelo y de los fertilizantes y al mismo tiempo son capaces de suministrar promotores de crecimiento vegetal a las plantas que impactan muy positivamente sobre el desarrollo radicular de las mismas. Las bacterias colonizan las raíces de las plantas y producen fitohormonas del tipo de las auxinas, giberelinas y citoquininas las cuales incrementan la plasticidad de la pared celular, estimulan el alargamiento celular y prolongan la vida de las células de la raíz e inducen la bifurcación de los pelos radiculares.

Todas estas propiedades conferidas al sistema radicular de las plantas de maíz no solamente aumentan el peso seco final de las raíces si no que además incrementan en forma notable el volumen de suelo explorado permitiendo a las plantas un mejor abastecimiento de agua y nutrientes para su crecimiento y desarrollo (Lucagnelli y Bottini 1996).

En el caso de fósforo inorgánico del suelo las bacterias producen ácidos orgánicos que rompen las uniones entre los cationes (Ca^{++} , Mg^{++}) unidos a las arcillas y los aniones fosfatos, liberando estos últimos a la solución del suelo. (Illmer 1995)

Por otra parte en el caso del fósforo orgánico del suelo, los inoculantes que contienen microorganismos solubilizadores de fósforo producen fosfatasas específicas que cortan las uniones esterés que unen las estructuras de la materia orgánica con los aniones fosfatos liberando estos últimos a la solución del suelo.

Ambos mecanismos mencionados, también se utilizan para la liberación de los fosfatos de los fertilizantes incorporados en los suelos agrícolas.

Todo el fertilizante liberado a la solución del suelo es susceptible a ser fijado por eso se encuentra en muy baja proporciones y por lo tanto es necesario mantener activado los mecanismos solubilizadores en forma permanente para que el nutriente pueda ser absorbido por la planta y los microorganismos en trigo (Ferraris , Couretot 2007).

La respuesta hacia auxinas, giberelinas y citoquininas esta condicionado por factores externos e internos como la edad de la planta, estado fisiológico y condiciones ambientales.

La aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal del género *Azospirillum* en cultivos ha demostrado efectos positivos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas en parte por su producción de fitohormonas, sin embargo, su crecimiento está regulado por la

disponibilidad de agua y de nutrientes en interacción con otros factores ambientales destacándose su adaptabilidad a condiciones desfavorables por su capacidad de desarrollar grandes volúmenes de raíces.

El tratamiento de la semillas de girasol con bacterias del género *Azospirillum*, aumenta la densidad y longitud de pelos radicales, la velocidad de aparición de raíces laterales y la superficie radical, traduciéndose en una mayor superficie de absorción de nutrientes, así como un mayor desarrollo de la parte aérea de las plantas, entre otros cambios, y mejorando la adaptabilidad del cultivo a condiciones ambientales adversas de producción (Iglesias et al 2001; Marko e Iglesias, *et al* 2002). Son más frecuentes los estudios que muestran que en etapas tempranas, tanto de cultivos de trigo como de maíz tratados con *Azospirillum* se observa mayor desarrollo radicular. (Puente. *et al* 2007).

La rizósfera:

La rizósfera fue definida por Hiltner (1904) como la zona alrededor de las raíces de las plantas, donde se estimula el crecimiento de las bacterias.

Esta definición se ha ido ampliando a través del tiempo (Ferrara.- Cerrato 1995), reconociéndose en la actualidad varias zonas, por ejemplo la rizosfera (zona alrededor de la raíz).

Rizosfera: zona íntimamente adherida a la raíces (Alexander 1980)

El incremento de la actividad microbiana en la rizosfera, ejercido por el suministro de compuestos orgánicos que aportan los exudados radicales y otros materiales, recibe el nombre de efecto rizosférico, que puede afectar positivamente o negativamente la actividad microbiana del medio edáfico.

Los tipos de exudados que frecuentemente se encuentran son: carbohidratos del tipo de los monosacáridos, di, tri y oligosacáridos. Como exudados importantes también se encuentran factores del crecimiento como la tiamina, niacina, colina, inositol, piridoxina, ácido N metil nicotínico, etc.; que son necesarios para el desarrollo tanto de hongos, bacterias, actinomicetos y algas como para la microfauna, protozoos, nematodos e insectos, (Ferrara- Cerrato 1995).

Los cambios de pH en la rizósfera también afectan a las poblaciones microbianas, en algunas ocasiones basta con inducir cambios de acidez del medio a través de medios mecánicos, químico, físicos o el uso de la tierra para favorecer algunos grupos microbianos, que pueden resultar benéficos o dañinos a la población.

Existen una gama de compuestos que inducen cambios de pH en la raíz, entre ellos agroquímicos utilizados comúnmente, además de compuestos químicos naturales como los ácidos orgánicos que forman parte del ciclo de Krebs, tales son el ácido cítrico, acético y

málico(Alexander 1980). Se encuentran también otros compuestos como son los nucleótidos (adenina, guanina y citosina), enzimas (fosfatazas, amilazas y proteazas), así como hormonas vegetales (auxinas, citoquininas, ácido giberélico, etc.) y otros importante para la actividad microbiana en la rizósfera, ya que ayudan a tomar quelatos asociados con poblaciones microbianas y nutrientes del suelo, aunque también participan en la inmovilización de elementos esenciales.

En resumen, los compuestos químicos que exudan las raíces modifican las poblaciones de bacterias, hongos y actinomicetos y provocan cambios en los protozoos y algas. Los estudios cualitativos revelan cierto efecto selectivo en el efecto radical, al encontrarse una estimulación preferencial sobre los microorganismos gran negativo, no espurulados.

Los géneros frecuentemente encontrados son *Pseudomonas*, *Arthobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter* y *Mycobacterium*. (Ferrera-Cerrato 1995).

Desde el punto de vista de sus relaciones con las plantas, los microorganismos del suelo se dividen en tres grupos:

-Saprófitos: que utilizan compuestos orgánicos procedentes de residuos animales, vegetales o microbianos.

-Simbiontes parasíticos: causantes de enfermedades a las plantas.

-Simbiontes: los cuales benefician el crecimiento y desarrollo vegetal.

Entre los beneficios para el sistema suelo-planta, pueden citarse los siguientes:

-Estimulación de la germinación y el enraizamiento.

-Incremento en el suministro y disponibilidad de nutrientes.

-Mejora de la estructura del suelo como consecuencia de la contribución microbiana en la formación de agregados estables.

-Protección de la planta frente al estrés hídrico y abiótico.

La fuente de dichos beneficios en general es atribuible a las colonias bacterianas de actinomiceto, relacionadas con la mineralización del sustrato orgánico y procesos metabólicos y fisiológicos en la rizosfera. Así las bacterias rizosféricas conocidas como PGPR's, desempeñan funciones importantes para la planta, al facilitar la emergencia o enraizamiento, además, se conoce que bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos micorrízicos son los componentes más destacados entre los simbiontes mutualistas. Los hongos de tipo micorriza arbuscular (VAM), una vez que colonizan la raíz desarrollan un micelio externo que lo conectan con variados microhabitat del suelo, permitiendo una mayor disponibilidad de nutrientes (fósforo y nitrógeno principalmente), protección frente a estrés biótico y abiótico. Las bacterias del género *Rhizobium*, efectúan su función en la rizósfera de las leguminosas a las cuales le incorporan altas cantidades de nitrógeno. (Acuña *et al*; 2006)

Los biofertilizantes se han identificado como alternativa al fertilizante químico para aumentar la fertilidad del suelo y la producción vegetal sostenible.

La idea de agricultura sostenible promueve la disminución o eliminación de productos químicos tanto en la fertilización como en la lucha de plagas. Los términos de biofertilización, bioprotección o biocontrol han adquirido mayor importancia, cuando a sido posible manipular genéticamente los microorganismos para mejorar sus características beneficiosas, incrementar su presencia en la rizosfera, ó incluso, suministrarle la capacidad de ser eliminados cuando hayan cumplido su función para evitar el riesgo ecológico que supone su diseminación en el ambiente.

La actividad microbiana comienza ante el llamado efecto rizósferico mostrado por la raíz, de forma inespecífica la mayoría de las veces, pero otras, a través de un intercambio de señales, dispara la interacción microorganismo-planta, con resultados claramente beneficiosos para el hospedador.

Los microorganismos de la rizósfera se nutren de los exudados radicales, formados por compuestos de bajo peso molecular, como azúcares, ácidos orgánicos, amino ácido, mucigel y lisados de la raíz liberados en la autólisis de células radicales. Cerca del 40 % del carbono fijado en la fotosíntesis puede ser excretada a la rizósfera, esto afecta positivamente a la mayoría de los microorganismos de este hábitat que son heterótrofos y por eso requieren compuestos orgánicos para su vida.

En relación a la protección frente a patógenos, puede detectarse antagonismos, producción de antibióticos, liberación de enzimas como chitinazas y glucanasas, que actúan frente a la pared de los hongos o cubiertas de los insectos, etc.; además de la inducción de una resistencia sistémica, de la planta a virus bacterias y hongos, directamente relacionados con la nutrición, la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y otros nutrientes, la movilización de los mismos, etc.

Una cuestión importante a tener en cuenta en el estudio de esta microbiota, (término que engloba a los microorganismos en su conjunto y que ha sustituido al antiguo de microflora), es que toda ella está en competencia consigo misma y se puede modificar si cambian las condiciones ambientales, como la simple adición de fertilizantes, que puede ser positiva en una dirección o contraproducente, en otra. La fijación de nitrógeno no ocurre, por ejemplo, si el suelo se abona con nitrato, amonio o urea, etc. Pero así como la presencia de otros organismos puede ser detrimental para el propio PGPR's, otras veces puede ser beneficiosa.

La producción o liberación de vitaminas y otros factores de crecimiento por microorganismos neutros de la rizósfera favorecen la actuación de los PGPR's potenciales que requieren de estos compuestos (www.eez.csic.es/~olivares/ciencia/fijacion/pgpr.html).

Actividad microbiana en el suelo:

La colonización de la raíz se considera un requisito importante para que el microorganismo asociado ejerza su función. La colonización y la supervivencia dependen de factores físicos, químicos y biológicos tan importantes como el pH, textura del suelo, disponibilidad de nutrientes, humedad, temperatura, presencia de materia orgánica, competencia con otros microorganismos por la ocupación del mismo nicho, y el propio “quórum sensing” fenómeno tan de actualidad, que se entiende como el control que cada microorganismo tiene sobre su propia población manteniéndola a través de un intercambio de señales dentro de unos límites determinados.

Prácticamente toda la investigación realizada en la microbiota del suelo se ha llevado a cabo sobre los microorganismos cultivables. Ahora se conoce la existencia en la rizosfera de una gran cantidad de organismos viables pero no cultivables (VBNC), y que representan una alta proporción en el conjunto de la población del suelo que algunos llevan a más del 90%. De ellos, unos pueden estar en estado de dormancia permanente, otros, aun siendo muy activos, como los hongos formadores de micorrizas, no crecen en los habituales medios de cultivos. Hay quienes dicen que algunos pueden estar simplemente muertos, solo se detectan por métodos indirectos, de ahí la polémica que existe acerca de estos organismos VBNC, (www.eez.csic.es/~olivares/ciencia/fijacion/pgpr.html).

A los efectos directos e indirectos debidos a estos microorganismos, hay que añadir su efecto en los ciclos biogeoquímicos de los elementos que pasan por unas etapas de libre disposición para las plantas y por otras que los estabilizan y quedan listos para su utilización posterior. Como ciclo biogeoquímico se entienden las modificaciones debidas a la actividad microbiana que sufren los distintos compuestos de naturaleza mineral u orgánica que se encuentra en el suelo formando parte natural del mismo o como consecuencia de los residuos vegetales o animales que allí han ido a parar, así como los fertilizantes aplicados.

Como ejemplo típico se puede mencionar el ciclo del nitrógeno, nutriente que junto con el agua se considera el factor limitante más importante para el crecimiento de las plantas.

Este elemento se puede encontrar en el suelo como nitrato, amonio, formando parte de las proteínas etc. Los microorganismos se encargan de pasar de una forma a otra, teniendo la planta siempre un nivel aceptable del elemento disponible. El nitrógeno que se añade como abono entra dentro de ese ciclo, lo que posibilita una rápida adquisición por la planta o una inmovilización transitoria en el futuro. No conviene olvidar, sin embargo, que algunas etapas del ciclo también llevan a la pérdida de ese nutriente, ya sea por su transformación en nitrógeno molecular que pasa a la atmósfera o simplemente por lavado por el agua de riego o lluvia. Es necesario actuar en el sentido que conduzca a minimizar tales pérdidas.

En este conjunto, no hay que olvidar la materia orgánica que tiene una importancia clave en la nutrición. Su presencia, además de mejorar las características físicas del suelo, es imprescindible para la vida microbiana y de su transformación se van a derivar compuestos directamente asimilables por las plantas y otros que van a facilitar la solubilización y movilización de muchos nutrientes.

Siempre se ha dicho que un suelo rico en microorganismos es un suelo fértil. ¿Que es primero? La respuesta parece fácil a primera vista, sin embargo, una cosa es cierta, si no hay colonización microbiana no hay un desarrollo normal de las plantas en condiciones naturales. El suelo no es un mero soporte inerte, se puede considerar como un ser vivo que como tal, manifiesta algunas de sus propiedades: nace (se forma), respira y puede, incluso morir (www.eea.csic.es/olivares/ciencia/fijación/pgpr.html)

Sistemas de labranzas:

Internacionalmente se ha aceptado el criterio del ex-Servicio de Conservación de Suelos de los EEUU que ha definido al sistema de labranzas conservacionistas como todo aquel conjunto de operaciones de laboreo que, luego de la siembra del cultivo, ha dejado hasta un treinta por ciento del suelo cubierto por rastrojo.

En general, tendríamos que hablar de tres grupos de sistemas de labranza que se entienden como conservacionistas: labranza reducida, labranza mínima y labranza cero (o siembra directa). Las tres posibilidades se encontrarían comprendidas en la definición de labranza conservacionista.

La primera, la labranza reducida, es la reducción del número de operaciones de laboreo respecto a la labranza convencional. De esta manera, es probable que quede una determinada cantidad de rastrojo sobre la superficie. Por definición labranza mínima es el mínimo laboreo indispensable para lograr una correcta implantación del cultivo. El caso más extremo de labranza mínima es la siembra directa o la labranza cero, es decir, sembrar directamente sin remover el suelo. (Latanzi 1998).

Las ventajas fundamentales de los sistemas de labranza conservacionista se asocian a que deja cierta cantidad de rastrojo sobre la superficie, la magnitud de tales beneficios es proporcional al grado de cobertura y al espesor de la cubierta de rastrojos.

En primer lugar, la presencia del rastrojo ejerce una protección directa al suelo de la erosión. Esto es bastante importante en nuestra zona que tiene suelos en pendiente y, en algunas épocas del año, recibe precipitaciones de alta intensidad.

Otra ventaja es que la cobertura con rastrojos sobre la superficie establece una barrera que provoca una reducción de la evaporación del agua del suelo. Cuanto más rastrojo haya y cuanto menos se haya movido el suelo, mejor conservación del agua tendremos haciendo que la

oportunidad de siembra sea mejor, ya que no habría que esperar que llueva para sembrar. Asimismo se conserva mejor la reserva de agua del suelo para que sea aprovechada por el cultivo, especialmente en los períodos críticos. (Latanzi 1998).

Por otro lado, al haber menos o ninguna operación de laboreo, hay menos mineralización de materia orgánica lo que, junto con la reducción del consumo de combustible, hace que se emita menos dióxido de carbono a la atmósfera contribuyendo a la reducción del efecto invernadero. El dióxido de carbono es uno de los gases que producen tal efecto y cualquier práctica que se pueda hacer para reducir su emisión contribuirá a controlar el calentamiento global de la atmósfera de la Tierra.

Resumiendo, las ventajas fundamentales de las labranzas conservacionistas son:

- el control de la evaporación del agua
- el control de la erosión
- la reducción de la pérdida de materia orgánica y de la emisión de dióxido de carbono.

Si sabemos que un suelo puede estar en riesgo de ser erosionado, la recomendación es emplear algún sistema de labranza que deje rastrojo en superficie y que reduzca al mínimo posible el movimiento de suelo.

No obstante, la labranza conservacionista también tiene algunas desventajas. Por ejemplo, la liberación del nitrógeno por parte del suelo es menor ya que no hay una ruptura tan intensa de los agregados, ni una exposición al aire de la materia orgánica tan marcada, con lo que se ve reducida la tasa de mineralización del nitrógeno reservado en el suelo.

Por otro lado, el hecho de que los rastrojos no estén completamente incorporados en el suelo, hace que las tasas de su descomposición sean más bajas y que el efecto de inmovilización del nitrógeno se mantenga con una relativamente elevada magnitud por más tiempo. El proceso de inmovilización es aquél provocado por los microorganismos encargados de descomponer los residuos que, para poder cumplir con su función, toman el nitrógeno del suelo que debería estar disponible para las plantas.

La consecuencia del efecto de las labranzas conservacionistas sobre estos dos procesos es que habrá menos nitrógeno disponible para los cultivos y en general, habrá que aplicar mayor cantidad de fertilizante.

La presencia de rastrojo puede reducir también la efectividad del control de algunas malezas. Esto se puede evitar o reducir si se hace un control integral de malezas en el sistema y no sólo en el cultivo. Asimismo, el ambiente generado por los rastrojos en superficie puede ser favorable para la persistencia de algunas plagas, tanto animales como patógenas, que podrían transformarse en un problema para el cultivo. El caso más típico es el de las babosas, ya que pueden sobrevivir en el ambiente húmedo que les presenta el rastrojo en la superficie del suelo, transformándose muchas veces en un inconveniente.

Por la presencia de rastrojo en superficie ocurre un menor calentamiento del suelo y, por lo tanto, puede provocar algunos problemas en la implantación y desarrollo inicial de algunos cultivos, esto es fácilmente solucionable apartando los rastrojos de la línea de siembra del cultivo (por ejemplo con barre rastrojos), con lo cual se logra un mayor calentamiento de ese sector y no se pierden las ventajas de tener el suelo cubierto por residuos.

También hay que tener en cuenta que el uso continuado de la siembra directa puede provocar algunos problemas de compactación. Al transitar sobre el suelo con las máquinas que se utilicen, desde la pulverizadora, pasando por la sembradora y la fertilizadora y hasta la cosecha (cosechadora, carros, etc.) y al no removerse el suelo o hacerlo con menor intensidad, se puede generar una densificación del suelo, no obstante, hay que decir que este fenómeno todavía no se ha producido con intensidad preocupante en nuestros suelos. (Studertt 2003).

Las labranzas conservacionistas tienen ventajas que hacen directamente a la integridad del recurso suelo, como son la protección contra la erosión, la preservación y mejoramiento de su materia orgánica; esto hace que las labranzas conservacionistas deban ser tenidas en cuenta siempre; la prioridad debe ser proteger el suelo y con las labranzas conservacionistas esto se logra sin demasiados esfuerzos. Además, su utilización mejora la economía del agua en el sistema, lo que hace que sea altamente recomendable, especialmente para cultivos cuyo ciclo coincida con posibles períodos de déficit hídrico. (Studertt 2003).

Las técnicas o métodos para reducir los efectos de las desventajas de las labranzas conservacionistas están disponibles y no sería problema evitarlos o reducir su incidencia.

El contenido de materia orgánica de nuestros suelos ha disminuido desde un 4-5 % del suelo original a un promedio de 2.5 % en el área agrícola y con él se redujo la capacidad productiva. El contenido actual de Carbono de los suelos, bajo el sistema de producción agrícola utilizado en la región pampeana, indica que hay que hacer un manejo adecuado para mantenerlo y sostener una alta producción de granos. La materia orgánica está compuesta por una fracción muy resistente, de lenta descomposición (estable) y por más joven y de rápida descomposición (lábil), ésta última es la parte modificable con el manejo del suelo y del cultivo, es la responsable de la fertilidad actual. Por todo esto es importante conocer la dinámica del contenido de materia orgánica de un lote y ello puede hacerse a través de un Balance de Carbono.

Las ganancias del suelo se producen por la transformación de parte de los rastrojos en materia orgánica, este proceso se denomina humificación. Cuanto más rastrojo se produce, mayor será la ganancia, las prácticas de manejo del cultivo que permiten elevar el rendimiento, aumentan también el aporte de residuos. La estrategia de fertilización tiene impacto para mejorar la cantidad de Carbono que pueden aportar los distintos cultivos o la rotación.

Las pérdidas o salidas del sistema se dan por la descomposición de la materia orgánica, que es un proceso natural y se denomina mineralización, para que el Balance de Carbono sea

positivo, el aporte de rastrojos y su posterior transformación en materia orgánica debe ser superior a la descomposición (Andriulo *et al* 2001).

La base para lograr altas producciones sustentables consiste en integrar la mínima labranza, la fertilización y la rotación de cultivos. La siembra directa permite disminuir los procesos erosivos, mejorar el balance de agua e intensificar la producción; la fertilización posibilita recuperar el nivel nutricional óptimo para incrementar la producción. Sin embargo, el verdadero fundamento de la sustentabilidad es la rotación de cultivos, ya que solamente con alta proporción de gramíneas puede alcanzarse el aporte de Carbono necesario para equilibrar las pérdidas de materia orgánica por mineralización, mejorando a su vez las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo. Todo planteo de producción, para ser considerado sustentable debe producir un Balance de Carbono neutro o positivo. (Studdert 2003).

Hipótesis:

La inoculación con *Bacillus sp.* favorece el crecimiento y rendimiento en el cultivo de maíz conducido bajo mínima labranza.

Objetivos:

Objetivo general:

- Evaluar el efecto de la inoculación con *Bacillus sp.* en la promoción del crecimiento y desarrollo del cultivo de maíz.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la inoculación con *Bacillus sp.* en la densidad de plantas, biomasa aérea en 5 hojas verdaderas (V5) y sobre el rendimiento y sus componentes en un cultivo de maíz a campo.

Materiales y métodos:

El cultivo fue sembrado el 5 de noviembre del año 2005 en el campo de Hugo Reineri ubicado en la zona de Rodeo Viejo a 45 Km. de Río Cuarto.

La historia del lote es de 5 años maíz-soja bajo labranza cero, y al mismo se le aplicó rastra de doble acción en el invierno anterior, interrumpiendo el ciclo de rotación en siembra directa. El nivel de fósforo en el lote es de 8 ppm. Por lo que se consideró adecuado para evaluar el desempeño de los microorganismos solubilizadores de P en la solubilización del P edáfico y el adicionado mediante fertilización como fosfato diamónico (PDA).

En todas las parcelas se aplicó Atrazina (2lts/ha.), Gammacialotrina (25 gr./ha.) en preemergencia y luego en V2 con Foramsulfuron+ Iodosulfuron (30+2 gr.), para controlar gramíneas anuales, perennes y *Cyperus sp.*

La semilla se inoculó con un tambor excéntrico, unas horas antes a la siembra para permitir un correcto funcionamiento de la sembradora.

Dicha PGPR's dio un resultado positivo, cuando se evaluó en laboratorio utilizando cajas de petri con medio para solubilizadores de fósforo (Frioni 1999).

Cepa: El inóculo llevado a campo se hizo crecer en un medio de cultivo líquido que contenía caldo nutritivo (Pluripeptona 5 gr. /lt. mas extracto de carne 3 gr. /lt.) la cantidad de ufc/ml de ese inóculo fue de 1×10^7 .

El híbrido utilizado fue Morgan Mill 522 se sembró a 0.7 m entre líneas con una máquina de granos gruesos, en parcelas de 30 m de largo por 4.9 m de ancho, el tipo de diseño utilizado, fue de bloques aleatorizados con 3 repeticiones por tratamiento.

Tratamientos:

- 1- Inoculado con *Bacillus spp.* (Inoculado con 400 ml. de inoculante por bolsa)
- 2-Inoculado + 52 kg. de fosfato diamónico (PDA). (Inoculado con 400 ml. de inoculante por bolsa, fertilizado en la línea de siembra)
- 3-Fertilizado con 90 kg. de fosfato diamónico. (Fertilizado en la línea de siembra)
- 4-Fertilizado con 52 kg. de fosfato diamónico. (Fertilizado en la línea de siembra)
- 5-Sin fertilizar ni inocular.

En cada uno de los tratamientos se aplicó nitrógeno (líquido), en una dosis de 88 lt.. Solmix (28 % de N y 9 % de S) en V5.

Precipitaciones: Los datos pertenecen a la estación ubicada en La Aguada que depende de la cátedra de Agrometeorología de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

TABLA N° 1: Precipitaciones.

El cultivo de maíz necesita 550-600 milímetros (mm.) para cubrir sus requerimientos hídricos, las precipitaciones que recibió este cultivo están dentro de lo requerido.

PRECIPITACIONES	
Meses	PP. \dot{x}
Nov-05	115 mm.
Dic-05	59 mm.
Ene-06	82 mm.
Feb-06	130 mm.
mar-06	89 mm.
Abr-06	94 mm.
Total de pp. Ciclo cultivo	569 mm.

El efecto de las bacterias con respecto a la promoción del crecimiento, fue evaluado a través de las siguientes determinaciones en V5 y a cosecha:

Evaluaciones en V 5:

A) Densidad de plantas: Se determino el número de plantas por metro cuadrado de cada una de las parcelas.

Muestreo: Se extrajeron 3 plantas por cada tratamiento y sus repeticiones, para todas las evaluaciones realizadas en V5.

B) Altura de las plantas en V5. Para ello se tomaron tres plantas de cada parcela y sus repeticiones, y se promediaron, se midió desde el primer entrenudo hasta el extremo de la inflorescencia.

C) Diámetro del tallo: se tomaron tres plantas de cada tratamiento y sus repeticiones, se midió a la altura del primer entrenudo y se promediaron los resultados.

D) Longitud radical: Se emplea para determinarla una cuadrícula según la técnica de (Newman 1996).

Se extrajeron tres plántulas de cada una de los tratamientos y sus repeticiones, se les quitó la tierra, luego se extendió la raíz sobre la cuadrícula y se contó el número de intersecciones.

$$R: \frac{\pi \times N \times A}{2 \times H}$$

Donde:

R: Longitud total de raíces.

N: N° de intersecciones de raíces.

A: Área del rectángulo. (26 cm. x 20 cm.)

H: Cuadrículas del rectángulo. (130 x 2)

π : 3,14.

E) Peso seco de la biomasa: Las plantas que se utilizaron en la determinación de longitud de raíces fueron seccionadas para separar la parte aérea de la raíz, luego se tomaron los pesos y se colocaron a estufa a 90° C para determinar peso seco en gramos.

F) Peso seco de la raíz: se tomaron las raíces y se determino peso seco y fresco (igual inciso E)

Determinación a cosecha:

Muestreo: Las muestras se tomaron en un metro cuadrado en todos los tratamientos y sus repeticiones.

G) Rendimiento por hectáreas: se calculo utilizando los componentes de la formula que se detalla a continuación.

$$\text{Rendimiento} = \text{N}^\circ \text{ granos/metro}^2 \times \text{peso de un grano en gramos (g.)} = \text{gramos/metro}^2$$

Luego estos gramos por metro² se llevan a kilogramos por hectáreas.

H) Densidad de plantas: Se determinó el número de plantas por metro cuadrado de cada una de las parcelas.

I) Espigas por plantas: En cada uno de los tratamientos y sus tres repeticiones se evaluó el número de espigas por plantas por metro cuadrado.

J) Hileras de granos y número de granos por hileras: se cuantificó el número de hileras por espigas y el número de granos por hileras, en cada uno de los tratamientos y sus repeticiones y luego se promediaron.

K) Número de granos por espiga: se cuantificó el número de granos por espiga. Promediando los granos de las espigas de cada tratamientos y sus repeticiones.

L) Peso de las mil semillas: Se determina el peso de 1000 semillas de cada uno de los tratamientos y sus repeticiones.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis estadístico ANOVA para establecer diferencias entre tratamientos.

RESULTADOS:

Evaluación en el estadio V5

TABLA N° 2: Densidad, altura, diámetro, longitud radical, peso seco de la biomasa y peso seco de la raíz.

Tratamiento	Densidad (plantas/m ²)	Altura (cm.)	Diámetro (cm.)	Longitud radical (cm.)	Peso seco biomasa (g.)	Peso seco raíz (g.)
1	5,96 ab	91 a	2,23 a	78,55 ab	28,92 a	18,76 a
2	6,3 bc	88,33 a	2,08 a	109,1 b	29,46 a	16,47 a
3	6,73 c	80,64 a	2,16 a	150,88 c	22,78 a	15,52 a
4	6,46 bc	91,33 a	2,19 a	57,77 a	27,64 a	15,42 a
5	5,33 a	89,88 a	2,1 a	58,88 a	18,31 a	12,24 a

Letras distintas representan diferencia significativa en test de Tukey ($p \leq 0,05$)

Gráficos:

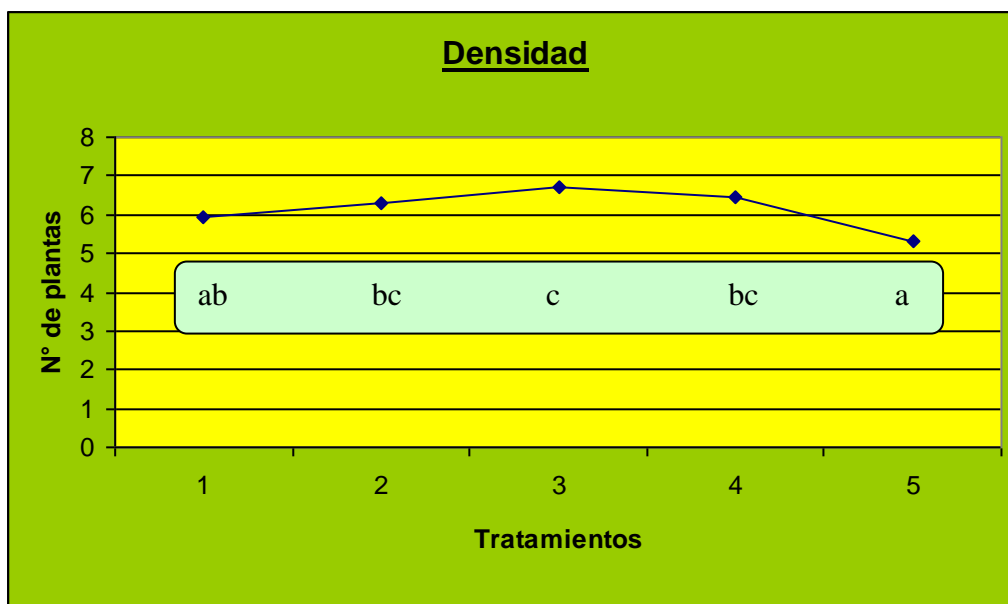


Gráfico 1- Plantas de maíz por metro cuadrado en los tratamientos analizados en el estadio V5.

Letras distintas representan diferencia significativa en test de Tukey ($p \leq 0,05$)

En el tratamiento 3 (Fertilizado con 90 kg. de PDA), se observó un mayor número de plantas, se diferencia significativamente del tratamiento 5 (Sin fertilizar ni inocular), con valores similares los tratamientos 1, 2 y 4 (Inoculado, inoculado + 52 kg. de PDA y fertilizado con 52 kg. de PDA) respectivamente, se observa un menor número de plantas en el tratamiento 5 (Sin fertilizar ni inocular). Esta diferencia se debe a que el tratamiento número 3 que contiene la dosis completa de fósforo, tuvo una mayor densidad de plantas, ya que las mismas cubren todas sus necesidades con el fertilizante aplicado, logrando mejores condiciones de implantación.

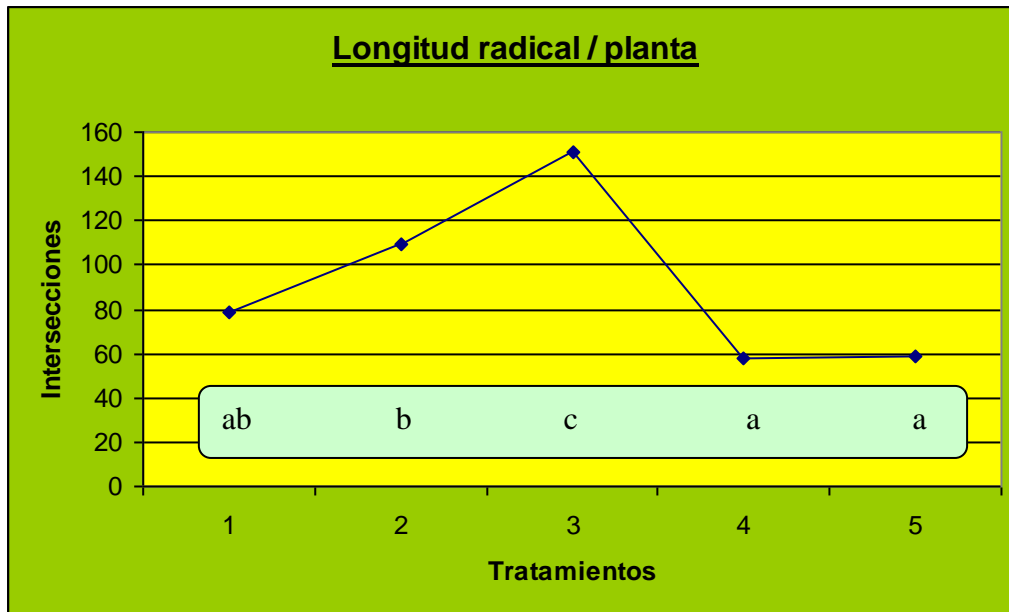


Grafico 2- Longitud radical/planta en V5.

Letras distintas representan diferencia significativa en test de Tukey ($p \leq 0,05$)

El tratamiento 3 (Fertilizado con 90 kg. de PDA), es el de mayor longitud diferenciándose significativamente de los demás tratamientos, la dosis de fertilizante aplicado interaccionó positivamente con el cultivo, para ese suelo con bajo contenido de fósforo (8 ppm.); el fósforo es el segundo nutriente en importancia después del nitrógeno para el desarrollo de los cultivos. También hay que destacar que el tratamiento 2 (inoculo + 52kg. de PDA), tuvo un buen comportamiento, superando al tratamiento 1 (inoculado) y 5 (Sin fertilizar ni inocular) respectivamente.

El tratamiento 4 no se diferenció del tratamiento sin fertilizar ni inocular.

Evaluación a cosecha:

En la tabla 3 se puede observar los parámetros evaluados para determinar rendimientos en kg./ha. y sus componentes.

TABLA N° 3: Espigas por plantas, hileras de grano/espigas, número de granos por hileras, peso de los 1000 granos y rendimiento.

Tratamiento	Espigas por plantas	Hileras de granos/espiga	Número de granos por hilera	Peso de los 1000 granos (g.)	Rendimiento (Kg. /Ha.)
1	1,12 ab	13,77 a	30,88 a	353,66 a	7843,82 a
2	1,05 ab	13,32 a	29,86 a	339,3 ab	8501,94 a
3	1,22 b	13,3 a	27,99 a	348,3 b	8953,32 a
4	1,15 ab	13,33 a	29,88 a	348,66 b	8162,03 a
5	1 a	15,33 a	28,44 a	325,66 b	6377,50 a

Letras distintas letras representan diferencia significativa en test de Tukey ($p \leq 0,05$)

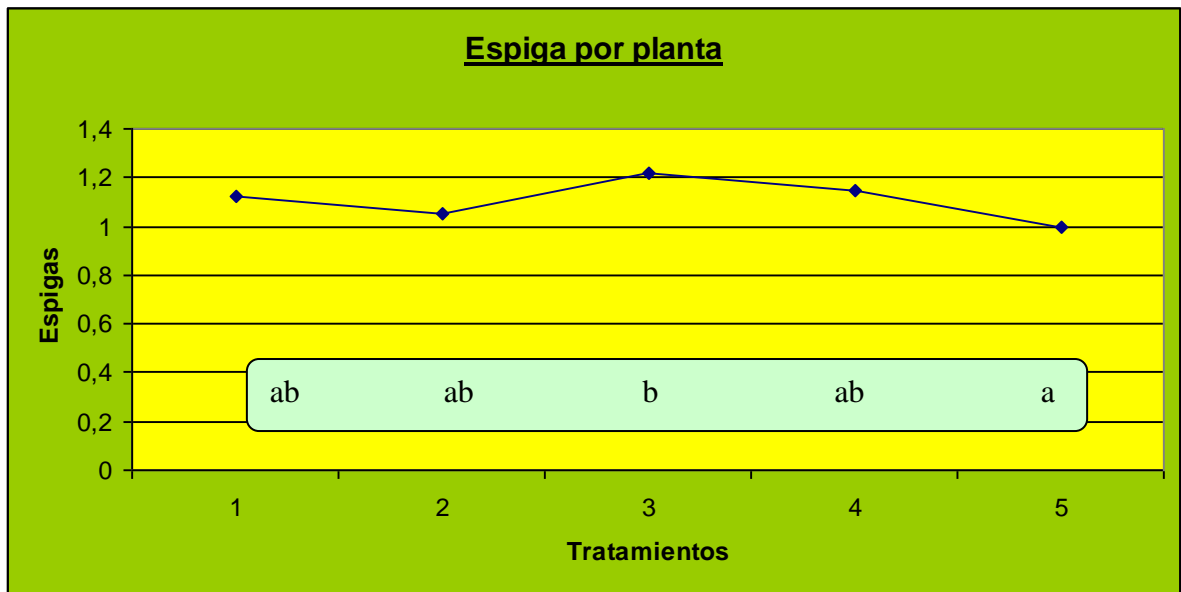


Grafico 3- Espigas por plantas a cosecha en los tratamientos analizados.

Letras distintas representan diferencia significativa en test de Tukey ($p \leq 0,05$).

En este grafico no se observan mayores diferencias entre los tratamientos 1, 2 y 4 (Inoculado, inoculado + 52 kg. de PDA, fertilizado con 52 kg. de PDA), pero si hay diferencia entre el tratamiento 3 (fertilizado con 90 kg. de PDA) y el tratamiento 5 (Sin fertilizar ni inocular).

La fertilización con fósforo le permitió al cultivo aumentar significativamente un componente del rendimiento (Nº de espigas).

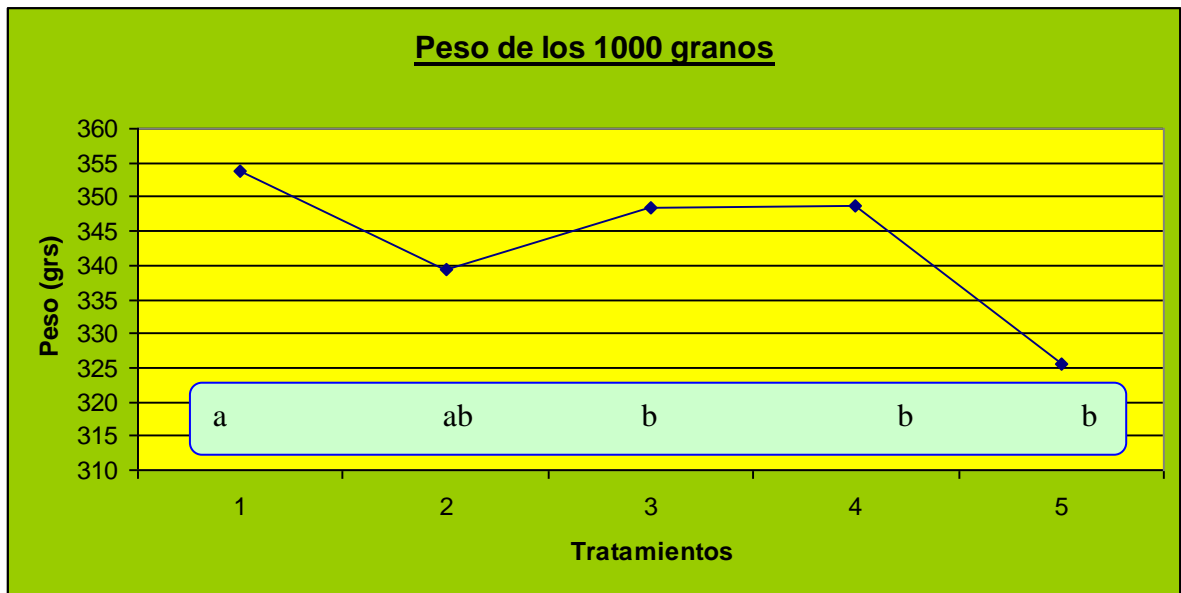


Grafico 4- Se observan los pesos de los mil granos en los distintos tratamientos analizados.

Letras distintas representan diferencia significativa en test de Tukey ($p \leq 0,05$).

El mayor peso de los 1000 granos pertenece al tratamiento inoculado, una vez más la inoculación con solubilizadores de fósforo interaccionó positivamente con el cultivo.

Hay diferencia significativa, entre el tratamiento número 1 (inoculado) y el tratamiento

2

Discusión:

La agricultura moderna es hoy una práctica que persigue objetivos claros: producir lo máximo, al menor costo y de la mayor calidad. Las bacterias que se utilizan en la inoculación de los cultivos benefician su crecimiento y desarrollo por múltiples mecanismos, uno de ellos es la solubilización de fósforo que fue el objetivo de este trabajo.

En la inoculación de semillas de maíz con bacterias PGPR's, solubilizador de fósforo, si bien no se observó diferencias significativas, entre el tratamiento inoculado y el tratamiento sin fertilizar ni inocular, si se obtuvo un pequeño aumento en el número de plantas por metro cuadrado en V5 (tabla 1). Fendrik *et al* (1995) observó a campo que en semillas inoculadas con PGPR's se producía estimulación de la germinación de las mismas, aumentando la densidad y el desarrollo de las plantas.

Con respecto a la altura y diámetro del tallo no hubo diferencias significativas, pero los tratamientos, inoculado y el inoculado más 52 kg. de PDA, presentaron las mayores alturas concordando con Martinez *et al* 1997 que encontró el mismo efecto en el cultivo de tomates.

En cuanto a longitud radical se observó diferencias significativas en el tratamiento fertilizado con 90 kg. de PDA, este resultado concuerda con Alexander (1980) que demostró que el fósforo es el segundo nutriente en importancia en el crecimiento de los cultivos, esto demuestra que la fertilización fosforada incorporada a la siembra suplemento la deficiencia de fósforo en el suelo donde se realizó el ensayo.

Además se pudo observar un buen desarrollo de longitud de raíces en cm. medidas en V5 (tabla 1) en los tratamientos inoculado e inoculado más fertilizante.

Dentro de los componentes del rendimiento evaluados, espigas/plantas, solo hay diferencias significativas entre los tratamientos fertilizados con la mayor dosis de fósforo y el tratamiento sin fertilizar ni inocular; y en peso de los 1000 granos hay diferencias significativas entre el inoculado y los tratamientos fertilizado con 52 kg. de PDA, 90 kg. de PDA y el tratamiento sin fertilizar ni inocular. El aumento de peso de los granos está dentro del objetivo del empleo de las nuevas tecnologías; Chabot *et al* (1993), encontró diferencias de rendimiento en lechuga y maíz cuando los inoculó con *Rhizobium leguminosarum*.

También se puede destacar el número de granos por hileras, en el tratamiento inoculado tuvo los mayores valores, sin presentar diferencias significativas, esto concuerda con la amplia bibliografía citada que reporta los beneficios de las bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) en distintos cultivos.

Conclusión:

- La densidad de plantas por hectárea del cultivo de maíz en V5 demostró diferencias significativas en el tratamiento fertilizado con 90 kg. de PDA.
- Longitud radical del cultivo de maíz presentó diferencias significativas en el mismo tratamiento.
- El número de espigas por plantas de maíz presentó diferencias significativas entre el tratamiento fertilizado con 90 kg. de PDA y el tratamiento sin fertilizar ni inocular.
- En el peso de los 1000 granos de maíz hay diferencias significativas entre el tratamiento inoculado y los tratamientos fertilizado con 90 kg. de PDA, fertilizado con 52 kg. de PDA y el tratamiento sin fertilizar ni inocular.

Con estos resultados se puede concluir que la mayor disponibilidad de fósforo en el suelo proporcionado ya sea por inoculación con microorganismos solubilizadores de fósforo o por fertilización fosforada, permitió al cultivo de maíz conducido bajo mínima labranza una mayor densidad de plantas y un aumento de la longitud radical en V5, un mayor número de espigas por plantas y peso de los granos.

Bibliografía:

- ACUÑA, O., P. WAGNER, E. SERRANO, L. POCASANGRE, F. ROSALES, E. DELGADO, J. TREJOS & A. SEGURA. 2006. LA IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA CALIDAD Y SALUD DE SUELOS. En: <http://musalit.imihap.org/pdf/IN060651>.
- ALEXANDER, M. 1980 – **Introducción a la microbiología del Suelo**. Printed in México ISBN968-462-002-0
- ANDRIULO, A., C. SASAL y M. L. RIVERO. 2001. **Siembra directa II**. 5: 17-28 pp.
- BASHAN, Y. y H. LEVANONY 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology. **Cam J. Microbiol.** 36 :591-608
- BELLONE, C., H. CARRIZO, S. DE BELLONE, M. A. JAIME., A. M MANILLA., M. A .MONZON y D. E. ASCONEGUI, 1999. Respuesta de los cultivares de maíz a la inoculación con distintos aislamientos de *Azospirillum spp.* **II Reunión de Biología de Suelos y Fijación de Nitrógeno**. Universidad Nacional de Catamarca.
- CANTERO, A. y C. CHOLAKY 1997 **Evaluación de Tierras-** Apunte de Uso y Manejo de Suelos. Cátedra de Uso y Manejo de Suelos FAV. UNRC.
- CHABOT, R., H. ANTOUM y M. P. CESCAS, 1993. Simulation de croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. **Can. J. Microbiol.** 39: 941-947.
- CRACOGNA, M., M. IGLESIAS, I. DIAZ, N. GONZALES, M. CARBAJAL. 2003 Utilización de *Azospirillum* y bacterias solubilizadoras de fósforo en trigo. **Resumen A:** 045 Universidad Nacional del Nordeste.
- DILEEP, B. C. y H. C. DUBET 1992. Seed bacterization with a fluorescent *Pseudomonas* for enhanced plant growth, yield and disease control. **Soil Biol. and Biochem.** 24(6): 539-542.
- DÖBERENIER, J., J. M. DAY y P. DART 1973 - Rhizosphere associations between grasses and nitrogen-fixing bacteria: effect of Oxygen on nitrogenase activity in the rhizosphere of *Paspalum notatum*. **Soil Biol. Biochem.** 5: 157-159.
- FENDRIK, I. y M. DEL GALLO 1995. *Azospirillum V* and related microorganisms genetic-physiology-ecology. *Ecological sciences* 37(12):577
- FERRARA-CERRATO, R. 1995. **Agromicrobiología**. Elemento útil en la agricultura. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. Pp. 36-52.
- FERRARIS, G. y L. COURELOT 2007. Evaluación de la utilización de bacterias solubilizadoras de fósforo (*Pseudomonas spp.*) en trigo. Desarrollo Rural - INTA Pergamino en: www.inta.gov.ar/PERGAMINO.
- FIJACION BIOLÓGICA DEL NITRÓGENO: información complementaria PGPR's en: www.eez.csic.es/~olivares/ciencia/fijacion/pgpr.html

- FRIONI, L. 1999 – Procesos Microbianos. Tomo I y II Ed. Fundación Univ. Nac. De Río Cuarto. Argentina.
- GARCIA, F. 2003 Agricultura sustentable y materia orgánica del suelo, siembra directa, rotaciones y fertilidad. INPOFOS cono sur. **III Congreso Boliviano de la Ciencia del Suelo**. Pp: 2-18.
- GIMENEZ, L., M. E. MONTELLONE, F. TAROCCO, A. THUAR, 2007 Evaluación de la producción de maíz inoculado con *Azospirillum brasilense* y diferentes dosis de fertilizantes a campo. **VI Reunión Nacional Científico Técnica de Biología del Suelo y VI Encuentro Sobre Fijación Biológica de Nitrógeno**. UNRC. Río Cuarto. 2: 109
- HILTMER, L. 1904 – Uberneuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonder Beruck sichtigung der Grundungung und .Broche. Arb. **Dtsh. Landwirt Ges.** 98:59-78.
- IGLESIAS, M., M. FOGAR; M. CRACOGNA, D. ROTELA, A. FERRERO, 2001. Inoculación con *Azospirillum Sp* en cultivos comerciales. Trigo. **Jornada de Ciencias y Técnica** .(CD-ROM) 076.
- ILLMER, A. y F. SCHINER 1995 Solubilization of organic calcium phosphates Solubilization mechanisms. **Soil Biol. Biochem.** 27:257-263.
- JAIME, G., O. MARTIN, R., R. FERNÁNDEZ y L. MARTÍNEZ. 1999. Incremento de productividad en maíz, mediante inoculación con microorganismos fijadores libres de nitrógeno. **II Reunión Nacional Científico Técnica de Biología del Suelo y II Encuentro Sobre Fijación Biológica de Nitrógeno**. Catamarca. Actas de la reunión p:20
- KLOEPPER, J. W. y M. N. SCHROTH. 1978 Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology** 71: 642- 644.
- KLOEPPER, J. W., R. LIFSHITZ and R.M. ZABLOTOWICZ. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnol.** 7:39-49.
- KUCEY, R., H. JANZEN y M. LEGGET. 1989. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. **Adv. Agron.**, 42: 199-228.
- LUCAGNELLI, C. y R. BOTTINI. 1996. **Actas de la XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal**. Pp. 466-467
- LARSON y PIERCE 1991. **XI Congreso de AAPRESID, II Simposio de Fertilidad y Fertilización en Siembra Directa**. Consultado 26/09/ 2007 En: www.ppi-ppci.org.
- LATTANZI 1998. La siembra directa y la agricultura sustentable. **Siembra directa INTA**. Pp. 29-34
- MARKO C. J. y M. C. IGLESIAS. 2002 Co-inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum spp* en el cultivo de soja (*Glicine max*). **Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas**. UNNE (Cd rom). Sección Ciencias Agrarias. 045.

- MARTINEZ-VIERA B., B. DIBUT, I. CASSANOVA y M. ORTEGA. 1997 Acción estimuladora de *Azotobacter chroococum* sobre el cultivo del tomate en suelo ferráltico rojo. Efecto sobre el semillero. **Agrotecnia de Cuba**. 27: 23
- NEWMAN, E.I. 1996 A method of estimating the total length of root in a sample. **J. Appl. Ecol.** 3: 139-145.
- PEIX. A., R. RIVAS, I. SANTA REGINA, P. F. MATEOS, E. MARTINEZ MOLINA, A. RODRIGUEZ BARRUECO y E. VELÁSQUEZ. 2004. *Pseudomonas lutea* sp. nov., a novel phosphate-solubilizing bacterium isolated from rhizosphere of grasses. **Int J Syst Evol Microbiol** 54: 847-850.
- PRODUCCIÓN DE HORMONAS Consultado 26/09/2007. En: www.unne.edu.ar/biologia/plantas/hormonas.
- PUENTE, M., M. DIAZ ZORITA, y A. PERTICARI. 2007. Respuesta de las plantulas de girasol inoculadas con *Azospirillum brasilense*. Consultado: 25/08/07 En: www.asagir.org.ar/3ºcongreso.
- RICHADSON, A. 1994. Soil microorganisms and phosphorus availability. In **Soil biota. Management in sustainable Farming Systems** (Ed) C E Pankhurst CSIRO Melbourne, Australia. Pp: 50- 62
- RODRIGUEZ FRAGA H. 1999 Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol. Adv.** 17: 319-339.
- RODRIGUEZ, M 1995. Microorganismos libres fijadores de nitrógeno. Pp. 105-126. En: R. Ferrera-Cerrato y J. Pérez. M (eds). **Agro microbiología**.
- SUBBA RAO N.S. 1982. Biofertilizers. En: N.S. Subba Rao, ed. *Advances in agricultural microbiology*, Oxford and IBH, UK, Mohan Prilani, and New Delhi, Butterworth and Co. 197-199. pp. 219-242.
- .-STUDDERT, G. 2003. *Labranza conservacionista*. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata - UIB Balcarce. CC276, 7620.