



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

**TRABAJO FINAL PRESENTADO PARA OPTAR AL GRADO DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

**“EVALUACIÓN DE LA INOCULACIÓN CON
AZOSPIRILLUM BRASILENSE SOBRE LA
PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE MAÍZ”**

Alumno: JOSÉ BISIO
DNI: 29.176.920

Director: Ing. Agr. Alicia M. THUAR
Codirector: Ing. Agr. José MARCELLINO

Río Cuarto - Córdoba
Julio de 2010

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del trabajo final: **“Evaluación de la inoculación con *Azospirillum brasilense* sobre la productividad del cultivo de maíz”**

Autor: **JOSÉ BISIO**

Director: Ing. Agr. **ALICIA M. THUAR**

Co-Director: Ing. Agr. **JOSÉ R. MARCELLINO**

Aprobado y Corregido de acuerdo con las sugerencias de Comisión
Evaluadora:

Ing. Agr. MSc. Liliana E. Grosso _____

Ing. Agr. MSc. Teresa Caminos _____

Ing. Agr. Alicia M. Thuar _____

Fecha de presentación: ____/_____/_____.

Aprobado por Secretaría Académica: ____/_____/_____.

Secretario Académico

RESUMEN

La práctica biotecnológica de la inoculación, es una técnica que permite optimizar la productividad de los sistemas agropecuarios, ya que pone en contacto semillas de interés agronómico con microorganismos rizosféricos de actividad promotora del crecimiento. Al mismo tiempo, permite su integración con otras prácticas de manejo ambientalmente seguras, procurando maximizar la eficiencia de cultivos a partir de mejoras en el uso eficiente de recursos, tales como agua y disponibilidad de nutrientes. En consecuencia se logra que los sistemas de producción sean más sustentables a lo largo del tiempo.

El objetivo del siguiente trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación con la bacteria *Azospirillum brasilense* en un cultivo de maíz sembrado a campo. El ensayo se realizó en un establecimiento ubicado en la localidad de Chucul, departamento Rio Cuarto, en la campaña 2007/2008. El diseño experimental utilizado para la obtención de los datos consistió en bloques completos ubicados al azar y con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron maíz inoculado con *Azospirillum brasilense* y testigo sin inocular.

Las evaluaciones se realizaron en dos momentos fenológicos del ciclo de desarrollo del cultivo del maíz. En el estadio de diez hojas (v10) se evaluó la altura de plantas, el diámetro del tallo y la longitud radical; en el estadio de cosecha y post-cosecha se evaluó la cantidad de espigas por planta, el número de hileras por espiga, la longitud de espigas, el peso de 1000 granos y el rendimiento.

El diámetro del tallo no mostró cambios en los diferentes tratamientos. En la longitud radical y la altura de las plantas se evidenciaron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento inoculado.

El número de espigas por planta, número de hileras por espiga y longitud de espigas no presentaron diferencias entre el tratamiento y su control, por lo contrario, otras variables como el peso de 1000 granos y el rendimiento se vieron incrementadas significativamente en el tratamiento inoculado, manifestándose esto en mayores rendimientos ($qq\ ha^{-1}$). Por lo expuesto anteriormente se concluyó que la inoculación con *Azospirillum brasilense* promovió el crecimiento del cultivo de maíz a campo.

Palabras claves: inoculación, *Azospirillum brasilense*, promotores del crecimiento, *Zea mays*.

SUMMARY

The biotechnological practice of inoculation is a technique that allows you to optimize the productivity of farming systems, since it puts into contact seeds of agronomic interest with rizosféricos microorganisms of a growth promoting activity. At the same time, enables integration with other environmentally safe management practices trying to maximize the efficiency of crops from improvements in the efficient use of resources such as water and available nutrients. As a result it is achieved that the production systems become more sustainable over a period of time.

The following work aimed to assess the effect of inoculation with bacteria *Azospirillum brasilense* in a crop of maize planted in a field. The test was performed in an establishment located in the town of Chucul, Department of Rio Cuarto in the 2007 / 2008 campaign. The experimental design used for the data collection, consisted of four full blocks placed at random and with four repetitions. The treatments were maize inoculated with *Azospirillum brasilense* and control without inoculating.

The Evaluations were conducted at two phonological moments of the maize crop development cycle. In the stage of 10 leaves (v10) the height of the plants, the diameter of the stem and radical length, was evaluated in the harvest and post-harvest stage the amount of spikes per plant, the number of rows per spike, the length of spikes, the weight of 1000 grains and the yield were assessed.

The diameter of the stem showed no noticeable changes in different treatments. It was found significant differences between the control and inoculated treatment in the radical length and height of the plants.

The number of spikes per plant, number of rows per spike and spikes length did not manifest differences between the treatment and its control; on the contrary, other variables as the weight of 1000 grains and the yield were significantly increased in the inoculated treatment, expressing this in higher yields (qq ha^{-1}). To conclude we can say that inoculation with *Azospirillum brasilense* promoted the growth of the maize crop in a field.

Keywords: inoculation, *Azospirillum brasilense*, promoters of the growth, *Zea mays*.

INDICE DEL TEXTO

RESUMEN	III
SUMMARY	IV
INTRODUCCIÓN	7
Importancia del cultivo de Maíz y su influencia en la economía nacional	9
Antecedentes relación planta-microorganismo	10
Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal	13
Mecanismos de promoción directa del crecimiento vegetal	14
Mecanismos indirectos de promoción del crecimiento – Supresión de agentes fitopatógenos	15
HIPÓTESIS	17
OBJETIVOS	17
objetivo general	17
objetivos específicos	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Instalación del ensayo	19
Métodos de cuantificación de la promoción del crecimiento	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
Determinaciones en estadio de 10 hojas (v10)	22
Determinaciones en cosecha y post-cosecha	25
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFÍA	30
ANEXO	35

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

Figura 1: Precipitaciones durante el ciclo del cultivo de maíz	18
Figura 2: Altura de plantas en v10, según distintos tratamientos	22
Figura 3: Diámetro del tallo en v10, según distintos tratamientos	23
Figura 4: Longitud radical por planta en v10, según distintos tratamientos	24
Figura 5: Número de Espigas por planta según distintos tratamientos	25
Figura 6: Peso de 1000 granos (mg grano ⁻¹) según distintos tratamientos	26
Figura 7: Número de hileras por espiga, según distintos tratamientos	27
Figura 8: Longitud de espigas, según distintos tratamientos	27
Figura 9: Rendimiento en qq ha ⁻¹ , según distintos tratamientos	28

Cuadro 1: Resultados del muestreo de suelos	19
Cuadro 2: Detalle de las parcelas evaluadas.....	20

INTRODUCCIÓN

Botánicamente, el maíz, (*Zea mays* L.), pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu Maydeas, y es la única especie cultivada de este género. Es una planta anual con un ciclo vegetativo que oscila entre 80 y 120 días desde la siembra hasta la cosecha. Si se encuentra en condiciones apropiadas de temperatura y humedad, el maíz germina a los 6 días, no requiere luz, y en general no presenta problemas de latencia o dormancia.

El maíz es una especie monoica, es decir tiene flores femeninas y masculinas en la misma planta, y ambas se encuentran formando inflorescencias. La floración requiere temperaturas de 20 a 30 grados, la fertilización es cruzada y solo un 5 % de las plantas se autofecundan.

Las condiciones de cultivo apropiadas son las de un clima relativamente cálido y agua en cantidades adecuadas, suelos profundos y fértiles con estructura y buen drenaje. Durante su crecimiento la planta necesita insolación intensa y demanda grandes cantidades de nitrógeno, especialmente antes de la floración.

El cultivo del maíz tuvo su origen, en América Central, especialmente en México, de donde se difundió hacia el norte hasta Canadá y hacia el sur hasta la Argentina. La evidencia más antigua de la existencia del maíz, de unos 7000 años de antigüedad, ha sido encontrada por arqueólogos en el valle de Tehuacán (México) pero es posible que hubiese otros centros secundarios de origen en América. Este cereal era un artículo esencial en las civilizaciones Maya y Azteca y tuvo un importante papel en sus creencias religiosas, festividades y nutrición. (FAO 2009).

El maíz cultivado es una planta completamente domesticada y el hombre y el maíz han vivido y evolucionado juntos desde tiempos remotos. El maíz no crece en forma salvaje y no puede sobrevivir en la naturaleza, siendo completamente dependiente de los cuidados del hombre (Wilkes, 1985; Galinat, 1988; Dowswell *et al.*, 1996).

El maíz es el tercer cultivo en importancia en el mundo, después del trigo y el arroz en cuanto a volumen de producción. Es el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea. Es de gran importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento humano, para el ganado o como fuente de un gran número de productos industriales. La diversidad de los ambientes bajo los cuales es cultivado el maíz es mucho mayor que la de cualquier otro cultivo. El cultivo continúa expandiéndose a nuevas áreas y a nuevos ambientes (Paliwal *et al.*, 1996).

La producción Argentina de granos se duplicó en la última década, cuando las cosechas record se sucedieron año tras año, como resultado de la aplicación de numerosas y modernas técnicas, tales como, genética de avanzada, fertilizantes, agroquímicos, técnicas

para el control de plagas, enfermedades y malezas, y además siembra directa (Alvarez y Mulin, 2004).

Se conoce que el maíz juega un papel fundamental en la conservación de los suelos por el volumen de residuos producidos y por su composición que asegura una gran provisión de energía a la biomasa microbiana que los metaboliza (Galarza *et al.*, 2004). Definida la importancia fundamental del maíz, como cultivo imprescindible dentro de todo esquema de producción agro sustentable, la incorporación de tecnología en la producción del mismo, redundará en un beneficio económico, social y ambiental.

La utilización de fertilizantes biológicos es un concepto que se ha puesto en práctica en la región pampeana Argentina, pero en los últimos años ha tomado un impulso creciente, a partir del desarrollo de productos de mayor calidad y orientados hacia nuevos cultivos (Ferraris y Couretot, 2006). Bacterias que viven libremente en el suelo pueden promover la absorción de elementos. Así por ejemplo, las PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) aumentan la disponibilidad de fósforo en el suelo (Rodríguez y Fraga, 1999) el que puede influir positivamente sobre la absorción de otros elementos. Los microorganismos pueden, además favorecer la absorción mineral a través de otros efectos benéficos sobre las plantas. Las bacterias del género *Azospirillum* estimulan el crecimiento de las raíces y permiten una mejor exploración del suelo (Okon y Vanderleyden, 1997). La práctica de inoculación con microorganismos, especialmente con rizobíaceas, es común en cultivos y praderas implantadas.

La inoculación con bacterias promotoras del crecimiento de las plantas, (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 plantas no leguminosas es una alternativa como práctica agrícola para mejorar el desarrollo de los cultivos (Thuar *et al.*, 2008) Los microorganismos rizosféricos con actividad de promoción del crecimiento, tanto a partir de acciones directas sobre las plantas como indirectas a través de diversos procesos involucrados en el sistema productivo, han mostrado un papel de relevancia contribuyendo al aumento de los rendimientos. Las actividades atribuidas a los microorganismos PGPR es que contribuyen a atenuar las limitaciones en el normal crecimiento de los cultivos, entre las que se encuentran, aportes a la nutrición (ej. solubilización de P, fijación de N atmosférico, formación de sideróforos, etc.), la inducción de resistencia sistémica, al biocontrol de enfermedades y al crecimiento de las plantas por fitohormonas y otras sustancias (ej. vitaminas).

En cultivos tales como trigo y maíz, cambios atribuidos a la incorporación de microorganismos PGPR, entre otros, *Azospirillum sp.*, *Pseudomonas sp.*, han sido descritos para diferentes ambientes con impactos sobre los rendimientos, algunos de estos

microorganismos han sido eficientemente aislados y multiplicados para la formulación de inoculantes para su aplicación en escala de producción (Bashan 1998).

En la mayoría de las situaciones agronómicas, gran parte de los fertilizantes aplicados, no llegan a ser aprovechados de la forma más eficiente por el cultivo, lo cual significa una pérdida de fertilizante y en consecuencia económica para el productor. Es por estos motivos, que un mayor crecimiento radical promovido por *Azospirillum* beneficia en una mejor absorción de nutrientes y agua que se verá reflejada en una mayor producción bajo las mismas condiciones agronómicas. Los experimentos de inoculación en campo con *Azospirillum* han demostrado que estas bacterias son capaces de promover el rendimiento de las cosechas en diferentes suelos y regiones climáticas. Varias cepas de *Azospirillum brasiliense* y *Azospirillum lipoferum* se han utilizado para inocular cultivos de diferentes especies de plantas. Los datos indican que del 60 al 70 % de los experimentos son exitosos y se obtienen incrementos de rendimiento estadísticamente significativos en el orden del 5 a 30% (Caballero-Mellado, *et al.*, 2000).

Importancia del cultivo de Maíz y su influencia en la economía nacional

En términos de producción, el maíz ocupa el lugar más destacado entre el grupo de los granos forrajeros, con alrededor del 63% de la misma. Este grupo de productos resulta, a su vez, el más voluminoso desde el punto de vista de la producción, a nivel mundial, con aproximadamente 1.100 millones de toneladas anuales, equivalente al 47% del total de los granos producidos mundialmente, incluyendo a los granos oleaginosos.

En las últimas campañas agrícolas los principales productores mundiales obtuvieron en millones de toneladas al año; Estados Unidos (282), China (139), Brasil (41), México (19), India (15), Argentina (14,5), otros países (105) respectivamente. La producción Argentina se ubica en el orden del 2% respecto de la producción mundial, a pesar de lo cual ocupa el 2º lugar entre los países exportadores (SAGPyA 2009).

La producción de maíz se distribuye en una amplia zona del país, abarcando aproximadamente 4 millones de hectáreas repartidas en distintas provincias. La superficie cultivada se concentra básicamente en la región pampeana, que reúne aproximadamente el 80% del total, y el resto entre el NOA y NEA (SAGPyA 2009).

La producción nacional de maíz ha promediado las 14,2 millones de toneladas en las últimas campañas. La evolución de las exportaciones argentinas de maíz por región en la década considerada, evidencia un incremento de los destinos de Sudamérica no Mercosur, asiáticos y africanos, y prácticamente la desaparición de los destinos del Mercosur. Esta última circunstancia se relaciona con el crecimiento de la producción de maíz en Brasil, que

ha derivado en que en años recientes dicho país pasara de ser un importador neto a transformarse en exportador (SAGPyA 2009).

La participación del maíz en las exportaciones de origen primario se ha mantenido oscilando entre el 14% y el 24% en la última década, siendo uno de los rubros principales dentro de las mismas. Con respecto a su importancia dentro de las exportaciones del total de productos agropecuarios, la importancia relativa de los últimos años ha decrecido respecto de los primeros de la década bajo estudio, dado el incremento de la participación del complejo oleaginoso en dicho total. La Argentina ha ido consolidando su rol de segundo exportador mundial de maíz, a pesar de que en la última década se produjeron las irrupciones de nuevos actores en este mercado, como son China y Brasil (SAGPyA 2009).

Como cultivo, el maíz ocupa un importante lugar en la agricultura de nuestro país. El valor de la producción ronda los 1.500 millones de dólares y, como ya fue señalado, a medida que pasan los años, Argentina se consolida como 2º exportador mundial. El grano de maíz argentino aporta aproximadamente el 4% de las divisas que ingresan al país. Es por lo tanto el quinto complejo en importancia para nuestro comercio internacional (SAGPyA 2009).

En la actualidad, la cadena del maíz argentino se encuentra ante un proceso de cambio, el consumo interno crece en forma acelerada, especialmente por parte de las industrias que lo utilizan como materia prima para la transformación de proteína (avicultura, ganadería, lechería y cerdos). Por lo tanto, la nueva relación existente entre exportación y consumo interno obliga a los integrantes de la cadena a comprender de qué manera se abastece cada sector consumidor de grano de maíz (SAGPyA 2009).

Antecedentes relación planta-microorganismo

Boddey *et al.* (1986) realizaron ensayos a campo con trigo y maíz inoculados con *Azospirillum* que demuestran una reducción de fertilizantes nitrogenados sin que se afecte el buen rendimiento de los cultivos (Bellone y Chaila, 1997; Rodríguez Cáceres *et al.*, 1997).

Fulchieri y Frioni (1994) observaron que plantas de maíz inoculadas con una mezcla de tres cepas de *Azospirillum spp.* en un suelo tipo Hapludol en el centro de Argentina, mostraban un significativo aumento en el peso de raíces, parte aérea y semillas con respecto a sus controles sin inocular y en una combinación planta-bacteria que supuso una interacción específica entre ambas. Asimismo en experiencias realizadas en el campo experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto con maíz inoculado con *Azospirillum*, se encontró un incremento del 50% del peso seco del grano, aumentó al doble el número de granos en la espiga y se observó un mayor volumen en la raíz (Fulchieri y Frioni, 1994). En trabajos similares realizados con sorgo y trigo se vió un estímulo en la elongación de raíces totales, el

número de raíces laterales y adventicias (Bhattarai y Hess, 1993). Estos resultados coinciden con los obtenidos por (Okon, 1998), cuando inoculó semillas de trigo con *Azospirillum* y encontró un marcado efecto en la proliferación de pelos radicales, lo que proporcionó un mejor anclaje y un mayor volumen de suelo explorado por parte del sistema radical.

Por su parte Lucangelli y Bottini, (1996) demuestran que la aplicación de microorganismos fijadores de vida libre incrementa el largo de los entrenudos en maíz y arroz. Posteriormente, estudios en condiciones de invernáculo mostraron que el tratamiento de semillas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal aisladas de suelos agrícolas de la región central de Córdoba (Argentina) permitía una mayor tasa de crecimiento inicial en comparación con los cultivos no tratados (Olmedo y Thuar, 1999).

En México en el año 1999, se inocularon alrededor de 450.000 hectáreas de maíz (*Zea mays L.*) y 150.000 hectáreas de sorgo (*Sorghum bicolor L.*); cebada (*Hordeum vulgare L.*) y trigo (*Triticum aestivum L.*) con *A. brasilense*, el incremento promedio en la producción de los cultivos de maíz, trigo, cebada y sorgo bajo las diferentes condiciones evaluadas fue del 26 %. Los resultados fueron dependientes de la variedad y cultivo, tipo de suelo, uso y nivel de fertilizantes. La mejor respuesta a la inoculación se presentó en suelos de tipo ligero (arenosos), con niveles intermedios de fertilización en el rango de 45-90 Kg N/ha. y con las variedades “criollas” de maíz (Caballero-Mellado *et al.*, 2000).

Ribaudo *et al.*, (2001) publicaron que plantas de maíz inoculadas con *Azospirillum* mostraban mayor concentración de nitrógeno en hojas, mayor longitud de raíces y de follaje y también mayor producción total de biomasa principalmente entre la segunda y tercera semana luego de su siembra.

En maíz se evidenciaron respuestas positivas de la inoculación en los campos sin fertilización y también cuando se fertilizaba con diferentes dosis de nitrógeno y fósforo (Cappelletti *et al.*, 2004), en un ensayo realizado en la zona de 9 de Julio con un inoculante comercial de Az 39 el incremento de un 18 % el que fue estadísticamente significativo, comparado con el control no inoculado.

Durante las campañas 2002/03 a 2006/07 se evaluó el comportamiento de la aplicación de una formulación líquida de *Azospirillum brasilense* cepa Az 39 con un recuento medio de 1×10^9 ufc ml/L, producida por Nitragin Argentina S.A. (Pilar, Buenos Aires, Argentina) a razón de 12 ml/kg de semillas. Esta dosis de tratamiento permitiría alcanzar la mínima dosis con respuesta en cultivos de maíz inoculados con esta cepa (Puente *et al.* 2007). Los rendimientos de maíz variaron entre 3.361 y 15.459 kg ha⁻¹ mostrando en promedio para los 110 sitios evaluados una respuesta media de 472 kg ha⁻¹ equivalente al 5,7 % de mejora sobre el control sin aplicación del tratamiento con *Azospirillum*, en el 85 % de los sitios analizados se describieron respuestas a la aplicación de *Azospirillum* y con resultados positivos en ambientes con rendimientos alcanzables superiores a los 6.000 kg ha⁻¹

¹. La aplicación del tratamiento de semillas con *Azospirillum* promovió un mayor desarrollo inicial de los cultivos de maíz alcanzando en estadios vegetativos tempranos (v4-v6) una mayor acumulación de biomasa aérea y de raíces equivalentes al 54 y al 28 % respectivamente respecto a el control sin tratamiento.

El INTA San Antonio de Areco, en la campaña 2005/2006 publicó datos de un ensayo realizado en el establecimiento “La Fé”, en el que se inoculó maíz con bacterias del género *Azospirillum* bajo condiciones de campo, en el que no se evidenciaron diferencias significativas con el correspondiente testigo, en dos variables importantes; número de hileras por espigas y longitud de espigas (Mousegne *et al.*, 2005).

Puente *et al.*, (2007) demuestran que las semillas inoculadas con *Azospirillum* poseían incrementos significativos con respecto al testigo, en altura de plántula, largo de raíz, peso seco de la parte aérea y radicular, a los 9 días de la siembra, con la inoculación de *Azospirillum brasilense*.

Esta capacidad de *Azospirillum* para estimular el crecimiento de las plantas y de aumentar el rendimiento de los cereales promovió numerosos estudios sobre la ecología, fisiología y genética de esta bacteria. Las mismas han sido aisladas de la superficie de la raíz en una muy amplia variedad de plantas y de su rizósfera, incluyendo cereales como maíz, trigo, arroz, sorgo, avena y pastos forrajeros (Caballero-Mellado, 2007).

Este tratamiento biológico permite su integración con otras prácticas de producción y el desarrollo de prácticas de manejo ambientalmente seguras procurando maximizar la eficiencia productiva de cultivos a partir de mejoras en el uso eficiente de recursos limitantes para la producción tales como el agua y la disponibilidad de nutrientes. (Díaz-Zorita *et al.*, 2006). 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 su aplicación de una formulación líquida sobre las semillas; resultados similares han descrito a partir de la aplicación de formulaciones líquidas específicas y con variados métodos de tratamientos en maíz, algodón, caña de azúcar, girasol y otros cultivos (Díaz-Zorita *et al.*, 2006).

La comunidad científica ha considerado su aplicación tecnológica dentro de un modelo de agricultura sustentable basado en la utilización de microorganismos como estrategia para incrementar la productividad de cultivos de interés económico o ecológico (Okon y Labandera-Gonzalez, 1994).

Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal

Las bacterias PGPR pueden estimular el crecimiento y el desarrollo de los cultivos agrícolas cambiando el estado fisiológico y las características morfológicas de las raíces inoculadas, lo cual favorece la captación de nutrientes (Kapulnik, 1991).

Estos microorganismos afectan positivamente el crecimiento de las plantas ya sea por mecanismos de biocontrol o por a su actividad como bioestimuladores o biofertilizantes. Los diferentes mecanismos involucrados en dichos efectos pueden clasificarse en dos tipos: *directos e indirectos*. Los primeros ocurren cuando las rizobacterias o alguno de los metabolitos producidos por estas, actúan como reguladores de crecimiento (o precursores de éstos) en la planta, incluyendo la generación de cambios en la concentración de hormonas vegetales, la fijación biológica del nitrógeno, el uso más eficiente de fuentes de N y la solubilización de fosfatos u otros nutrientes. La estimulación indirecta incluye una variedad de mecanismos por los cuales la bacteria inhibe la acción de fitopatógenos sobre el crecimiento y desarrollo de la planta: antibiosis contra fitopatógenos, producción y secreción de sideróforos, e inducción de resistencia sistémica adquirida (Thuar *et al.*, 2000).

Los organismos fitopatógenos en el suelo, pueden reducir el rendimiento de los cultivos entre un 25% – 75%, provocando enormes pérdidas en la productividad; hasta el presente estas pérdidas han sido disminuidas por el uso de agroquímicos, fumigación y tratamientos de vapor (Gamlield y Katan, 1992) pero el uso de estos métodos se ha demostrado que son peligrosos para animales y humanos porque tienen alta persistencia y se acumulan en los ecosistemas; en los últimos años se ha incrementado el deseo de reemplazar estos productos químicos por métodos biológicos, que son más amigables con el medio ambiente.

Dentro de los métodos biológicos que ya se han desarrollado, encontramos la obtención de plantas transgénicas que son resistentes a uno o más agentes fitopatógenos y el uso de microorganismos PGPR en control biológico (O'Sullivan y O'Gara, 1992; Sutton y Peng, 1993).

El uso de estos sistemas biológicos ha ganado especial importancia porque permitiría una sustanciosa reducción en la polución ambiental producida por el uso de fertilizantes y agroquímicos (Probanza *et al.*, 1996).

Mecanismo de promoción directa del crecimiento:

• Fijación biológica del nitrógeno (FBN)

La capacidad fisiológica de fijar nitrógeno fue el primer mecanismo considerado como responsable del mejor desarrollo de los vegetales inoculados (Berg *et al.*, 1980; Kapulnik *et al.*, 1981; Baldani *et al.*, 1987).

Los informes obtenidos sostenían que del 5 al 18 % del nitrógeno de la planta provenía de la fijación y las plantas inoculadas crecieron normalmente con sólo una parte del nitrógeno del fertilizante que se necesitaba para el desarrollo óptimo (Kapulnik *et al.*, 1981).

De esto se dedujo que otros mecanismos estarían involucrados. (García de Salamone, 1994) destacó que para un resultado efectivo era importante encontrar el genotipo adecuado de bacteria- planta. En la actualidad se sabe que si la bacteria se encuentra en un ambiente adecuado para que se exprese la nitrogenasa la asociación bacteria-planta puede mejorar (Bashan y Holguín, 1997).

Se ha especulado que la NR (nitrato reductasa) asimilatoria de *Azospirillum* contribuiría con las NR de las raíces en la reducción de los NO_3^- absorbidos y es lo que se ha observado en experiencias que mostraron una interacción positiva entre las NR y la inoculación con esta bacteria (Ferreira *et al.*, 1987) manifestándose una marcada dependencia con el genotipo de maíz (García de Salamone y Dobereiner, 1996).

• 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. Estas incrementan el número de raíces laterales y de pelos radicales, aumentando notablemente la superficie de la raíz y, en consecuencia, favoreciendo una mayor absorción de nutrientes (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000).

La atención principal ha sido enfocada en la hormona vegetal auxina (Brown, 1974; Tien *et al.*, 1979) y dentro de ellas, la más común y mejor caracterizada, ha sido el ácido 3-indol acético (AIA), el cual se ha visto 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). Ross y O'Neill (2001) sugieren que las auxinas podrían promover, la elongación del tallo por incrementar los niveles de endógenos de giberelinas hidroxiladas.

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 después del nitrógeno es el elemento más requerido por la planta y microorganismos. Si bien es un constituyente esencial de los seres vivos y el nutriente más abundante en la materia orgánica de los suelos, generalmente la disponibilidad del fósforo para plantas y microorganismos se encuentra reducida ya que solo una pequeña fracción es absorbible por las plantas (Cunningham y Munns, 1985).

Está descrito que los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas* y *Bacillus* son los solubilizadores de fosfatos más eficientes. Un gran número de cepas rizobianas son capaces de solubilizar fósforo inorgánico y, algunas de ellas también producen fosfatasa que les permiten solubilizar el fósforo orgánico (Halder y Chakrabartty, 1993; Abd-Alla, 1994).

Mecanismos indirectos de promoción del crecimiento – Supresión de agentes fitopatógenos

• Producción de sideróforos

Los sideróforos microbianos juegan un rol importante en el biocontrol de algunas enfermedades y en la nutrición de hierro de las plantas (Loper y Buyer, 1991). Los rizobios producen diferentes tipos de sideróforos y ésta capacidad ha demostrado ejercer efectos benéficos en el crecimiento de las plantas (Guerinot, 1991), los microorganismos productores de sideróforos indirectamente protegen a las plantas de fitopatógenos compitiendo por el hierro disponible. Si bien los agentes fitopatógenos también pueden producir sideróforos, tiene mucho menor capacidad de fijar el hierro por lo que su crecimiento y desarrollo se ven limitados. La reducción de enfermedades como consecuencia de la competencia por el hierro resulta en la eliminación del fitopatógenos debido a la reducción de la disponibilidad de este nutriente para la germinación de esporas y crecimiento hifal (Van Rosum *et al.*, 1994).

Los sideróforos también pueden promover el crecimiento vegetal de forma directa. Algunas plantas pueden unir el complejo sideróforo-hierro producido por la PGPR, transportarlo al interior de la misma y luego liberar el hierro del sideróforos para que pueda ser usado por la planta (Wang *et al.*, 1993).

• 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 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. Los rizobios tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de algunos aislamientos fúngicos fitopatógenos pudiendo, por lo tanto, ser empleados como agentes de biocontrol. La actividad antagónica de los rizobios se ha observado en una variedad de hongos fitopatógenos tales como *Fusarium oxysporum*, *F. solanum*, *Phytophthora cinnamoni*, *Macrophomina phaseolina*, *Rizoctonia solana*, *Phytium ultimum*, etc. (Antoun *et al.*, 1998). Numerosas evidencias experimentales indican que los rizobios protegen las raíces del ataque de hongos patógenos, mediante la producción de metabolitos tóxicos como rizobiotoxinas y/o antibióticos (Lee Park y Navarro, 1999). *Azospirillum* siendo una bacteria eminentemente rizosférica (Bashan, 1999) no se sustrae de estas relaciones positivas o desfavorables resultando ser una gran competidora por muchas de sus características morfofisiológicas.

• Absorción de nutrientes

Es evidente que al aumentar la densidad de los pelos radicales de las plantas inoculadas mejora el sistema de absorción de nutrientes, tales como NO_3^- , H_2PO_4^- , K^+ y microelementos (Kloepper *et al.*, 1989; O'Sullivan y O'Gara, 1992).

HIPÓTESIS

La utilización de un inoculante con *Azospirillum brasilense* en el cultivo de maíz favorece el crecimiento.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Evaluar los efectos de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en el cultivo de maíz a campo en la localidad de Chucul, provincia de Córdoba.

Objetivos específicos:

- Evaluar en el estadio de diez hojas (V10), diámetro del tallo, altura de plantas y longitud radical.
- Evaluar en madurez fisiológica espigas por planta, longitud de espigas (cm.), peso de granos (mg grano^{-1}), número de hileras de granos por espiga y rendimiento (kg ha^{-1}).
- Determinar el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* sobre los rendimientos en grano del cultivo de maíz a campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo experimental se realizó en el establecimiento del Sr. Eduardo Tobaldo a 1 km. de la localidad de Chucul, departamento Río Cuarto, provincia de Córdoba. El régimen de precipitaciones de la zona, es de tipo monzónico, dado que el 80% de las mismas, se concentran en el semestre más cálido y su registro promedio para esta localidad es de 780 mm anuales. Fuente: Cátedra de Agrometeorología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria (FAV), Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC).

En el período comprendido entre Noviembre de 2007 y Junio de 2008, que abarcó el ensayo a campo, se relevaron las precipitaciones, las cuales alcanzaron los 708 mm. Estas se consideran favorables para asegurar un óptimo desarrollo del cultivo de maíz. Los datos de precipitaciones fueron suministrados por Cotagro Cooperativa Agropecuaria Ltda. Chucul los cuales se presentan en la (Figura 1).



Figura 1: Precipitaciones ocurridas durante Noviembre 2007 - Junio 2008

En cuanto a las condiciones edáficas, el suelo del lugar se encuentra clasificado como un Haplustol éntico, de textura franca gruesa y con una secuencia de horizontes A, AC, C. Para tener más información con respecto al mismo, se realizó como primer paso, previo a la siembra, una caracterización inicial a través de un análisis físico-químico. Este consistió en una muestra, compuesta por 20 sub-muestras de los primeros veinte centímetros de suelo. Buscando obtener datos homogéneos y representativos, el muestreo fue simple al azar y se obtuvieron resultados de pH en agua, Nitrógeno de Nitratos (ppm), Nitratos (ppm), Materia Orgánica (%), Fosforo (ppm) y humedad (%) en la capa de 0-20 cm. (Cuadro 1).

Cuadro 1:

Resultados del muestreo de suelos (análisis físico-químico)

ELEMENTO	UNIDAD	VALOR
Materia Orgánica	%	1.40
Nitrógeno de Nitratos	ppm	16,86
Nitratos	ppm	74,69
Fósforo	ppm	12
pH	Unidad en agua	6,17
Humedad	%	15,50

Metodología utilizada:

Materia Orgánica Método Walkley-Black.

N-Nitratos Reducción por cadmio.

Fósforo Método Kurtz y Bray 1.

pH Potenciometría 1:2,5.

INSTALACIÓN DEL ENSAYO

El historia agrícola del lote presenta una alta frecuencia de soja, maíz y pasturas invernales, siendo triticale (*Triticosecale*) antecesor al ensayo.

Se efectuaron cuatro parcelas de 10,40 m de ancho y de 30 metros largo, a una distancia entre hileras de 0,52 m. Cada tratamiento constó de cuatro repeticiones cada uno.

Previo a la siembra se realizó una aplicación de glifosato (herbicida sistémico de amplio espectro, no selectivo), a razón de 3 lts ha⁻¹, y atrazina (herbicida sistémico, selectivo para maíz, controla algunas gramíneas anuales y latifoliadas) a razón de 4 lts.ha⁻¹.

La siembra se realizó el día 12 de diciembre de 2007, con una sembradora Fabimac Multiplanter de 10 surcos a 52 cm entre líneas y cuando el suelo se encontraba con un 15,5 % de humedad y un 10 % de cobertura.

Al ensayo se le aplicó una fertilización por hectárea de 50 kg. de urea (que contiene el 46 % de nitrógeno) y 50 kg de fosfato diamónico (que contiene 18 % de nitrógeno y 46 % de fósforo) localizados tres centímetros por debajo y tres centímetros al costado de la línea de siembra. Posteriormente en ambos tratamientos, cuando las plantas se encontraban en un

estadio de 6 hojas (V6) se realizó una re-fertilización con 40 kg de N en forma de UAN (Nitrato de Amonio líquido) con la metodología de chorreado entre surcos.

Se sembraron 4 semillas por metro lineal lo que equivale a 1 bolsa por ha., es decir 77.000 semillas aproximadamente. Estas fueron colocadas a 5 centímetros de profundidad en contacto con la humedad.

El híbrido utilizado fue Don Mario 2740 MG de ciclo intermedio-corto, el cual posee incorporado el curasemilla “Poncho” (Clothianidin), insecticida para el control en los primeros estadios de coleópteros, dípteros y homópteros.

La cosecha se realizó de forma manual el día 2 de junio de 2008. Se comenzó con la recolección de las espigas y luego se las desgrano con trilladora mecánica autopropulsada brindada por el INTA Rio Cuarto.

El detalle de las parcelas evaluadas fue el siguiente (cuadro 2):

- 1- Testigo: Don Mario 2740 MG sin inocular
- 2- Inoculado: Don Mario 2740 MG a razón de 10 cm³ por kg. de semilla.

Cuadro 2:

<i>Testigo</i>	<i>Inoculado</i>	<i>Testigo</i>	<i>Inoculado</i>
<i>Inoculado</i>	<i>Testigo</i>	<i>Inoculado</i>	<i>Testigo</i>

Las semillas se trataron con el inoculante comercial “*Nitragin Maíz*” formulación líquida con una dosis de 10 cm³ por kg. de semilla, el cual contiene bacterias del género *Azospirillum brasilense*. El inoculante se aplicó a la semilla en forma manual una hora antes de la siembra, manteniendo todas las precauciones inherentes a la preservación de la calidad del mismo.

Métodos de cuantificación de la promoción del crecimiento

Variables evaluadas:

Determinaciones en estadio de 10 hojas (V10):

- *Diámetro del tallo:*

El diámetro del tallo se midió en centímetros con un calibre, la medición se tomó a 5 cm. de la base del tallo.

- *Altura de planta:*

La altura de planta se midió en metros desde la base de la planta (sin incluir la raíz) hasta la punta.

- *Longitud radical:*

La longitud radical se midió por el método de la intersección de líneas (Newman, 1996). Para ello se utilizó un área rectangular sobre base de papel, dentro de la cual se construyó una cuadrícula. La raíz, luego de removido el suelo adherido a ella, se colocó sobre la grilla, y se procede a contar el número de intersecciones entre las líneas de estas y los pelos radicales. A partir del número de intersecciones se puede estimar la longitud de la raíz, mediante la siguiente ecuación:

$$R = \pi \cdot N \cdot A / 2 \cdot H$$

Donde:

R: Longitud total de la raíz.

π : 3,14

H: Longitud total de las líneas de la cuadrícula.

A: Área del rectángulo.

N: Número de intersecciones de los pelos radicales y las líneas de la cuadrícula.

Determinaciones a cosecha y post-cosecha:

- *Rendimiento en grano ($kg\ ha^{-1}$):*

Para la determinación del rendimiento, dentro de cada tratamiento de la parcela, se consideraron 4 surcos con una longitud de 4,88 metros, distanciados 0,52 metros entre ellos (totalizando así una superficie de 2,53 m^2 cada surco). Las espigas de maíz fueron recolectadas de forma manual, luego se desgranaron y finalmente se pesaron los granos (sin incluir el marlo). Para llevar el valor de rendimiento a $kg\ ha^{-1}$ se extrapolaron los datos a 10.000 m^2 .

- *Número de espigas por planta:*

Se hace un recuento del número de espigas por planta, en madurez fisiológica.

- *Longitud de espigas:*

Con una cinta métrica se midió la longitud de cada una de las espigas en centímetros.

- *Peso de 1000 granos:*

Se pesaron 100 granos con balanza electrónica de cada uno de los surcos, y luego se extrapoló el peso a 1000 granos.

- *Número de hileras por espiga:*

Se contaron en la zona media de cada espiga el número de hileras de granos.

Análisis estadístico de los datos obtenidos

Los datos recolectados de estas mediciones fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA), con el programa estadístico InfoStat /profesional (2008).

Se utilizó un intervalo de confianza del 95% ($p = 0,05$). Las comparaciones de medias se realizaron mediante el Test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones en estadio de 10 hojas (v10):

El rendimiento de maíz está determinado principalmente por el número final de granos logrados por unidad de superficie, el cual es función de la tasa de crecimiento del cultivo alrededor del período de floración. Por lo tanto, para alcanzar altos rendimientos, el cultivo debe lograr un óptimo estado fisiológico en floración: cobertura total del suelo y alta eficiencia de conversión de radiación interceptada en biomasa. La adecuada disponibilidad de nutrientes, asegura un buen desarrollo y crecimiento foliar y una alta eficiencia de conversión de la radiación interceptada. Los nutrientes disponibles en el suelo generalmente limitan la producción de maíz, siendo necesario conocer los requerimientos del cultivo y la oferta del suelo para determinar las necesidades de fertilización (García 2005).

La altura de las plantas en estadio v10 (Fig. 2), de los dos tratamientos evaluados, se observó que existieron diferencias estadísticamente significativas (anexo 1.4), dado que el promedio del tratamiento inoculado con *Azospirillum* fue de 1,38 mts., mientras que para el testigo fue de 1,23 mts de altura. Se observa que el tratamiento inoculado fue superior en un 12 % al testigo, debido al efecto de *Azospirillum brasilense*, el cual actuó promoviendo el crecimiento.

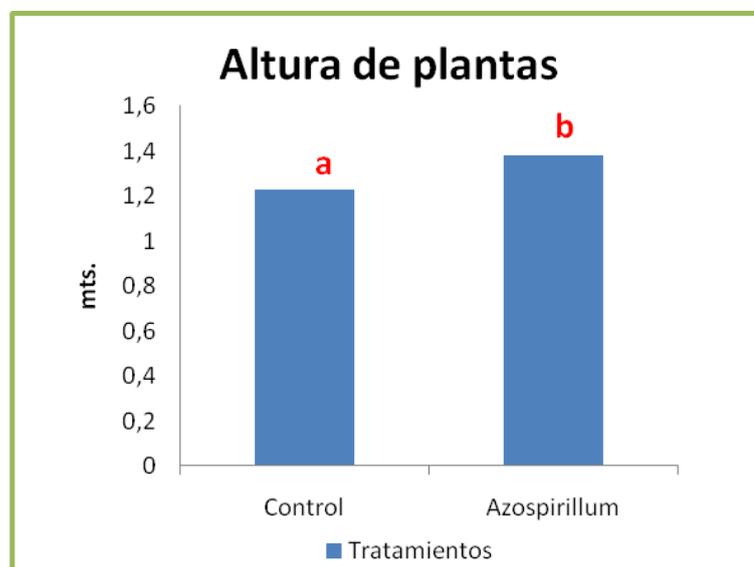


Fig. 2: Altura de plantas en v10, según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

Esto coincide con lo demostrado por Lucangelli y Bottini (1996), en cuanto al largo de los entrenudos en maíz y arroz inoculados y a lo expuesto por Olmedo y Thuar, (1999) en condiciones de invernáculo.

El resultado para diámetro del tallo en estadio v10 (Fig. 3) no presento diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (anexo 1.5). Si bien la inoculación fue positiva se comportaron en forma similar. El promedio de los datos obtenidos en el tratamiento inoculado fue de 3,08 cm. mientras que el promedio del testigo fue 2,95 cm., lo que equivale en porcentaje a un incremento del inoculado sobre el testigo de un 4,5 %, lo que evidencia la promoción del crecimiento de *Azospirillum* sobre el cultivo de maíz. Ribaudó *et al.*, (2001) obtuvo resultados similares.

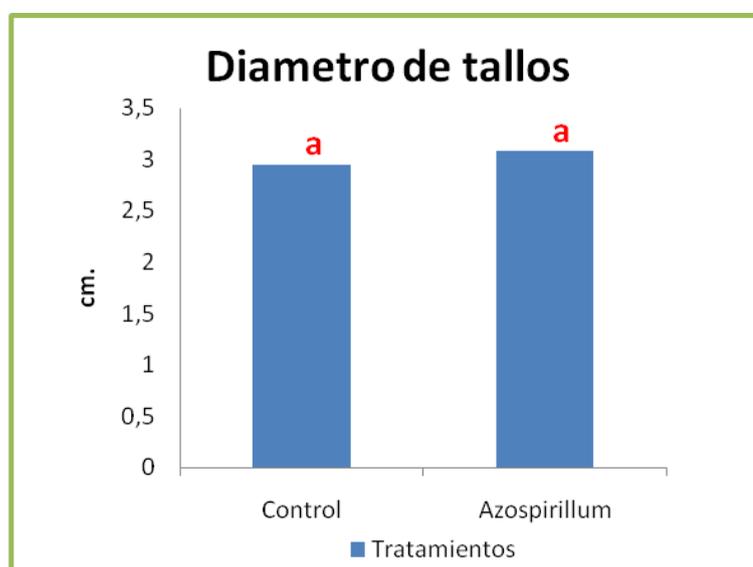


Fig. 3: Diámetro del tallo en v10, según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el Test de Tukey ($p \leq 0,05$).

La longitud radical en estadio v10 (Fig. 4), se observa que hay diferencias entre el tratamiento sin inocular y el tratamiento inoculado (anexo 1.3). Esto coincide con lo expresado por Bhattarai y Hess (1993) sobre sus trabajos realizados con sorgo y trigo inoculados con *Azospirillum*. Los datos aportados por Steenhoudt y Vanderleyden, (2000), Brown, (1974) y Okon, (1998) también coinciden con los obtenidos.

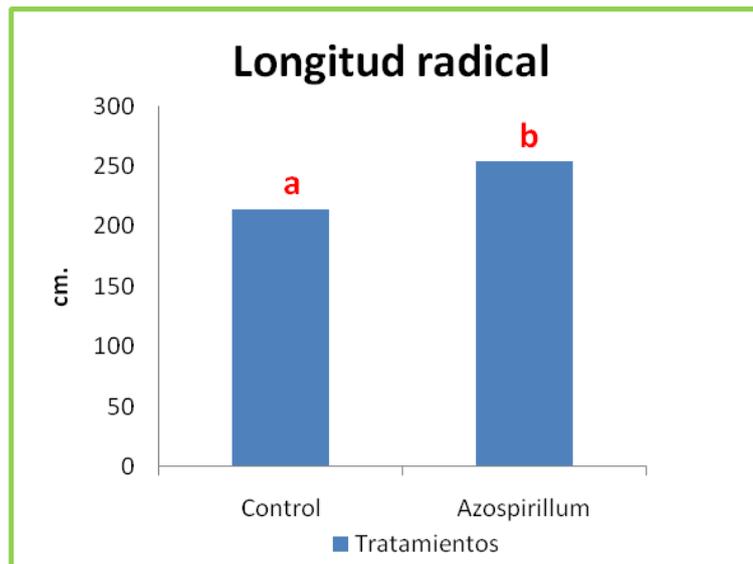


Fig. 4: Longitud radical por planta en v10, según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

El promedio de la longitud radical en el caso del tratamiento inoculado fue de 254 cm. y del testigo fue de 214 cm. el efecto de la inoculación se hizo claramente presente con un incremento en porcentaje de un 19 % con respecto al testigo, presentando diferencias estadísticamente significativas entre ellos (anexo 1.3).

Determinaciones en cosecha y post-cosecha:

La cantidad de espigas por plantas a cosecha (Fig. 5), es uno de los componentes directos del rendimiento del maíz. La prolificidad (espigas/planta) es una característica que depende del híbrido utilizado, además esta característica depende de las condiciones en que se encuentre el cultivo, ya que si una densidad menor o mayor a la adecuada y/o una uniformidad espacial y temporal entre plantas no óptima; las plantas con menor competencia tienen tendencia a emitir más de una espiga.

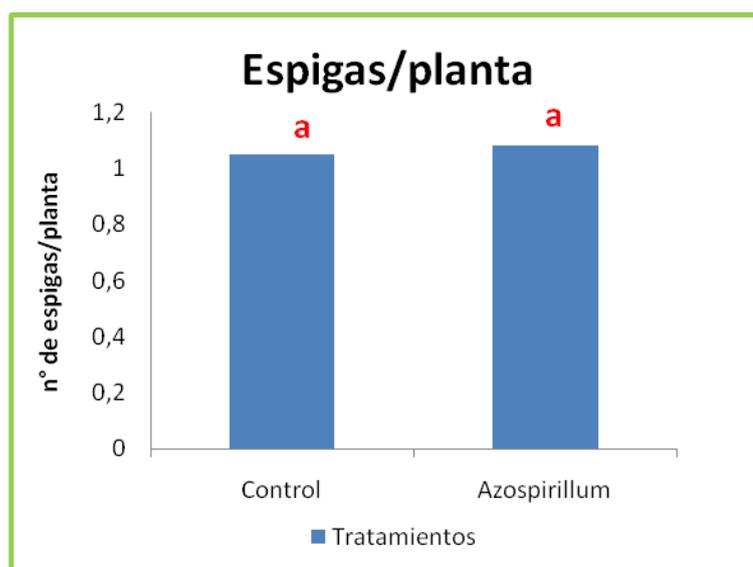


Fig. 5: Número de Espigas por planta según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

Se puede afirmar que entre el tratamiento inoculado y el testigo no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas (anexo 1.6). El inoculado muestra un 2,9 % (espigas/planta) más que el testigo.

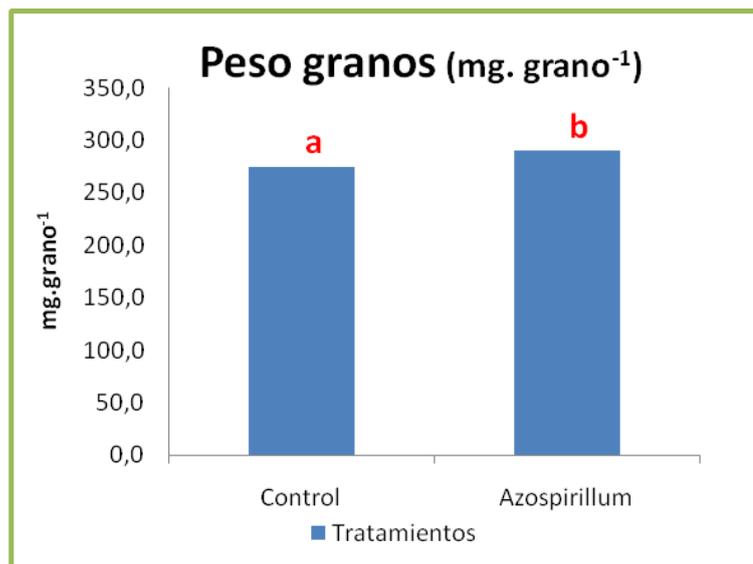


Fig. 6: Peso de 1000 granos (mg grano⁻¹) según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

Otras de las variables que influye directamente sobre el rendimiento es el peso de los granos, para este caso se midió el peso de 1.000 granos (Fig. 6), el cual presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (anexo 1.2). En el caso del testigo el promedio fué de (275 mg grano⁻¹.) y para el inoculado con *Azospirillum* el promedio fue de (290 mg grano⁻¹) lo que equivale un aumento del 5,5 % sobre el control. Esto influyó directamente sobre el rendimiento y a su vez coincide con los resultados de Fulchieri y Frioni (1994).

En cuanto al número de hileras por espiga, el tratamiento inoculado fue el que presentó el menor número de hileras (14 hileras/espiga), mientras que para el testigo se obtuvo (14,5 hileras/espiga) como se observa en la (Fig. 7), estos valores concuerdan con lo observado por Mousegne *et al.*, (2005)

La falta de evidencia en esta variable podría deberse a que el número de hileras por espigas está más afectado por el genotipo que por las condiciones ambientales Andrade *et al.*, (1996).

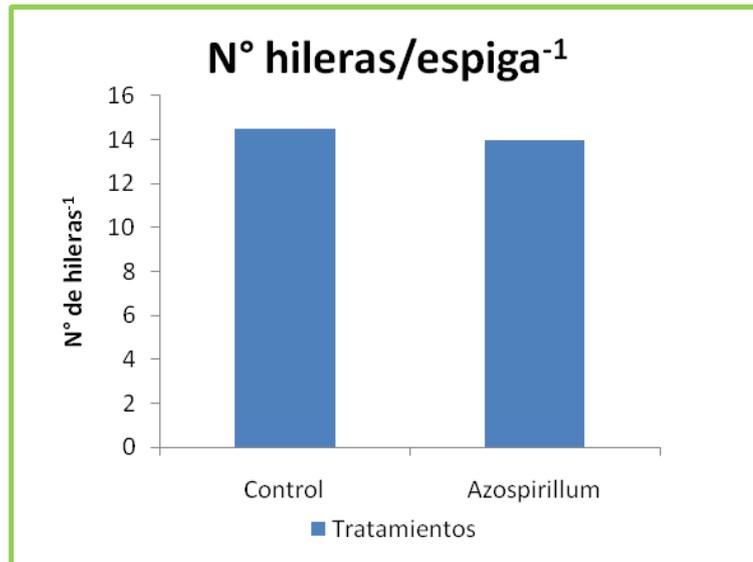


Fig. 7: Número de hileras por espiga, según distintos tratamientos.

La longitud de espigas, tampoco se encontraron diferencias entre el tratamiento inoculado (17,4 cm.) y el testigo (17,9 cm.), los cuales se comportaron de manera similar, no obstante el tratamiento inoculado fue el que presentó la mayor longitud, como se observa (Fig. 8), estos valores concuerdan con lo observado por Mousegne *et al.*, (2005) y con lo expresado por Andrade *et al.*, (1996); quienes afirman que el número de óvulos y espiguillas por hileras es una variable muy estable y relativamente poco sensible a variaciones ambientales.

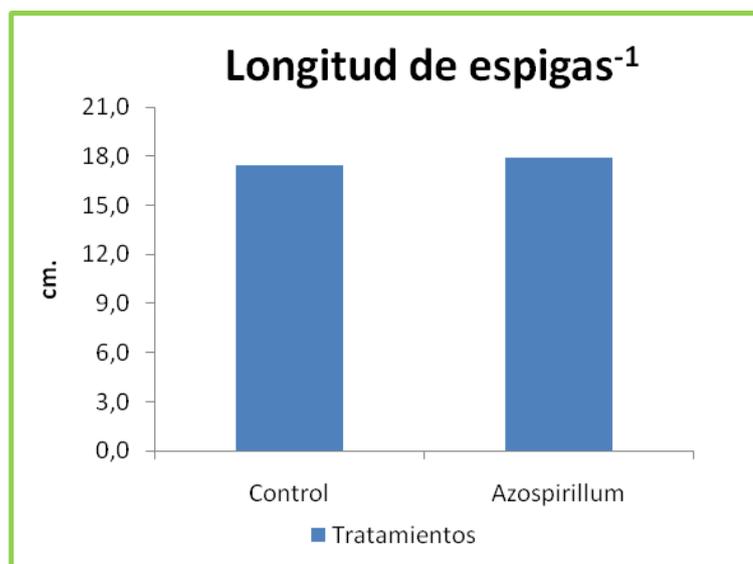


Fig. 8: Longitud de espigas, según distintos tratamientos

El rendimiento (Fig. 9), es lo que determina el empleo de una nueva tecnología ya que hay un período crítico en el cual se define el número de granos producidos y por lo tanto, el rendimiento del maíz. Esta etapa, se inicia 20 días antes de floración y se prolonga 20 días posteriores a la misma.

Se puede observar las condiciones climáticas durante el periodo crítico del cultivo (Fig. 1) y concluir diciendo que no hubo significantes limitantes en las precipitaciones, las que fueron favorables para su desarrollo durante dicho período permitiendo al híbrido utilizado expresar su máximo potencial.

En cuanto al rendimiento se puede observar (Fig. 9) que existen diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento inoculado y el testigo (anexo 1.1). En el tratamiento inoculado (96 qq ha^{-1}) el rendimiento fue superior en un 12,9 % al testigo sin inocular (85 qq ha^{-1}) esto coincide con lo observado por Puente *et al.* 2007 que en cultivos de maíz inoculados mostró una respuesta media en rendimientos equivalente al 5,7 % de mejora sobre el control sin la aplicación del tratamiento con *Azospirillum*, también Caballero Mellado *et al.*,(2000) hicieron referencia al respecto.

Al igual que lo encontrado por Cappelletti *et al.*, (2004) se evidenció que el incremento de rendimiento fue estadísticamente significativo comparado con el control no inoculado.

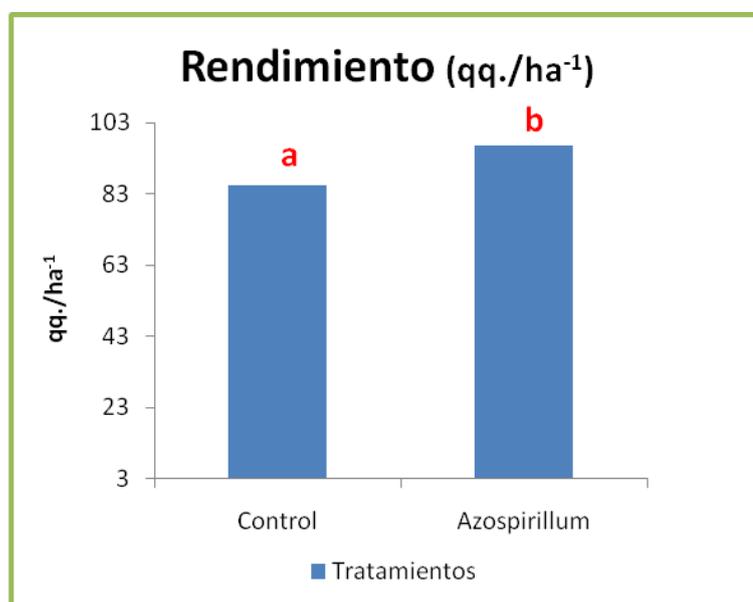


Fig. 9: Rendimiento en qq ha^{-1} , según distintos tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, según el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

Los resultados analizados a lo largo del ciclo del cultivo y confirmados en el rendimiento nos permiten decir que el uso de la inoculación con bacterias del género *Azospirillum* es significativo para el cultivo de maíz.

CONCLUSIONES

El diámetro de tallo, el número de espigas por planta, el número de hileras por espiga y la longitud de espigas mostraron comportamientos similares, no encontrando diferencias entre los tratamientos, mientras que la altura de plantas, la longitud radical, el peso de los 1.000 granos y el rendimiento, mostraron diferencias estadísticamente significativas con el testigo.

Bajo las condiciones en las cuales se realizó este ensayo podemos decir que: el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en el cultivo de maíz a campo favoreció el crecimiento y desarrollo del cultivo lo que se manifestó en el rendimiento.

Bibliografía:

- ABD-ALLA, M.H. 1994. Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* bv viciae phosphatases. **Boil. Fertil. Soils** 8: 216-218.
- ALVAREZ, C. y E. MULIN 2004. **El gran libro de la siembra directa**. Clarin. Cap. 3 página 34.
- ANDRADE, F.H., A.G. CIRILO, S.A. UHART y M.E. OTEGUI. 1996. **Ecofisiología del cultivo de maíz**, Buenos Aires, Argentina. Cap. 3 pág. 87.
- ANTOUN, H., C.J. BEUCHAMP, N.GOUSSARD, R. CHABOT y R. LALANDE. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). **Plant and soil** 204: 57-56.
- BALDANI, V.L.D., J.I. BALDANI y J. DÖBEREINER. 1987. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. in Brasil. **Biology and Fertility of Soils**. 4: 57-60.
- BASHAN, Y. 1998. Los tratamientos biológicos en cultivos extensivos y sus aportes complementarios a la fertilidad de los suelos. **En:** Thuar A., F. Cassán, C. Olmedo (comp.). **De la Biología del Suelo a la Agricultura**, Universidad Nacional de Rio Cuarto. Pags: 147-155.
- BASHAN, Y. 1999. Interactions of *Azospirillum* spp. in soils: a review. 1999. **Biology and Fertility of Soils** 29: 246-256.
- BASHAN, Y. y G. HOLGUIN. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental physiological advances (1990-1996). **Can. J. Microbiol.** 43: 103-121.
- BELLONE, C. H. y S. CHAILA. 1997. Presencia de *Azospirillum* sp en Raíces de *Eragrostis panicum*. **En:** Biología del Suelo Fijación Biológica del Nitrógeno. Publicación de la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de Tucumán. **Ed. Carlos H. Bellone**. Pags: 165-168.
- BERG, R.H., M.E. TILER, N.J. NOVICK, V. VASIL, y I.K. VASIL. 1980. Biology of *Azospirillum* sugarcane association. I. Enhancement of nitrogenase activity. **Appl. Environ. Microbiol.**39: 642-649.
- BHATTARAI, T. y D. HESS. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. **Plant soil** 151: 67-76.
- BODDEY, R.M., BALDANI, V.L. D., BALDANI, J.I., y DOBEREINER, J. 1986. Effect of inoculation of *Azospirillum* spp. on nitrogen accumulation by field grown wheat. **Plant Soil**, 90:265-292.

- BROWN, M.E. 1974. Seed and root bacterization. **Annual Rev. of Phytopathology** 12 : 181-197.
- CABALLERO-MELLADO, J., E. VON SCHEVEN-CORDERO, G. R. GONZÁLEZ-CU y J. F. AGUIRRE. 2000. *Azospirillum* inoculation and its agronomic application in Mexico. **Fourth European Nitrogen Fixation Conference**. Sevilla, Spain. pag. 45.
- CAPPELLETTI, J., I. GARCÍA DE SALAMONE y L. VENTIMIGLIA. 2004. Colonización rizosférica con bacterias microaerofílicas, longitud de raíces y rendimiento en grano de plantas de *Zea mays* inoculadas con dos inoculantes comerciales de *Azospirillum* spp. **En: Biología del Suelo**. Transformaciones de la materia orgánica y biodiversidad de los organismos edáficos. M.A. Monzón de Asconegui, I.E. García de Salamone y S.A. Miyasaki (eds). Editotial Universidad de Buenos Aires. Págs: 201-205.
- CLELAND, R.E. 1990. Auxin and cell elongation. **En: Plant Hormones and their role plant growth and development**. Ed. por P.J. Davies. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. Pags. 132-148.
- COLECCIÓN FAO. El maíz en la nutrición humana: Alimentación y nutrición, N°25. [Online] En: www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S00.htm#Contents. Consultado 12 de marzo 2009.
- CUNNINGHAM, S.D., y D.N. MUNNS. 1985. Effect of Rhizobial extracellular polysaccharide on solution phosphate levels of acid soil. **Soil Sci. Soc. Am. J.** Pags. 49:609-612.
- DÍAZ-ZORITA, M., FERNANDEZ-CANIGIA y M. VIRGINIA. 2006. Análisis de la producción de cereales inoculados con *Azospirillum brasilense* en la República Argentina. **En: Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Fabricio Darío Cassán e Inés García de Salamone (eds.) Buenos Aires : Asoc. Argentina de Microbiología. 276 pp.
- DOWSWELL, C.D., PALIWAL, R.L. y CANTRELL, R.P. 1996. **Maize in the third world**. Boulder, CO, USA, Westview Press.
- FAO 2009. EL MAÍZ EN LA NUTRICIÓN HUMANA: Alimentación y nutrición, N°25. [Online] Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S00.htm#Contents> (consultado 12 de marzo 2009).
- FERRARIS, G. y L. COURETOT. 2006. Evaluación de la Inoculación con *Pseudomonas fluorescens* en Trigo bajo diferentes condiciones de fertilidad. IV año de ensayos. Campaña 2005/06. **En: Experiencias en el cultivo de Trigo y cereales de Invierno**. INTA Ediciones, Publicaciones Regionales. Proyecto Regional Agrícola, CERBAN, EEA Pergamino y General Villegas. 9:37-39.
- FULCHIERI, M. y L. FRIONI. 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays*): effect on yield in a field experiment in central Argentina. **Soil Biol. Biochem.** 26: 921-923.

- GALARZA, C., V. GUDELJ y P. VALLONE. 2004. Área de suelos y Producción Vegetal. [online] En: <http://www.inta.gov.ar/info/documentos/maiz/mfert04.htm>. Consultado el 11 de marzo 2007.
- GALINAT, W.C. 1988. The origin of corn. **En:** G.F. Sprague y J.W. Dudley, eds. **Corn and corn improvement**, 3rd ed., pags. 1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.
- GAMLIED A. y J. KATAN. 1992. Influence of seed and root exudates on fluorescent pseudomonas and fungi in solarized soils. **Phytopathology**, 82: 320-27.
- GARCIA, O. F. 2005. Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo de maíz. **Jornada “Maíz 2005”**. Organizada por Capacitación Agropecuaria. Córdoba, 1 de Julio de 2005.
- GARCÍA DE SALAMONE, I.E. 1994. **Influencia de bacterias del género *Azospirillum* en el rendimiento y nutrición nitrogenada del cultivo de maíz (*Zea mays* L.)**. Tesis Master of Science. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- GARCÍA DE SALAMONE, I.E. y J. DÖBEREINER. 1996. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertility of Soils**, 21: 193-196.
- GUERINOT, M.L. 1991. Iron uptake and metabolism in the rhizobia/legume symbioses. *Plant Soil* 130: 199-209.
- HAGEN, G. 1990. The control of gene expression by auxin. **En: Plant hormones and their role in plant growth and development**. Ed. P.J. Davies. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. pp. 132-148.
- HALDER, A.K. y P.K. CHAKRABARTTY. 1993. Solubilization of inorganic phosphates by Rhizobium. **Folia Microbiol.** 38:325-330.
- INFOSTAT. 2008. InfoStat versión 2008. Manual del usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición. Editorial Brujas. Argentina.
- KAPULNICK, Y. 1991. Plant growth-promoting rhizobacteria. **En:** Y. Waisel, A. Eshel y U. Kafkafi (eds). **Plant roots, the hidden half**. Marcel Dekker, New York. pp. 717-729.
- KAPULNIK, Y., Y. OKON, J. KIGEL, I. NUR y I. HENIS. 1981. Effect of temperature, nitrogen fertilization, and plant age on nitrogen fixation by *Setaria italic* inoculated by *Azospirillum. Brasilense*. **Plant Physiol.** 68: 340-343.
- KLOEPPER, J.W., R. LIFSHITZ y R.M. ZABLOTOWICZ. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnol.** 7: 39-43.
- LEE PARK, C.W. y Y. DE NAVARRO. 1999. Rhizobium leguminosarum como microorganismos biocontrolador de la interaccion hospedero patógeno: clavel (*Dianthus caryophyllus*)- *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi*. **Revista Colombiana de Química**, 28: 1.

- LIPPMAN, B., V. LEINHOS y H. BERGMANN. 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.
- LOPER, J.E. y J.S. BUYER. 1991. Sideróphores in microbial interactions on plants surfaces. **Mol. Plant-microbe interact.** 4:5-13.
- LUCAGNELLI, C. y R. BOTTINI. 1996. Actas de la **XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal**. Pags: 466-467.
- MOUSEGNE, F., M. LOPEZ de SABANDO y A. PAGANINI. 2005. Ensayo de evaluación de inoculante biológico en el cultivo de maíz. Informe INTA San Antonio de Areco, Campaña 2004-2005. En: www.crinigan.com/ensayos/maiz/intasanantoniodeareco2005.pdf.
- NEWMAN, E.I. 1996. A method of estimating the total length of root in a sample. **J. Appl. Ecol.**, 3: 139-145.
- OKON, Y. 1998. In Nitrogen Fixation Hundred years after. Pag.741-746.
- OKON, Y., y C.A. LABANDERA-GONZALEZ. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biol. Biochem.**, 26: 1591-1601.
- OKON, Y. y J. VANDERLEYDEN. 1997. Root-associated *Azospirillum* species can simulate plants. **ASM News** 63:366-370.
- OLMEDO, C.A., y A.M. THUAR. 1999. Greenhouse evaluation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). En: Pedrosa, F.O y col. (eds.), **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**, Kluwer Acad. Pub., 600 pp.
- O'SULLIVAN, D.J. y F. O'GARA. 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. **Microbiol. Rev.** 56: 662-676.
- PALIWAL, R.L., C.D. DOWSWELL y R.P. CANTRELL, 1996, Maize in the third world. Boulder, CO, USA, Westview Press [Online] En: <http://www.fao.org>. Consultado 12 de marzo 2009.
- PROBANZA, A., J. A. LUCAS, N. ACERO y F. J. GUTIERREZ MAÑERO. 1996. The influence of native rhizobacteria on european alder (*Alnus glutinosa* L.) (Gaertn.) growth. **Plant and Soil.** 182: 59-66.
- PUENTE, M., J. GARCÍA y A. PERTICARI. 2007. Respuesta a la inoculación con *Azospirillum brasilense* sobre la germinación y biomasa en plántulas de maíz (*Zea mays* L.). Ensayos preliminares. En: Olmedo C., Thuar A., Castro (eds.). **VI Reunión Nacional Científico Técnica de Biología del Suelo - VI Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno**. Univ. Nac. de Río Cuarto, Córdoba. Argentina. p. en CD.

- RIBAUDO, C. M., D. P. RONDANINI, J. A. CURA, y A. FRASCHINA. 2001. Response of *Zea mays* to the inoculation with *Azospirillum* on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. **Biologia Plantarum** 44: 631-634.
- RODRIGUEZ, H. y R. FRAGA. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol. Adv.** 17:319-339.
- RODRÍGUEZ CÁCERES, E.A., C. FEOLI, L. ALVARADO y A. PERTICARI. 1997. Uso de *Azospirillum brasilense* Cd como potencializador de la fertilización nitrogenada en maíz. **En: Biología de Suelo. Fijación Biológica de Nitrógeno.** Publicación Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Tucumán (Argentina). Pags: 71-73
- ROSS, J. y D. O'NEILL. 2001. New interactions between classical plant hormones. **Trends Plant Sci.** 6:2-4
- SAGPyA 2009. Estimaciones agrícolas – Cereales. En: www.sagpya.mecon.gov.ar
Consultado: 11-03-2009.
- SAGPyA 2009. Estimaciones agrícolas – Cereales. En: www.sagpya.gov.ar
Consultado: 20-06-2008.
- STEENHOUDT, O. y J. VANDERLEYDEN. 2000. A spontaneous chlorate-resistant mutant of *Azospirillum brasilense* Sp 245 displays defects in nitrate reduction and plant root colonization **Biology Fertility of Soils.** 33: 317-322.
- SUTTON J.C. y G. PENG. 1993. Manipulation and vectoring of biocontrol organisms to manage foliage and fruit disease in cropping systems **Annu. Rev. Phytopathol.** 31: 473-93.
- THUAR, A.M., C.A. OLMEDO y C. BELLONE. 2000. Greenhouse studies on growth promoting of maize inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **5th Internacional PGPR workshop**, Córdoba (Argentina), pag.130.
- THUAR, A.M., J. CANTERO y C.A. OLMEDO. 2008. Evaluación del efecto de la inoculación en maíz con *Azospirillum brasilense* bajo diferentes formulaciones comerciales y dosis de fertilizantes. **XXI Congreso Argentino de la Ciencia del suelo.** Libro de resúmenes pag. 113.
- TIEN, T.M., M.H. GASKINS y 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., P.A.H. KABER y C.M.J. PIETERSEN. 1998. Systematic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Ann. Rev., Phytopathol**, 3: 453-483.
- VAN ROSSUM, D., A. MUYOTCHE, A.H. STOUTHAMER y F.C. BOOGERED. 1994. Siderophore production by *Bradyrhizobium spp.* Strains nodulating groundnut. **Plant soil** 163: 177-187.

WANG, Y., H.N. BROWN y D.E. CROWLEY. 1993. Evidence for direct utilization of a siderophore, ferrioxamine B, in axenically grown cucumber. **Plant Cell Environ.** 16: 579-585.

WILKES, H.G. 1985. Teosinte: the closest relative of maize revisited. **Maydica**, 30: 209-223.

ANEXO

Análisis de Resultados: ANOVA

ANEXO 1.1

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Rendimiento	32	0,49	0,48	6,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10,15	1	10,15	29,30	<0,0001
Tratamiento	10,15	1	10,15	29,30	<0,0001
Error	10,40	30	0,35		
Total	20,55	31			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42501

Error: 0,3465 gl: 30

Tratamiento	Medias	n	
Testigo	8,47	16	A
Azospirillum	9,59	16	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

ANEXO 1.2

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso 1000 granos	32	0,26	0,23	4,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1809,01	1	1809,01	10,35	0,0031
Tratamiento	1809,01	1	1809,01	10,35	0,0031
Error	5243,97	30	174,80		
Total	7052,99	31			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,54568

Error: 174,7991 gl: 30

Tratamiento	Medias	n	
Testigo	275,31	16	A
Azospirillum	290,34	16	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

ANEXO 1.3

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Longitud radical	32	0,53	0,51	8,35

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12800,00	1	12800,00	33,43	<0,0001
Tratamiento	12800,00	1	12800,00	33,43	<0,0001
Error	11487,50	30	382,92		
Total	24287,50	31			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=14,12828

Error: 382,9167 gl: 30

Tratamiento	Medias	n	
Testigo	214,38	16	A
Azospirillum	254,38	16	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

ANEXO 1.4

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura de planta	32	0,32	0,29	8,56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,17	1	0,17	13,84	0,0008
Tratamiento	0,17	1	0,17	13,84	0,0008
Error	0,37	30	0,01		
Total	0,55	31			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,08061

Error: 0,0125 gl: 30

Tratamiento	Medias	n	
Testigo	1,23	16	A
Azospirillum	1,38	16	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

ANEXO 1.5

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diámetro de tallos	32	0,02	0,00	14,94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,13	1	0,13	0,66	0,4225
Tratamiento	0,13	1	0,13	0,66	0,4225
Error	6,07	30	0,20		
Total	6,21	31			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,32487

Error: 0,2025 gl: 30

Tratamiento	Medias	n	
Testigo	2,95	16	A
Azospirillum	3,08	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

ANEXO 1.6

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
N° de espigas/planta	80	2,7E-03	0,00	23,04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,01	1	0,01	0,21	0,6492
Tratamiento	0,01	1	0,01	0,21	0,6492
Error	4,68	78	0,06		
Total	4,69	79			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10916

Error: 0,0599 gl: 78

Tratamiento	Medias	n	
testigo	1,05	40	A
Azospirillum	1,08	40	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)