

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

“Trabajo Final presentado para optar al Grado de
Ingeniero Agrónomo”

*“Efecto de la promoción del crecimiento con bacterias PGPR
en el cultivo de maíz”*

Autor: Edgar Germán Garetto
DNI: 27.294.796

Directora: Alicia Thuar
Co-directora: Carla Bruno

Río Cuarto – Córdoba
Abril 2012

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final:

***“Efecto de la promoción del crecimiento con bacterias PGPR
en el cultivo de maíz”***

Autor: Edgar Garetto

DNI: 27.294.796

Director: Alicia Thuar

Co-Director: Carla Bruno

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión
Evaluadora:

Ing. Agr. Juan José Cantero _____

Ing. Agr. Mónica Zuza _____

Dra. Alicia Thuar _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mi familia por la ayuda brindada durante la carrera.
A Naty por haber estado siempre allí, y a todos mis amigos por su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el apoyo brindado.

A mi bicho por estar siempre allí.

A Carla y Alicia por haberme dado la posibilidad de realizar el trabajo final.

A Hernán, Ezequiel, Mauricio, Guido, Rubén, Marcos por su cooperación.

A mis amigos por su apoyo.

A todos GRACIAS!!!!

ÍNDICE DEL TEXTO

RESUMEN **VIII**

SUMMARY **IX**

1. INTRODUCCIÓN

Antecedentes	1
Hipótesis	6
Objetivo general	6
Objetivo específico	6

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio	7
Materiales utilizados	7
Tratamientos	7
Cuantificación de la promoción de crecimiento	10

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones en V5-V6:

Diámetro del tallo	13
Cuantificación del contenido de fósforo	13
Longitud radical	14
Determinación de peso fresco y seco de la raíz	14
Determinación de peso fresco y seco aéreo	15

Determinaciones a cosecha y post-cosecha:

Medición de la densidad de pl ha ⁻¹	16
Número de espigas por planta	16

Número de hileras y longitud de espigas	17
Peso de 1000 granos	17
Rendimiento en grano	18
4. CONCLUSIÓN	19
5. BIBLIOGRAFÍA	20

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Precipitaciones ocurridas durante el ciclo del cultivo	7
Figura 2: Diámetro de los tallos de maíz	13
Figura 3: Contenido de Fósforo	13
Figura 4: longitud de raíces	14
Figura 5: Peso de las raíces	14
Figura 6: Peso fresco de la biomasa aérea	15
Figura 7: Peso de la seco de la biomasa aérea	15
Figura 8: Densidad de plantas	16
Figura 9: Espigas por plantas de maíz	16
Figura 10: Medición de espigas de maíz	17
Figura 11: Peso de los 1000 granos de maíz	17
Figura 12: Rendimiento	18

ANEXOS

Anexo 1: Diámetro del tallo	26
Anexo 2: Longitud radical	27
Anexo 3: Determinación de peso fresco y seco de la raíz	27
Anexo 4: Determinación de peso fresco y seco aéreo	27
Anexo 5: Densidad de plantas ha ⁻¹	28
Anexo 6: Número de espigas por planta	29
Anexo 7: Medición de espigas	29
Anexo 8: Peso de 1000 granos	30
Anexo 9: Rendimiento	31

RESUMEN

El uso de fertilizantes en la agricultura Argentina se incrementó casi ocho veces en los últimos 15 años. Los productos más empleados son los que proveen nitrógeno y fósforo aplicándose fundamentalmente en cultivos de trigo y maíz. Existen evidencias que hacen pensar que los suelos están perdiendo más nutrientes que los repuestos por la fertilización. El cultivo de maíz requiere grandes cantidades de fertilizante nitrogenado para obtener un buen rendimiento. Los “biofertilizantes” o “inoculantes bacterianos”; normalmente son preparados de microorganismos que pueden ser parcialmente o totalmente sustitutos de la fertilización química. La posibilidad de utilizar mezclas (consorcio) con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal que interactúen sinérgicamente, es una tecnología muy poco empleada y los beneficios que ésta aporta parecen ser mayores en comparación con las inoculaciones simples. El objetivo general fue evaluar agronómicamente el efecto de la inoculación de diferentes fertilizantes biológicos con actividad PGPR sobre el crecimiento, utilización de fósforo y rendimiento de maíz. Se empleó el siguiente tratamiento de las semillas: 1. Testigo; 2. Rizofos® Liqmaíz + Premax R®; 3. Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + B4®; 4. Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + Rizoderma®; 5. B4® + Premax R®; 6. B1® + Premax R®; 7. Rizofert®; 8. Rizoderma® + Premax R®. Las determinaciones en estadio V5-V6 fueron: diámetro del tallo, cuantificación del contenido de fósforo, longitud radical, determinación de peso aéreo y de la raíz (fresco y seco) y rendimiento en grano. Se encontró que: para el diámetro de los tallos existen diferencias estadísticas significativas en el tratamiento 3 (Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + B4®), en comparación con el testigo sin inocular, el fósforo de biomasa aérea fue mayor en los tratamientos inoculados en general, el peso fresco y seco en raíz no mostró diferencias estadísticas, el peso fresco y seco de biomasa aérea no presentó diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento 4 (Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + Rizoderma®). El rendimiento fue 600 kg ha⁻¹ superior en los tratamientos inoculados. El peso de 1000 granos fue mayor en los tratamientos 4 (Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + Rizoderma®) y 7 (Rizofert®).

SUMMARY

The use of fertilizers in agriculture Argentina increased almost eight times in the last 15 years. The most used are those that provide primarily nitrogen and phosphorus applied in wheat and corn. There is evidence to suggest that soils are losing more nutrients than replenished by fertilization. Growing corn requires large amounts of nitrogen fertilizer to get good performance. The "biofertilizers" or "bacterial inoculants" are usually prepared from organisms that may be partially or fully substitute for chemical fertilizers. The possibility of using mixtures (consortium) with plant growth promoting rhizobacteria interact synergistically, is a technology little used and the benefits it provides seem to be higher compared to single inoculations. The overall objective was to evaluate agronomically the effect of different organic fertilizers inoculated with PGPR on growth activity, use of phosphorus and maize yield. They use the following seed treatment: 1. Witness; 2. Rizofos® Liqmaíz + Premax R®; 3. Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + B4®; 4. Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + Rizoderma®; 5. B4® + Premax R®; 6. B1® + Premax R®; 7. Rizofert®; 8. Rizoderma® + Premax R®. Determinations V5-V6 stage were stem diameter, quantifying the phosphorus content, root length, fresh weight determination of dry air and root and grain yield. We found that: to stem diameter statistically significant differences in treatment 3 (Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + B4®) compared with the control without inoculation, phosphorus, aboveground biomass was greater in the inoculated treatments Overall, the fresh weight and dry root showed no statistical differences, the fresh and dry weight of aboveground biomass did not present statistically significant differences in treatment 4 (Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + Rizoderma®). The yield was 600 kg ha⁻¹ higher in the inoculated treatments. The 1000 grain weight was higher in treatments 4 (Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + Rizoderma®) and 7 (Rizofert®).

INTRODUCCIÓN

La agricultura moderna ha multiplicado los impactos negativos sobre el medio ambiente debido al empleo de fertilizantes químicos, para incrementar la productividad agrícola y de pesticidas, para el control de plagas y enfermedades de los cultivos. El uso de fertilizantes en la agricultura Argentina se incrementó casi ocho veces en los últimos 15 años, alcanzando unos 1.6 millones de toneladas anuales. Los productos más empleados son los que proveen nitrógeno (57%) y fósforo (36%), aplicándose fundamentalmente en cultivos de trigo y maíz, incrementando considerablemente, de esta manera, los costos de los cultivos extensivos. Existen evidencias que hacen pensar que los suelos están perdiendo más nutrientes que los repuestos por la fertilización, con lo cual, en los próximos años se esperaría una reducción marcada de estos últimos en los suelos agrícolas (Satorre, 2005).

El maíz, *Zea mays* L., es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu Maydeas, y es la única especie cultivada de este género. Es una planta completamente domesticada que junto con el hombre han vivido y evolucionado desde tiempos remotos, no crece en forma salvaje y no puede sobrevivir en la naturaleza, siendo completamente dependiente de los cuidados del hombre (Wilkes, 1985; Galinat, 1988; Dowsell, *et al.*, 1996).

Globalmente, el maíz se cultiva en más de 140 millones de hectáreas (FAO, 2010) con una producción anual de más de 580 millones de toneladas métricas. El maíz tropical se cultiva en 66 países y es de importancia económica en 61 de ellos, cada uno de los cuales siembra más de 50.000 hectáreas con un total cercano a 61.5 millones de hectáreas y una producción anual de 111 millones de toneladas métricas. El rendimiento medio del maíz en los trópicos es de 1.800 kg ha⁻¹ comparados con una media mundial de más de 4.000 kg ha⁻¹. El rendimiento medio del maíz en las zonas templadas es de 7.000 kg ha⁻¹ (CIMMYT, 1999).

En el entorno cercano a las raíces (“rizosfera”) se encuentran abundantes microorganismos con diferentes tipos de relación y efectos sobre el crecimiento de los cultivos. Algunos manifiestan acciones benéficas y son conocidos como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) y han sido eficientemente aislados y multiplicados para la formulación de inoculantes para su aplicación en escala extensiva de producción (Tejeda Gonzalez *et al.*, 2007).

La posibilidad de utilizar mezclas (consorcio) con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal que interactúen sinérgicamente, es una tecnología muy poco explotada y los beneficios que ésta aporta parecen ser mayores en comparación con las inoculaciones simples.

Estas PGPR, incluyen especies de *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rizobium*, *Pseudomonas*, *Gluconacetobacter*, *Burkholderia* y *Bacillus* (Glick, 1995).

Las bacterias PGPR pueden directa o indirectamente inducir la promoción del crecimiento (Khalid *et al.*, 2009). Los mecanismos directos son: la producción de fitohormonas, liberación de fosfatos y micronutrientes, fijación de nitrógeno y producción de sideróforos. El efecto indirecto que causan las PGPR es la alteración de la ecología y el ambiente de la raíz (Bowen y Rovía, 1991; Glick, 1995; Hornby, 1990; Kapulnik, 1991; Lynch, 1990a, 1990b, 1990c; Okon y Hadar, 1987; Bais *et al.*, 2004; Ongena *et al.* 2005), por ejemplo, actuando como agentes de biocontrol y reduciendo las enfermedades mediante la liberación de sustancias antibióticas que eliminan microorganismos nocivos, por competencia con agentes deletéreos y metabolismos de productos tóxicos.

Los Mecanismos de la promoción directa del crecimiento son:

a) Producción de fitohormonas:

Las PGPRs pueden beneficiar directamente el crecimiento vegetal a través de la producción de fitohormonas (Lippman *et al.*, 1995), entre ellas se encuentran auxinas, citocininas y giberelinas. Estos compuestos incrementan el número de raíces laterales y pelos radicales, aumentando notablemente la superficie de la raíz y, en consecuencia, favoreciendo una mayor absorción de nutrientes (Steenhoudt y Vanderlyden, 2000; Ryu, 2003, 2004; Lugtenberg *et al.*, 2004; Mayak *et al.*, 2004; Ping and Boland, 2004).

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

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

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

b) Solubilización de Fosfatos:

El fósforo es un elemento químico esencial para la vida y muy abundante en la corteza terrestre, sin embargo una pequeña proporción está disponible para las plantas (5%), por lo que debe ser suministrado por medio de fertilizantes minerales, pero gran parte de este tiende a acumularse en el suelo en forma de compuestos insolubles (Richardson, 1994). El aprovechamiento de dicho nutriente depende de la actividad microbiana, entre otros; y frecuentemente, la inoculación de plantas con microorganismos solubilizadores de fósforo estimula el crecimiento vegetal, por incremento en la absorción del mismo (Chabot *et al.*, 1993; Kucey *et al.*, 1989).

c) Fijación de Nitrógeno:

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

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

Los mecanismos indirectos de promoción del crecimiento son:

a) Producción de sideróforos:

Dado que la cantidad de hierro del suelo que es aprovechable es demasiado baja para mantener el crecimiento microbiano, los microorganismos del suelo excretan moléculas quelantes (sideróforos) que se unen al Fe^{+3} , transportándolo al interior de la célula microbiana y luego lo hacen aprovechable para el crecimiento de la bacteria (Neilands y Leong, 1986).

Una vía por la cual las PGPRs pueden evitar la proliferación de fitopatógenos y, por lo tanto, facilitar el crecimiento vegetal, es a través de la producción y secreción de sideróforos con una alta afinidad por el hierro (Castignetti y Smarelli, 1986).

b) Inducción de Resistencia sistémica:

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

Determinadas bacterias inducen la resistencia sistémica, produciendo diferentes compuestos tales como los lipopolisacáridos, sideróforos y ácido salicílico (Van Loon *et al.*, 1998).

c) Producción de Antibióticos:

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

d) Producción de Cianida de Hidrógeno:

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

Las raíces de los cultivos pueden mejorar la eficiencia de absorción de los nutrientes del suelo y los fertilizantes aumentando el volumen de suelo explorado y/o la tasa de absorción por unidad de raíz. El mayor desarrollo radical inducido por la inoculación con *Azospirillum* conduce a una mayor absorción de agua y nutrientes del suelo que se refleja en el mayor crecimiento del tallo y follaje (Faggioli *et al.*, 2010).

El contenido de fósforo, nitrógeno, potasio y diversos micronutrientes es mayor en las plantas inoculadas con *Azospirillum* que en las no inoculadas. Okon y Labandera-González (1994) llevaron a cabo una amplia revisión de las experiencias obtenidas en 20 años de inoculación con *Azospirillum* y observaron efectos positivos sobre el rendimiento en el 60-70% de los experimentos ya que la inoculación permite disminuir las dosis de fertilizantes (NPK) en un 30-45% sin afectar significativamente los rendimientos. Según estos autores las mayores respuestas se observan en suelos arenosos (Faggioli *et al.*, 2010).

Como consecuencia de una mejor funcionalidad de las raíces, las plantas manifiestan menos limitaciones para su normal crecimiento aéreo y en consecuencia una mayor eficiencia de uso de la radiación incidente desencadenando así en un circuito favorable de crecimiento que sostiene una mejor implantación, crecimiento vegetativo y formación de granos (Diaz Zorita y Ramirez-Canigia 2008).

El uso de inoculantes biológicos incorporados como tratamientos de semilla es una práctica que en los últimos tiempos ha demostrado un creciente interés, a punto tal que microorganismos como *Pseudomonas*, *Azospirillum* y otros son incluidos en ensayos de investigación, parcelas demostrativas y utilizados comercialmente por no pocos productores. Efectos como una rápida implantación, mayor crecimiento radicular, tolerancia mejorada a

patógenos, fijación biológica y solubilización de nutrientes son habitualmente reportados en estas experiencias, además de incrementos de rendimiento que suelen ubicarse entre el 5 y 10 % sobre los testigos no inoculados, como valores medios. Los primeros ensayos generados a campo Región Pampeana fueron realizados por García y Bach (2003b) estos autores informaron una diferencia positiva de 690 kg ha⁻¹, como media de 6 ensayos realizados en 3 campañas en la provincia de Buenos Aires. Experimentos llevados a campo entre los ciclos 2004/05 y 2007/08, mostraron una respuesta media de 622 kg ha⁻¹, lo que representa una diferencia porcentual de 6.96% (Ferraris y Couretot, 2008b).

Experimentos realizados a campo por 3 años consecutivos en el cultivo de maíz inoculado con 3 especies de bacterias: *Pseudomonas corrugata*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium*. Se registró en el primer año un aumento del rendimiento total en todos los tratamientos comparado con el control, donde *P. corrugata* presentó los mejores resultados con un aumento de 144,9%. Las respuestas estadísticamente significativas, fueron mayores para el rendimiento de grano en todos los tratamientos. El peso seco de grano fue mayor que el control en todos los tratamientos: *P. corrugata*, 194,3%; *B.subtilis*, 135,2%; *B.megaterium*, 122,4%. En el segundo y tercer año se registró un aumento del rendimiento total de *P. corrugata* de hasta 147.25% y 149.93% respectivamente en relación al control. El índice de cosecha por unidad de superficie fue significativamente mayor en el control (Kumar *et al.*, 2007).

La concentración de nutrientes en la solución del suelo es tan baja que aquellas especies capaces de absorber más nutrientes por unidad de raíz serán más eficientes. Esta ventaja cobra mayor importancia en nutrientes poco móviles y de baja solubilidad, como el fósforo. En la actualidad se está evaluando la efectividad de la inoculación de semillas con rizobacterias PGPR.

HIPOTESIS DEL TRABAJO

Diferentes microorganismos con actividad PGPR inoculados a las semillas de maíz modifica el crecimiento del cultivo.

OBJETIVO GENERAL DEL TRABAJO

Evaluar agrónomicamente el efecto de la inoculación con diferentes fertilizantes biológicos con actividad PGPR sobre el crecimiento, utilización de fósforo y rendimiento de maíz.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracteres vegetativos (V5 – V6):

- Medir el diámetro de los tallos, materia fresca y seca de la biomasa total (Raíz y parte aérea), longitud radical y el contenido de fósforo de la biomasa aérea.

Caracteres reproductivos:

- Determinar la prolificidad, longitud de las espigas, número de hileras por espiga, densidad de plantas por ha, peso de 1000 granos, rendimiento en grano (en kg ha^{-1}).

MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio de estudio:

El ensayo se realizó en el campo experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto, ubicado en la Ruta Nacional 36 al Km 601, a los 32° 33´ Latitud Sur y 63° 10´ Latitud Este. El perfil del suelo corresponde a un Hapludol típico.

Según Koeppen (1931), el sitio corresponde con un clima templado con estación seca en invierno. Las amplitudes térmicas elevadas; $M_x = 45\text{ °C}$ y $M_n = -8\text{ °C}$. El periodo lluvioso se extiende de octubre a marzo (580mm), en donde suceden el 80% de las precipitaciones anuales. La evapotranspiración potencial supera los 850mm anuales; las heladas ocurren entre los meses de mayo y septiembre.

La figura 1 presenta las precipitaciones ocurridas en el período de evaluación que corresponde de octubre de 2011 a marzo del 2012 (Cátedra de Agrometeorología y Climatología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria Universidad Nacional Río Cuarto, Argentina 2012).

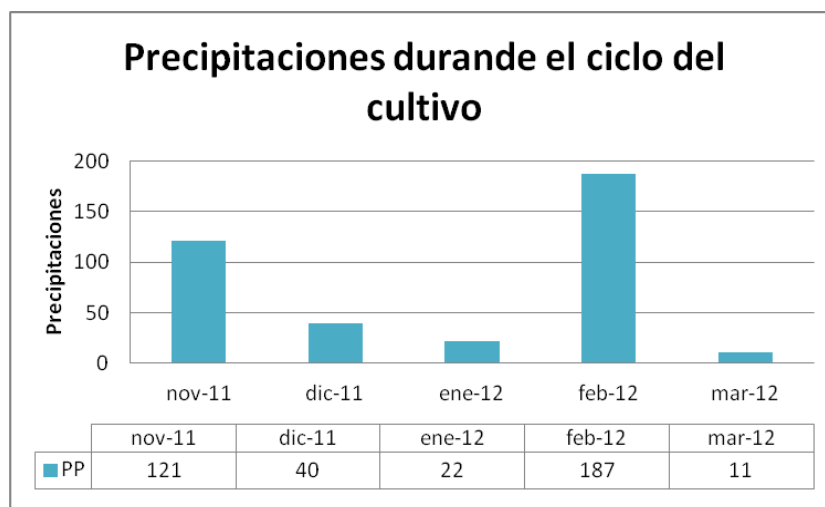


Figura 1: Precipitaciones ocurridas durante el ciclo del cultivo, datos mensuales

Previo a la siembra se realizó una caracterización del suelo a través de un análisis físico-químico. El análisis del suelo es una herramienta muy importante, ya que nos permite cuantificar la oferta de nutrientes del suelo. Para ello se tomó una muestra compuesta de 20 submuestras de los primeros 20 centímetros de suelo. El muestreo sistemático se realizó atravesando las parcelas en forma diagonal tratando de obtener una muestra homogénea. Se observó materia orgánica, nitrógeno de nitratos, nitratos, fósforo, ph. El análisis puede ser un elemento imprescindible y altamente confiable en el diagnóstico de las deficiencias de ciertos elementos poco móviles en el suelo como el fósforo.

Análisis físico-químico del suelo:

Materia Orgánica:	%	1,54
Nitrógeno de Nitratos	Ppm	17,50
Nitratos	Ppm	77,5
Fósforo:	ppm	13,70
Humedad:	%	6,00
ph		6,68

Metodología utilizada: Para la evaluación de la materia orgánica del suelo se siguió el Método Walkley-Black; para N – Nitratos el Método de Reducción por cadmio; para fósforo, el Método Kurtz y Bray I; y para ph el Método de potenciometría 1:2,5.

Materiales utilizados:

a) Fertilizantes Biológicos:

- ✓ Rizofos® Liqmaíz
- ✓ B1®
- ✓ B4®
- ✓ Rizoderma®
- ✓ Rizofert®

b) Protector: Premax R®

Los tratamientos fueron los siguientes:

Tratamiento I:

- Testigo, semillas sin inocular

Tratamiento II:

- Semillas inoculadas con **Rizofos® Liqmaíz** (500mL/100kg de semilla) + **Premax R®** (200mL/100kg semilla)

Tratamiento III:

-Semillas inoculadas con: **Rizofos® Liqmaíz** (500mL/100kg de semilla) + **Premax R®** (200mL/100kg semilla) + **B4®** (300mL/20kg semilla)

Tratamiento IV:

-Semillas inoculadas con: **Rizofos® Liqmaíz** (500mL/100kg semilla) + **Premax R®** (200mL/100kg semilla) + **Rizoderma®** (600mL/100kg semilla)

Tratamiento V:

-Semillas inoculadas con: **B4®** (300mL/20kg semilla) + **Premax R®** (60mL/20kg semilla)

Tratamiento VI:

-Semillas inoculadas con: **B1®** (300mL/20kg semilla) + **Premax R®** (60mL/20kg semilla)

Tratamiento VII:

-Semillas inoculadas con: **Rizofert®** (500mL/100kg semilla)

Tratamiento VIII:

-Semillas inoculadas con: **Rizoderma®** (600mL/100kg semilla) + **Premax R®** (200mL/100kg semilla)

Al ensayo se le aplicó una fertilización por hectárea de 50 kilogramos de urea (46% de nitrógeno) y 50 kilogramos de fosfato diamónico (18% nitrógeno y 46% de fósforo) localizados por debajo y a tres centímetros al costado de la línea de siembra. Los tratamientos se asignaron en un diseño experimental de bloques al azar con tres repeticiones. El tamaño de las parcelas de 50 metros de largo y 8 surcos de ancho distanciados a 0.52 metros. El sistema de labranza en siembra directa con antecesor de soja y el desarrollo del cultivo fue en condiciones de secano.

Especie y cultivar empleado:

El cultivar de *Zea mays* empleado en el ensayo fue un híbrido doble, “Faraón”. Este Híbrido es de ciclo completo, tiene un lento secado, muy buena adaptación y respuesta a factores adversos. Posee genes de tolerancia a barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*). En cuanto al potencial de rendimiento es medio, se lo utiliza para planteos de rendimiento intermedio, con buena respuesta ante factores adversos. La tolerancia a “Mal de Río Cuarto” es muy buena.

Días a madurez relativa:	122
Altura de planta:	2,2 / 2,3 m.
Tipificación oficial de Grano:	Anaranjado, semidentado
Ritmo de secado del grano:	Intermedio
Prolificidad media de Espigas bien formadas:	1,0
Número medio de Hileras por Espiga:	16 – 18
Densidad Recomendada:	55 a 80.000 pl ha ⁻¹

Fuente: Catálogo de semillas de maíz de Ayerza semillas S.A.

Cuantificación de la promoción de crecimiento:

1. Se consideró el estadio V5 – V6 a los fines de evaluar la promoción del crecimiento vegetal:
 - **Diámetro del tallo:** se midió en centímetros con un calibre, a 5 cm de la base del tallo, para 9 plantas por tratamiento.
 - **Cuantificación del contenido de fósforo en biomasa aérea:** se midió por el método colorimétrico (Fiske y Subbarow, 1925; King, 1932), para una muestra de las 9 plantas de la determinación del peso fresco y seco de la biomasa aérea.
 - **Longitud radical:** se midió en 3 plantas por tratamiento por el método de intersección de líneas (Newman, 1966). Se utilizó un área rectangular sobre la base de papel, dentro de la cual se construye una cuadrícula. La raíz, luego de removido el suelo adherido a ella, se colocó sobre la grilla, y se procedió a contar el número de intersecciones. A partir de esto 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 raíz

π : 3.14

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

A: Área del rectángulo (26cm x 20cm).

H: Longitud total de las líneas de la cuadrícula (2 x 130).

- ✓ **Determinación de peso fresco y seco aéreo:** 9 plantas por tratamientos, se pesaran al llegar del campo con una balanza electrónica (peso fresco). Luego se colocaran en la estufa durante 48 horas a 60° Celsius, hasta peso constante. Seguidamente se determino el peso seco.
- ✓ **Determinación de peso fresco y seco de la raíz:** 9 plantas por tratamiento, se pesaran al llegar del campo con una balanza electrónica (peso fresco). Luego se colocaran en la estufa durante 48 horas a 60° Celsius, hasta peso constante. Seguidamente se determino el peso seco.

2. En cosecha y post-cosecha se realizaron las siguientes determinaciones:

- a) *Medición de la densidad de pl ha⁻¹:* esta medición se realizo con una cinta métrica en la que cuantificamos la cantidad de plantas que hay en 5 metros lineales en cada bloque y en cada tratamiento con 3 repeticiones, expresándolo en plantas por hectárea.
- b) *Número de espigas por planta:* se realizo un recuento del número de espigas por planta en 1 m², en madurez fisiológica.
- c) *Número de hileras por espiga:* se contaron en la zona media de cada espiga el número de hileras de granos en todas las espigas cosechadas en 1 m².

- d) *Longitud de espigas*: con una cinta métrica se midió la longitud de cada una de las espigas en centímetros.
- e) *Peso de 1000 granos*: se pesaron 1000 granos con una balanza electrónica de cada uno de los tratamientos repetido 3 veces.
- f) *Rendimiento en grano ($kg\ ha^{-1}$)*: para la determinación del rendimiento, se cosecho $1\ m^2$ repetido 3 veces por tratamiento. Las espigas de maíz fueron recolectadas de forma manual, luego se desgrano y finalmente se pesaron los granos (sin incluir el marlo). Para llevar el valor de rendimiento a $kg\ ha^{-1}$.

Análisis de datos

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza (InfoStat/profesional 2008) con una $p = 0.05$ y se compararon los promedios con el test de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones en V5-V6:

Diámetro del tallo: El diámetro del tallo muestra diferencias estadísticas significativas $p = 0,0452$, entre los distintos tratamientos. Hubo diferencias entre el tratamientos 3 con el resto (Figura 2) (Anexo 1). Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos por Gharib y otros (2008), quienes lograron incrementar el diámetro del tallo, con una inoculación simple y una mezcla de microorganismos de PGPR. Estos resultados también pueden explicarse fitohormonas como ácido inolacético, auxinas, giberelinas y citoquininas (Dardanelli *et al.*, 2008).

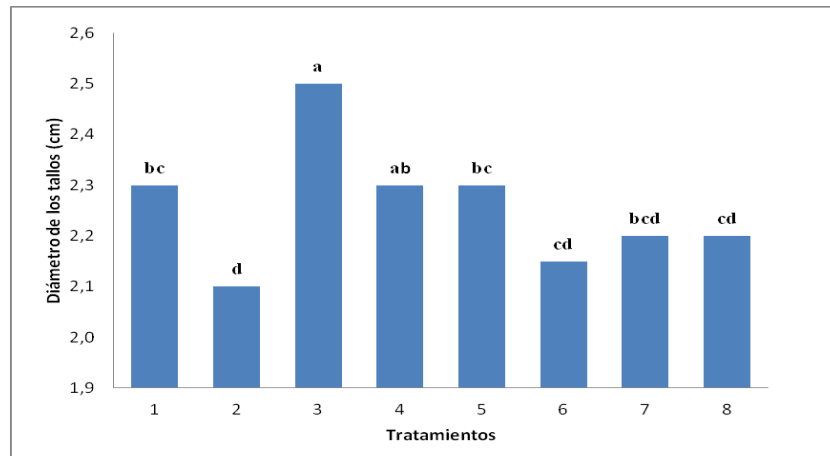


Figura 2: Diámetro de los tallos de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Cuantificación del contenido de fósforo: El fósforo junto con el nitrógeno juegan un papel importante en el crecimiento de las plantas. En la figura 3 se observa que los tratamientos 2, 3, 5 y 6 poseen un promedio de 17% más fósforo que el testigo. Resultados similares fueron encontrados en suelos de Balcarce, Fontanetto 1993, Faggioli *et al.* en 2010 en trabajos realizados a campo con *Azospirillum* donde encontró que el contenido de fósforo fue mayor en plantas inoculadas en relación al testigo. Chabot y otros (1996) reportan efectos benéficos en el crecimiento de maíz cuando se empleó PGPR como biofertilizante, efecto que los autores lo atribuyen a la capacidad del microorganismo de solubilizar fosfatos.

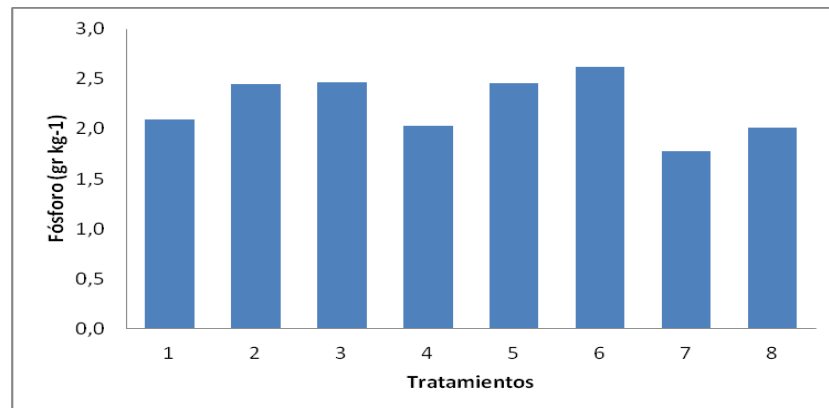


Figura 3: Contenido de Fósforo en V5-V6 (gr kg-1) de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Longitud radical: Con respecto a la longitud de raíces que exploraron el suelo en cada tratamiento, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,7479$), sin embargo los tratamientos inoculados con excepción del 4 y 8, mostraron mayor longitud radical (Figura 4) (Anexo 2). En experimentos realizados en invernadero con cebolla y con aplicaciones de PGPR se logro incrementos en altura de la planta, longitud de la raíz, adsorción de fosforo y colonización de la raíz (Mandhare *et. al.* 1998). En estudios similares se informa que las PGPR promueven el crecimiento de raíces de plantas (Harman *et. al.* 2004).

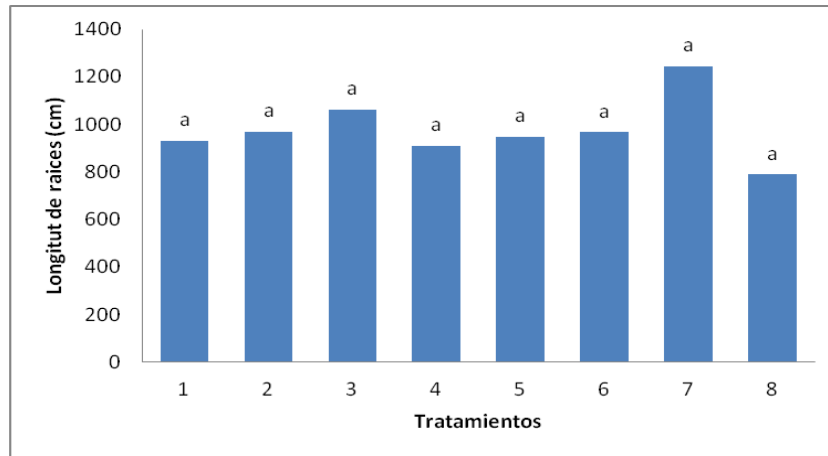


Figura 4: longitud de raíces de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Determinación de peso fresco y seco de la raíz: El peso fresco y seco de las raíces en V5-V6 no mostro diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,2322$ y $0,4412$ respectivamente). En la figura 5 (Anexo 3), se observa el peso fresco de las raíces por planta en los diferentes tratamientos: 2 (+12.9%), 3 (+13.2%), 4 (+39.4%), 5 (+15.5%), 6 (+15.9%) todos mayores al testigo. De igual manera el peso seco en cada tratamiento mostro mayor porcentaje en relación al testigo con excepción del tratamiento 7.

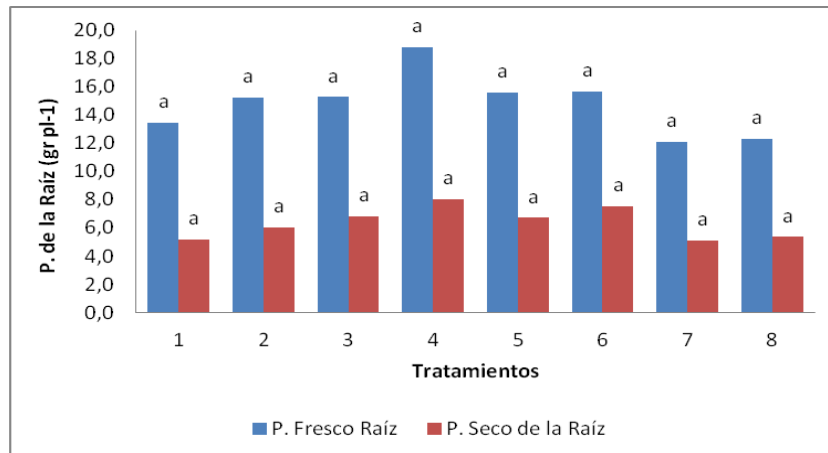


Figura 5: Peso de las raíces de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Determinación de peso fresco y seco aéreo: La medición de peso fresco de la biomasa aérea no mostro en V5-V6 diferencias estadísticas significativas $p = 0,1688$ entre los tratamientos. Como se observa en la figura 6 (Anexo 4) la diferencia más notable fue la del tratamientos 4 con el 1 y 2.

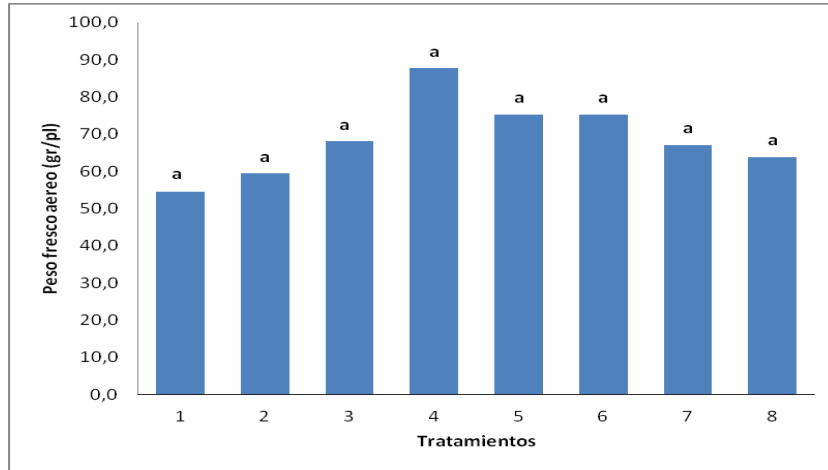


Figura 6: Peso fresco de la biomasa aérea de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

En cuanto al peso seco aéreo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.1258$) entre los distintos tratamientos. La mayor diferencia se observa entre el tratamiento 1 (testigo) y el 4 (figura 7). Diaz Zorita y Fernandez-Canigia (2008) afirman que la inoculación con PGPR aumenta el crecimiento vegetativo. Los resultados obtenidos pueden ser debidos a la fijación biológica de nitrógeno y a la secreción de hormonas como auxinas, giberelinas y citoquininas, que ayudan a la adsorción de agua y nutrientes en la planta.

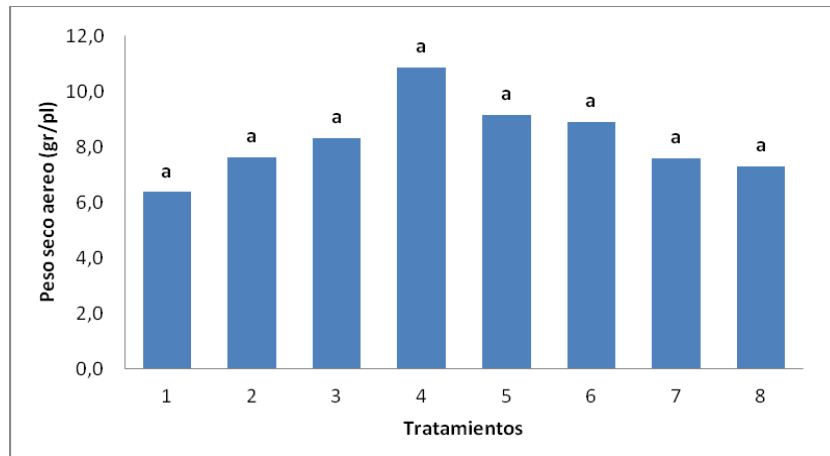


Figura 7: Peso de la seco de la biomasa aérea de maíz (gr), campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Determinaciones a cosecha y post-cosecha:

Medición de la densidad de pl ha⁻¹: Uno de los componentes del rendimiento es la densidad de plantas por ha (pl ha⁻¹), la cual no presentó diferencias estadísticas significativas ($p = 0,2383$). Los valores medidos de densidad por tratamiento se observan en la figura 8 (Anexo 5).

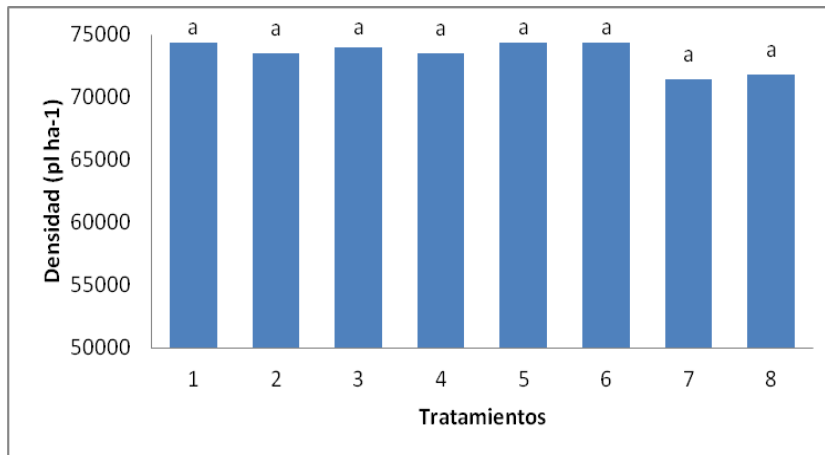


Figura 8: Densidad de plantas por ha de maíz (gr), campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Número de espigas por planta: Otro componente importante del rendimiento es el número de espigas por planta que depende del genotipo del híbrido. Se evaluó para hacer la estimación del rendimiento. No se encontraron diferencias estadísticas significativas $p = 0,5323$ (Figura 9) (Anexo 6).

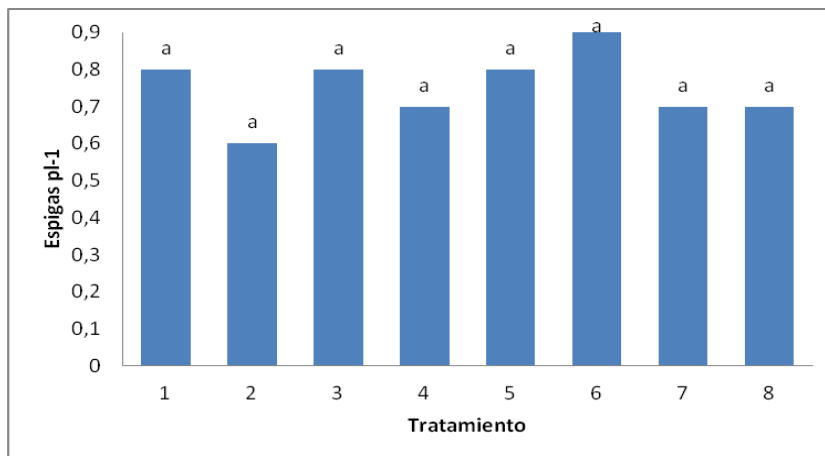


Figura 9: Espigas por plantas de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Número de hileras por espiga y Longitud de espigas: El número de hileras y la longitud nos dan la cantidad de granos por espiga, componente básica del rendimiento. No se encontró diferencia estadística significativa ($p = 0.5585$ número de hileras por espigas y $p = 0.9437$). Los resultados promedios se observan en la figura 10 (Anexo 7).

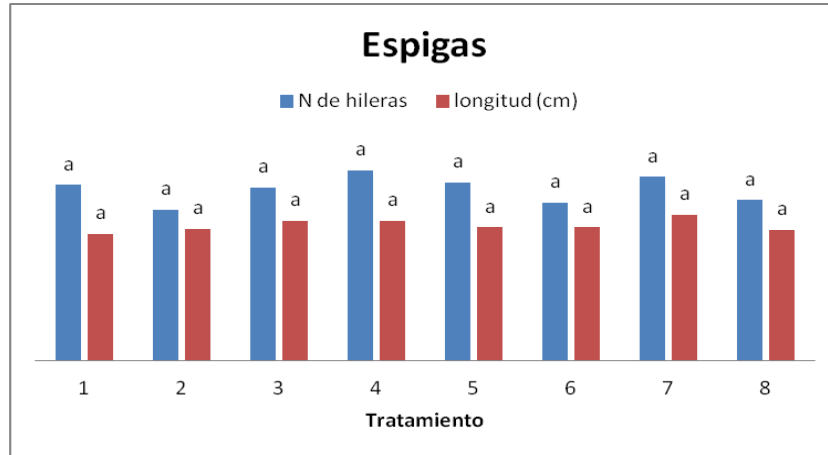


Figura 10: Medición de espigas de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Peso de 1000 granos: La medición del peso de 1000 granos a cosecha no mostro diferencias estadísticas significativos $p = 0,9239$ (Figura 11) (Anexo 8). Los tratamientos 4 y 7 muestran mayor peso de grano en relación al testigo, resultados similares fueron encontrados por Kumar *et. al.* 2007.

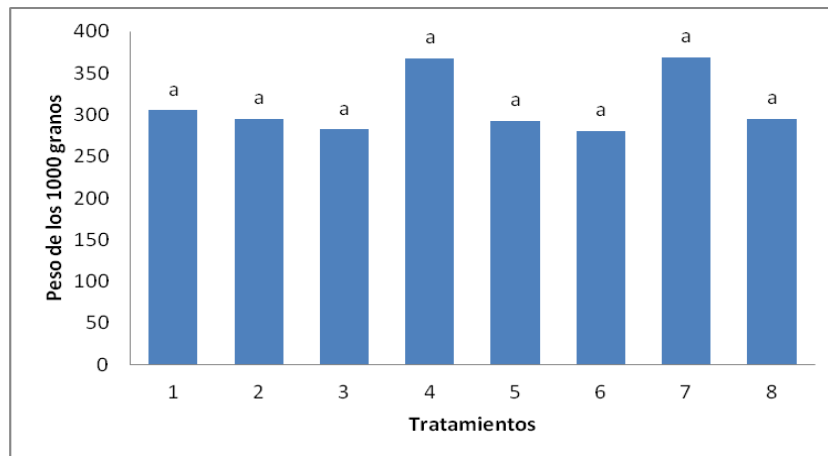


Figura 11: Peso de los 1000 granos de maíz (gr) de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

Rendimiento en grano ($kg\ ha^{-1}$): El rendimiento depende de diferentes factores, tales como la densidad de siembra, la temperatura, los niveles de radiación, las precipitaciones (figura1), disponibilidad de nutrientes y el genotipo. Las condiciones climáticas de la campaña 2011/12 no fueron las óptimas ya que se registraron 381mm de noviembre de 2011 a marzo de 2012, y esto permite afirmar que el cultivo no pudo expresar su máximo potencial posiblemente explicando el porqué del rendimiento. Como se observa en figura 12 (Anexo 9) no existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,8993$) entre los tratamientos inoculados y el testigo. El rendimiento promedio obtenido en las parcelas inoculadas fue de $4957\ kg\ ha^{-1}$ y $4415\ kg\ ha^{-1}$ en el testigo no inoculado. Por lo tanto, la respuesta de incremento promedio en rendimiento a la inoculación fue del 12%. En la última década ensayos realizados a campo mostraron una respuesta media de $600\ kg\ ha^{-1}$, en la Región Pampeana. (Garcia y Bach 2003; Ferraris y Couretot 2008). En la mayoría de los parámetros evaluados tanto en V5 – V6 como cosecha, se observa un efecto positivo de la asociación de diferentes PGPR utilizados en este ensayo en un año de experiencia a campo.

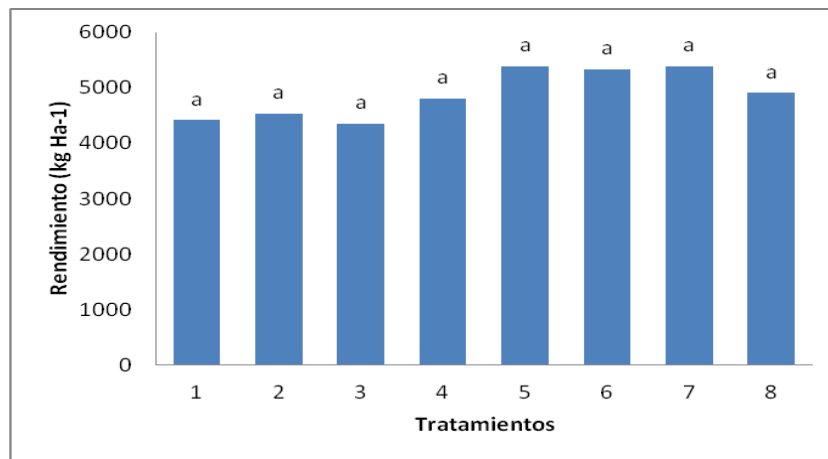


Figura 12: Rendimiento ($kg\ ha^{-1}$) de maíz (gr) de maíz, campaña 2011-12, Río Cuarto, Córdoba.

CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos podemos concluir:

- ✓ El diámetro de los tallos en los estadios V5-V6 mostro diferencias estadísticas significativas las semillas de maíz inoculadas con: tratamiento 3 (Rizofos® Liqmaíz + Premax R® + B4®) en comparación con el testigo sin inocular.
- ✓ En el análisis del fósforo de la biomasa aérea en V5-V6, se encontró un incremento en los tratamientos inoculados en relación al testigo.
- ✓ El peso fresco y seco en raíz no mostro diferencias estadísticas significativas.
- ✓ El peso fresco y seco de biomasa aérea no presento diferencias estadísticamente significativas.
- ✓ El rendimiento, no mostro diferencias estadísticas significativas, siendo superior 600 kg ha⁻¹ en los tratamientos inoculados, respecto al testigo. Los tratamientos 4 y 7 también mostraron mayor peso de 1000 granos.

BIBLIOGRAFÍA

- BAIS, H. P.; R. FALL and J. M. VIVANCO. 2004. **Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of Arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production.** *Plant Physiol.* 134:307-319.
- BARBIERI, P., ZANELLI, GALLI, E. and ZANETTI, G. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* sp. and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. **FEMS Microbiol. Lett.** 36:87-90.
- BOWEN G. D. and ROVÍA, AD. 1991. The rizosphere, the hidden half pp. 66 1-669 In: Y. Waisel, A. Eshel and U. Kafkafi (eds). **Plant roots, the hidden half.** Mareel Dekker, New York.
- BROWN, M.E. 1974. Seed and root bacterization. **Annual Rev. of Phytopathology.** 1:181-197.
- CASTIGNETTI, D. and J. SMARELLI. 1986. Siderophes, the iron nutrition of plant, and nitrate reductase. **FENS Lett.** 209: 147-151.
- CHABOT, R.; H. ANTOUN and M. P. CESCAS. 1993. Stimulation de croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvent le phosphore inorganique. **Can. J. Microbiol.** 39: 941-947.
- CHABOT, R.; H. ANTOUN and M. P. CESCAS. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Plant and Soil* **184(2):**311–321.
- CIMMYT. Programa de Maíz. 1999. Desarrollo, mantenimiento y multiplicación de semilla de variedades de polinización libre. 2ª ed. México. 970-648-038-2.
- CLELAND, R. E. 1990. Auxin and cell elongation in Plant Hormones and their role plant growth and development. Edited by P.J. Davies. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. Pp. 132-148.
- DARDANELLI, M.; D. RODRIGUEZ NAVARRO; M. MEGÍAS GUIJO AND Y. OKON, 2008. Influencia de la co inoculación *Azospirillum*- rizobios sobre el crecimiento y la fijación de nitrógeno de leguminosas de interés agronómico. En: Cassan & Garcia de Salamone, editores. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic

research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina, pp. 143 – 153.

DÍAZ-ZORITA, M. and M.V. FERNÁNDEZ-CANIGIA. 2008. **Field performance of a liquid formulation of Azospirillum brasilense on dryland wheat productivity**, *Eur. J. Soil Biol.* doi:10.1016/j.ejsobi.2008.07.001.

DOWSWELL, C.D., R.L. PALIWAL and R.P. CANTRELL. 1996. **Maize in the third world**. Boulder, CO, USA, Westview Press.

FAGGIOLI, V. S.; C. R. CAZORLA; A. VIGNA; M. BERTI. 2010. Fertilizantes biológicos en maíz. Ensayo de inoculación con cepas de Azospirillum brasilense y Pseudomonas fluorescens. Publicado en la estación experimental INTA Marcos Juárez.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2010. Plant Production and Protection Series. <http://www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/X7650S00.HTM>

Consultado el día 10/11/11.

FERRARIS G. y L. COURETOT; 2008. Evaluación de promotores de crecimiento comerciales y experimentales en maíz. Una revisión de los experimentos realizados. En: *Uso Actual y Potencial de Microorganismos para Mejorar la Nutrición y el Desarrollo en Trigo y Maíz*. Pp 31-33

FISKE C. H. and Y. SUBBAROW. 1925. **Method for the Determination of Phosphorus**. *J. Biol. Chem.* 66,375-400.

FONTANETTO, H. 1993. Efecto del método de aplicación del fertilizante fosfórico en maíz a dos niveles de disponibilidad hídrica. Tesis Magister Scientiae. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

FRIONI, L. 1999. **Procesos microbianos**. Tomo II. Ed Fund. UN Río Cuarto. ISBN: 950-665-109.

FRIONI, L.; A. RODRÍGUEZ BLANCO; P. GUTIERREZ; M. Sicardi. 2011. Promoción del crecimiento en variedades de maíz inoculadas con bacterias diazotrofas. XXI Reunión Latinoamericana de Rizobiología. **Congreso Nacional de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal**.

- GALINAT, W.C. 1988. **The origin of corn**. In G.F. Sprague & J.W. Dudley, eds. Corn and corn improvement, p. 1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.
- GARCÍA, R. Y T. BACH. 2003. Efecto de rizobacterias promotoras del crecimiento sobre el rendimiento de maíz. Informe técnico 325, INTA – Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Centro Regional, Buenos Aires Norte, Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. p 26.
- GHARIB FA.; L. MOUSSA; O. MASSOUD . 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*majorana hortensis*) plant. *International Journal of Agriculture and Biology*. **10** (4):381–387.
- GLICK, B. 1995. Review: the enhancement of plant growth by free-living bacteria. KING, 1932 **Can. J. Microbiol.** 41:109-117.
- HAGEN, G. 1990. The control off gene expression by auxin. **In Plant hormones and their role in plant growth and development**. Edited by P.J. Davies. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. Pp. 132-148.
- HARMAN G.; C. HOWELL; A. VITERBO; I. CHET; M. LORITO. 2004. Trichoderma species–opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* **2**(1):43–56.
- HORNBY, D. 1990. Root diseases, pp. 233-528. In: J. M. Lynch (ed). **The rizosphere**. Wiley, Chichester, U. K.
- INFOSTAT. 2008. InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- KAPULNIK, Y. 1991. **Plant growth-promoting rhizobacteteria**, pp. 717-729. In Y. Waisel, A. Eshel and U. Kafkafi (ed). Plant roots, the hidden half. Marcel Dekker, New York, USA.
- KHALID, A.; M. ARSHAD; B. SHAHAROONA; AND T. MAHMOOD. 2009. Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Sustainable Agriculture. Chapter 7. In SAGHIR KHAN, M; A. ZAIDI; J. MUSARRAT (Comp). **Microbial Strategies for Crop Improvement**. ISBN 978-3-642-01978-4. 133-147.
- KING, E. J. 1932. **The Colorimetric Determination of Phosphorus**. **Biochen. J.** 26,292-297.
- KOEPPEN, W. 1931. Grundriss der Klimakunde. Walter de Gruyter Co. XII. 388 pags. Berlin.

- KUCEY, R.; H. JANZEN and M. LEGGET. 1989. Freelifving bacterial inoculation for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnol.** 7: 39-43.
- KUMAR B.; P. TRIVEDI; A. PANDEY 2007. *Pseudomonas corrugata*: A suitable bacterial inoculant for maize grown under rainfed conditions of Himalayan region. **Soil Biol Biochem.** 39:3093-100.
- LIPPMAN, B., LEINHOS, V. and BERGMANN, H. 1995. Influence of auxin producing rhizobacteria on root morphology and nutrient accumulation of crops. 1. 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.
- LUGTENBERG, B.; G. BLOEMBERG; A. BOLWERK; D. VAM DEN BROEK; F. CAZORLA-LOPEZ; T. CHIN-A-WOENG; K. EIJKEMANS; F. KAMILOVA; L. KUIPER; AND I. MULDER. 2004. **International Society Society for Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, Minesota, U.S.A. p.305-309.
- LYNCH, J. M. 1990a. **The rizosphere**. Ed. Wiley, Chichester Intersence Chistester-England.
- LYNCH, J. M. 1990b. Some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil, pp. 1-10. In: Lynch, J.M. (ed.). **The rizosphere**. Wiley, Chichester.
- LYNCH, J. M. 1990c. Beneficial interactions between microorganism and roots. **Biotech. Adv.** 8:335-346.
- MANDHARE V.; P. PATIL; D. GADEKAR. 1998. Phosphorus uptake of onion as influenced by *Glomus fasciculatum*, *Azotobacter* and phosphorus levels.
- MAYAK, M.; T. TIROSH and B. GLICK. 2004. **Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress**. *Plant Physiol. And Biochem.* 42:565-572.
- NEILANDS, J.B. and LEONG, S.A. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. **Annu. Rev. Plant Physiol.** 37: 187-208.
- NEUMAN, E. I. 1966. **A method of estimating the total length of root in a simple**. *J. Appl. Ecol.*, 3: 139-145.
- OKON, Y. and HADAR, Y. 1987. Microbial inoculants as crop-yield enhancers. **CRC Critical Rev. In Biotechnol.** 6:61-85.

- OKON, Y. and LABANDERA-GONZÁLEZ CA. 1994. **Agronomic applications of Azospirillum: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation.** Soil Biol. Biochem. 26: 1591-1601.
- ONGENA, M.; F. DUBY; E. JOURDAN; T. BEAUDRY; V. JADIN; J. DOMMES and P. THONART, 2005. **Bacillus subtilis M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing got resistance associated with differential gene expression.** Appl. Microbiol. Biotechnol. 67:692-698.
- PING, L. and W. BOLAND. 2004. **Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis.** TRENDS in Plant Science. 9(6):263-266.
- RICHARDSON, A. E.1994. Soil microorganisms and phosphorus availability. In Soil Biota. Management in sustainable Farming Systems. Ed. C. E. Pankhurst. pp. 50-62.
- RYU, C. M. 2003. **Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis.** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100:4927-4937.
- RYU, C. M. 2004. **Bacterial volatiles induce systematic resistance in Arabidopsis.** Plant Physiol. 134:1017-1026.
- SATORRE, E. 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura actual. **Ciencia Hoy.** <http://www.agro.uba.ar/users/dsorlino/Satorre%20Anexo%203%20en%20colores.pdf>
Consultado el día 15/11/11.
- STEENHOUDT, O. and VANDERLYDEN, Y. 2000. Azospirillum, a freeliving nitrogen-fixing bacterium closely associate with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiol. Rev.** 24:487-506.
- TEJEDA GONZALEZ, G.; R. GARCÍA GÓMEZ; R. MARTÍNEZ VIERA; W. RODRÍGUEZ; M. RUIZ, YOANIA RÍOS; Y. RODRÍGUEZ; N. MORALES; M. E. SIMANCA; G. CROCHE Y L. GONZÁLEZ. 2007. **Cultivo mixto de bacterias con efecto antagonista y estimulador del crecimiento vegetal.** Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), 215 pág.
- VAN LOON, L.C.; P. KABER and C. PIETERSEN. 1998. Systematic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Ann. Rev., Phytopat bol.** 3: 453-483.

VOISAR, C.; C. KEEL; D. HAAS and G. DEFAGO. 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under anotobiotic conditions. **ENBO J.** 8: 351-358.

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

ANEXO

Anexo 1: Diámetro del tallo:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diámetro T	72	0,32	0,14	8,15

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	0,91	15	0,06	1,80	0,0584	
TRAT	0,81	7	0,12	21,48	0,0452	(Rep)
Rep>muestra	0,08	6	0,01	0,42	0,8655	
Rep	0,01	2	0,01	0,16	0,8521	
Error	1,89	56	0,03			
Total	2,80	71				

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 0,0054 gl: 2

TRAT	Medias	n	E.E.				
3,00	2,47	9	0,02	A			
4,00	2,33	9	0,02	A	B		
1,00	2,29	9	0,02		B	C	
5,00	2,28	9	0,02		B	C	
7,00	2,23	9	0,02		B	C	D
8,00	2,16	9	0,02			C	D
6,00	2,16	9	0,02			C	D
2,00	2,12	9	0,02				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Anexo 2: Longitud radical

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Long de raíz	24	0,32	0,00	30,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	584997,70	9	64999,74	0,74	0,6666
TRAT	366201,79	7	52314,54	0,60	0,7479
Rep	218795,90	2	109397,95	1,25	0,3164
Error	1224566,15	14	87469,01		
Total	1809563,85	23			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 87469,0108 gl: 14

TRAT	Medias	n	E.E.	
7,00	1245,53	3	170,75	A
3,00	1061,30	3	170,75	A
2,00	969,23	3	170,75	A
6,00	967,13	3	170,75	A
5,00	946,17	3	170,75	A
1,00	931,53	3	170,75	A
4,00	910,60	3	170,75	A
8,00	789,20	3	170,75	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Anexo 3: Determinación de peso fresco y seco de la raíz:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
P FRESCO RAIZ	72	0,25	0,04	37,68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	568,47	15	37,90	1,22	0,2873	
TRAT	299,98	7	42,85	3,64	0,2322	(Rep)
Rep>muest	244,97	6	40,83	1,31	0,2676	
Rep	23,52	2	11,76	0,38	0,6873	
Error	1744,36	56	31,15			
Total	2312,83	71				

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 11,7593 gl: 2

TRAT	Medias	n	E.E.	
4,00	18,83	9	1,14	A
6,00	15,66	9	1,14	A
5,00	15,59	9	1,14	A
3,00	15,28	9	1,14	A
2,00	15,26	9	1,14	A
1,00	13,47	9	1,14	A
8,00	12,32	9	1,14	A
7,00	12,09	9	1,14	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
P SECO RAIZ	72	0,22	0,01	47,99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	142,74	15	9,52	1,02	0,4457	
TRAT	75,81	7	10,83	1,43	0,4712	(Rep)
Rep>muest	51,79	6	8,63	0,93	0,4817	
Rep	15,14	2	7,57	0,81	0,4481	
Error	520,46	56	9,29			
Total	663,20	71				

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 7,5682 gl: 2

TRAT	Medias	n	E.E.	
4,00	8,03	9	0,92	A
6,00	7,50	9	0,92	A
3,00	6,84	9	0,92	A
5,00	6,71	9	0,92	A
2,00	6,04	9	0,92	A
8,00	5,37	9	0,92	A
1,00	5,20	9	0,92	A
7,00	5,12	9	0,92	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Anexo 4: Determinación de peso fresco y seco aéreo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
P FRESCO AEREO	72	0,29	0,11	28,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	9032,8515		602,19	1,56	0,1162	
TRAT	6857,267		979,61	5,27	0,1688	(Rep)
Rep>muest	1803,54		6	300,59	0,78	0,5906
Rep	372,05	2	186,03	0,48	0,6204	
Error	21635,33	56	386,35			
Total	30668,18	71				

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 186,0262 gl: 2

TRAT	Medias	n	E.E.	
4,00	87,63	9	4,55	A
5,00	75,31	9	4,55	A
6,00	75,26	9	4,55	A
3,00	68,16	9	4,55	A
7,00	67,08	9	4,55	A
8,00	63,72	9	4,55	A
2,00	59,36	9	4,55	A
1,00	54,49	9	4,55	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
P SECO AEREO	72	0,32	0,14	30,28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	164,90	15	10,99	1,76	0,0659	
TRAT	119,60	7	17,09	7,30	0,1258	(Rep)
Rep>muest	40,62	6	6,77	1,08	0,3848	
Rep	4,68	2	2,34	0,37	0,6897	
Error	350,65	56	6,26			
Total	515,55	71				

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 2,3415 gl: 2

TRAT	Medias	n	E.E.	
4,00	10,86	9	0,51	A
5,00	9,14	9	0,51	A
6,00	8,91	9	0,51	A
3,00	8,32	9	0,51	A
7,00	7,61	9	0,51	A
2,00	7,61	9	0,51	A
8,00	7,28	9	0,51	A
1,00	6,38	9	0,51	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)**Anexo 5: Densidad de plantas ha⁻¹**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pl ha-1	24	0,63	0,39	9,41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1637500000,00	9	181944444,44	2,66	0,0492
TRAT	729166666,67	7	104166666,67	1,52	0,2383
Rep	908333333,33	2	454166666,67	6,63	0,0094
Error	958333333,33	14	68452380,95		
Total	2595833333,33	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 68452380,9524 gl: 14

TRAT	Medias	n	E.E.	
6,00	100000,00	3	4776,76	A
8,00	90000,00	3	4776,76	A
2,00	90000,00	3	4776,76	A
1,00	90000,00	3	4776,76	A
7,00	83333,33	3	4776,76	A
3,00	83333,33	3	4776,76	A
4,00	83333,33	3	4776,76	A
5,00	83333,33	3	4776,76	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Anexo 6: Número de espigas por planta

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Espigas pl-1	24	0,45	0,10	19,07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,25	9	0,03	1,27	0,3318
TRAT	0,14	7	0,02	0,90	0,5323
Rep	0,11	2	0,06	2,56	0,1125
Error	0,30	14	0,02		
Total	0,55	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,0216 gl: 14

TRAT	Medias	n	E.E.	
6,00	0,87	3	0,08	A
3,00	0,87	3	0,08	A
5,00	0,83	3	0,08	A
1,00	0,77	3	0,08	A
8,00	0,73	3	0,08	A
7,00	0,73	3	0,08	A
4,00	0,73	3	0,08	A
2,00	0,63	3	0,08	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Anexo 7: Medición de espigas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
N Hileras	24	0,33	0,00	15,45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26,19	9	2,91	0,77	0,6448
TRAT	22,74	7	3,25	0,86	0,5585
Rep	3,45	2	1,73	0,46	0,6419
Error	52,81	14	3,77		
Total	79,01	23			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 3,7724 gl: 14

TRAT	Medias	n	E.E.	
4,00	14,07	3	1,12	A
7,00	13,50	3	1,12	A
5,00	13,27	3	1,12	A
1,00	12,80	3	1,12	A
3,00	12,53	3	1,12	A
6,00	11,93	3	1,12	A
8,00	11,40	3	1,12	A
2,00	11,10	3	1,12	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Long (cm)		24	0,13	0,00	16,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5,62	9	0,62	0,24	0,9823
TRAT	5,49	7	0,78	0,30	0,9437
Rep	0,13	2	0,07	0,02	0,9756
Error	36,98	14	2,64		
Total	42,60	23			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 2,6411 gl: 14

TRAT	Medias	n	E.E.	
7,00	10,93	3	0,94	A
4,00	10,37	3	0,94	A
3,00	10,37	3	0,94	A
6,00	10,13	3	0,94	A
5,00	10,03	3	0,94	A
2,00	9,70	3	0,94	A
8,00	9,47	3	0,94	A
1,00	9,43	3	0,94	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Anexo 8: Peso de 1000 granos

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
P 1000 GRANOS (hum 14%)		24	0,17	0,00	34,74

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	33530,99	9	3725,67	0,32	0,9549
TRAT	27481,75	7	3925,96	0,34	0,9239
Rep	6049,24	2	3024,62	0,26	0,7754
Error	163441,11	14	11674,36		
Total	196972,10	23			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 11674,3648 gl: 14

TRAT	Medias	n	E.E.	
7,00	368,90	3	62,38	A
4,00	367,70	3	62,38	A
1,00	305,30	3	62,38	A
2,00	295,43	3	62,38	A
8,00	295,43	3	62,38	A
5,00	292,50	3	62,38	A
3,00	282,37	3	62,38	A
6,00	280,77	3	62,38	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Anexo 9: Rendimiento:

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Rto. (Kg/ha)	24	0,22	0,00	24,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5516942,71	9	612993,63	0,43	0,8993
TRAT	3980994,96	7	568713,57	0,40	0,8895
Rep	1535947,75	2	767973,88	0,53	0,5975
Error	20120600,92	14	1437185,78		
Total	25637543,63	23			

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 1437185,7798 gl: 14

TRAT	Medias	n	E.E.	
7,00	5384,93	3	692,14	A
5,00	5382,60	3	692,14	A
6,00	5330,93	3	692,14	A
8,00	4905,60	3	692,14	A
4,00	4803,27	3	692,14	A
2,00	4537,60	3	692,14	A
1,00	4414,60	3	692,14	A
3,00	4354,27	3	692,14	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)