



Estación Experimental Agropecuaria
Marcos Juárez

Inoculación con microorganismos con efecto promotor de crecimiento. Conocimientos actuales y experiencias realizadas en la Región Pampeana Argentina

Ings. Agrs. (MSc) Gustavo N. Ferraris¹ y Valeria Faggioli²

1. Área de Desarrollo Rural INTA EEA Pergamino. Av Frondizi km 4,5 (2700) Pergamino 2. Biología de Suelos INTA EEA Marcos Juárez
faggioli@mjuarez.inta.gov.ar

El uso de inoculantes biológicos incorporados como tratamientos de semilla con microorganismos promotores del crecimiento vegetal tales como *Pseudomonas sp.*, *Azospirillum sp.*, hongos formadores de micorrizas u otros muestra un creciente interés no sólo en estudios de investigación sino también en evaluaciones extensivas y usos comerciales en diferentes cultivos. Efectos como una más rápida implantación, mayor crecimiento de raíces, tolerancia mejorada a patógenos, fijación biológica no simbiótica de nitrógeno y solubilización de nutrientes son habitualmente reportados en estas experiencias (Caballero Mellado *et al.* 1992). Dado el crecimiento en los costos de producción, las mejoras derivadas de una mayor eficiencia de uso de los nutrientes y otros recursos a partir de los aportes de estos tratamientos biológicos serían de relevancia (Ferraris *et al.*, 2008).

El objetivo de este artículo es realizar una revisión de la información generada sobre los efectos de los principales microorganismos considerados como **PGPM** (microorganismos promotores del crecimiento vegetal) en cultivos de gramíneas, y evaluar su interacción con las prácticas agronómicas utilizadas bajo un criterio de agricultura sustentable en la Región Pampeana Argentina. El término PGPM reemplaza a PGPR (del inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Kloepper *et al.*, 1989), por considerarse más amplio y acertado, ya que además de bacterias como *Azospirillum spp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Beijerinckia*, existen otros microorganismos con capacidad promotora y otros efectos favorables para los cultivos, i.e. hongos del género *Penicillium* o micorrizas.

Azospirillum spp

El *Azospirillum* es por lejos el PGPM más estudiado en gramíneas, reportándose las primeras experiencias hace más de treinta años (Döbereiner *et al.* 1976). En la actualidad, se han identificado 12 especies de *Azospirillum spp*, aunque en la producción de inoculantes comerciales se han utilizado *A. brasilense* y *A. lipoferum*, siendo la primera la más común a nivel mundial, y la preferida en Argentina (Puente y Peticari, 2006).

Algunos años atrás, se valoró la importancia del género *Azospirillum* como fijador libre de nitrógeno (N) atmosférico, al punto de considerarse como el principal aspecto de interés agronómico. Esto se explica por la producción de cereales con escaso o nulo empleo de fertilizantes nitrogenados, deficiencias moderadas a severas del nutriente. En la actualidad, con mayores niveles de fertilización y cultivos cercanos a la suficiencia nutricional, se considera a la capacidad de promover el crecimiento vegetal en los primeros estadios del ciclo del cultivo, especialmente bajo estrés moderado, como la principal cualidad con valor agronómico de este género. La promoción del crecimiento se origina en la producción y liberación de hormonas que estimulan e incrementan el crecimiento radical (ej. auxinas, giberelinas, citoquininas), y de enzimas tales como las pectinolíticas que distorsionan la funcionalidad de células de las raíces y contribuyen al aumento en la producción de exudados (Okon y Labandera-González, 1994). Asimismo, de manera indirecta, la inoculación con *Azospirillum spp* podría promover la proliferación y establecimiento en la rizósfera de otros microorganismos favorables para el cultivo (Russo *et al.* 2005).

El Área de Desarrollo Rural de INTA Pergamino realizó entre los años 2003 y 2009 32 ensayos en cultivo de trigo bajo condiciones habituales de producción, utilizando inoculantes de diferentes marcas comerciales. Como resultado, se obtuvieron diferencias significativas en el rendimiento en ocho experimentos ($P < 0,10$). Cuando se analiza la interacción sitio x tratamiento, el efecto del tratamiento de inoculación es significativo ($P < 0,05$). La respuesta media alcanzó a 297 kg ha^{-1} , representando un 7,8 % de incremento (Fig. 1). Dicha mejora en la producción se relacionó en forma inversa con las lluvias totales durante el ciclo del cultivo y las ocurridas entre octubre y noviembre, más que con ninguna variable. El incremento de respuesta asociado a menores precipitaciones se basa en la ventaja competitiva para la adquisición de agua y nutrientes que tendrían los tratamientos inoculados, otorgada por un mayor crecimiento aéreo y radicular inicial. Se sabe además, que la tolerancia al stress hídrico en plántulas de trigo inoculadas con *Azospirillum* está explicada por modificaciones en el patrón de distribución de fosfolípidos de las raíces (Pereyra et al., 2006).

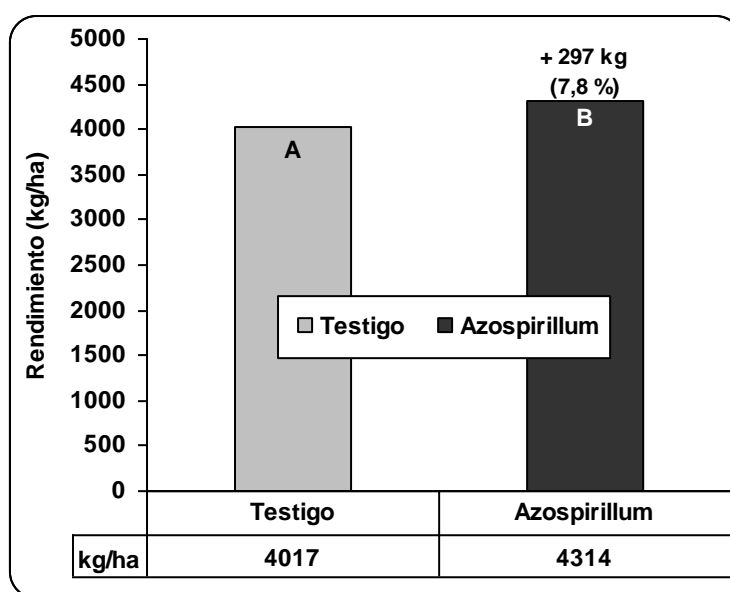


Figura 1: Rendimiento de tratamientos de inoculación con *Azospirillum brasilense* en trigo, media de 32 experimentos en el Centro-Norte de Buenos Aires y Sur de Santa Fe. Cada sitio integra el promedio de diferentes genotipos, dosis de fósforo-nitrógeno y niveles tecnológicos. Letras distintas en el extremo de las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

En la mayor parte de los experimentos realizados, la respuesta fue similar bajo diferentes niveles tecnológicos, dosis de fertilizante o genotipo (Díaz Zorita et al., 2004; Díaz Zorita y Fernández Caniggia, 2008, Ferraris et al., 2008) (Fig. 2). Sin embargo, experimentalmente se demuestra que una mejora en el ambiente productivo conlleva una mayor respuesta a la inoculación con *Azospirillum* (Fig. 2). Esto se debería a la generación de cultivos con mayor tasa de crecimiento y demanda de agua y nutrientes, y por la creación de un ambiente rizosférico más apropiado para los microorganismos en situaciones de alto rendimiento (mayor liberación de exudados radicales, reciclaje de carbono, cobertura y almacenaje de agua en el suelo).

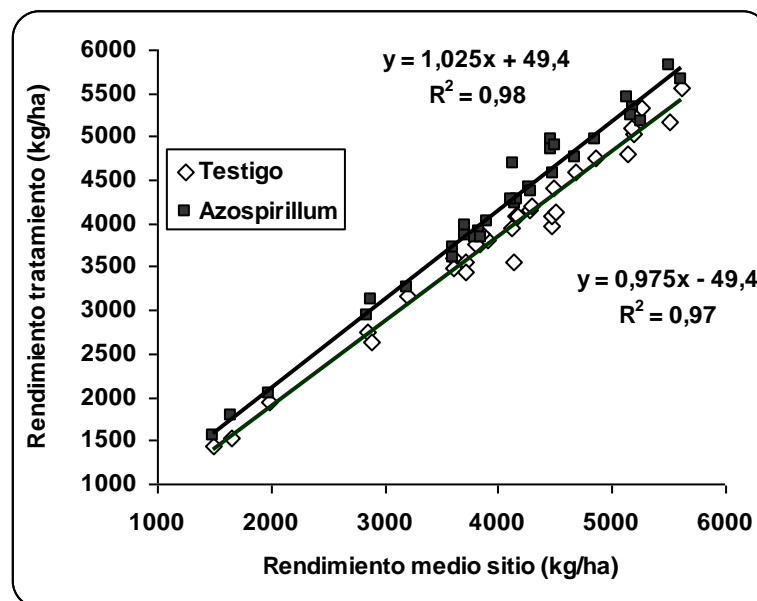


Figura 2: Relación entre el rendimiento de tratamientos testigo e inoculados con *Azospirillum brasilense* con la media ambiental representada por el rendimiento promedio de todos los tratamientos del sitio, en 32 experimentos de trigo en la región Centro-Norte de Buenos Aires y Sur de Santa Fe. Nótese que, de acuerdo con la función ajustada, la respuesta a la inoculación se incrementa en 3,5 kg sobre la media y 5 kg sobre el testigo, por cada 100 kg de incremento en el rendimiento medio del sitio.

Respecto de la fertilización, en la actualidad se considera que la mayor respuesta a la inoculación se produce bajo dosis medias a elevadas de nutrientes. (Fig. 3). Cuando la fertilización es ausente o muy reducida, se producen deficiencias severas que reducen el crecimiento, la duración del área foliar, y afectan procesos fisiológicos esenciales que difícilmente puedan ser contrarrestados por un agente biológico. Por el contrario, una fertilización sin restricciones resta importancia al factor eficiencia, una de las ventajas atribuida a los PGPM en forma reiterada.

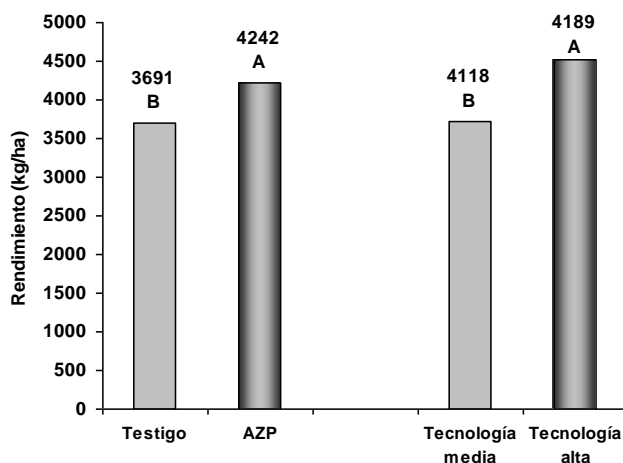


Figura 3.a

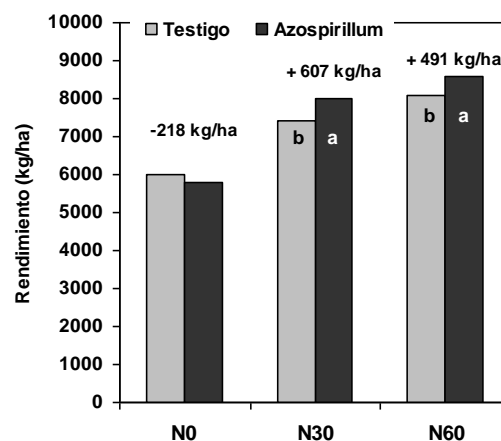


Figura 3.b

Figura 3: Producción media de a) trigo y b) maíz según tratamientos de semillas con *Azospirillum brasilense* y nivel de tecnología aplicada en Pergamino, Buenos Aires. En cada figura, letras distintas sobre las columnas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$). Tomado de Ferraris et al., 2008.

Por otra parte, se ha observado que la respuesta permanece estable bajo situaciones hídricas contrastantes. Una condición de sequía aún severa como la observada durante la campaña 2008/09 no afectaría el nivel de respuesta (Fig. 4). En tal sentido, la respuesta alcanzó 5,4% en la campaña mejor provista de agua y 4,6% en la de mayor deficiencia hídrica (Fig. 4).

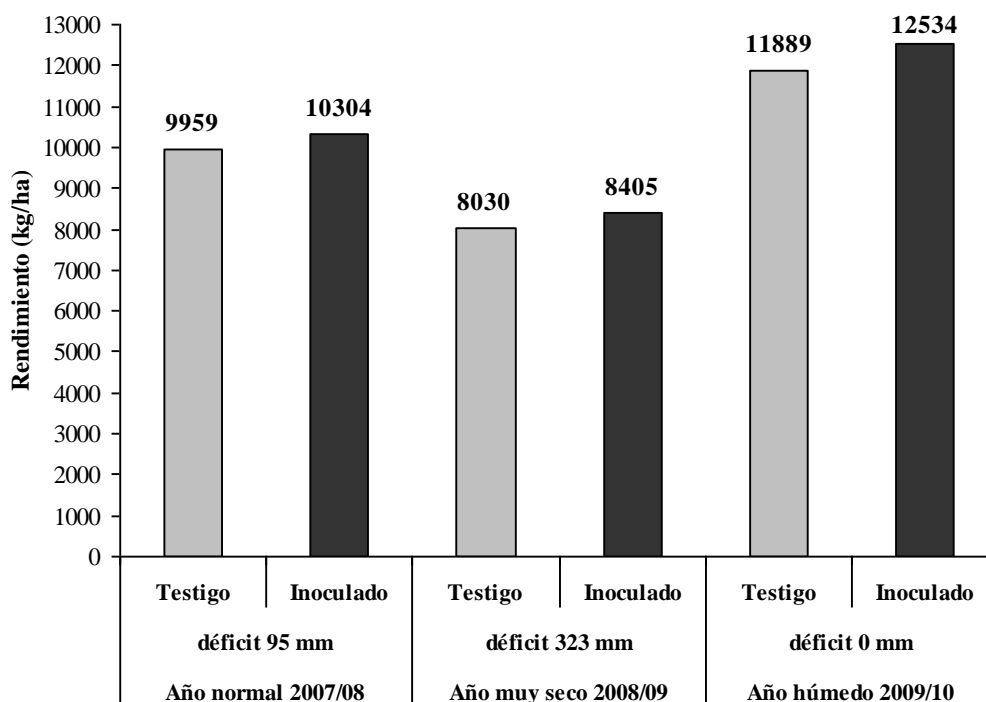


Figura 4: Rendimiento de maíz según tratamientos de semillas con *Azospirillum brasilense* en la localidad de Pergamino, para tres ambientes hídricos diferentes. Año normal 2007/08 con déficit hídrico de 95 mm, Año muy seco 2008/09 con déficit de 323 mm, Año húmedo 2009/10 sin déficit hídrico. Las características de sitio y manejo de los experimentos fueron similares en las tres campañas.

Hay suficiente evidencia que indica que la respuesta a *Azospirillum* no está afectada por el ciclo de maduración del genotipo sembrado (Díaz Zorita y Fernández Caniggia, 2008; Ferraris et al., 2008) (Fig. 5). Sin embargo, es probable que exista variabilidad entre especies, o eventualmente cultivares, que jerarquicen diferentes componentes en la construcción de su rendimiento (Fig 5). Aquellos cultivos que definen su rendimiento en etapas tempranas del ciclo i.e. Cebada Scarlett, la cual construye su producción a partir de un alto número de macollos, o con lento crecimiento inicial i.e. “maíz pop”, algunas especies forrajeras, maíces en suelos fríos o siembras muy tempranas, podrían ser los más beneficiados por la promoción de crecimiento lograda en tratamientos inoculados con *Azospirillum*. Esta variabilidad interespecífica en la respuesta es hoy motivo de investigación.

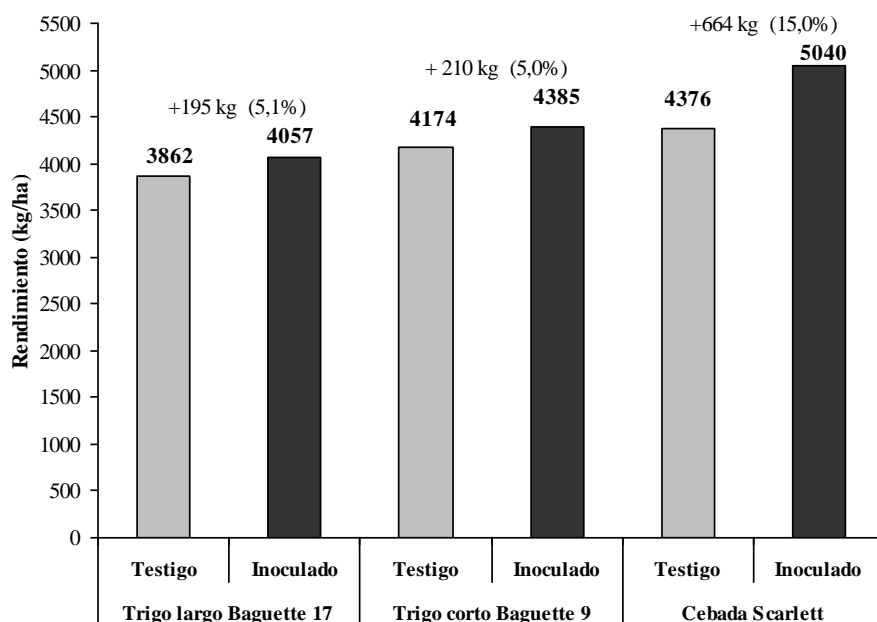


Figura 5: Rendimiento de cultivares de trigo de ciclo largo, corto y cebada cervecera según tratamientos de semillas con *Azospirillum brasilense*. Cada columna integra el promedio de diferentes dosis de fósforo-nitrógeno y cuatro repeticiones por tratamiento. Localidad de Pergamino, campaña 2009/10. Adaptado de Ferraris y Couretot, 2011.a.

Pseudomonas spp

Las *Pseudomonas* son otro amplio género bacteriano, en el cual se encuentran especies con potencialidad para ser considerados PGPM. Han sido utilizadas con fines agronómicos en nuestro país *P. fluorescens* y *P. chlororaphis*, en ese orden de importancia (Valverde y Ferraris, 2009). Los efectos atribuidos a este grupo bacteriano pueden resumirse en una acción de biocontrol, la secreción de sustancias inductoras y la solubilización de nutrientes (Ferraris, 2009).

La capacidad de ser **agentes de biocontrol** (Haas & Défago, 2005), se produce a través de la secreción de antibióticos (i.e. pirrolnitrina, pioluteorina), la inducción de resistencia sistémica en la planta y el agotamiento de elementos esenciales para el crecimiento de hongos y bacterias patogénicas, producida por la liberación al medio de pigmentos fluorescentes que actúan como agentes quelantes, cuando estos elementos se tornan escasos en la rizósfera.

El control biológico no es sólo dependiente de las capacidades bacterianas, sino también de la especie vegetal y la práctica de cultivo. En trigo, se ha estudiado el efecto de decaimiento del pietín (“take-all decline”) por monocultivo, descrito exhaustivamente por grupos del USDA (Cook, 2007). A lo largo de décadas de estudio de las poblaciones de *Pseudomonas* asociadas a lotes de trigo, se ha establecido una firme correlación entre la supresión del pietín y la preponderancia de poblaciones de *Pseudomonas* productoras de los antibióticos diacetilfloroglucinol y fenazinas (Cook, 2007). En nuestro país, es necesario disponer de datos más precisos sobre el efecto del cultivo y de las rotaciones sobre las poblaciones de *Pseudomonas* y su posible correlación con la incidencia de enfermedades.

Otro de los efectos favorables residiría en la producción de fitohormonas como auxinas y giberelinas, a la vez que se reducirían los niveles de etileno producido ante situaciones de estrés moderado, especialmente estrés hídrico.

Por último, a las *Pseudomonas* se les atribuye la capacidad de producir enzimas fosfatasas, ácidos orgánicos (i.e. ácido glucónico, cítrico) e inorgánicos (i.e. ácido sulfhídrico, nítrico, carbónico)

que por medio de la rotura de enlaces y la acidificación del medio, incrementarían la recuperación del P nativo del suelo y la adquisición del aportado por fertilización.

Ensayos pioneros realizados con *Pseudomonas* en las localidades de Pergamino y Chivilcoy durante los años 2000, 2001 y 2002 sobre cultivo de trigo, mostraron incrementos medios de rendimiento de 310 kg ha⁻¹ (García y Bach, 2003). En este grupo de seis experimentos, los resultados más consistentes se observaron cuando la inoculación fue acompañada de una adecuada fertilización con N y P. En el mismo sentido, en un grupo de 12 experimentos realizados durante 7 campañas agrícolas en el centro-norte de Buenos Aires y Sur de Santa Fe, se cuantificó una respuesta media a la práctica de inoculación con *Pseudomonas* de 286 kg ha⁻¹, lo cual representa un incremento de 7,9 % (Fig. 6). Cada uno de estos sitios representa a su vez, el promedio de diferentes estrategias de fertilización, con o sin agregado de NP. En estos ensayos, como promedio, la eficiencia de uso de N (EUN) pasó de 47 a 51 kg trigo/ kgN y la EUP de 181 a 195 kg trigo/ kgP, para tratamientos testigo e inoculado, respectivamente.

La mayor respuesta observada bajo adecuados niveles del nutriente del cual se pretende mejorar su eficiencia -i.e P mediante la inoculación con *Pseudomonas fluorescens*- ha sido observada en otras especies como cebada cervecera (Fig. 7). Los resultados se explican teniendo en cuenta que es poco probable mejorar la absorción y/o asimilación del nutriente cuando este es sumamente escaso.

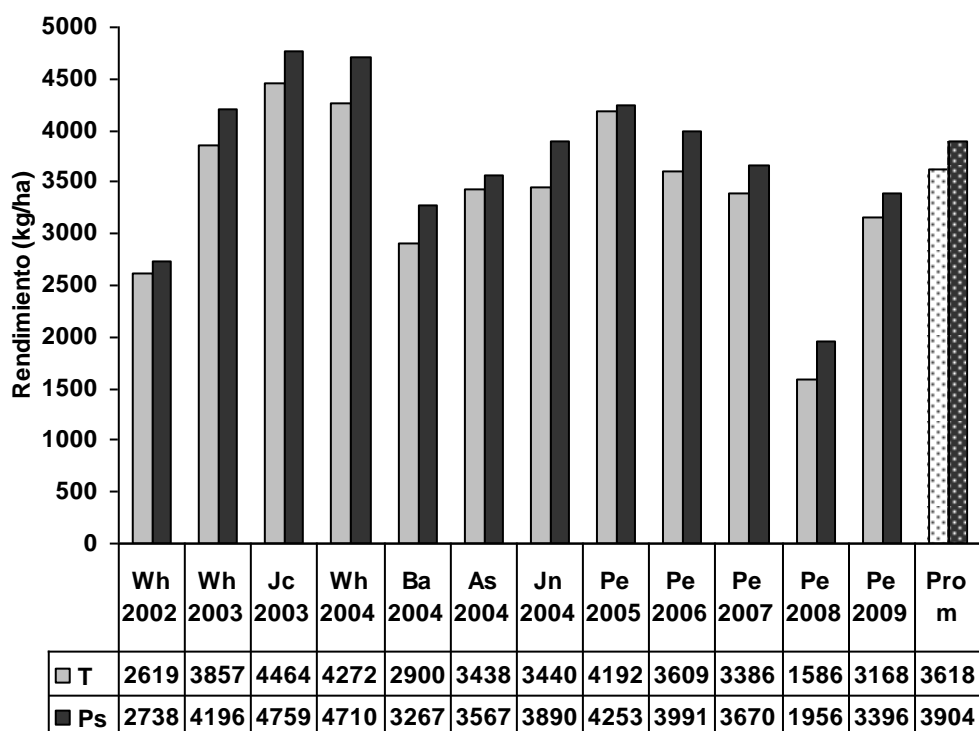


Figura 6: Rendimiento (kg ha⁻¹) de tratamientos testigo e inoculados con *Pseudomonas fluorescens* en trigo entre los años 2002 y 2000 en el centro-norte de Buenos Aires y sur de Santa Fe. Las abreviaturas representan localidades Wh (Wheelwright, Santa Fe), Jc (Junca, Santa Fe), Ba (Baigorrita, Buenos Aires), As (Ascensión, Buenos Aires), Jn (Junín, Buenos Aires), Pe (Pergamino, Buenos Aires) y el promedio de todas las localidades (Prom).

La asociación entre respuesta agronómica y variables de suelo y cultivo muestra relaciones interesantes (Fig. 7). Así, en el eje 1 (horizontal) se observa que la respuesta relativa (%) se asocia de manera positiva a los rendimientos y la dosis de fertilizante fosforado, y negativamente con parámetros

químicos de suelo como el nivel de P (Bray I), nitratos y MO. En el eje vertical se visualiza una relación directa entre respuesta y dosis de N aplicado, e inversa con las lluvias durante el ciclo. Considerando estos resultados, la respuesta a la inoculación con *Pseudomonas spp* sería más probable en ambientes empobrecidos, con bajo nivel de P y otros nutrientes, pero que comienzan a ser mejorados por buenas prácticas de cultivo y adecuada fertilización.

Si bien las *Pseudomonas* son identificadas como un microorganismo solubilizador de P antes que un promotor de crecimiento, este efecto suele estar presente en los cultivos inoculados. Un temprano y más vigoroso desarrollo aéreo y radicular podría ser la causa de una buena adaptación de las parcelas tratadas bajo estrés hídrico moderado. En el grupo de experimentos descrito en el párrafo anterior (Fig. 6,7), la inoculación permitió sostener mayor productividad sin incrementar significativamente el requerimiento hídrico y, como consecuencia, la Eficiencia en el Uso del Agua (EUA) aumentó de 11,9 a 13 kg trigo : mm de lluvia durante el ciclo del cultivo (Fig. 8). Considerando un uso consuntivo del cultivo de 500 mm durante todo el ciclo, el incremento de eficiencia podría representar un incremento potencial de los rendimientos en el orden de 500 kg ha⁻¹.

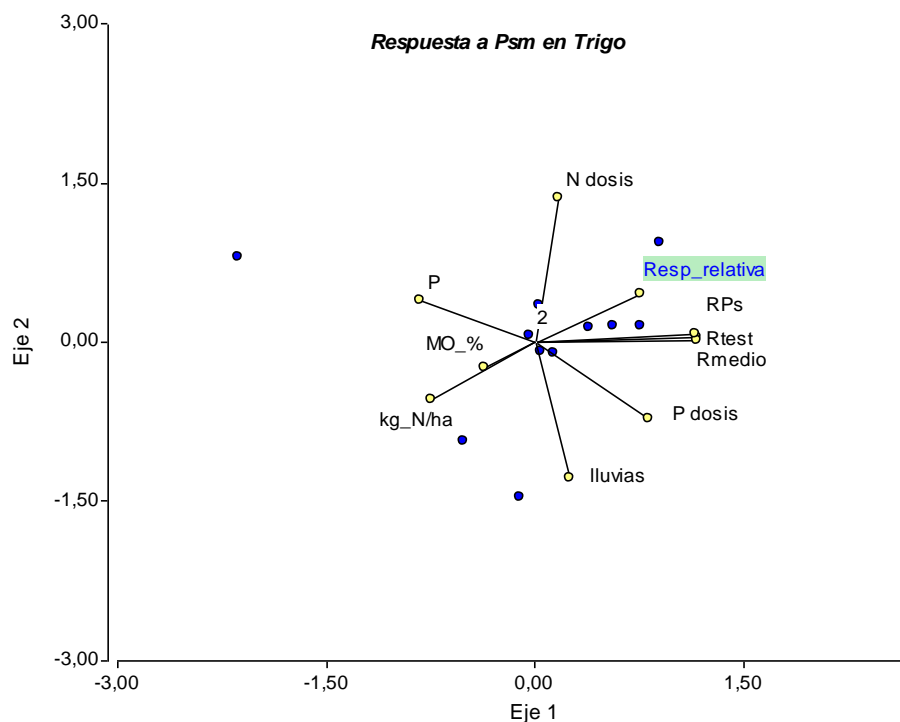


Figura 7: Respuesta relativa (%) a la inoculación con *Pseudomonas fluorescens* en trigo y su asociación positiva con los rendimientos del sitio (*Rmedio*), y negativa con las lluvias junio-noviembre (*Iluvias*) y la fertilidad inicial del suelo (*kg N/ha*, *P*, *MO%*).

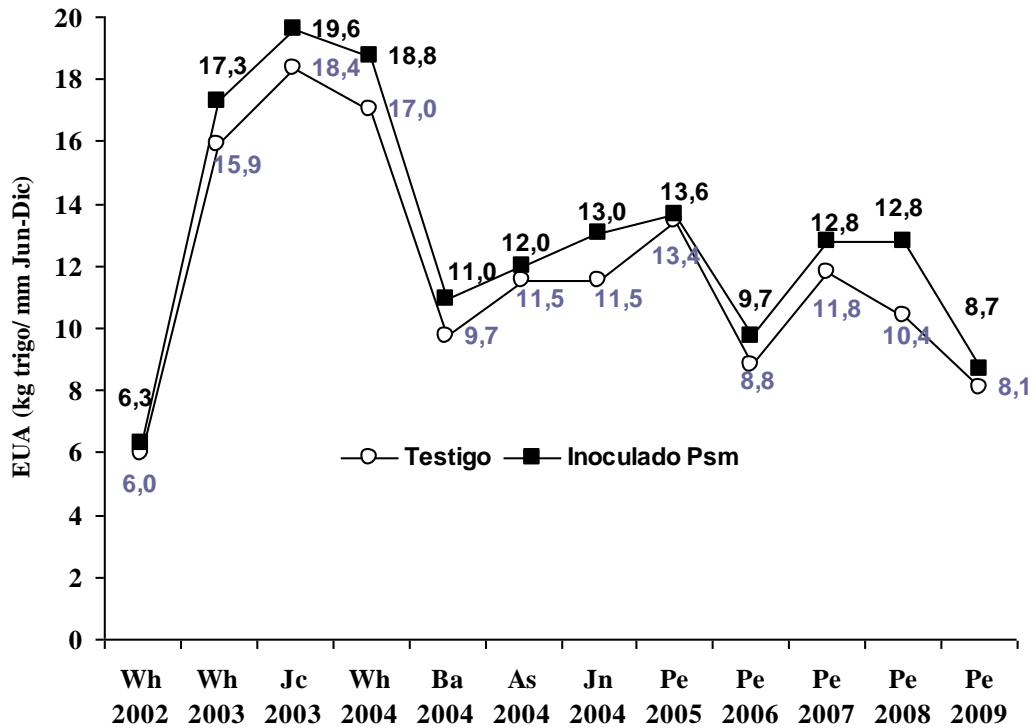


Figura 8: Eficiencia agronómica en el uso del agua (EUA) (kg trigo : mm de lluvia durante el ciclo del cultivo) en 12 experimentos de trigo conducidos en la Región Centro Norte de Buenos Aires y Sur de Santa Fe entre los años 2004 y 2009. La EUA media alcanzó a 11,9 en los tratamientos testigos y 13 en los inoculados

La mayor respuesta observada bajo adecuados niveles del nutriente del cual se pretende mejorar su eficiencia -i.e P mediante la inoculación con *Pseudomonas fluorescens*- ha sido observada en otras especies como cebada cervecera (Fig. 9). Los resultados se explican teniendo en cuenta que es poco probable mejorar la absorción y/o asimilación del nutriente cuando este es sumamente escaso.

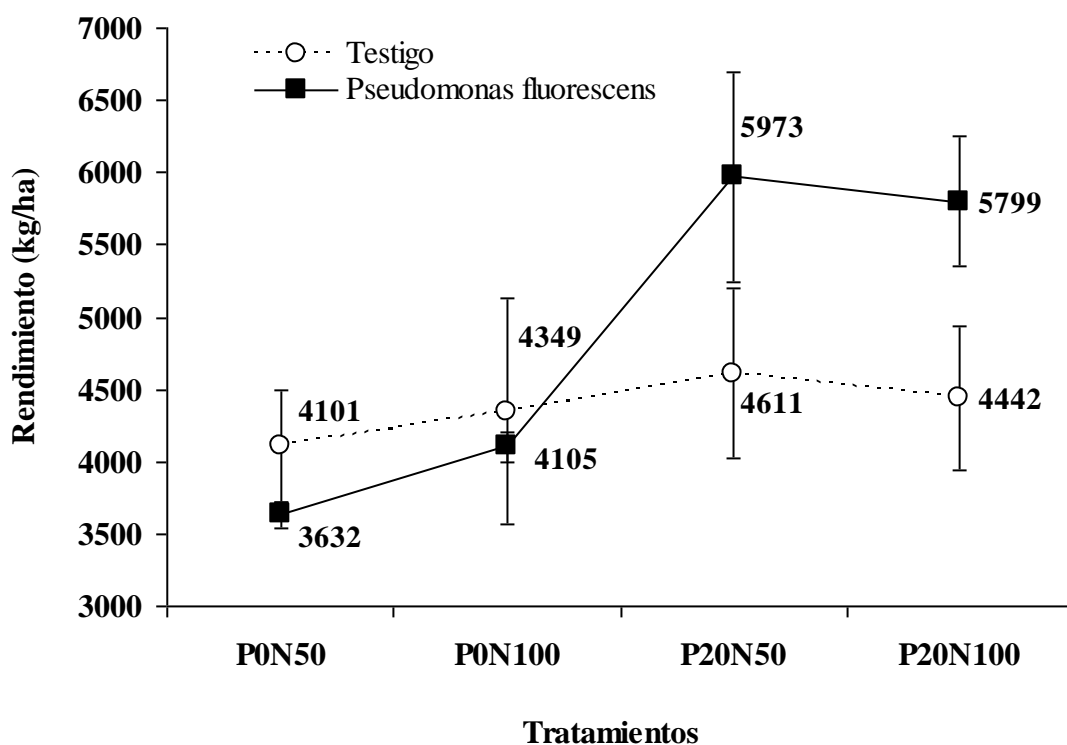


Figura 9: Rendimiento de grano de parcelas testigo o inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* en cebada cervecera, bajo diferentes niveles de fertilización fósforo-nitrogenada aplicados a la siembra. Las barras de error indican la desviación standard de la media. Pergamino, año 2009. Ferraris y Couretot, 2011. b.

Si bien existe menor información disponible para el cultivo de maíz, en términos relativos la respuesta en rendimiento al uso de *Pseudomonas* pareciera ser similar a la observada en trigo. Los primeros ensayos generados a campo en Región Pampeana fueron realizados por García y Bach (2003b). Estos autores informaron una diferencia positiva de 690,3 kg ha⁻¹, como media de 6 ensayos realizados en tres campañas en la provincia de Buenos Aires.

Un grupo de 11 ensayos en los que se testearan dos niveles de inoculación –testigo y tratado con *Pseudomonas*- bajo diferentes dosis de fertilizante nitro-fosforado, realizados en la Región Centro Norte de Buenos Aires entre los ciclos 2004/05 y 2009/10, mostraron una respuesta media de 554 kg ha⁻¹, lo que representa una diferencia porcentual de 6,1 % (Fig. 10). Los modelos de respuesta para testigo e inoculado así como sus pendientes no difieren significativamente ($P > 0,10$), lo que permite aseverar que las diferencias son constantes en un amplio rango de rendimientos, como el abarcado por esta serie de experimentos (Fig. 11). La respuesta no estuvo asociada a la dosis de fertilizante aplicado y, en algunos casos, se relacionó de manera inversa con el nivel de P en suelo. Este tipo de relaciones fueron observadas por Satorre (2007). En siete experiencias a campo distribuidas en una amplia zona geográfica, este autor observó respuestas positivas a *Pseudomonas* en sitios con bajo nivel de P en suelo y respuesta a su agregado mediante fertilización. En cambio, no logró determinar efectos positivos del inoculante en sitios que no respondían a P. En el trabajo presentado en la Figura 9 se observó además, un incremento en la eficiencia de uso de los nutrientes. Esta fue de 516 y 552 kg maíz kg P⁻¹ y de 148 y 159 kg maíz kg N⁻¹ para los tratamientos testigos e inoculados, respectivamente.

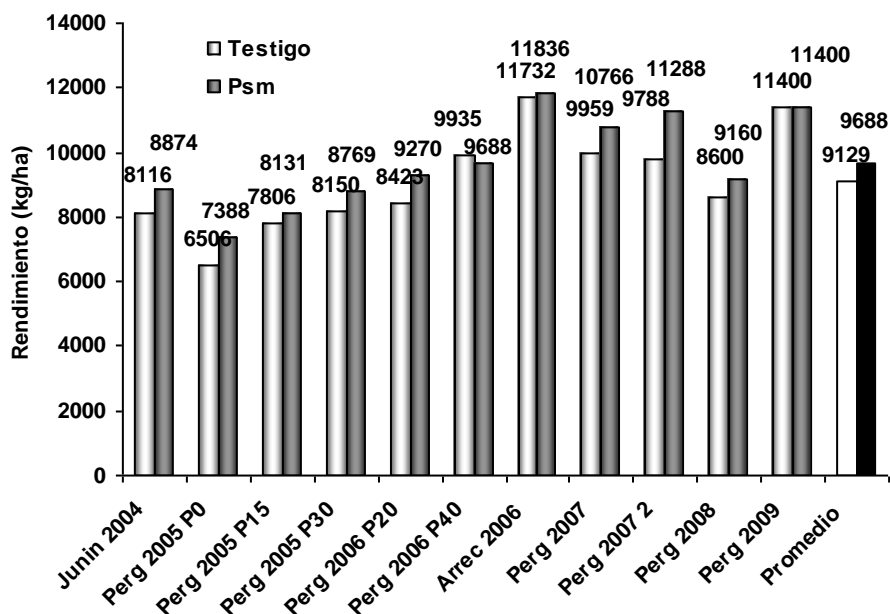


Figura 10: Rendimiento (kg ha^{-1}) de tratamientos testigo e inoculados con *Pseudomonas fluorescens* en maíz entre las campañas 2004/05 y 2009/10 en el centro-norte de Buenos Aires. Las abreviaturas representan localidades: Junín (Junín, Buenos Aires), Perg (Pergamino, Buenos Aires), Arrec (Arrecifes, Buenos Aires).

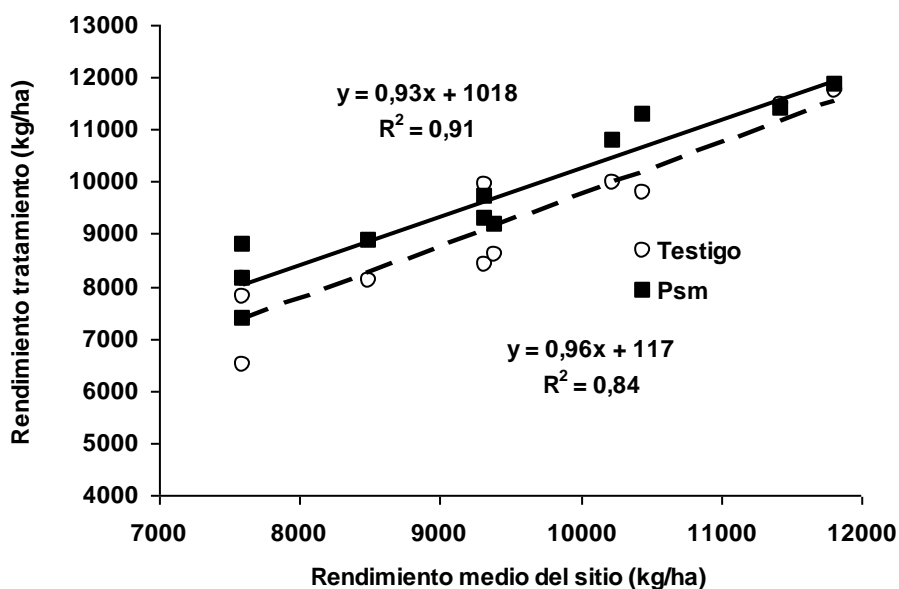


Figura 11: Relación entre los rendimientos del tratamiento y la media del sitio experimental. Evaluación de la respuesta a *Pseudomonas fluorescens* en maíz, campañas agrícolas 2004/05 a 2009/10.

Micorrizas

Los hongos formadores de micorrizas están ampliamente distribuidos en una gran variedad de suelos y son capaces de establecer asociaciones mutualistas con el 95% de las especies vegetales (Trappe, 1977). Desde hace tiempo se conoce su efecto favorable en especies perennes y forestales, pero últimamente se ha indagado su utilidad en cultivos anuales.

Se reconoce de las micorrizas su capacidad para mejorar la estructura del suelo gracias al crecimiento del micelio y la secreción de glomalinas. Asimismo, actúan como una prologación del sistema radicular (Peterson et al, 2004)(Fig. 12), facilitando la adquisición de agua y nutrientes de baja movilidad como potasio (K), zinc (Zn) y especialmente P. Al incrementar el flujo de P a la raíz, de

manera indirecta se mejoran otros procesos fisiológicos en que participa este nutriente. Las hifas de estos hongos poseen un menor diámetro y, en consecuencia, una mayor superficie de absorción que las raíces y pelos radicales del vegetal. Si bien utilizan P bajo las mismas formas que las plantas, tienen mayor afinidad por el nutriente y una concentración crítica en solución más baja para lograr su absorción (García et al., 2006).

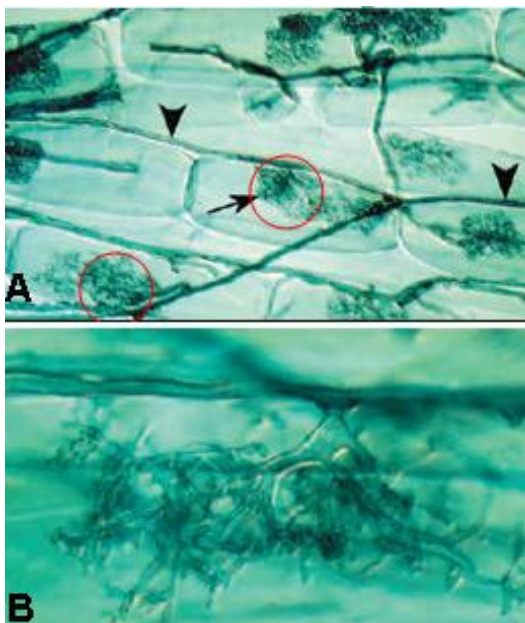


Figura 12: Proliferación de Micorrizas en células radiculares (Tomado de Peterson et al., 2004)

La proliferación e importancia agronómica de las micorrizas es más relevante en suelos deficientes de P (Covacevich et al., 1995). Ante situaciones de carencia, contribuyen con la síntesis de proteínas de estrés en planta. El estrés conduce a la expresión diferencial de la información genética, produciendo cambios en la síntesis de nuevas proteínas, llamadas micorrizinas, las cuales posiblemente dotan a las plantas con la capacidad de adaptación al estrés. La respuesta agronómica en rendimiento podría estar asociada a suelos con baja disponibilidad de P, pero no se ha visto afectada por la dosis de fertilizante agregado (Ferraris y Couretot, 2008).

Las micorrizas necesitan oxígeno para vivir, por ello las poblaciones son muy bajas en suelos de drenaje pobre y anegables. También en suelos salinos y/o sódicos (Abbot y Robson, 1991). En cambio un suelo poroso y bien estructurado las favorece. Cultivos de cobertura aumentan mucho la micorrización, lo mismo que la siembra de maíz y sorgo, que tienen alta dependencia micorrítica e incrementan su población (Faggioli et al., 2008). Las labranzas rompen el entramado de micelios del hongo, destruyendo el efecto benéfico sobre la estructura del suelo (Schalamuk et al., 2006). Dosis medias de fertilizante no afectan a las micorrizas, al igual que insecticidas y herbicidas, a dosis normales (Coyne, 1999). Se ha mencionado que los funguicidas aplicados sobre semilla pueden ser muy tóxicos para las micorrizas.

En Argentina se han difundido inoculantes comerciales con micorrizas en su formulación. Algunas variantes tecnológicas de utilización están siendo estudiadas. Dado que la micorriza existe en la medida que coloniza una raíz, el aislamiento y multiplicación de propágulos para su comercialización es muy compleja y los estándares de calidad aún están siendo materia de estudio. En la EEA Marcos Juárez se realizó un experimento con la finalidad de evaluar el efecto de la inoculación con micorrizas sobre los porcentajes de micorrización de raíces de cereales de invierno (Faggioli et al., 2009). Los cultivos evaluados fueron cebada (*Hordeum vulgare* var *Copetona*), centeno (*Secale cereale* var. *Choiqué*), trigo (*Triticum aestivum* var *Themix*) y triticale (*Triticosecale* sp. var. *Espinillo INTA*). Cada especie recibió dos tratamientos: a) sin inoculación y b) con inoculación. Se utilizó un inoculante sólido con base de dolomita, con la siguiente concentración: *Derxia* sp. (1×10^5 un g^{-1}); *Saccharomyces* sp. (1×10^5 un g^{-1}) y *Endogone* sp. (1×10^5 un g^{-1}). En la Figura 13 se observa que los valores medios de

infección micorrícica estuvieron comprendidos entre el 20% y el 60%. En promedio las plantas inoculadas tuvieron 33.5% de micorrización mientras que las no inoculadas llegaron a 24.5%. No se observaron diferencias significativas entre cultivos. Sólo se observó respuesta a la inoculación en triticale. Para esta especie los valores fueron de 21% y 35% en las plantas sin inoculación y las inoculadas, respectivamente. En ninguna de las especies se observó diferencias en la producción de materia seca en diferentes momentos del ciclo de los cultivos como respuesta a la inoculación (datos no mostrados). En cambio, en un experimento llevado a cabo en la EEA Pergamino sobre cultivo de maíz inoculado con micorrizas, el cultivo respondió significativamente a la inoculación en términos de acumulación de materia seca y rendimiento (Fig. 14)

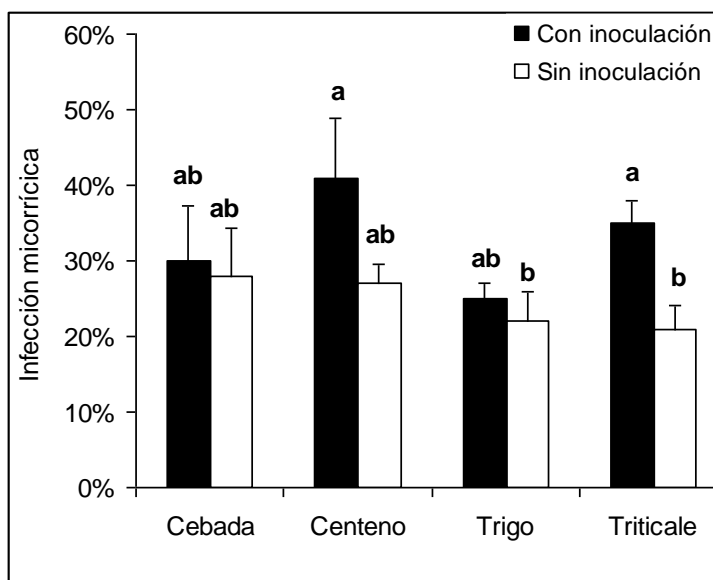


Figura 13: Infección micorrícica (%) de raíces de cebada, centeno, trigo y triticale a los 60 días desde la siembra. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$). Las barras corresponden al error estándar. Tomado de Faggioli et al. 2009

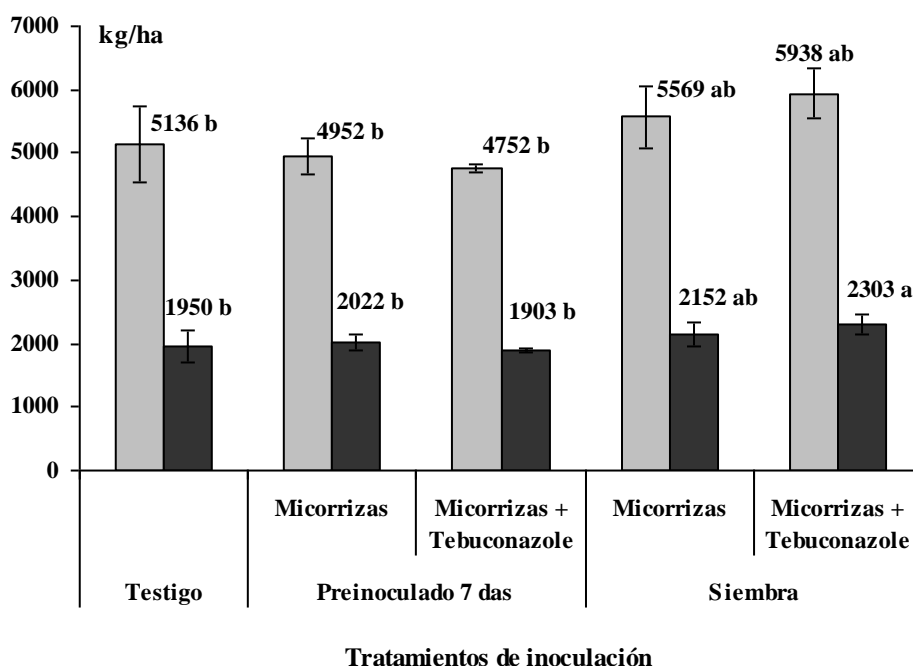


Figura 14: Materia seca a cosecha y rendimiento de grano de parcelas testigo o inoculadas con micorrizas. Se evalúan momentos de inoculación y el uso conjunto de fungicidas curasemillas. Pergamino, año 2008. Tomado de Ferraris et al., 2009.a

En los últimos años, se ha difundido el uso de insecticidas como tratamientos de semilla en maíz, para proteger la emergencia contra el ataque del complejo de gusanos blancos, gusanos alambre, mosca de la semilla y otras plagas insectiles. Cada semilla recibe de manera equivalente la dosis exacta de terapico, estando la misma completamente oreada seca al momento de la siembra. Estos insecticidas no afectan a las micorrizas y son compatibles con los inoculantes utilizados para introducirlos (Fig. 15). Sin embargo, debe cuidarse de no generar un corrimiento de insecticida, ya que este provocaría una variación en la dosis recibida por cada simiente, generando frecuentes casos de subprotección y fitotoxicidad, según la semilla haya recibido sub o sobredosisificación, respectivamente.

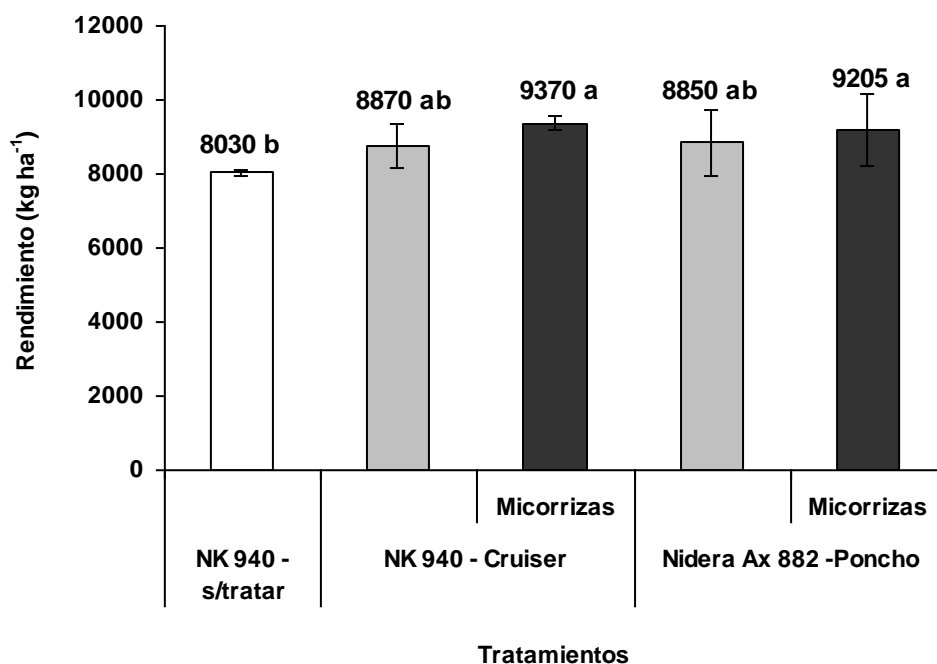


Figura 15: Rendimiento de maíz bajo diferentes tratamientos de inoculación con Micorrizas, sobre semilla previamente tratado con insecticidas. El insecticida Cruiser ® 35 FS (Syngenta Agro) contiene Tiametoxan 350 g IA l⁻¹. Poncho ® FS (Bayer CropScience) tiene dos ingredientes activos: Clothianidin (170 g IA l⁻¹) y Methiocarb (340 g IA l⁻¹). Tomado de Ferraris y Couretot, 2009.b.

Como sucede con la mayoría de los tratamientos biológicos, condiciones de buena productividad favorecen el comportamiento agronómico de los microorganismos sobre los cultivos. Esto se puede ejemplificar a partir de la respuesta de mayor magnitud en maíz, bajo alta dosis de N, fertilización con PS y uso de fungicidas (Fig. 16), y de la pendiente > 1 de los tratamientos inoculados con relación a la media del experimento (Fig. 17).

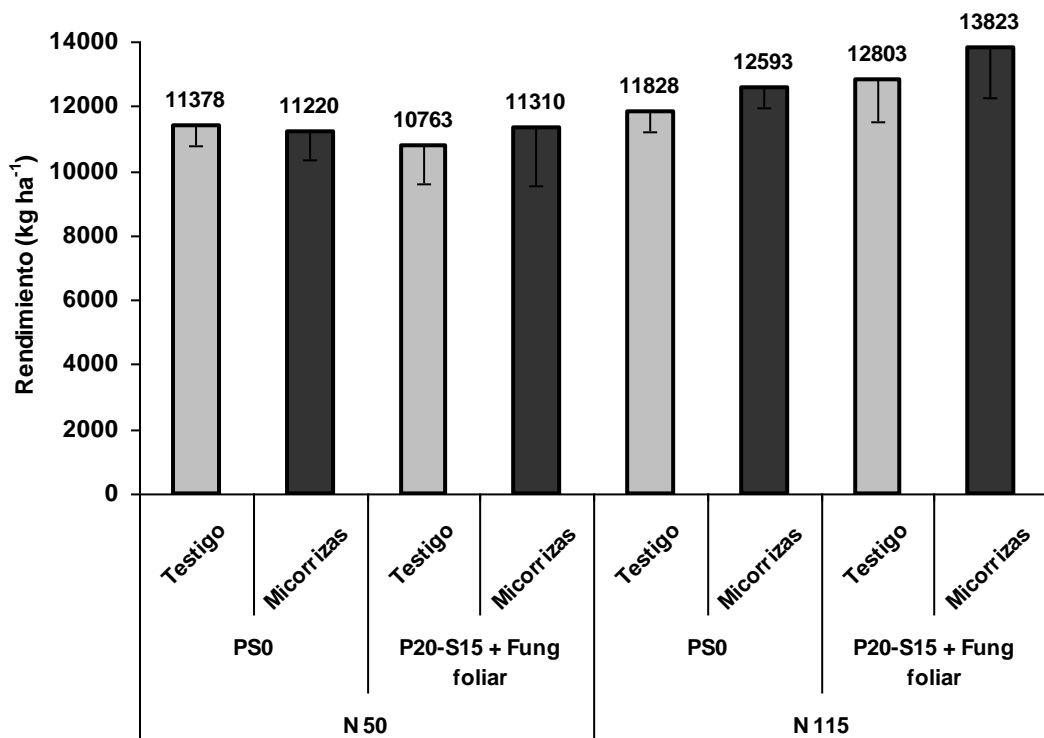


Figura 16: Rendimiento de maíz de tratamientos de inoculación con Micorrizas, bajo diferentes niveles tecnológicos consistentes en dosis variable de fertilizante nitrogenado, fertilización fósforo-azufrada y uso de fungicidas foliares. Pergamino, Campaña 2009/10, maíz de secano sin déficit hídrico. Tomado de Ferraris y Couretot, 2010.

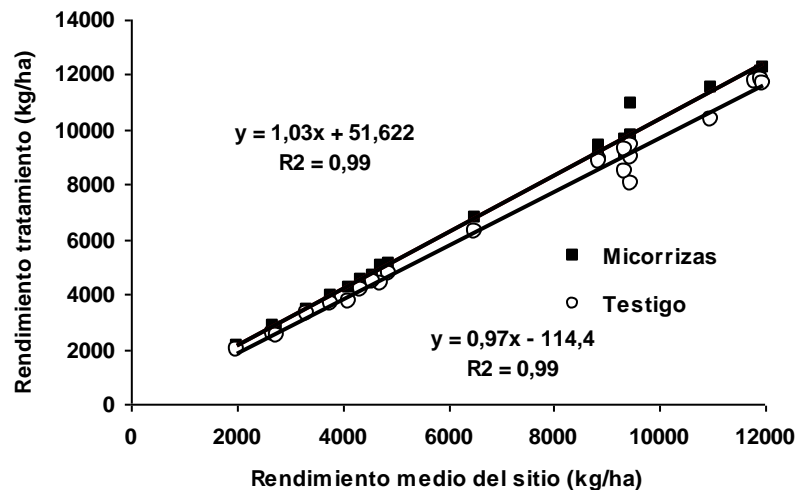


Figura 17: Relación entre los rendimientos del tratamiento y la media del sitio experimental. La serie abarca los rendimientos absolutos incluyendo cultivos de trigo (5 experimentos), cebada (1 experimento), maíz (12 experimentos) y soja (4 experimentos).

Penicillium bilaii

Dentro del grupo de los microorganismos considerados PGPM, es posible encontrar hongos del género *Penicillium* siendo *Penicillium bilaii* la especie evaluada en cultivos extensivos de la Región Pampeana. La función principal de *Penicillium bilaii* reside en su habilidad para solubilizar P del suelo, gracias a la capacidad de secretar ácidos orgánicos los cuales al modificar en forma localizada el pH del medio, serían capaces de romper los enlaces que ligan al ión fosfato con los coloides del suelo, principalmente Ca^{++} y Mg^{++} . Por lo tanto, aunque taxonómicamente se trata de organismos muy

diferentes, la función agronómica y su posicionamiento sería similar al de los inoculantes formulados sobre la base de *Pseudomonas* o micorrizas. Sin embargo, es necesario contar con mayor información de base ya que poco se conoce acerca de la capacidad relativa de los diferentes PGPM para solubilizar éste y otros nutrientes en suelos de la Región Pampeana. Algunos ensayos preliminares realizados en Wheelwright, Pergamino, Rafaela y 9 de Julio han mostrado resultados alentadores sin ahondar en la explicación de los efectos involucrados. En todos los casos, los mejores resultados se obtuvieron con bajas concentraciones de P en suelo, y niveles intermedios de fertilización con este nutriente. Por el contrario, los resultados menos favorables se produjeron bajo deficiencias severas y falta de crecimiento por ausencia de fertilización (Fig.18), en suelos cuya baja concentración de P la justificaba ampliamente.

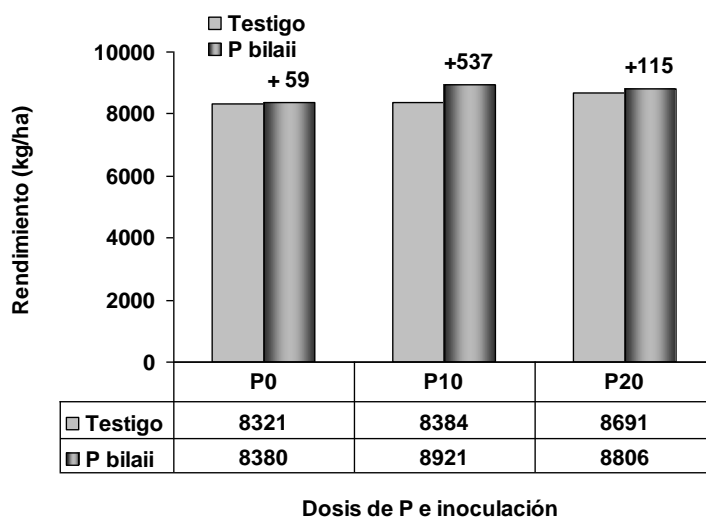


Figura 18.a

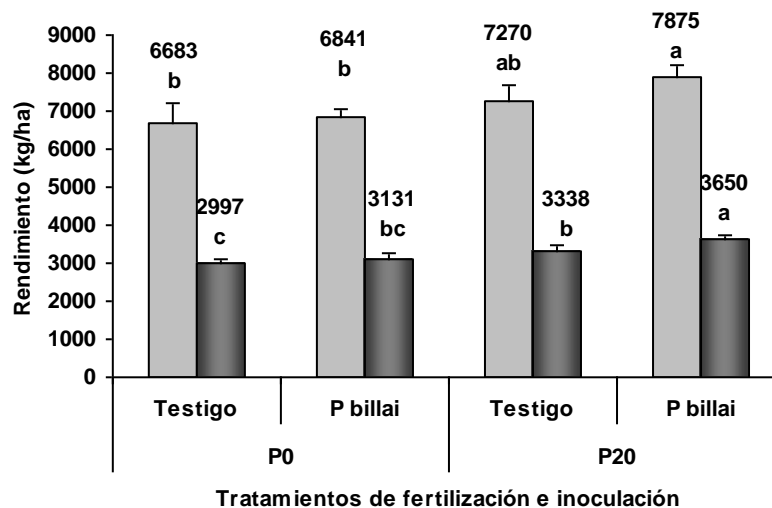


Figura 18.b

Figura 18: Rendimiento de los cultivos de a) Maíz y b) Soja según diferentes tratamientos de inoculación con *P bilaii* y fertilización fosforada. Los rendimientos de Maíz son promedio de experimentos conducidos por Peticari et al., en Castelar, Fontanetto et al., en Rafaela, Ventimiglia et al., en 9 de Julio y Ferraris et al., en Arrecifes. El experimento de Soja fue conducido por Ferraris et al., en Wheelwright, Santa Fe.

Co-inoculación: Es posible la integración de *Azospirillum* y *Pseudomonas*?

Actualmente la tendencia de los fabricantes de inoculantes es comercializar en el mismo producto los microorganismos PGPRs y biofertilizantes más conocidos. Si bien tanto *Azospirillum* como *Pseudomonas* son considerados PGPM, esta última es más reconocida por su efecto en la solubilización de P del suelo, pudiendo lograr a campo efectos complementarios (Faggioli y Ferraris, 2010). Se sabe que la presencia de ambos microorganismos produce efectos positivos sobre las plantas que superan a los que alcanzarían en forma individual. No obstante ellos, *Azospirillum* y *Pseudomonas* crecen en medios de cultivo diferentes, y especialmente las últimas secretan antibióticos y otras sustancias con efecto bactericida, por lo que es difícil hacer que crezcan en una solución común. Cuando se desea realizar tratamientos de co-inoculación, es deseable mantenerlos en presentaciones individuales e integrarlos al momento de realizar el tratamiento de semilla.

Para evaluar el efecto de estos microorganismos sobre la producción de maíz se llevaron a cabo durante la campaña 2009-2010 una serie de ensayos ubicados en diferentes localidades de las provincias de Córdoba y Santa Fe. En la Tabla 1 se presenta información de dos de los sitios experimentales: Marcos Juárez y María Teresa. Los ensayos se realizaron con el híbrido DK699 MG. Se evaluaron dos dosis de fertilización: 80% y 100% de dosis de MAP a la siembra, con o sin tratamiento de semillas con un biofertilizante (Biopower) combinado de *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* el cual se encuentra en etapa experimental. Se presentarán los resultados obtenidos en la producción de biomasa aérea (V8) expresado en peso fresco y la producción de granos.

Tabla 1: Detalle de los sitios experimentales para evaluación de tratamiento biológico de semillas en el cultivo de maíz.

SITIO	SUELO	SERIE	ANTEC.	FERTILIZACION
Marcos Juárez	Argiudol típico Cap. Uso I	Marcos Juarez	Tr/Sj	A la siembra: MAP 100 kg/ha 30 dds: Urea 275 kg/ha
María Teresa	Hapludol Cap. Uso II	Lazzarino 4	Tr/Sj	A la siembra: MAP 163 kg/ha 30 dds: Urea 400 kg/ha

Los sitios cuyos resultados se presentan a continuación se seleccionaron con la finalidad de reflejar en qué medida las respuestas iniciales en parámetros de crecimiento vegetativo debidas a la inoculación no siempre se expresan en la producción de granos del cultivo. En la Fig.19 se observa la acumulación de biomasa aérea en Marcos Juárez y en María Teresa. Dentro de cada tratamiento de inoculación no hubo respuesta a la fertilización. Es decir, las plantas inoculadas tuvieron una mayor producción de biomasa que las del testigo independientemente de la dosis de fertilizante aplicado a la siembra. En ambos sitios, la diferencia entre las plantas inoculadas y las que no recibieron tratamiento de semillas alcanzó el 13%. Estos resultados permiten inferir que los microorganismos aplicados a la semilla estimularon el crecimiento de las raíces y a partir de este beneficio para la planta, se incrementó la producción de órganos aéreos.

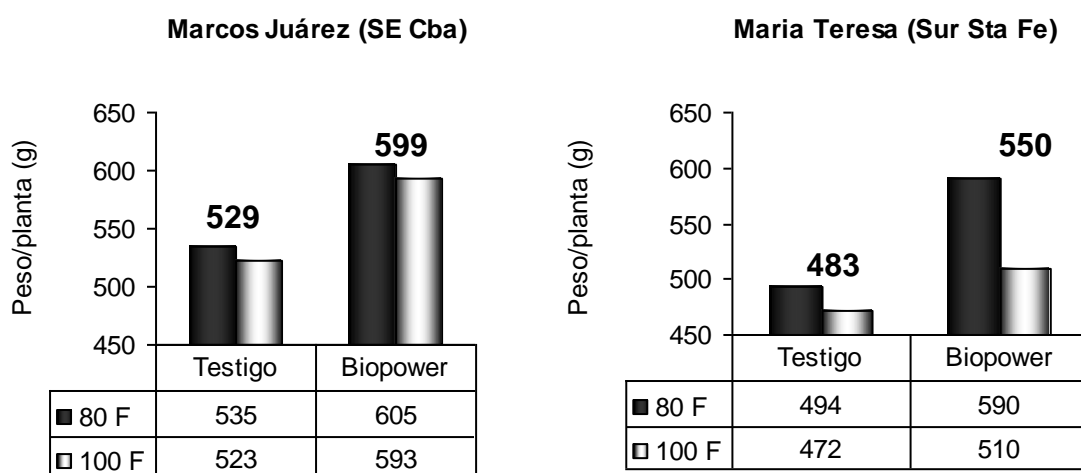


Figura 19: Producción de biomasa aérea (g/planta) de plantas de maíz (V8) inoculadas con Biopower (*Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens*). 100 F: Marcos Juárez 100 kg MAP/ha, Maria Teresa 163 kg MAP/ha, 80 F corresponde al 80% de la dosis 100 F de cada sitio. Los valores sobre las barras de los gráficos son el promedio de cada tratamiento de inoculación (80F y 100F).

La respuesta errática en rendimiento que se atribuye a los tratamientos biológicos de semillas queda de manifiesto al relacionar los resultados observados en etapas tempranas de crecimiento con los de rendimiento. Por un lado se observó una mejora en la implantación del cultivo en las plantas que recibieron inoculación (Fig. 19). En el rendimiento, en cambio, los resultados fueron diferentes entre sitios. En Marcos Juárez no se observó ningún efecto de la inoculación sobre el rendimiento en la dosis 80 F pero sí en la 100 F (956 kg/ha). Sin embargo, estos resultados no parecen reflejar una respuesta a la inoculación puesto que el promedio de rendimiento de las plantas del testigo fue similar a las inoculadas (+180 kg/ha). En cambio en Maria Teresa, las plantas inoculadas tuvieron rendimientos superiores a las del testigo en las dos situaciones de fertilización. La diferencia entre tratamientos de inoculación con 80% de MAP a la siembra (32 kgP/ha) fue de 684 kg/ha (6%). En la dosis más alta de fertilización (41 kgP/ha) la diferencia alcanzó 342 kg/ha (3%). En este sitio hubo respuesta significativa al tratamiento de inoculación en términos de la producción de granos ($p < 0.05$). En promedio las plantas inoculadas rindieron 513 kg/ha (5%) más que las del testigo sin biofertilizante.

Los resultados presentados demuestran el efecto promotor de crecimiento en etapas tempranas del cultivo y la inconsistencia en la respuesta del rendimiento. A nivel informativo cabe destacar que del análisis conjunto de todos los sitios donde se realizaron los mismos ensayos que se presentaron anteriormente, se encontró respuesta significativa ($p < 0.05$) en la variable altura de plantas entre V6 y V8. No fue significativo el efecto en la producción de biomasa aérea ni en el diámetro de tallos, aunque la tendencia favoreció a las plantas inoculadas. El rendimiento en las parcelas inoculadas superó a las del testigo ($p = 0.058$) en 537 kg/ha (+5%) independientemente del tratamiento de fertilización.

Bibliografía citada

- Abbot L.K y A.D. Robson. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 35:121-150.
- Caballero-Mellado, J., M.G. Carcano-Montiel, M.A. Mascarua-Esparza. 1992. Field inoculation of wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum brasilense* under temperate climate. *Symbiosis*, 13: 243-253.
- Covasevic, F., H. Echeverría y Y. Andreoli. 1995. Micorriación vesículo-arbuscular espontánea en trigo en función de la disponibilidad de fósforo. *Ciencia del Suelo* 13:47-51.

- Cook, R.J. 2007. Tell me again what it is that you do. *Annual Reviews of Phytopathology*, 45:1-23.
- Coyne M. 1999. *Soil Microbiology: An exploratory approach*. Delmar Publishers. 462 pag.
- Díaz-Zorita, M., 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
- Díaz-Zorita, M., R.M. Baliña, M.V. Fernández-Canigia, A. Peticari. 2004. Field inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) and corn (*Zea mays* L.) with *Azospirillum brasilense* in the Pampas region, Argentina. RELAR, Rio de Janeiro (Brasil).
- Döbereiner, J., I. Marriel and M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Can J Microbiol* 22: 1464-1473.
- Faggioli, V.S., G.N. Ferraris y M. Boxler. 2010. Tratamientos biológicos de semillas en el cultivo de maíz. Jornada de Actualización Técnica para Profesionales. Informe de Actualización Técnica N° 16. pag 37 - 44
- Faggioli, V.S, G. Freytes y C. Galarza. 2008. Las Micorrizas en trigo y su relación con la absorción de fósforo del suelo. Publicación Técnica INTA EEA Marcos Juárez. Disponible on line http://www.inta.gov.ar/MJUAREZ/info/documentos/Suelos/trigo_micorrizas08.pdf
- Faggioli, V.S., S. Gudiño, T. Baigorria, M. Boccolini y C.R. Cazorla. 2009. Respuesta de cereales de invierno a la inoculación con micorrizas sobre la producción de materia seca y absorción de fósforo del suelo. VII Reunión Científico Técnica de Biología del Suelo y Fijación Biológica del Nitrógeno REBIOS 2009. San Miguel de Tucumán, Argentina, 01, 02 y 03 de julio de 2009
- Ferraris, G. y L. Couretot. 2008. Evaluación de la inoculación con Micorrizas bajo diferentes ambientes de fertilidad. pp 48-52. En: Trigo. Resultados de Unidades Demostrativas. Proyecto Regional Agrícola.
- Ferraris, G. y L. Couretot. 2009.a. Inoculación con Micorrizas en maíz. Los insecticidas sobre semilla afectan su eficiencia? Campaña 2008/09 Inoculación con Micorrizas en Trigo. Efectos del pre-inoculado y del uso conjunto de curasemillas. En: Revista Agromercado. ISSN 1515-223x. Cuadernillo clásico trigo. Vol.28, N.150. pp 12-13. Ferraris, G. 2009
- Ferraris, G. y L. Couretot. 2009. b. Evaluación de tratamientos de semilla destinados a la protección y nutrición del cultivo de Maíz en el centro-norte de Buenos Aires. Revista Análisis de semillas. En búsqueda de la mejor simiente. ISSN 1851-1678. 2 (4) 8: 81-85.
- Ferraris, G. y L. Couretot. 2010. a. Inoculación con Micorrizas en maíz. Evaluación bajo diferentes niveles tecnológicos y dosis de nitrógeno. 6 pp. Disponible on line. <http://www.inta.gov.ar/pergamino/info/informacion.htm>
- Ferraris, G. y L. Couretot. 2011. a. *Azospirillum brasilense* en trigo. Interacción con la genética y la nutrición nitrogenada. En: Trigo. Resultados de Unidades Demostrativas. Proyecto Regional Agrícola. (En Prensa).
- Ferraris, G. y L. Couretot. 2011. b. *Pseudomonas fluorescens* en cebada cervecera bajo diferentes niveles de fertilización fosforo-nitrogenada. En: Trigo. Resultados de Unidades Demostrativas. Proyecto Regional Agrícola. (En Prensa).
- Ferraris, G., L. Couretot y M. Díaz Zorita. 2008. Respuesta de trigo a tratamientos con *Azospirillum* sp. según niveles tecnológicos. CD Rom. VII Congreso Nacional de Trigo.V Simposio Invernal de Cereales de siembra Otoño –Invernal.I Encuentro del Mercosur.
- Ferraris, G. 2009. Microorganismos con efecto promotor de crecimiento (PGPM) en cultivos extensivos. Impacto sobre los rendimientos, la eficiencia de uso de los nutrientes y otros caracteres de interés agronómico. Resúmenes. pp 8-9. II Jornadas Bonaerenses de Microbiología de Suelos. "Herramientas Microbiológicas para una Agricultura Sustentable" UNICEN, Azul (BA), 9 y 10 de Septiembre.
- García, F.O.; L.I. Picone y A. Berardo. 2006. Fósforo. Pág. 99-121. En: H.E.Echeverría y F.O. García (eds.) Fertilidad de Suelos y Fertilización de cultivos. Editorial INTA, Buenos Aires, Argentina. 521p.
- García, R. y T. Bach. 2003. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sobre el rendimiento de trigo. Informe técnico 324, INTA - INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA. Centro Regional Buenos Aires Norte Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. 19 pp.

- García, R. & Bach, T. 2003b. Efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento sobre el rendimiento de maíz. Informe técnico 325, INTA – Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Centro Regional Buenos Aires Norte, Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. 26 pp.
- Haas D, Défago G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent Pseudomonads. *Nat Rev Microbiol.* 2005 Apr;3(4):307-19. Review.
- Kloepper, J.W., R. Lifshitz and R.M. Zablotowicz. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7:39-49.
- Okon Y. and C. Labandera-Gonzalez. 1994. Agronomic applications of Azospirillum: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* Vol 26 (12):1591-1601.
- Pereyra M.A., C.A. Zalazar y C.A. Barassi. 2006. Root phospholipids in Azospirillum-inoculated wheat seedlings exposed to water stress. *Plant Physiol. Biochem.* 44: 873-879
- Peterson R.L., H.B. Massicotte y L.H. Melville . 2004. Arbuscular mycorrhizas. En: *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology.* NRC-CNRC. Research Press.Otawa. Canada. Chap.3: 57-79
- Puente, M. y A. Peticari. 2006. Inoculación de trigo con Azospirillum. *Trigo en Siembra Directa.* 97-99. *Revista Técnica de la Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa, AAPRESID.*
- Russo A, Felici C, Toffanin A, Götz M, Collados C, Barea JM, Moënné-Loccoz Y, Smalla K, Vanderleyden J, Nuti M (2005) Effect of Azospirillum inoculants on arbuscular mycorrhiza establishment in wheat and maize plants. *Biol Fertil Soils* 41:301–309
- Satorre, E. 2007. Manejo de la nutrición: El uso de inoculantes en el cultivo de maíz. pp 20-22. En: *Centro de desarrollo y transferencia de tecnología del cultivo de maíz. Análisis de campaña 2006/07.* Dekalb. 48 pp.
- Trappe, J. M. (1977). Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 15: 203-222.
- Schalamuk S, S. Velásquez, H. Chidichimo y M. Cabello. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Mycologia* 1: 22–28.
- Valverde, C y G. Ferraris. 2009. Las Pseudomonas. Un grupo heterogéneo con diversos mecanismos promotores del desarrollo vegetal.. pp 23-42 En: Puente, M., J. García y A. Peticari (eds) *Uso actual y potencial de microorganismos para mejorar la nutrición y el desarrollo en Trigo y Maíz.* INTA Ediciones.