

Efecto de la residualidad de *Azospirillum brasilense* sobre los distintos parámetros de rendimiento en el cultivo de Trigo

Autor: Schmidt, Martin Alejandro



Docente tutor: Dr. Bravo, Oscar

Docente Consejero: Ing. Zalba, Pablo



Departamento de Agronomía

Universidad Nacional del Sur

Bahía Blanca, Julio 2020

INDICE

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
BIOFERTILIZANTES	7
INOCULANTES	8
Características de un buen inoculante	8
Tipos de inoculantes	9
Factores que afectan la calidad de inoculación	9
AZOSPIRILLUM	10
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	12
MATERIALES Y METODOS	13
Ubicación	13
Caracterización climática del área	14
Geomorfológica y Suelo	15
Manejo del cultivo	17
Diseño de la experiencia	18
Variables analizadas	18
ANALISIS ESTADISTICO	20
RESULTADO Y DISCUSION	21
Respuesta de los parámetros de rendimiento a la residualidad del inoculante	22
Correlación entre las variables del cultivo	29
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFIA	33

RESUMEN

El *Azospirillum brasilense* puede mejorar la productividad del cultivo de trigo. La hipótesis del presente trabajo de intensificación ha sido que *el sector de suelos en los que se sembraron semillas inoculadas durante 4 años presentará una población residual de Azospirillum brasilense superior al sector donde se sembraron semillas sin inocular*. Este aumento de la población del *Azospirillum* redundará en una mayor productividad del trigo. El objetivo es establecer si la posible población residual de *Azospirillum brasilense* puede expresarse en los parámetros de rendimiento de trigo en suelos cultivados del sudoeste bonaerense.

La experiencia se llevó a cabo en el campo Napostá del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, ubicado en el Partido de Bahía Blanca (38°25'32'' latitud Sur, 62°17'7'' longitud Oeste). Los tratamientos evaluados fueron: Testigo o sector sin residualidad del inoculante (SR) y sector con residualidad de *Azospirillum brasilense* (R). Las variables analizadas en madurez fisiológica fueron: Biomasa aérea (kg ha⁻¹), número de espigas m⁻², número de granos espiga⁻¹, Peso de 1000 semillas, peso hectolitrico, rendimiento en grano (kg ha⁻¹) e índice de cosecha.

La biomasa aérea y rendimiento en grano presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) a favor de la residualidad. Los valores medios de las variables no muestran diferencias en: índice de cosecha, peso hectolítico, espigas m⁻², granos espiga⁻¹ y peso de 1000 (p entre 0,12 y 0,77). Se aprecia una tendencia a un leve incremento en el tratamiento R. Esta respuesta es aleatoria al analizar los tratamientos en función de la calidad de los suelos.

Pese a que los resultados indican que debe seguirse investigando el efecto de la residualidad por repetidas aplicaciones, a favor de *Azospirillum brasilense* podemos indicar una mejora en N° espigas m⁻², biomasa aérea y rendimiento en grano, con aumentos medios de 22 espigas, 864 kg y 324 kg para dichas variables respecto a SR. Además los valores de dispersión muestran menor variabilidad en R (mayor estabilidad de rendimientos). En R la mayor probabilidad (40 %) la alcanzan los rendimientos de 4000 kg ha⁻¹, mientras que en SR la mayor probabilidad (48 %) corresponde a rindes de 2900 kg ha⁻¹. Estos resultados sugieren que el uso de *Azospirillum* puede ser una tecnología que favorezca la sustentabilidad en la producción de trigo.

Palabras clave: *Azospirillum brasilense*, residualidad, cultivo de trigo, parámetros de rendimiento.

INTRODUCCIÓN

La agricultura juega un papel crucial en la economía de los países en desarrollo y brinda la principal fuente de alimentos, ingresos y empleo a sus poblaciones rurales. La tecnificación de la agricultura y el uso eficiente de las tierras es fundamental para alcanzar la seguridad alimentaria, reducir la pobreza y alcanzar un desarrollo integral sostenible. Desde el inicio de la agricultura hasta principios del siglo XX los cultivos se desarrollaban sin ayuda de fertilizantes o agroquímicos. La fertilización química en gran escala que trajo como resultado un aumento en los rendimientos y calidad de los cultivos. Las tecnologías desarrolladas durante la revolución verde a partir de 1960, la síntesis de agroquímicos (fertilizantes y pesticidas) y la utilización de variedades de alto rendimiento y elevada tasa de asimilación de nutrientes contribuyeron de manera significativa a incrementar la producción mundial de alimentos.

Desde una perspectiva de eficiencia energética, el objetivo central de la producción agrícola ha sido maximizar la producción y mejorar la calidad de las cosechas. Para lograrlo, se cuenta con una superficie finita de tierras cultivables, por lo que la adición de fertilizantes y pesticidas, así como el uso de maquinaria para optimizar la cosecha, procesamiento y transporte de los productos agrícolas, son algunas de las tecnologías que se han desarrollado para satisfacer las necesidades de alimentación de una población en incesante aumento (Pelletier *et al.*, 2011).

La demanda de fertilizantes de origen químico se encuentra en alza, debido a un eminente crecimiento poblacional que precisará de la producción de más alimentos para solventar las necesidades alimenticias del mundo (Ahlgren *et al.*, 2008). El 59% de los fertilizantes utilizados a nivel mundial son nitrogenados, el 24% fosfatados y el 17% potásicos.

Los principales países productores de fertilizantes son China (22.4%), Estados Unidos (11.9%), India (9.4%), Canadá (8.7%) y Rusia (8.6%). Por otro lado, el mayor consumo mundial de fertilizantes se concentra precisamente en los tres principales países productores de estos productos: China 27.3%, Estados Unidos 13.5% e India 12%.

Para evitar o minimizar el impacto del uso de los fertilizantes químicos en el ambiente es necesario contar con información básica acerca de los requerimientos nutricionales específicos de los cultivos, de la eficiencia relativa de las distintas fuentes de fertilizantes para aportar los elementos requeridos para el crecimiento de las plantas y del estatus nutricional actual de las tierras de cultivo. El empleo de fertilizantes nitrogenados puede ser reducido de manera sustancial por la aplicación de algunas medidas tales como un preciso estudio del estatus actual del suelo, la aplicación de técnicas optimizadas de dosificación de los fertilizantes para disminuir las pérdidas por vaporización y lixiviación y una mayor utilización de especies leguminosas (Pelletier *et al.*, 2011). Estas alternativas deberán tener en consideración los siguientes puntos:

- a) Reducir el uso de fertilizantes químicos sin afectar los rendimientos de los cultivos.
- b) Aumentar el valor agregado de los productos agrícolas mediante la reducción de la aplicación de estos productos (producción orgánica).
- c) Aumentar la productividad de los cultivos por encima de los rendimientos alcanzados a través de los procesos de producción convencional de los agricultores.
- d) Reducir el impacto de los fertilizantes y otros productos químicos en la salud y el ambiente.

Entre las posibilidades tecnológicas para lograr los propósitos anteriores se destacan la utilización de fertilizantes orgánicos (*e.g.* estiércoles, compostas, tés de composta y vermicompostas), la determinación de las dosis óptimas de fertilización a partir del análisis del suelo y la utilización de microorganismos que poseen la capacidad de promover el crecimiento de las plantas y reducir el uso de los fertilizantes sintéticos sin afectar la productividad de los cultivos. Estos microorganismos promotores del crecimiento vegetal son empleados para la fabricación de productos biológicos conocidos como biofertilizantes.

El empleo de biofertilizantes (conocidos también en sentido amplio como bioinoculantes o inoculantes microbianos) para aumentar la productividad de

los cultivos, está considerado como una de las contribuciones más importantes de la biotecnología y la microbiología a la agricultura moderna. Los biofertilizantes constituyen una alternativa viable para reducir costos de producción y el impacto ambiental asociado a la fertilización química. Esta tecnología permite incrementar el valor agregado y rendimiento de los cultivos de 17% a 50%, mejorando la fertilidad del suelo y reduciendo las poblaciones de microorganismos nocivos para los cultivos. Dentro del contexto de agricultura sostenible, la inoculación de plantas con microorganismos que reducen la incidencia de enfermedades y disminuyen la dependencia de agroquímicos es una alternativa biotecnológica real y particularmente atractiva para incrementar la productividad. La noción de emplear microorganismos para mejorar la productividad de los cultivos no es nueva ya que se remonta a siglos atrás cuando los agricultores determinaron de manera empírica que el suelo utilizado para cultivar leguminosas podía ser utilizado para favorecer el desarrollo y crecimiento de otros cultivos.

La historia comercial de los biofertilizantes empezó en 1898 con el establecimiento en Milwaukee, Wisconsin, USA, de la empresa “The Nitragin Company” y la posterior comercialización 32 años después de los biofertilizantes fabricados con microorganismos de la cepa *Rhizobium sp.* Posteriormente, otros productos basados primero en *Azotobacter sp.* y bacterias verde-azules, y posteriormente en *Azospirillum sp.* y hongos arbusculares vinieron a complementar el mercado de los biofertilizantes.

La factibilidad de emplear en México microorganismos promotores de crecimiento como una opción tecnológica viable para reducir costos asociados a la fertilización química manteniendo o aun incrementando la productividad de los cultivos, ha resurgido nuevamente en virtud de la problemática actual en torno a los precios del petróleo, así como también del acrecentado interés de la sociedad por adoptar tecnologías compatibles con la conservación de los recursos naturales y la producción de alimentos libres de pesticidas. A partir del año de 1999 y apoyado inicialmente por el Programa Nacional de Biofertilizantes del Gobierno Federal, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha realizado diversas evaluaciones a campo del efecto de inoculantes microbianos, basados en *Rhizobium etli*,

Bradyrhizobium japonicum, *Azospirillum brasilense* y el hongo micorizógeno *Glomus intraradices*, sobre la productividad de cultivos básicos de ese país. Los resultados obtenidos a través de este programa demostraron la factibilidad de utilizar biofertilizantes como una alternativa para incrementar la productividad de los cultivos (Aguirre-Medina, 2008).

BIOFERTILIZANTES

Los Biofertilizantes son aquellas sustancias a base de microorganismos del suelo, que se van asociar de manera directa o indirecta al sistema radicular de la planta mejorando la nutrición y desarrollo. Actúan también como productores hormonales del crecimiento que estimulan el proceso de fijación de nutrientes en las raíces (Garza, 2003). Estos biofertilizantes pueden presentar grandes ventajas como una producción a menor costo, protección del ambiente y aumento de la fertilidad y biodiversidad del suelo. Los biofertilizantes se usan abundantemente en agricultura orgánica, sin embargo, es factible y ampliamente recomendable aplicarlos de manera integral en cultivos intensivos en el sistema tradicional. Por su uso, se podrían dividir en 4 grandes grupos; fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fósforo, captadores de fósforo y promotores del crecimiento vegetal.

Su uso trae ventajas como:

- Mayor aprovechamiento del área cultivada.
- Favorece la captación de agua y la nutrición mineral.
- Protección contra patógenos.
- Mejora la estructura del suelo.

Sus beneficios:

- Disminuir los costos de producción
- Aumento de la producción agrícola
- Disminuir los costos por aplicaciones como fungicidas y proteger el cultivo contra enfermedades

- Evitar la degradación de los suelos y contribuir a la restauración de los mismos (González Elizarraraz E. & G. E. Sarmiento Pérez, 2014).

INOCULANTES

Un inoculante es un concentrado de bacterias específicas, que aplicado convenientemente a la semilla poco antes de ser sembrada, mejora el desarrollo del cultivo. Su empleo es una práctica agronómica reconocida en el mundo por sus beneficios productivos y económicos (principalmente en gramíneas y leguminosas), a tal punto que desde hace algunas décadas se lleva a cabo en países de los cinco continentes (México, Holanda, Brasil, Japón, Bulgaria, Colombia, Australia, Canadá, Estados Unidos, República Checa, Argentina). LABZA.COM.AR. (s.f., en línea)

Características de un buen inoculante

Para Vincent M. (1970) un buen inoculante debe contener un número alto de bacterias viables. Los estándares mínimos de calidad de inoculantes varían según el país. Es importante que el inoculante no sea expuesto a temperaturas mayores a 30-35 °C durante el transporte y almacenamiento. Para que un inoculante se considere de alta calidad, debe estar, en la medida de lo posible, libre de contaminantes, para evitar relaciones competitivas de supervivencia por sitios y sustratos en el recipiente que lo contiene.

Bashan (1998) indica que los inoculantes se deben poder esterilizar fácilmente y en lo posible deben ser uniformes en cuanto a sus características químicas y físicas. También deben tener una calidad constante, una capacidad de retención de agua (para los soportes húmedos) y ser adecuados para el mayor número de especies y cepas bacterianas como sea posible. De acuerdo a Stephens J. & Rask H. (2000), uno de los grandes retos para la producción de biofertilizantes (inoculantes) ha sido encontrar un soporte que cumpla las siguientes características:

- Que se encuentre fácilmente disponible, teniendo una composición uniforme y con un precio accesible.
- Que no sea tóxico para las bacterias.
- Que tenga una alta capacidad de retención de agua.
- Que sea fácilmente esterilizado.

- Que se pueda corregir fácilmente su pH a valores de 6,5 a 7,3.
- Que favorezca el crecimiento inicial de la bacteria utilizada, y que mantenga un alto número de células hasta su uso.

Tipos de inoculantes

Existen varios tipos de inoculantes, Obaton (1995) los clasifica de la siguiente forma:

En polvo: Es el tipo más común en el mercado. El cultivo de *Rhizobium* se mezcla con un soporte fácilmente molido (pH cercano a 6,5), que protege al *Rhizobium* durante el periodo de almacenamiento y provee mejor adhesión a la semilla.

Granulado: El producto consiste en un tipo de micro-gránulo producido a partir de inoculante en polvo y gránulos de arcilla. Este tipo de inoculante se aplica en el surco de siembra, permitiendo separar los Rizobios de la semilla que han sido tratadas con pesticidas o fungicidas.

Líquidos: En base oleosa (suelen tener fungicidas en la formulación) o acuosa. Esta última es la tecnología más avanzada. Se mezcla con la semilla o se aplica en el surco junto con ella y se logra una adherencia mucho mayor que otras formulaciones sólidas (Vincent, 1970).

En medios de Agar: Esta formulación esta en total desuso por el bajo nivel de sobrevivencia de *Rhizobium* sobre la semilla.

Factores que afectan la calidad de inoculación

La eficiencia de la nodulación depende del cultivo, la cepa que coloniza, lugar de la raíz donde lo hace y las condiciones de desarrollo de la planta. En todos los casos, el tipo de laboreo influye en el equilibrio de la microflora. Pero para que el nódulo se forme, hay que tener en cuenta además una serie de factores (temperatura, radiación solar, acidez del suelo, cantidad de oxígeno, disponibilidad de agua, estado sanitario de la semilla y actividad de productos químicos) que pueden resumirse en los siguientes:

- **Stress de la planta:** Nutrientes deficientes, enfermedades o herbicidas.

- **Acidez del suelo:** Los Rizobios, por ejemplo, pueden morir rápidamente en un suelo con un pH menos a 5,5 y son incapaces de sobrevivir cuando es menor a 4,2.
- **Sequias prolongadas**
- **Elevadas temperaturas y heladas:** Pueden reducir la población nativa.
- **Inundaciones:** Pueden reducir la cantidad de bacterias inoculadas.
- **Pesticida y tratamiento de semilla:** Estos pueden ser tóxicos para las bacterias inoculantes.
- **Nivel de nitrógeno en el suelo:** Si hay en el suelo un alto nivel de nitrógeno la planta puede utilizarlo antes de realizar la fijación; en presencia de altos niveles de este elemento, se puede reducir la formación de nódulos.

AZOSPIRILLUM

En particular, el género *Azospirillum* se ha investigado en profundidad por su capacidad promotora del crecimiento vegetal. El género *Azospirillum* fue inicialmente estudiado por su capacidad para fijar el nitrógeno. En la actualidad se han descrito 12 especies del género promotora del crecimiento vegetal y se ha convertido en un excelente modelo para estudiar la interacción planta-microorganismo. Estas investigaciones han derivado en la fabricación de inoculantes con cepas de *Azospirillum* usadas a escala comercial (Helman *et al.*, 2011) *Azospirillum*: *A. lipoferum*, *A. brasilense* (Tarrand *et al.*, 1978), *A. amazonense* (Magalhães *et al.*, 1983), *A. halopraeferens* (Reinhold *et al.*, 1987), *A. irakense* (Khammas *et al.*, 1989), *A. largimobile* (Ben Dekhil *et al.*, 1997), *A. doebereineriae* (Eckert *et al.*, 2001), *A. oryzae* (Xie & Yokota, 2005), *A. melinis* (Peng *et al.*, 2006), *A. canadense* *A. zea* (Mehnaz, 2007) y *A. rugosum* (Young *et al.*, 2008). La mayoría de estas especies se han aislado de raíces de plantas silvestres y cultivadas, y de suelos de regiones templadas, subtropicales y tropicales de todo el mundo (Gunarto *et al.*, 1999). Las dos primeras en ser descritas y las más estudiadas son *A. lipoferum* *A. brasilense*.

Azospirillum pertenece a la subclase α -proteobacteria, que alberga un gran número de bacterias simbiotes asociadas a plantas, y ha sido aislada colonizando la rizósfera de gramíneas, particularmente de cultivos de importancia económica tales como el maíz, el trigo y el arroz, desde climas tropicales hasta templados (Patriquin *et al.*, 1983). La inoculación con *Azospirillum* induce cambios significativos en varios parámetros de crecimiento, tales como la aceleración de la germinación, aumento de la biomasa aérea de la planta (Canto *et al.*, 2004; Saubidet, 2002), aumento del peso seco de raíz, incremento en la velocidad de respiración de la raíz, desarrollo del sistema radical como las raíces laterales, pelos radicales y diámetro de la raíz (Hadas y Okon, 1987; Jain y Patriquin, 1984). Estos efectos observados en las plantas son dependientes de la concentración del inoculo, ya que plantas inoculadas con altas concentraciones (1×10^9 UFC) causan una inhibición significativa en la longitud del sistema radical sin afectar el desarrollo de raíces laterales y pelos radicales (Kapulnik *et al.*, 1985; Hadas y Okon, 1987). Los efectos descritos en el crecimiento de la raíz resultan en un incremento del consumo de agua y nutrientes del suelo. Estos correlacionan con un mejor rendimiento de las partes aéreas de la planta. Así mismo estos resultados se han observado bajo condiciones de laboratorio y de campo en varios cultivos de importancia como el maíz y el trigo. Además de inducir cambios en la morfología de la planta, estas bacterias también afectan el contenido de proteínas, metabolitos secundarios y la inducción de resistencia a patógenos (Cangahuala-Inocente *et al.*, 2013; Chamam *et al.*, 2013).

HIPOTESIS Y OBJETIVO

El presente trabajo de intensificación intenta establecer el efecto de residualidad en los suelos de 4 campañas previas con aplicación de *Azospirillum brasilense* en semillas de trigo. La hipótesis indica que el sector de suelos en los que se sembraron semillas inoculadas durante 4 años presentará una población residual de *Azospirillum brasilense* superior al sector no inoculado, que permitirá un aumento en la productividad del cultivo. El objetivo es establecer si la posible población residual de *Azospirillum brasilense* puede observarse en los parámetros de rendimiento en trigo cultivado en suelos del sudoeste bonaerense.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación

La experiencia se llevó a cabo durante el año 2015 en el campo del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, ubicado sobre la Ruta Nacional 33, km 35 ($38^{\circ} 25' 32.6''$ latitud Sur, $62^{\circ} 17' 6.8''$ longitud Oeste). Corresponde a la zona rural del Partido de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires.

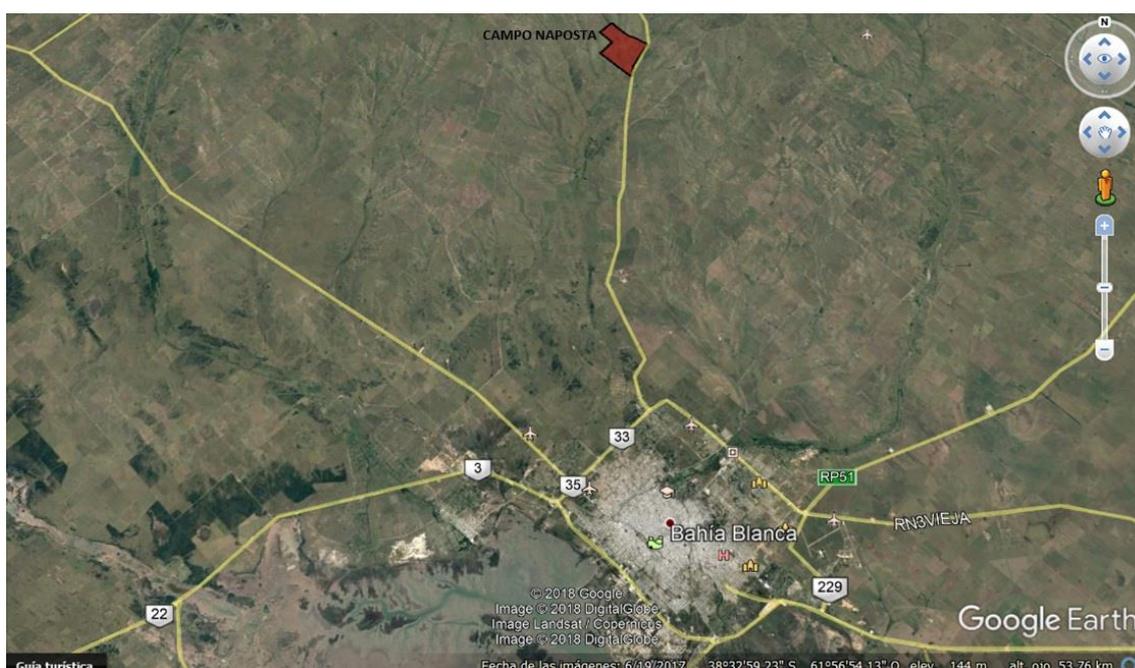


Figura 1: Ubicación del campo Napostá de la UNS.

El campo posee una superficie de 711 ha, con uso ganadero-agrícola. El ensayo se realizó dentro del módulo de trigo que cubre unas 50 hectáreas. El mismo es utilizado como parcela demostrativa de técnicas de manejo y ensayos para docencia, investigación y extensión de numerosas cátedras del Dpto. de Agronomía-UNS.

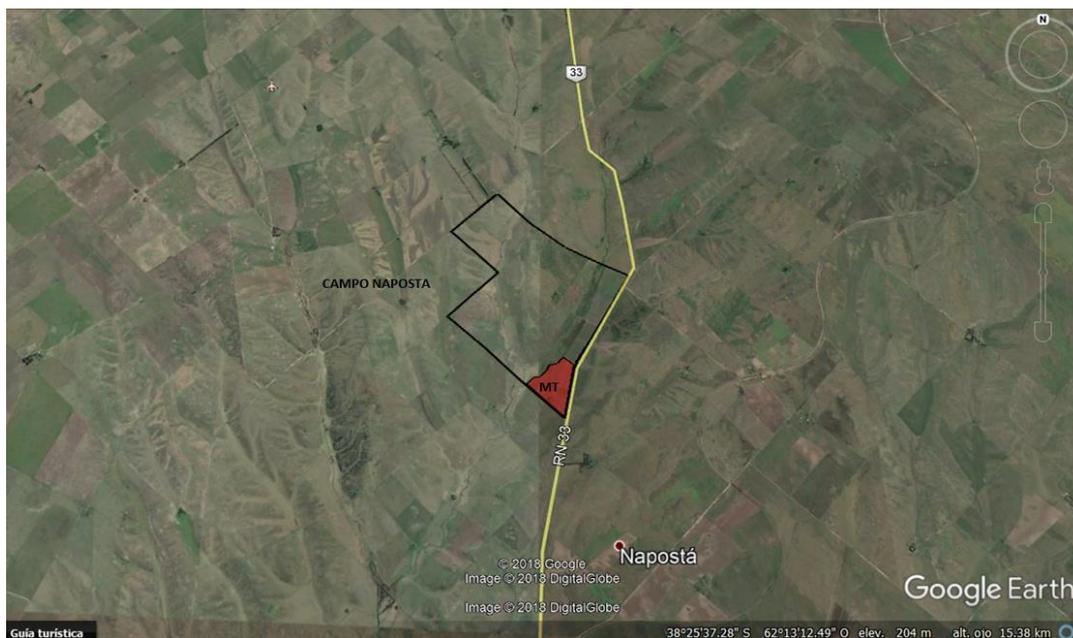


Figura 2: Ubicación del módulo de trigo en el campo Napostá.

Caracterización climática del área

El clima de Bahía Blanca es semiárido templado. La precipitación media anual alcanza los 580 mm. La distribución de la misma indica que la mayor cantidad de lluvias se producen en dos estaciones bien definidas, otoño y primavera, interrumpidas por una estación seca a fines del invierno y otra semi-seca a mediados de verano con alta evapotranspiración. La temperatura media anual es de alrededor de los 15°C, con máximas medias mensuales que superan los 30°C en los meses de verano mientras que las temperaturas mínimas se producen en Julio con valores medios superiores a 0°C. Con respecto a las temperaturas extremas observadas en la región, en el periodo 1970-2000 se han registrado máximas entre 43.8 y 39°C y mínimas absolutas entre -10 y -12°C. Los vientos predominantes son del cuadrante noroeste, siendo la velocidad media anual de 24 km/h (periodo 1971-1990). En los meses de abril, mayo y junio se registran las menores velocidades, cercanas a la categoría de vientos leves (Mormeneo, 2003). Durante los meses de verano hay una marcada deficiencia hídrica. A partir de abril comienza un periodo de reposición de agua, situación que se extiende hasta el mes de octubre. De acuerdo a la clasificación climática de Thornthwaite el clima de la región es subhúmedo seco con nulo o pequeño exceso de agua (Donnari *et al.*, 1974). La aparición de heladas tempranas o tardías provoca graves daños a la

agricultura (Burgos, 1963 a). En general se producen de abril a octubre con máximo de ocurrencia entre junio y agosto.

Geomorfología y suelos

Desde el punto de vista geomorfológico, el campo se ubica en la porción media de la llanura surventánica occidental, que se extiende desde Sierra de la Ventana hasta las cercanías de la costa atlántica. La misma es una planicie con pendiente general muy suave en sentido N-S, disectada por cinco valles funcionales que drenan el cordón serrano y por una serie de paleo-drenajes (no funcionales) conocido como “cañadones”. El establecimiento analizado presenta una marcada influencia de los amplios valles labrados por los dos brazos del Arroyo Saladillo Dulce, que han generado un paisaje modelado por los excesos hídricos serranos. Los relictos de lomadas corresponden a un paisaje formado por la erosión de planos normales. Los suelos se han generado a partir de sedimentos eólicos modernos, con clases por tamaño de partículas variables. Las laderas corresponden a la geoforma de mayor extensión. Los sedimentos eólicos recientes de textura franco arenosa son los materiales parentales dominantes, seguidos de sedimentos loésicos. Los suelos asociados a los Paleocauces se caracterizan por ser profundos, tanto al desarrollarse sobre sedimentos loésicos o sobre sedimentos eólicos recientes. En esta geoforma se suma al agua pluviométrica un adicional de humedad que escurre de las zonas altas. En posición de la llanura de inundación se desarrollan suelos sobre materiales finos o materiales contrastantes (finos y gruesos) de origen aluvial. La posición en el relieve implica la presencia de una capa freática a poca profundidad, aportando sales y sodio por ascenso capilar.

Los suelos a nivel de predio presentan una marcada variabilidad, condicionados fundamentalmente por el factor relieve (Bravo *et al.*, 2016). Dentro del predio Napostá se han identificado Paleustoles petrocálcicos someros en posiciones de lomada (Castro y Egea, 2006), así como Paleustoles petrocálcicos moderadamente profundos y Haplustoles énticos y típicos en las laderas. En las planicies de inundación se han reconocido Endoacuales cumulicos (Campos y Gigoux, 2009; Castro y Egea, 2006).

Dentro del sector donde se llevó a cabo el ensayo se han identificado unidades cartográficas asociadas a las geoformas lomadas, laderas y terrazas/planicies aluviales. El lote en el cual se desarrolla el módulo de trigo presenta como forma dominante laderas, suavemente onduladas con gradientes variables entre 1 y 3 %. La ladera se continúa en la planicie aluvial, con un sector de contacto en el cual los sedimentos eólicos “sepultan” a los aluviales, estos últimos ricos en sodio y sales.

En un mapa de unidades de fotointerpretación del lote utilizado en la experiencia (Figura 3) podemos diferenciar distintas condiciones edáficas. La unidad 1 corresponde al sector de laderas altas, con una superficie de 9,7 ha. Los suelos se desarrollan sobre sedimentos loésicos, apoyados sobre un horizonte petrocálcico relicto. Presenta reacción al ácido clorhídrico desde la superficie. La profundidad efectiva permite diferenciar sectores someros (<0,5 m) a moderadamente profundo (<1 m). El suelo representativo es un Calciustol petrocálcico franco grueso, somero.

La unidad 2 también ubicada en la ladera media, cuenta con una superficie de 3,6 ha. Los suelos se desarrollan sobre sedimentos eólicos recientes de textura arenosa franca, con reacción al ácido clorhídrico desde la superficie. Son suelos profundos, con la tosca a 1,3 m. El suelo representativo es un Calciustol petrocalcico franco grueso.

La unidad 3 se ubica en la ladera media, con una superficie de 7,2 ha. Los suelos se desarrollan sobre sedimentos loésicos de textura franca. La profundidad efectiva en esta unidad también supera a 1,5 m. El suelo representativo es un Haplustol típico con una fase salino-sódica en profundidad (entre 75 y 100 cm de profundidad).

La unidad 4 rodea a la unidad 1, en posición de ladera alta a media, con una superficie de 13,6 ha. Los suelos se desarrollan sobre sedimentos loésicos. La profundidad efectiva es superior a 1,5 m. El suelo representativo es un Haplustol típico franco fino.

La unidad 5 se ubica en la ladera baja, con una superficie de 17,6 ha. Los suelos se desarrollan sobre sedimentos loésicos de textura franca a franca arenosa, apoyada sobre horizontes calcáreos relicticos de texturas contrastantes. El suelo representativo es un Haplustol típico franco fino, fase sub-superficial (a 50 cm de profundidad) salino sódica (Soil Survey Satff, 2014).

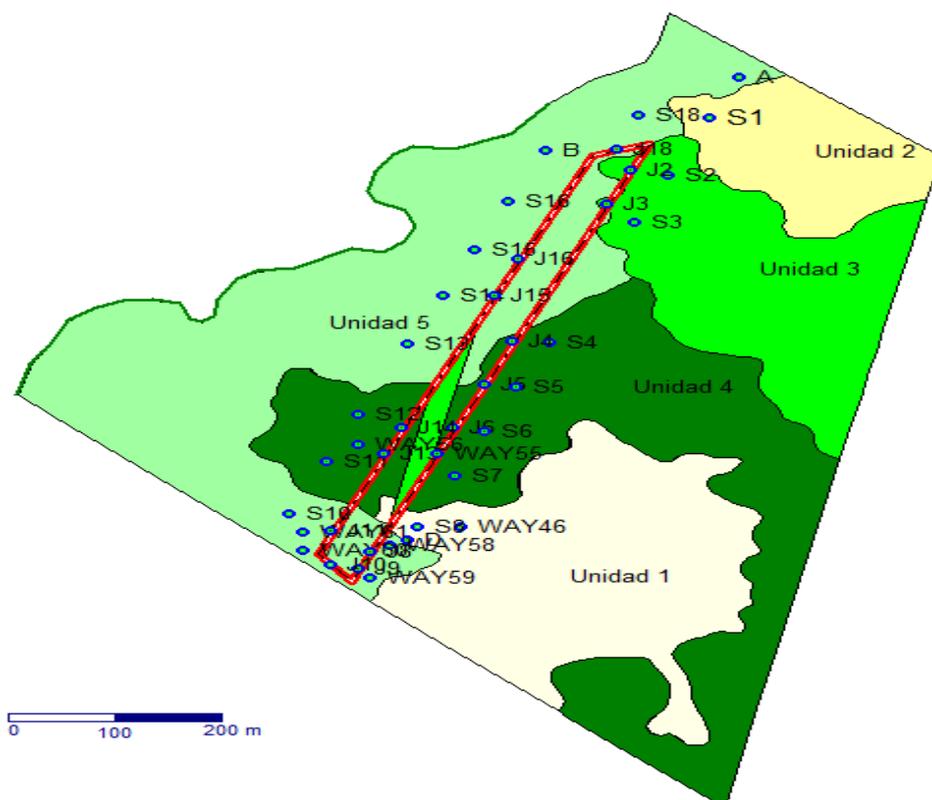


Figura 3: Sector con tratamiento y ubicación de los puntos de muestreo.

Manejo del cultivo

- Antecesor: Rastrojo de Trigo
- Variedad sembrada: ACA 535
- Fecha de siembra: 6/7/15
- Densidad de siembra: Equivalente a 150 plantas/m²
- Fertilización: 40 kg/ha FDA a la siembra
- Precipitaciones durante el barbecho: Enero 110 mm, febrero 108 mm, marzo 69 mm, abril 73, mayo 43 mm. Total de Barbecho 403 mm

- Precipitaciones pos-siembra: Junio 4,3 mm, Julio 24 mm, Agosto 36 mm; Septiembre 4 mm; Octubre 67,3 mm; Noviembre 45 mm y Diciembre 32 mm
Total anual: 615,6 mm.

Diseño de la experiencia

Se compararon 2 tratamientos para evaluar la residualidad del *Azospirillum*: a) Suelo con residualidad (R) y b) Suelo sin residualidad (SR). La parcela R fue ubicada en el mismo sitio donde fuera sembrada con semilla inoculada con *Azospirillum* (durante los 4 años precedentes) y con corresponde a una superficie de 8 ha. A ambos lados de este sector, se ubicaron dos parcelas SR. Se dispusieron 14 sitios geo-referenciados a lo largo del sector R, con otros 24 sitios en SR que funcionan como testigos. La experiencia abarca 4 de las 5 unidades de suelos descriptas, de forma que las comparaciones se pueden realizar entre R y SR en todo el lote o por unidad cartográfica, es decir, por calidad de suelo.

VARIABLES DEL CULTIVO ANALIZADAS

En madurez fisiológica del cultivo se realizó la recolección de las 38 muestras en forma manual, cortando el material de 2 m lineales de surcos separados a 0.175 m (superficie cosechada de 0,35 m²). Las variables analizadas incluyen:

- Biomasa aérea
 - Números de espigas
 - Granos/espigas
 - Peso de 1000 semillas
 - Rendimiento de grano
 - Peso hectolítrico
 - Índice de cosecha
- Biomasa aérea: Corresponde al peso de la muestra de trigo cosechada, sin malezas ni cuerpo que no sean propios de la planta en cuestión. El peso obtenido en la balanza corresponde al material vegetal y grano expresado en kg/ha (n=38).

- Numero de espigas: Se contabilizo la totalidad de espigas que conformaron las muestras cosechadas en cada punto de muestreo, una vez obtenido el valor se procedió a expresarlo como espigas/m².
- Granos por espiga: Para establecer este parámetro, se tomaron 10 espigas por muestra y se contabilizo el total de los granos presentes en cada espiga, calculando el promedio de las mismas.
- Peso de 1000 semillas: Para obtener este valor, se tomaron de las 38 muestras cosechadas 10 sub-muestras de 100 granos y se pesaron en una balanza de precisión, extrapolando dicho peso a 1000 granos.
- Rendimiento de grano: Se procedió a la trilla de cada muestra para obtener el rendimiento en grano, la misma fue realizada con una trilladora eléctrica experimental perteneciente al Departamento de Agronomía. El rendimiento se expresa en kg/ha.
- Peso hectolítrico: Este parámetro de calidad se determinó usando la balanza de Schopper.
- Índice de Cosecha: Este valor corresponde a la relación rendimiento de grano/biomasa aérea.

ANALISIS ESTADISTICO

De las variables analizadas se calcularon medidas de centralización (media, mediana), dispersión (desvío estándar, coeficiente de variación) y de posición (cuartiles 1 y 3, percentiles 10 y 90). Para el análisis de la varianza se utilizó un diseño completamente apareado, comparando tratamientos (R vs SR). Cuando se detectaron diferencias las medias fueron examinadas por diferencias mínimas significativas (DMS) al 5%. Se realizaron correlaciones lineales entre variables de cultivo, estableciendo ecuación de la recta, valor del coeficiente de determinación (r^2) y ajuste del modelo por residuales para los casos analizados (Di Rienzo *et al.*, 2013).

RESULTADO Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan las medidas de centralización, dispersión y posición para las distintas variables analizadas en estado de madurez fisiológica en función del tratamiento.

Tratamiento	Variable	n	Media	DE	CV	Mna.	Q1	Q3	P(10)	P(90)
R	IC	15	0,35	0,03	9,53	0,36	0,33	0,38	0,29	0,39
SR	IC	25	0,35	0,03	8,64	0,36	0,33	0,37	0,31	0,39
R	PH	15	85,4	1,7	2,00	85,1	84,1	86,9	83,2	87,9
SR	PH	25	85,8	3,9	4,49	84,9	84,1	86,2	83,6	87,6
R	P1000	15	27,1	4,4	16,3	27,7	24,7	31,1	18,6	32,1
SR	P1000	25	27,41	3,6	13,3	28,6	25,8	30,1	22,3	31,3
R	Gr.esp ⁻¹	15	33,21	4,1	12,3	33,5	32,0	35,8	30,1	37,0
SR	Gr.esp ⁻¹	25	34,5	4,1	11,9	35,2	32,8	37,6	29,3	39,0
R	Nº esp.	15	462	73	16	474	394	511	351	551
SR	Nº esp.	25	440	63	14	448	397	488	351	520
R	BA	15	11541	2069	17,9	11390	10067	12666	8650	13615
SR	BA	25	10677	2042	19,1	10357	9431	11751	8500	13298
R	Rinde	15	4087	916	22,4	4064	3712	4512	2850	5302
SR	Rinde	25	3763	860	22,8	3661	3236	4040	2934	4926

Tabla 1: Medidas de centralización y dispersión para las distintas variables analizadas sin considerar tipos de de suelo.

Los valores medios de las variables no muestran diferencias en IC, PH y P1000. SR supera a R en número de granos por espiga, mientras que R presenta una mejora en Nº espigas por m², BA y rendimiento en grano, con aumentos medios de 22 espigas, 864 kg y 324 kg para dichas variables. Los valores de dispersión muestran que el cultivo presenta menor variabilidad en R, dado que los CV son similares para los dos tratamientos, con menor cantidad de réplicas en residualidad.

Respuesta de los parámetros de rendimiento a la residualidad del inoculante

Biomasa aérea en madurez fisiológica:

Cuadro de Analisis de la varianza

BA Kg/Ha

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
BA Kg/Ha	38	0,10	0,07	17,04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	13679435,85	1	13679435,85	3,96	0,0543
Tratamiento	13679435,85	1	13679435,85	3,96	0,0543
Error	124436023,00	36	3456556,19		
Total	138115458,84	37			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1268,03732

Error: 3456556,1944 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
NT	10451,00	24	379,50 A
T	11694,82	14	496,89 A

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

Se observa un incremento en la materia seca total por efecto de la residualidad que presenta el *Azospirillum*, con una probabilidad de error menor al 5% ($p < 0,05$). La diferencia fue de 1244 Kg/ha, equivalente a un incremento de 11,9 % en biomasa aérea en R respecto a SR. Ajís Blasco (2014) obtuvo un aumento significativo a favor de la inoculación, con incremento del 16,7% en biomasa aérea.

Al realizar la comparación por tipo de suelo (Figura 4) se puede observar cambios a favor de R en los tres casos comparados. En el suelo 3 (Haplustol típico franco fino, térmico fase salino-sódica en profundidad entre 80 y 100 cm, índice de productividad IP= 0,60) se observa un incremento de 1495 kg/ha, en el suelo 4 (Haplustol típico franco fino, térmico, no salino no sódico, IP= 0,65) un aumento de 608 kg/ha y en el suelo 5 (Haplustol típico franco fino, térmico fase salino sódica a 60 cm de profundidad, IP= 0,55) un incremento de 2017 kg/ha.

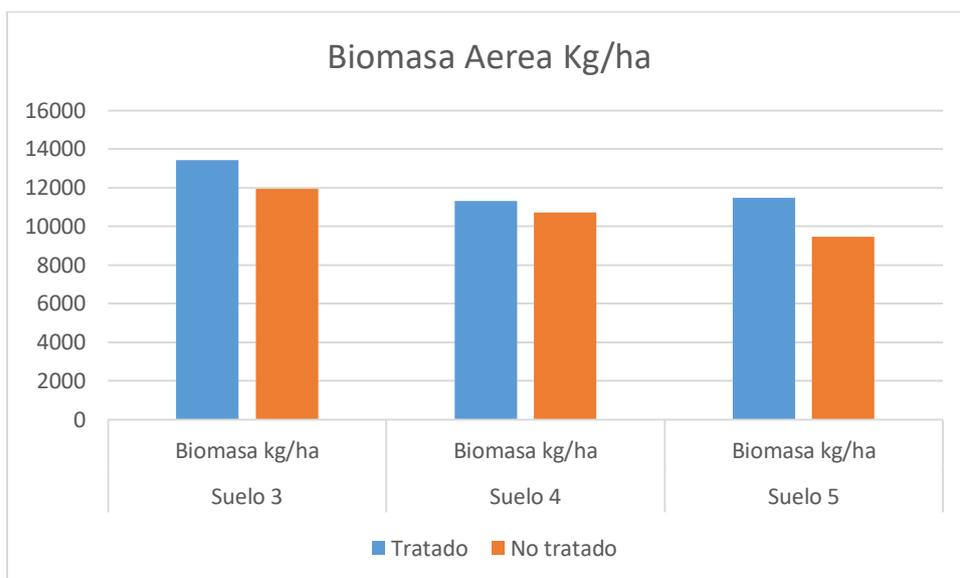


Figura 4: Comparación de la media de Biomasa aérea en madurez fisiológica entre tratamiento y testigo para distintos suelos.

N^a de espigas/m²:

Análisis de la varianza

N° Espigas/m2

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
N° Espigas/m2	38	0,06	0,04	14,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10015,96	1	10015,96	2,47	0,1250
Tratamiento	10015,96	1	10015,96	2,47	0,1250
Error	146133,77	36	4059,27		
Total	156149,73	37			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=43,45445

Error: 4059,2714 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

NT	436,55	24	13,01	A
T	470,20	14	17,03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

No se han detectado diferencias significativas por la residualidad del *Azospirillum* ($p > 0,12$) en el número de espigas. El aumento de 34 espigas/m² en R no puede atribuirse, en este caso, a la residualidad de *Azospirillum*. Ajís Blasco (2014) encontró diferencias entre ambos tratamientos a favor del inoculado, obteniendo una media de 435,44 espigas/m² con incremento de 18 espigas

El comportamiento por tipo de suelo indica que el suelo 5 (IP más bajo) muestra un aumento de 44 espigas/m² en R. En el suelo 4 un leve aumento de 2 espigas/m² mientras que en el suelo 3 un aumento de 41 espigas/m².

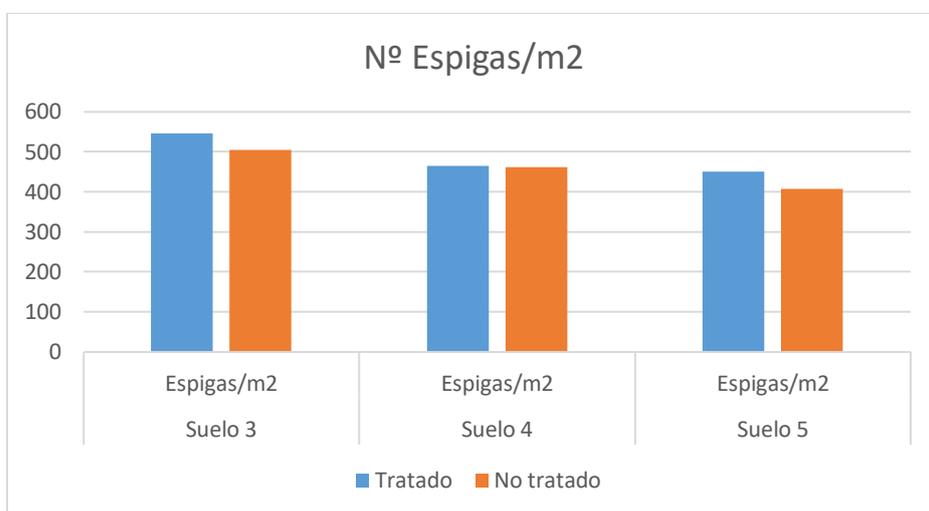


Figura 5: Comparación de la media de espiga por metro cuadrado entre tratamiento y testigo en distintos suelos

Granos por espigas:

Análisis de la varianza

Grano por espiga

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Grano por espiga	38	0,01	0,00	12,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8,73	1	8,73	0,51	0,4814
Tratamiento	8,73	1	8,73	0,51	0,4814
Error	620,62	36	17,24		
Total	629,35	37			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,83186

Error: 17,2395 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

T 33,44 14 1,11 A

NT 34,43 24 0,85 A

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

No se han encontrado diferencias significativas por la residualidad entre tratamientos ($p > 0,05$). En promedio los suelos que no fueron tratados presentan un aumento de 1 grano/espiga. En la tesina realizada por Ajís Blasco (2014) no se observaron diferencias entre tratamientos, con un promedio de 26 granos/espigas. No se observan diferencias en granos/espigas para los distintos tipos de suelos (Figura 6).

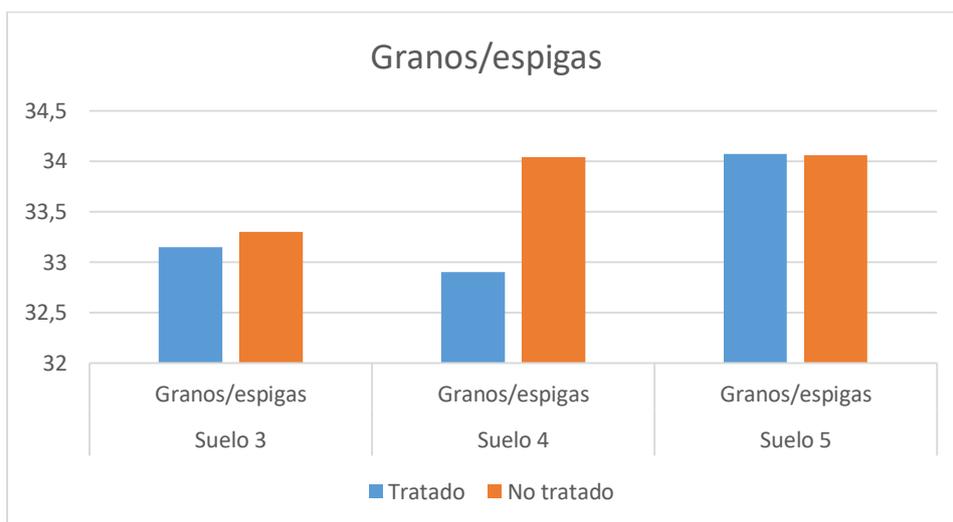


Figura 6: Comparación de la media de nº de granos por espiga entre tratamiento y testigo en distintos suelos.

Peso de 1000 semillas:

Análisis de la varianza

P1000

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
P1000	38	2,3E-03	0,00	14,34

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,26	1	1,26	0,08	0,7735
Tratamiento	1,26	1	1,26	0,08	0,7735
Error	540,80	36	15,02		
Total	542,06	37			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,64349

Error: 15,0222 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T	26,79	14	1,04 A
NT	27,17	24	0,79 A

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

No se han encontrado diferencias entre tratamientos ($P > 0,77$). Ajís Blasco (2014) no encontró diferencias entre ambos tratamientos, obteniendo una media de 33 gramos para 1000 semillas, es decir, 6 gramos más al presente trabajo. El comportamiento según tipo de suelo ha variable (Figura 7).

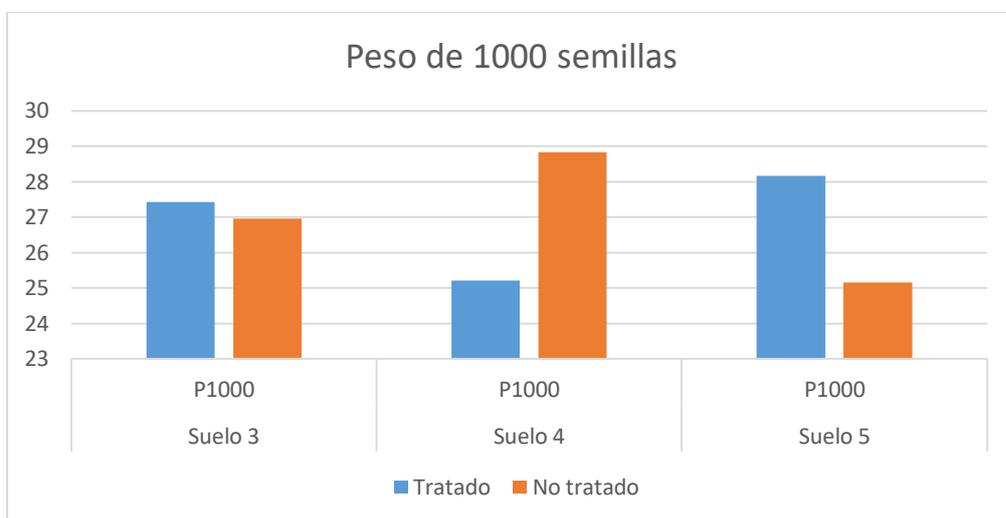


Figura 7: Comparación de la media del peso de 1000 semillas entre tratamiento y testigo en distintos suelos.

Rendimiento en grano (kg/ha):

Análisis de la varianza

Rinde Kg/Ha

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Rinde Kg/Ha	38	0,12	0,09	19,05

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2596449,07	1	2596449,07	4,83	0,0344
Tratamiento	2596449,07	1	2596449,07	4,83	0,0344
Error	19334721,28	36	537075,59		
Total	21931170,35	37			

Test: LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=499,83646

Error: 537075,5911 gl: 36

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
NT	3648,05	24	149,59	A
T	4189,94	14	195,86	B

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

Se observa un efecto de aumento en el rendimiento por la residualidad que presenta el uso de inoculante ($p < 0,03$), el incremento fue de 542 kg/ha, indicando un aumento de 15 % respecto al testigo. Ajís Blasco (2014) observó un aumento de rendimientos a favor de las semillas inoculadas con *Azospirillum brasilense*, obteniendo un incremento de 426 kg/ha (14,8 %) sobre el testigo. Bravo et. al (2014) realizó un ensayo de 3 años en el que obtuvo diferencia media de 200 kg/ha a favor del tratamiento, equivalente a un 8 % de incremento. Baltian (2017) informa incrementos de 210 kg/ha del material inoculado respecto a semillas sin tratar, equivalente al 16 % sobre el testigo en un año con lluvias reducidas. Por otro lado Decandia (2018) ha observado un incremento del 10 % (160 kg/ha) respecto al testigo.

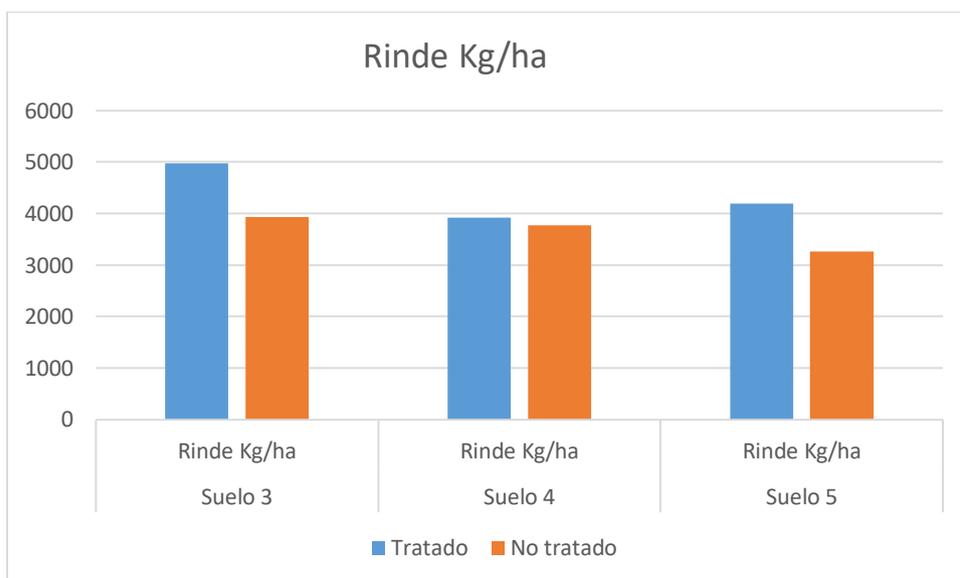


Figura 8: Comparación de la media de rendimiento entre tratamiento y testigo en distintos suelos.

Se aprecia un incremento para los 3 tipos de suelo; en el suelo 3 se observa un aumento de 1045 kg/ha, en el suelo 4 y 5 un incremento de 150 kg/ha y 930 kg/ha, respectivamente.

La distribución de rendimientos es asimétrica negativa en SR y es simétrica en R. En R hay un 40 % de probabilidad de alcanzar los 4000 kg/ha de rendimiento. En SR lo más probable (48 %) es obtener un rinde medio de 2900 kg/ha.

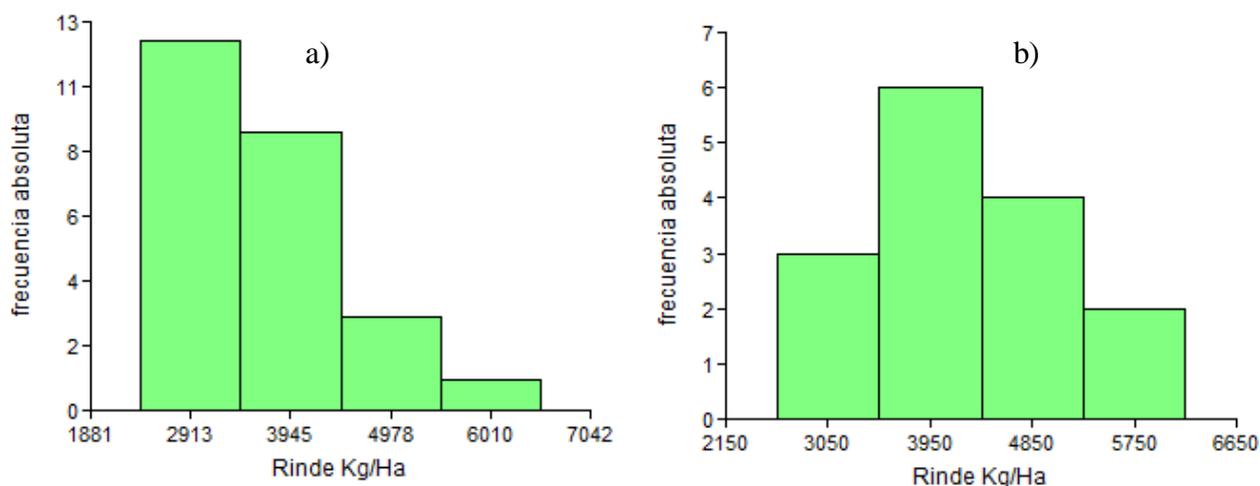


Figura 9: Distribución del rendimiento en a) SR y en b) R.

En R hay mayores probabilidades de alcanzar un cultivo de altos rendimientos.

Peso hectolítrico:

Análisis de la varianza

PH

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PH	38	0,01	0,00	1,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,75	1	0,75	0,29	0,5948
Tratamiento	0,75	1	0,75	0,29	0,5948
Error	93,58	36	2,60		
Total	94,33	37			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,09965

Error: 2,5995 gl: 36

Tratamiento Medias n E.E.

NT 85,21 24 0,33 A

T 85,50 14 0,43 A

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

No se observan diferencias significativas entre R y SR ($p > 0,59$). El PH es una variable que no responde al manejo del cultivo, tiene relación directa con la genética de la semilla utilizada.

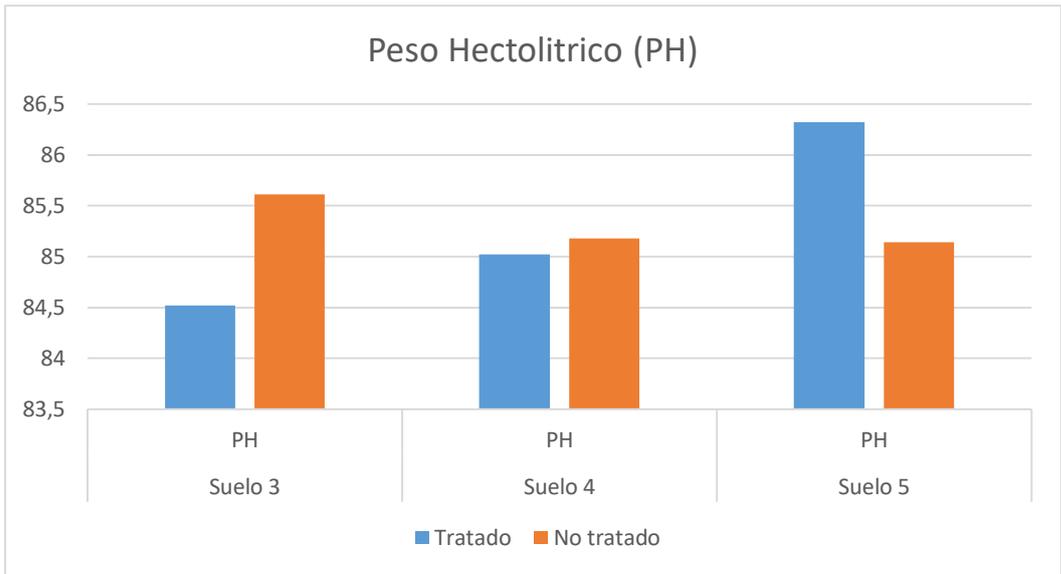


Figura 10: Comparación de la medias del peso hectolítrico entre tratamiento y testigo en distintos suelos.

Como puede observarse en el suelo 3 se ve una tendencia positiva para SR, contrario a lo que sucede en el suelo 5.

Correlación entre las variables del cultivo

Rendimiento vs número de espigas durante madurez fisiológica

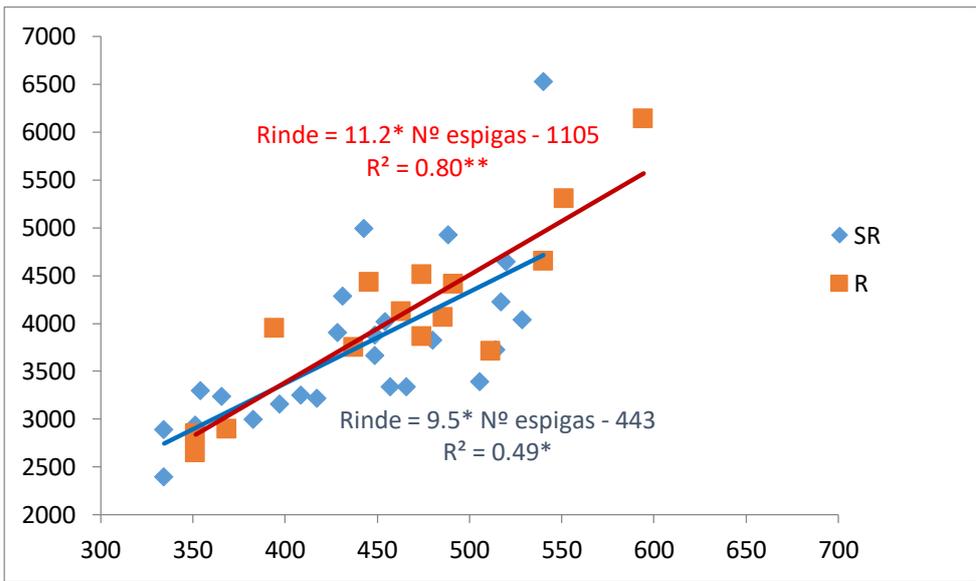


Figura 11: Correlación entre Rendimiento y número de espigas de los distintos puntos de muestreo.

La correlación entre rendimiento y espigas m^{-2} tiene un índice mayor en R respecto a SR (0,90 vs 0,70 respectivamente). Para alcanzar un rendimiento potencial de 4000 kg ha^{-1} sería necesario lograr 450 espigas/ m^2 en R y 470 espigas/ m^2 en SR aumentando las probabilidades de mejorar el rendimiento en el sector donde previamente se utilizaron semillas inoculadas con *Azospirillum*.

Biomasa aérea vs. número de espigas durante madurez fisiológica

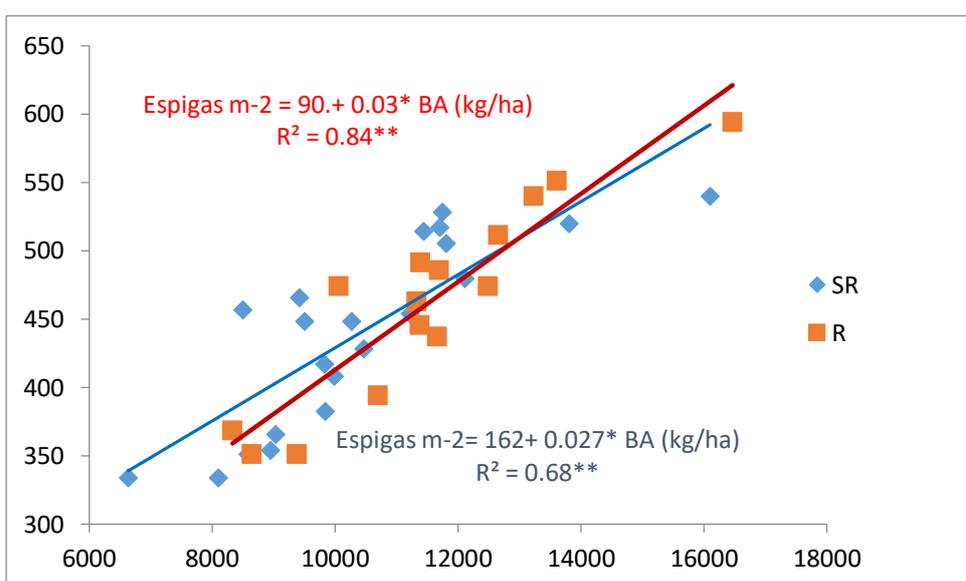


Figura 12: Correlación entre biomasa aérea y número de espigas en los dos tratamientos comparados.

Elevados niveles de BA presentan buena correlación con la cantidad de espigas. La biomasa explica el 84 % del número de espigas en R, mientras que en SR se alcanza un coeficiente de determinación menor e igual al 68 %. Similares resultados son presentados por Ajís Blasco (2014), quien analizando las mismas variables alcanza un coeficiente del 71 %, en un año con mayor disponibilidad hídrica al aquí presentado. A partir de las ecuaciones podemos establecer que por cada Mg de BA se pueden alcanzar entre 30 (este trabajo) y 37 espigas (Ajís Blasco, 2014). De tal forma, para alcanzar un valor potencial

de 450 espigas m^{-2} sería necesario llegar al final del cultivo con una BA de 12000 $kg\ ha^{-1}$.

Biomasa aérea vs. rendimiento durante madurez fisiológica

La BA presenta una alta correlación ($r= 0,91$, $p< 0,01$, $n= 0,91$) con el rendimiento tomando el total de los datos (independientemente del tratamiento). Al considerar el tratamiento (R y SR) las rectas de regresión presentan pendientes similares con diferencias en las ordenadas al origen (Figura 11).

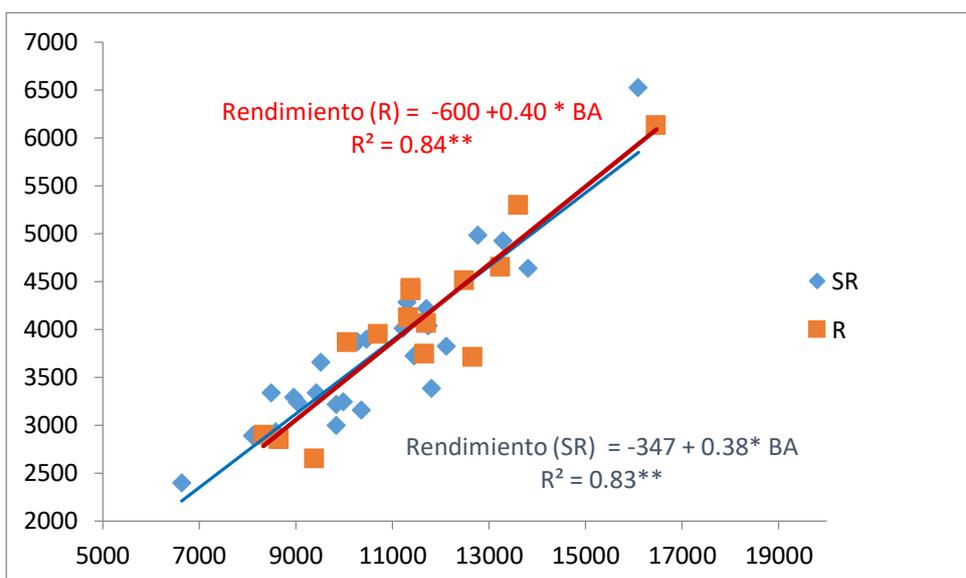


Figura 13: Correlación entre Biomasa aérea y rendimiento de los dos tratamientos comparados.

Elevadas BA aseguran elevados rendimientos. Si aspiramos a 4 $Mg\ ha^{-1}$ se necesitan 12000 $kg\ ha^{-1}$ tanto en R como SR. La variable BA explica el 84 % de la variabilidad del rendimiento, con adecuado ajuste del modelo.

CONCLUSIONES

El efecto que produce la residualidad de *Azospirillum brasilense* sobre la producción de trigo bajo un sistema de siembra directa en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires es positivo. Los parámetros que lo demuestran son.

- La biomasa aérea en madurez presenta un aumento a favor del tratamiento R, con incremento del 11% ($p < 0,05$).
- El rendimiento en grano presentó un aumento de 542 kg ha⁻¹ a favor del tratamiento R, un 15 % superior al testigo.
- Número de espigas, no hubo manifestaciones estadísticamente significativas a favor del tratamiento, si se observó un incremento de 34 espigas m⁻² a favor del tratado.
- No se apreciaron aumentos significativos para las variables P1000. PH, IC y granos espiga⁻¹, aunque puede manifestarse una tendencia al aumento en la condición R. Esta respuesta es aleatoria al analizar los tratamientos en función de la calidad de los suelos.
- Podemos indicar por R una mejora en N^o espigas m⁻², biomasa aérea y rendimiento en grano, con aumentos medios de 22 espigas, 864 kg y 324 kg respecto a SR.
- Las medidas de dispersión muestran menor variabilidad en R, expresando una mayor estabilidad de rendimientos por el uso del bioinsumo. En R es muy probable (40 %) alcanzan rendimientos de 4000 kg ha⁻¹, mientras que en SR la mayor probabilidad (48 %) corresponde a rindes de 2900 kg ha⁻¹.

Estos resultados sugieren que el repetido uso de *Azospirillum* puede ser una tecnología que favorezca la sustentabilidad en la producción de trigo, obteniendo efectos benéficos aún en aquellos años en los que no se realice la inoculación de semillas.

BIBLIOGRAFIA

- Aguirre-Medina, J.F. 2008. Biofertilizantes microbianos: antecedentes del programa y resultados de validación en México. In: *La biofertilización como tecnología sostenible*. Díaz-Franco, A. y Mayek-Pérez, N. (eds). Plaza y Valdéz, México.
- Ajis Blasco, J. 2016. Producción de Trigo inoculado con *Azospirillum brasilense* en Distintos tipos de Suelo. Trabajo de intensificación, Dpto. Agronomía BXC, UNS
- Ahlgren S., Baky A., Bernesson S., Nordberg Å., Norén O. & P Hansson. 2008. Ammoniumnitratefertiliserproductionbasedonbiomass-Environmentaleffectsfrom a lifecycleperspective. *Biores. Technol.* 99:8034-8041.
- Baltian, M. 2017. Productividad de Trigo inoculado con *Azospirillum brasilense* en el Sudoeste Bonaerense
- Bashan Y. 1998. Inoculants of plantgrowth-promoting bacteria for use inagriculture. *BiotechnologyAdvances*, 16 (4): 729-770.
- Ben Dekhil S, Cahill M, Stackebrandt E, Sly LI. (1997). Transfer of Conglomeromonaslargomobilissubsp. largomobilistothe genus *Azospirillum* as *Azospirillum largimobile* comb. nov., and elevation of *Conglomeromonaslargomobilissubsp. parooensis* to the new typespecies of *Conglomeromonas*, *Conglomeromonasparooensis* sp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 20: 72-77.
- Bravo O, Cavallaro A & N Amiotti. 2016. Utilización de áreas modelos para la cartografía de suelos en el Partido de Bahía Blanca. Libro digital XXV CACS, Rio IV, Córdoba. 18 p.
- Burgos, J.J. 1963. Las Heladas en la Argentina. Colección Científica del INTA. Buenos Aires. Argentina
- Campos A. y Gigoux F. 2009. Estudio comparativo entre dos suelos de geofomas diferentes del Valle del arroyo Saladillo Dulce (Predio Napostá). Trabajo final Técnico Superior Agrario en Suelos y Aguas. Universidad Nacional del Sur. 64 pp.
- Cangahuala-Inocente GC, do Amaral FP, Faleiro AC, Huergo LF, Arisi ACM. 2013. Identification of six differentially accumulated proteins of *Zea mays* seedlings (DKB240 variety) inoculated with *Azospirillum brasilense* strain FP2. *Eur. J. Soil Biol.* 58:45-50.

- Canto MJC, Medina PS, Morales AD. 2004. *Efecto de la inoculación con Azospirillum sp. en plantas de chile habanero (Capsicum chinense Jacquin)*. *Trop. Subtrop Agroecosys*. 4: 21-27.
- Castro M. E. y Egea V. 2006. Propiedades de los suelos de un campo de la Universidad Nacional del Sur en Napostá. Trabajo final Técnico Superior Agrario en Suelos y Aguas. Universidad Nacional del Sur. 63 pp
- Chamam A, Sanguin H, Bellvert F, Meiffren G, Comte G, Wisniewski-Dyé FI, Bertrand C, Prigent-Combaret C. 2013. Plant secondary metabolite profiling evidences strain-dependent effect in the *Azospirillum–Oryza sativa* association. *Phytochemistry*. 87: 65-77.
- Di Rienzo, JA; F Casanoves; MG Balzarini; L Gonzalez; M Tablada & CW Robledo. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Donnari, M. A y L. Torre, 1974. Análisis de algunos aspectos del clima de Bahía Blanca. Departamento de Geografía. Universidad Nacional del sur, Bahía Blanca, 32p.
- Eckert B, Weber OB, Kirchhof G, Halbritter A, Stoffels M, Hartmann, A. 2001. *Azospirillum doebereinae* sp. nov., a nitrogenfixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* 51: 17-26.
- Forte, R. Aplicación de GIS en la elaboración de mapas de propiedades edáficas a nivel predio. Trabajo de intensificación, Dpto. Agronomía UNS. 52 P.
- Garza, M. &. (2003). Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la región central de México. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 213-225.
- González Elizarraraz E., G. Edith Sarmiento Pérez. 2014. Biofertilizantes. Recuperado el 12 de noviembre del 2014, de <http://biofertilizantes.mx/index.html>.
- Gunarto I, Adachi K, Senboku T. 1999. Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. from a subtropical island and effect of inoculation on growth of lowland rice under several levels of N application. *Biol. Fertil. Soils* 28: 129-135.
- Hadas R, Okon Y. 1987. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. *Biol. Fertil. Soils*. 5: 241-247.
- Helman Y, Burdman S, Okon Y. 2011. Plant growth promotion by rhizosphere bacteria through direct effects. In Rosenberg E, Gophna U (eds.), *Beneficial Microorganisms in Multicellular Life Form*. pp. 89-103. Heidelberg: Springer.

- Jain DK, Patriquin DG. 1984. Root hair deformation, bacterial attachment, and plant growth in wheat-*Azospirillum* associations. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 1208-13.
- Kapulnik Y, Okon Y, Henis Y. 1985. Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. *Can. J. Microbiol.* 31: 881-887.
- Khammas KM, Ageron E, Grimont PAD, Kaiser, P. 1989. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. *Res. Microbiol.* 140: 679-693.
- LABZA.COM.AR. Sin Fecha. ¿QUÉ ES UN INOCULANTE? En línea. Consultado el 30 de marzo de 2012. Disponible en <http://www.labza.com.ar/descargas/Inoculantes.pdf>.
- Magalhães FM, Baldani JI, Souto M, Kuykendall JR, Dobereiner J. 1983. A new acid tolerant *Azospirillum* species. *Ann. Acad. Bras. Cienc.* 55: 417-430.
- Mehnaz S, Weselowski B, Lazarovits G. 2007. *Azospirillum zeae* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from rhizosphere soil of *Zea mays*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57:2805-2809.
- Mormeneo, I. y Diaz, R. 2003. Método para clasificar la anomalía de las lluvias. *Rev. Brasileira de Agrometeorologia, Santa María, BRASIL.* V.11, n1: 159-167.
- Obaton M., Manual Técnico de la Fijación Simbiótica del Nitrógeno Rhizobium/leguminosa. 1995. Información General sobre la simbiosis fijadora de Nitrógeno Rhizobium/leguminosa. Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. p. 1 - 6.
- Patriquin DG, Döbereiner J, Jain DK. 1983. Sites and processes of association between diazotrophs and grasses. *Can. J. Microbiol.* 29: 900-15.
- Pelletier, N., Audsley, E., Brodt, S., Garnett, T., Henriksson, P., Kendall, A., Kramer, K.J., Murphy, D., Nemecek, T. and Troell, M. 2011. Energy intensity of agriculture and food systems. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 36:223-246.
- Peng G, Wang H, Zhang G, Hou W, Liu Y, Wang, ET, Tan Z. 2006. *Azospirillum melini* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56: 1263-1271.
- Reinhold B, Hurek T, Fendrik I, Pot B, Gillis M, Kersters K, Thielemans S, De Ley J. 1987. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-

fixingorganismassociatedwithroots of Kallargrass (Leptochloa fusca (L.) Kunth).
Int. J. Syst. Bacteriol. 37:43-51.

Saubidet MI, Fatta N, Barneix AJ. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant Soil.* 245:215–22.

Soil Survey Staff. 2014. Key to Soil Taxonomy. USDA-NRCS. Twelfth Edition, 360 pp.

Stephens J. y RASK H. 2000. Inoculant production and formulation. *Field Crops Res.*, 65, 249 – 258.

Tarrand JJ, Krieg NR, Döbereiner J. 1978. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group with descriptions of a new genus *Azospirillum* gen. nov. and two species *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. *Can. J. Microbiol.* 24: 967-80.

Vincent M. 1970. A Manual for the Practical Study of Root-Nodule Bacteria. I.B.P. Handbook N° 15, Oxford. Blackwell Scientific Publications 164 p

Xie C-H, Yokota A. 2005. *Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 1435-1438.

Young CC, Hupfer H, Siering C, Ho M-J, Arun AB, Lai W-A, Rekha PD, Shen F-T, Hung M-H, Chen W-M, Yassin AF. 2008. *Azospirillum rugosum* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 959-963.