



EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA A GRAMINOSOIL – L (*Azospirillum brasilense*) EN SORGO (2006-07)

Trabajo financiado por:
LAGE y Cía. S.A.



Ing. Agr. Sebastian Mazzilli
Ing. Agr. Esteban Hoffman
Bach. Pablo Mesa

Departamento de
Investigación y Desarrollo.



Investigación y
Desarrollo



EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA AL USO DE GRAMINOSOIL – L (*Azospirillum brasilense*), perteneciente a LAGE & CÍA. S.A., EN SORGO.

Mazzilli, S¹; Hoffman, E; Mesa. P.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La utilización de fertilizantes biológicos aplicados a la semilla es una práctica que está siendo cada vez más estudiada y puesta en práctica por los productores. Diversos trabajos han reportado resultados promisorios cuando la fertilización química fue complementada por la adición de microorganismos que producen una mejora del estado fisiológico del cultivo y facilitan la disponibilidad de nutrientes. Okon y Labandera González (1994) mencionan una estimulación en el crecimiento de raíces, que aumentarían su longitud, densidad y velocidad de crecimiento. También se promovería la producción de auxinas, lo cual incrementaría la tasa de crecimiento aéreo (incrementando la dominancia apical) y estimulando la ramificación a nivel radicular. Esto se vería reflejado en una mayor absorción de agua y nutrientes. También es abundante la información que apunta a fitohormonas como el AIA como responsable de la respuesta, cuando es descartada la vía de más nutrientes absorbidos (Caballero-Mellado, J. 2002).

Los efectos sobre las plantas, como resultado de la inoculación con *Azospirillum* se producen en los estadios iniciales de crecimiento, en las primeras semanas después de la colonización radicular (Fallik *et al.*, 1994). La información en la actualidad es muy abundante, incrementándose el volumen de trabajos de enfoque tecnológico en donde se estudia la respuesta vegetal en cultivos de interés comercial, en interacciones con otras variables de manejo. Este es el caso de un gran número de experimentos en los que se analiza la interacción en Maíz y Trigo entre la inoculación con *Azospirillum* y la respuesta al agregado de N. Si bien muchos de estos trabajos reportan posibilidad del ahorro de fertilizantes (40 a 50%) (Caballero, 2002), es también muy abundante y consistente aquella en la cual se observan efectos aditivos (en forma independiente del agregado de nutrientes) (Díaz Zorita *et al.* 2006).

La magnitud de la respuesta encontrada a bajas dosis de N, no es la esperada y la tendencia en muchos reportes es la contraria, evidenciando una amplificación de la respuesta bajo condiciones de incremento de potencial (Díaz Zorita *et al.* 2006). Más allá de los beneficios asociados a la mejora en el status nutricional (en este caso N), se evidencia un mayor grado de consenso en cuanto a que el único mecanismo asociado a la mejora, no es la fijación biológica o aporte extra de N. Esto coincide con los resultados encontrados para los dos primeros años de trabajo de Unicampo Uruguay con Lage y Cía. en maíz. Los resultados obtenidos durante la zafra 2005-06 y 2006-07, fueron independientes de la respuesta al agregado de N en V₆, y si bien los trabajos no permiten profundizar en las bases de las diferencias a favor del cultivo inoculado con *Azospirillum* de alguna manera esta mejora podría estar relacionada al mejor uso del agua durante el ciclo del cultivo y/o a la posibilidad de expresión de mayores tasas de crecimiento.

¹ Integrantes Equipo Técnico de Unicampo Uruguay

Este trabajo estudia, a diferencia de los trabajos conducidos hasta la fecha por Unicampo Uruguay, la respuesta en el cultivo de sorgo para el cual existe muy poca información a nivel regional.

OBJETIVOS DEL TRABAJO

Los objetivos del trabajo son evaluar la respuesta de *Azospirillum* en términos de:

- Producción de biomasa radicular y aérea.
- Eficiencia de utilización de nitrógeno aplicado y/o nitrógeno adicional.
- Rendimiento en el cultivo de sorgo y bases de respuesta.

MATERIALES Y MÉTODOS

1- Instalación del ensayo

El ensayo fue instalado en el campo experimental de Unicampo Uruguay SRL. El sitio en donde se instala el ensayo tiene una larga historia agrícola, además de su baja fertilidad natural (< 1.0 % de MOS). Este fue el principal criterio de selección del ambiente experimental, ya que era esperable poco aporte de nitrógeno por parte del suelo, lo que permitiría explorar mejor la interacción inoculación con *Azospirillum* - N.

A continuación se presenta un resumen del manejo del cultivo de sorgo en el experimento.

Cuadro 1. Características del sitio experimental y manejo del cultivo.

Formación	Cretácico
Textura	Franco-arcilloso
Sist. Laboreo	Siembra Directa
Antecesor	Girasol/BQ
Híbrido	SPS 9322
Fecha Siembra	14 de Noviembre del 2006
Herbicida PRE (l/ha)	4 Atrazina
P inicial (ppm)	3
N-NO ₃ inicial (ppm)	6
K inicial (meq/100g)	0.25
Fert Base (kg/ha)	200 Kg 0-21-23-0 + 60 Kg 46-0-0 + 60 Kg KCl

2- Diseño experimental

El diseño utilizado es de parcelas divididas al azar con tres repeticiones. Se sembraron 6 parcelas mayores al azar (3 con *Azospirillum* y 3 sin *Azospirillum*) y dentro de cada una de las parcelas mayores se instalaron los diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada a V₇₋₈ (0, 30 y 60 kg de N.ha⁻¹, en base a urea).

3- Tratamientos

- Las parcelas mayores fueron sembradas con la fertilización nitrogenada y fosfatada (que surge del análisis de suelo) con los mismos criterios con los cuales se maneja el cultivo a nivel comercial. Se usó 0-21-23-0/5 y KCl de

forma de corregir cualquier problema de azufre y potasio que existiese y pudiera incidir en los resultados.

- Las semillas de las parcelas con *Azospirillum* (AZO) fueron inoculadas con 2.7 lt. de Graminsoil –L, cada 100 Kg. de semilla
- Los tratamientos de nitrógeno fueron realizados en el estadio V₇₋₈, y se evaluaron tres diferentes niveles de fertilización (0, 30 y 60 unidades de nitrógeno).
- El cultivo se mantuvo libre de plagas y enfermedades sin necesidad de intervención.

4- Determinaciones

Siembra

- N-NO₃ en suelo (0-20 cm).
- P en suelo Bray I (0-20 cm).
- K en suelo meq. K/100 g

Estadio V₇₋₈

- N-NO₃ en suelo (0-20 cm).
- Acumulación de materia seca en parte aérea.
- Acumulación de materia seca de raíces.
- % N en parte aérea.
- N° de plantas.ha⁻¹.

Floración

- Acumulación de materia seca en parte aérea.
- % N en parte aérea.

Cosecha

- Acumulación de materia seca en parte aérea.
- % N en parte aérea (paja y grano).
- Rendimiento en grano y componentes del rendimiento.

RESULTADOS Y DISCUSION

5- Caracterización climática del año.

A continuación se presentan las características climáticas que definieron el ambiente en el que se desarrolló el cultivo en el verano 2006-07.

En la siguiente figura es posible observar que las precipitaciones registradas durante la mayor parte del periodo (766 mm), resultaron ser un 32% superior a la media histórica regional.

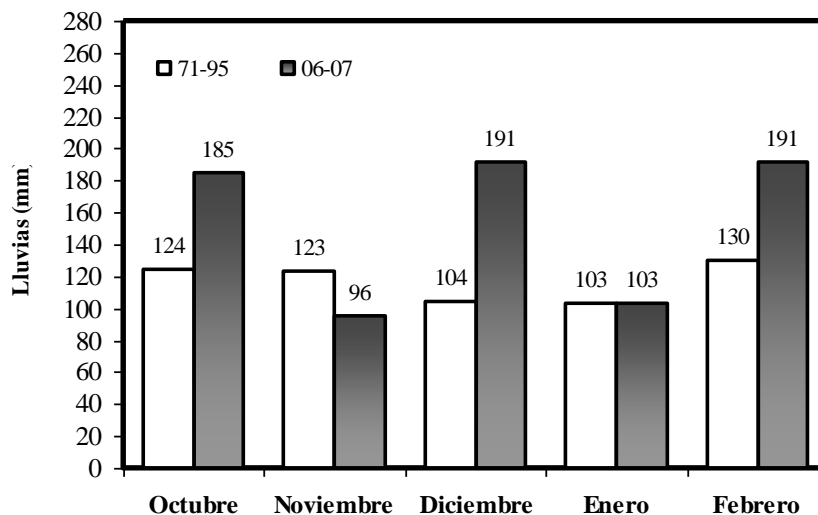


Figura 1. Precipitaciones ocurridas durante el ciclo del cultivo en comparación con la serie histórica para la localidad (1971-1995) (fecha de siembra 14 de Noviembre), para el año 2006-07.

En lo referente a la temperatura, no existieron sesgos importantes en los valores de los meses siguientes a la siembra en comparación a la media histórica regional.

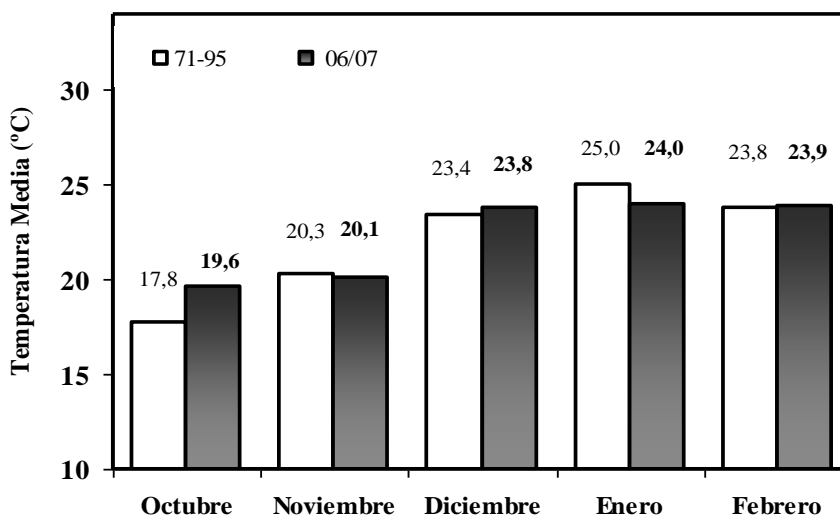
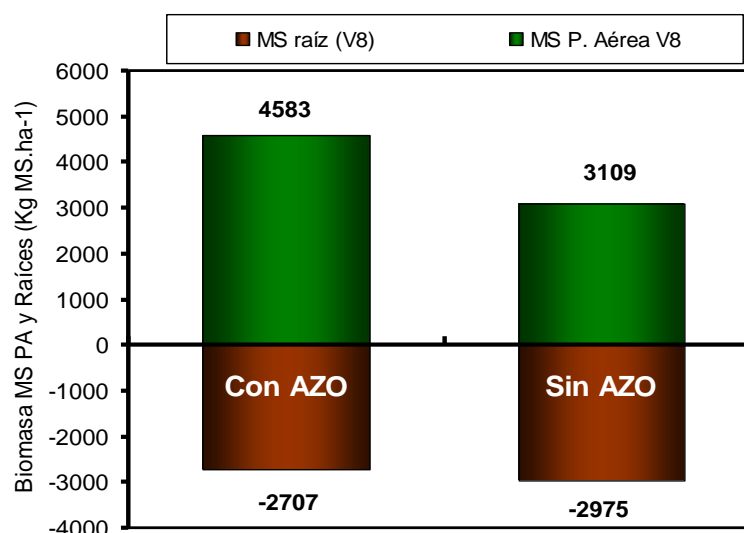


Figura 2. Temperatura media durante el ciclo del cultivo en comparación con la serie histórica para la localidad (1971-1995).

En resumen, el cultivo se enfrentó a excelentes condiciones hídricas del año, sin extremos de temperatura, en marcado contraste con el primer año de trabajo en el caso de Maíz.

6- Producción de biomasa.

Tal como fue comentado en la revisión, una de las ventajas que tendría la inoculación con *Azospirillum* sería el aumento en la biomasa de raíces y parte aérea. A continuación se presenta la acumulación de materia seca aérea y de raíces en el estadio V₈ a los 51 días pos-siembra.



	Con Azospirillum	Sin Azospirillum	Dif (%)
Biomasa de P. aérea a V ₈ (kg MS.ha ⁻¹) (p<0.0003)	4583 a	3109 b	47,4
Biomasa de raíces a V ₈ (kg MS.ha ⁻¹) (ns)	2707	2975	-9,9
Biomasa (PA + Raíz) (kg MS.ha ⁻¹) (p<0.0001)	7291 a	6083 b	19,8
Relación PA/Raíz (p<0.0289)	1,69 a	1,05 b	62,0
Promedio de N en planta a V ₈ (ns)	1,67	1,47	13,6
Promedio de N V ₈ (kg.ha ⁻¹) (p<0.0001)	77 a	46 b	67,5

Figura 3.- Acumulación de biomasa aérea y de raíces, relación biomasa parte aérea/raíz y nitrógeno en planta.

A diferencia de lo que se podría esperar e igual que lo observado en Maíz, no se observaron diferencias en la producción de raíces. Este es un aspecto a revisar (en cuanto al método de determinación), ya que toda la bibliografía indica cambios en este sentido y no han podido registrarse variaciones en ninguno de los ensayos evaluados por Unicampo Uruguay. En contraparte, la inoculación con el producto comercial, Graminsoil-L aumentó notoriamente la producción de biomasa aérea, producto de aumento en la tasa de crecimiento, la cual fue en promedio 90 y 61 Kg de MS.ha⁻¹ para el cultivo con y sin Graminsoil-L, respectivamente.

Estas diferencias en crecimiento a favor de los tratamientos con *Azospirillum* se mantuvieron a lo largo de todo el ciclo y esto puede observarse claramente en la figura siguiente.

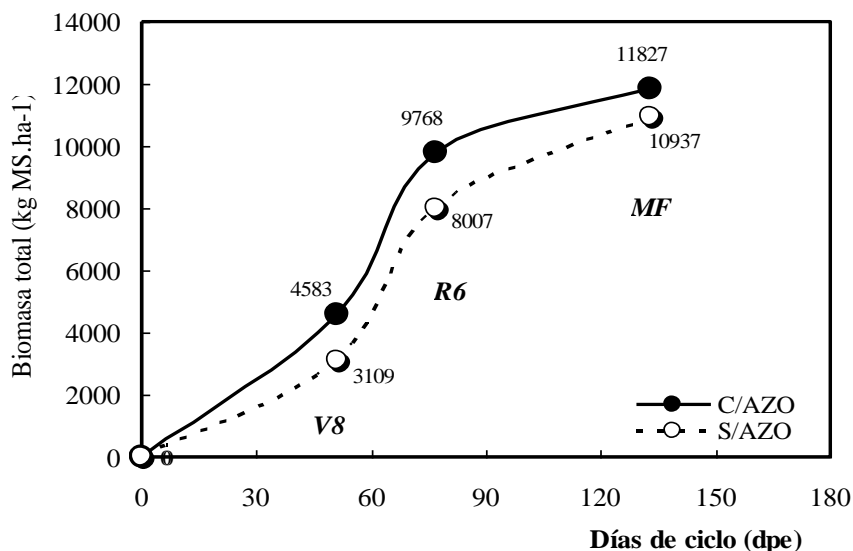
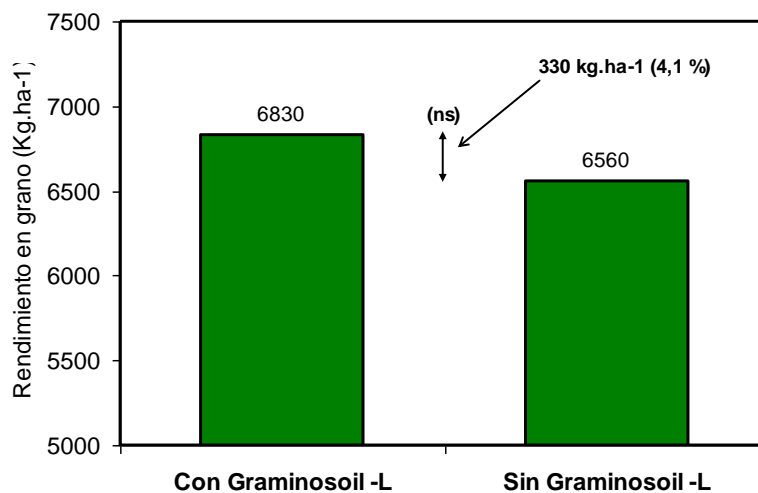


Figura 4.- Evolución de la biomasa acumulada durante el ciclo del cultivo.

La diferencia en acumulación de biomasa, tal como se presenta en la figura 5, explica las diferencias en rendimiento observadas.



	Con Graminsoil -L	Sin Graminsoil -L
Biomasa total a cosecha (Kg MS.ha ⁻¹) (p<0.0204)	11827 a	10937 b
Índice de cosecha (%) (ns)	0,58	0,60

Figura 5.- Rendimiento en grano, biomasa total a cosecha e índice de cosecha.

Cuando se analiza el efecto medio de la inoculación con Graminsoil-L sobre el rendimiento, éste es bajo y no significativo, aunque sí se observaron diferencias en biomasa total acumulada a cosecha.

Sin embargo, el promedio para el cultivo con y sin *Azospirillum*, resulta de diferente respuesta frente a las distintas condiciones de manejo de N.

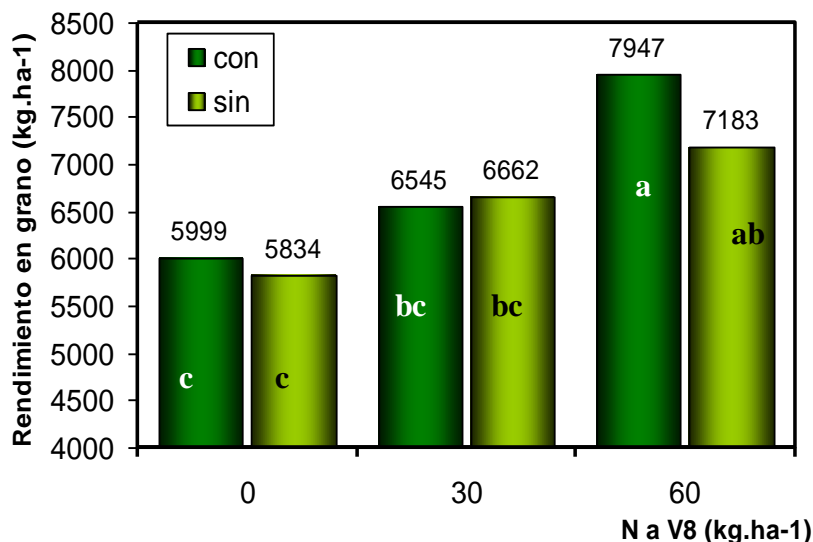


Figura 6.- Rendimientos obtenidos según inoculación con GraminOSOIL-L y dosis de nitrógeno aplicado.

Como ha sido observado en la mayoría de los ensayos realizados con *Azospirillum*, la máxima respuesta observada está sesgada hacia las dosis mayores de nitrógeno, afirmando la idea que el aporte de este microorganismo va más allá que la sola incorporación de nitrógeno. Si bien la respuesta a la máxima dosis no llegó a ser estadísticamente significativa (tendencia al 10 %), representó en términos absolutos un aumento de rendimiento de aproximadamente 800 Kg.ha⁻¹, equivalente a una mejora del 11 % de potencial en relación al cultivo sin inocular con GraminOSOIL-L.

Esta diferencia, aunque no llegó a ser significativa, estuvo determinada por mayor acumulación de biomasa a cosecha, y esta fue generada al inicio del ciclo, manteniéndose durante todo el período de crecimiento (Figura 7a).

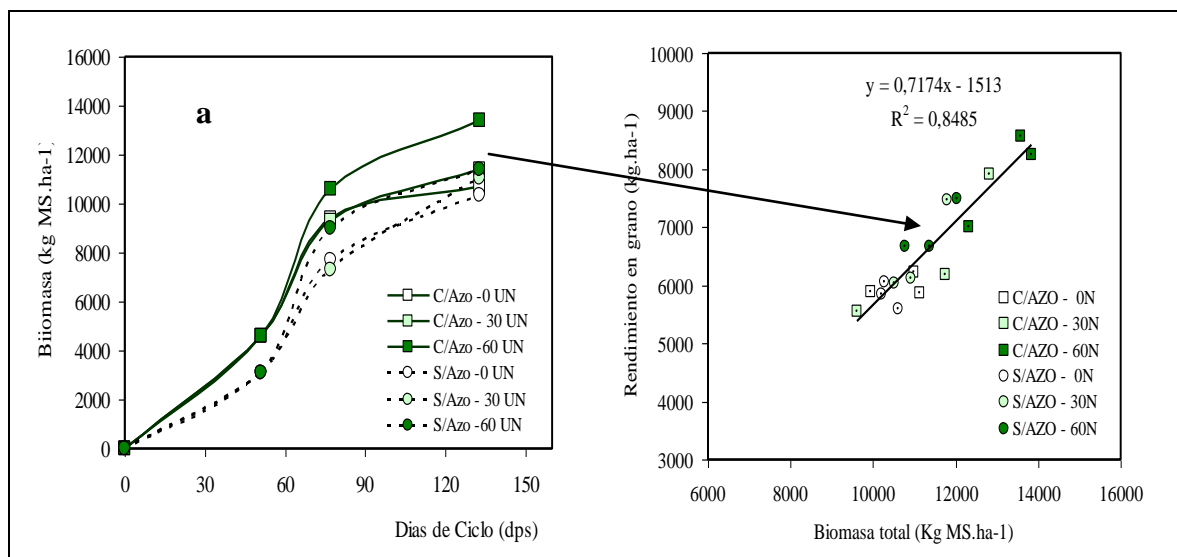


Figura 7.- a) Evolución de la biomasa total aérea a lo largo del ciclo del cultivo. b) Relación entre biomasa acumulada y rendimiento.

Claramente, el rendimiento estuvo asociado a la mayor producción de biomasa total a cosecha, y como se observa en la figura 7b, a la máxima dosis de N ($60 \text{ UN} \cdot \text{ha}^{-1}$), el cultivo inoculado presenta una concentración de puntos hacia la zona de mayor productividad.

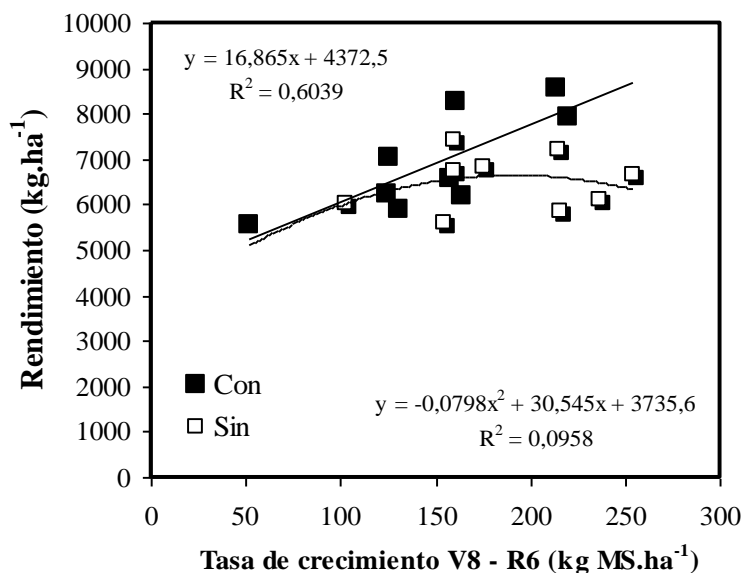


Figura 8.- Rendimiento en grano ($\text{Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) en función de la tasa de crecimiento del cultivo en el período V_8 - R_6 .

En la figura 8, vemos que el cultivo inoculado con Graminsoil-L rindió por encima que el sin inocular, aún cuando durante el período crítico ambos mostraron iguales tasas de crecimiento máximas (las cuales se registraron a 60 UN). La razón que explicaría el mayor rendimiento del cultivo inoculado a pesar de igual TC durante el período V_8 - R_6 , estaría en que el cultivo inoculado partió con una superioridad de 47% en la biomasa a V_8 , la cual en parte se mantuvo hasta el final del ciclo (para un ambiente con agua no limitante, del cual se esperan elevados IC y una relación lineal con el total de biomasa producida, el cultivo con más biomasa total a cosecha, rindió más).

En las siguientes figuras se pueden observar diferentes relaciones asociadas al uso del nitrógeno.

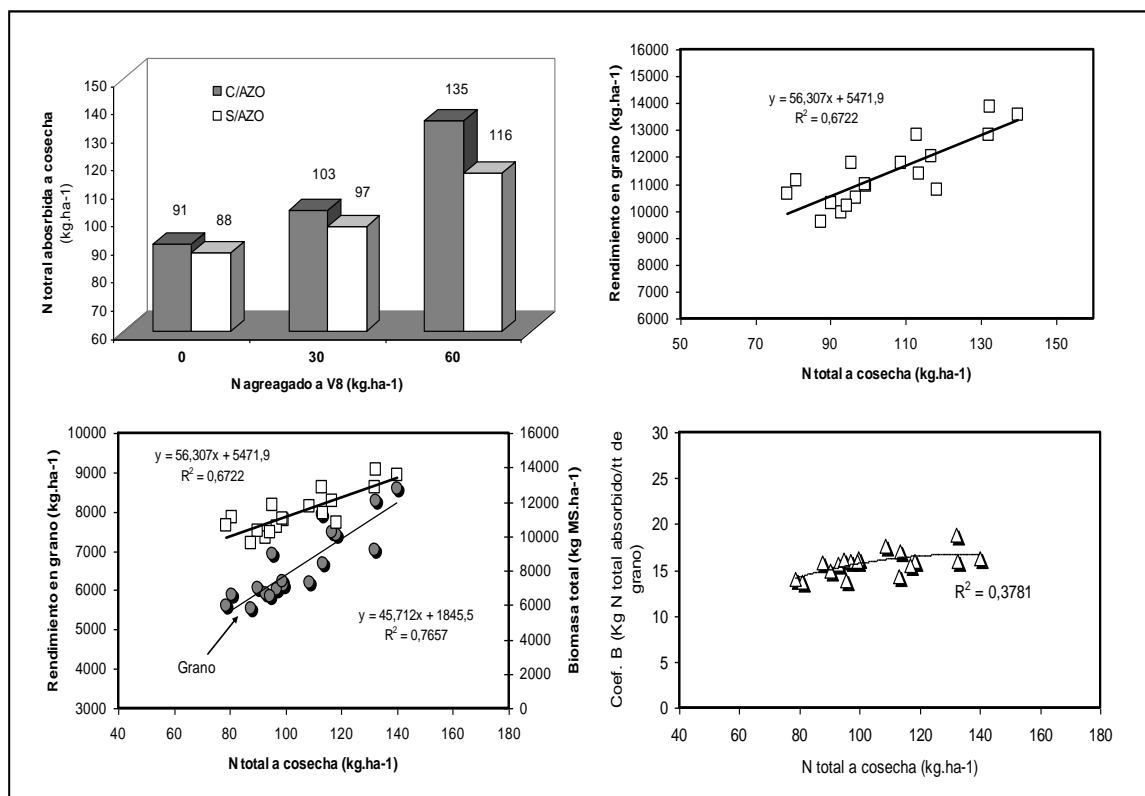


Figura 9.- a) Nitrógeno absorbido en función de las dosis de N agregado; b) Rendimiento en función de nitrógeno total absorbido a cosecha; c) Rendimiento en función de nitrógeno total absorbido a cosecha y la biomasa acumulada a cosecha; d) Nitrógeno total a cosecha en función del coeficiente b (tt grano producido/kg de N absorbido).

Puede concluirse con firmeza que es poco probable que las diferencias en rendimiento encontradas como consecuencia de la inoculación estén determinadas sólo por mayor aporte de nitrógeno, ya que de ser así se observarían diferencias en la cantidad de nitrógeno absorbido en el testigo sin nitrógeno. Todo parece indicar que el beneficio se obtiene a través de la posibilidad de expresión de mayor crecimiento y un mayor crecimiento se traduce en mayor cantidad de nitrógeno absorbido siempre y cuando exista nitrógeno disponible. Por ello, las diferencias se desplazan hacia los ambientes con mayor cantidad de N disponible o agregado.

Por otra parte parecerían no existir diferencias importantes en la eficiencia del nitrógeno absorbido (Figura 9c), lo cual es otro posible indicador que muestra que Graminosaol-L actúa a través del crecimiento y con poco impacto sobre el nitrógeno en planta o eficiencia en el uso del mismo.

Por ultimo puede observarse en la figura 10, los cambios en proteína en relación a los rendimientos obtenidos.

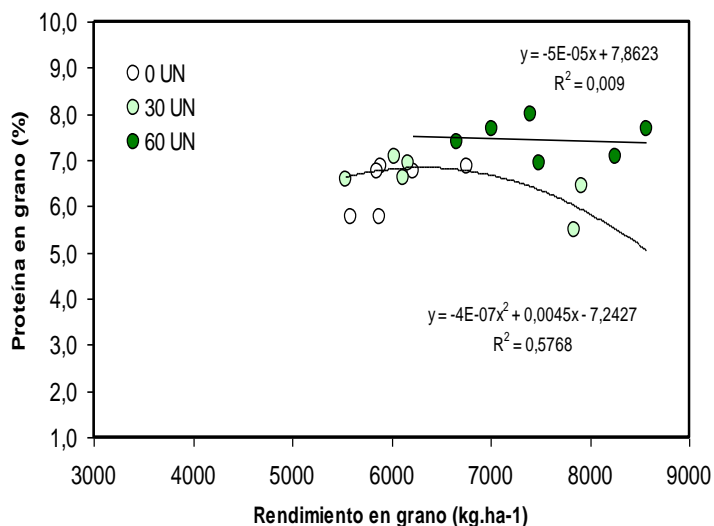


Figura 10.- Proteína en grano en función del rendimiento y la dosis de nitrógeno agregado.

No se observó ningún cambio asociado a la inoculación y como era de esperar, los menores tenores proteicos estuvieron asociados a las menores dosis de nitrógeno por el efecto de dilución, ya que producto del año, tuvieron rendimientos elevados.

CONSIDERACIONES FINALES

- La inoculación con Graminsoil-L determinó aumentos en los rendimientos de del cultivo sorgo en un ambiente en el cual fueron ajustados todas las medidas de manejo, sólo cuando la dosis de nitrógeno fue máxima.
- Esto afirma la idea, que el mayor aporte de nitrógeno por parte de *Azospirillum* no sea la principal vía por la cual la bacteria produce mejoras en los rendimientos, y por tanto en este caso tampoco (al igual que los resultados observados para Maíz), no debería enfocarse el uso de esta bacteria por el lado de un posible “ahorro de fertilizante”.
- Si bien los resultados son de un sólo año, parecería ser que la respuesta sería en parte similar a la encontrada en los ensayos de maíz.

BIBLIOGRAFIA

1. **Caballero-Mellado, J. 2002.** El género *Azospirillum*.. In: Microbios en Línea. Cap. 14. Ed: Dra. Martínez Romero, E; Martínez Romero, J.
2. **Díaz Zorita, M.; Baliña, R.M. ; Fernández Canigia, M.V. ; Peticari, A. 2006.** Rendimiento de cultivos de trigo en la región pampeana inoculados con *Azospirillum brasilense*. CONICET-FAUBA, INTA Castelar, Argentina

3. **Fallik, E; Sarig, S; Okon, Y. 1988.** Morphology and physiology of plant root associated with *Azospirillum*. In: *Azospirillum-Plant Associations* (Y. Okon, Ed), pp 77-86. CRC Press, Boca Raton, Fla.

4. **Okon, Y ; Labandera González, C. 1994.** Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* Vol 26 (12):1591-1601.