

PROYECTO

EVALUACIÓN DEL INOCULANTE CRINIGAN PARA TRIGO, EN ENSAYOS DE INVERNÁCULO Y A CAMPO

I. FUNDAMENTO:

Los microorganismos del suelo están involucrados en la productividad de los cultivos. Poseen hábitats que le son propios, algunos conviven específicamente en la rizosfera que es la región del suelo donde la actividad microbiana es modificada por la presencia de las raíces que exudan sustancias orgánicas como fuentes de carbono y energía para los microorganismos heterótrofos. En la rizosfera, además de las asociaciones nodulares o simbiosis en las cuáles se forman nódulos radicales que alojan al microorganismo cuya principal función es la de fijar el nitrógeno atmosférico, se producen asociaciones planta-microorganismos como la rizocenosis, asociación no nodular en la cuál el microorganismo puede superar las barreras corticales, presentándose inter e intracelularmente (Olmedo, 2006; Barea et al, 2002; Frioni 1999). Existe además en la rizosfera, una simbiosis mutualista entre hongos y raíces de plantas vasculares y no vasculares, llamadas asociaciones micorrícicas. El término micorriza (Frank, 1885) describe órganos mixtos formados por raíces y hongos del suelo que no provocan síntoma de enfermedad.

Algunos microorganismos son usados comercialmente para promover el crecimiento de los cultivos y su sanidad, como las “rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR)”, o mas genéricamente “microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV, Frioni 2006)”, que permite incluir a los hongos. El estímulo del desarrollo vegetal se asocia a mecanismos de producción de fitohormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas) que incrementan la plasticidad de la pared celular, estimulan el alargamiento celular, prolongan la vida de las células de la raíz e inducen a la bifurcación de los pelos radiculares, estimulan el rápido crecimiento inicial del cultivo, aumentando la superficie de raíces para una mejor captación de agua y nutrientes. Además intervienen en la fijación de nitrógeno molecular y el aporte de fósforo y producen antibióticos, sideróforos y ácido cianhídrico, que activan diversos mecanismos de defensa que pueden actuar como agentes para el control biológico de hongos y bacterias fitopatógenas (Frioni, 2006; Olmedo, 2006; Ruiz *et al*, 2005; Vessey Kevin, 2003).

Actualmente se encuentran en el mercado productos comerciales para inocular cereales como maíz y trigo que contienen rizobacterias y hongos micorrícicos capaces de favorecer la absorción de nutrientes, incrementar la tolerancia a sequía, sales y patógenos y colaborar en la estabilización del suelo.

La calidad de un producto comercial puede ser evaluada mediante técnicas de laboratorio, invernáculo y a campo. Los ensayos de eficiencia agronómica brindan información integral del comportamiento del producto frente a la población microbiana del suelo, las características particulares del mismo, el ambiente y las condiciones de manejo.

II. OBJETIVO:

Evaluar el comportamiento del inoculante CRINIGAN, en el cultivo de trigo, en ensayos de invernáculo y a campo en diferentes estadios del cultivo y sobre diferentes componentes del rendimiento.

III. METODOLOGÍA

Características del producto a evaluar: inoculante sólido a base de dolomita con una concentración de *Derxia gummosa* $1 \times 10^5 \text{ gr}^{-1}$, *Saccharomyces* sp. $1 \times 10^5 \text{ gr}^{-1}$ y *Endogone* sp. $1 \times 10^5 \text{ gr}^{-1}$ de soporte.

Tratamientos

1. Testigo sin inocular
2. Inoculado con producto a base de *Pseudomonas fluorescens*
3. Inoculado con producto a base de *Azospirillum brasilense*
4. Co-inoculado con *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*
5. Inoculado con CRINIGAN a base de *Derxia gummosa*, *Saccharomyces* sp. y *Endogone* sp. según dosis de marbete (dosis simple)
6. Inoculado con CRINIGAN a base de *Derxia gummosa*, *Saccharomyces* sp. y *Endogone* sp. con doble dosis.

Se decidió incluir el tratamiento 6, duplicando la dosis de inoculante CRINIGAN, con una concentración de microorganismos por unidad de producto de 10^5 , frente a la concentración de los otros inoculantes (10^8), hipotetizando que la concentración de microorganismos por unidad de producto podía influir en los resultados esperados.

IV. RESULTADOS

DETERMINACIONES EN LABORATORIO

a. Recuento de microorganismos viables por mL o g de inoculante:

a.1. Para el recuento de *Azospirillum brasilense* se utilizó el medio de cultivo NFB (Döbereiner 1980) para recuento en placa de petri.

Nº de *Azospirillum brasilense* viables mL^{-1} : $4,8 \times 10^8 \text{ ufc mL}^{-1}$

El inoculante contó al momento de la siembra con un título apto para asegurar un buen aporte sobre semilla.

a.2. Para el recuento de *Pseudomonas fluorescens* se utilizó el medio de cultivo Agar F. Se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonias por mL (ufc mL^{-1}) a las 48 horas.

Nº de *Pseudomonas fluorescens* viables mL⁻¹: 5,2 x 10⁸ ufc mL⁻¹

El inoculante contó al momento de la siembra con un título apto para asegurar un buen aporte sobre semilla.

a.3. Para el recuento de *Derxia sp.* del inoculante CRINIGAN no se utilizó el medio sugerido por la empresa de levadura manitol agar (LMA) con rojo congo por considerarlo selectivo para *Bradyrhizobium* y *Rhizobium*. Se consultó la bibliografía y se decidió utilizar medio de cultivo selectivo para *Derxia* según Döbereiner 1980 y Frioni, 2006.

Nº de *Derxia sp.* viables g⁻¹: 1,2 x 10⁶ ufc g⁻¹

El recuento de *Derxia sp.* se encuentra en el rango declarado por la empresa en el marbete del producto.

Para el recuento de *Saccharomyces sp.* se utilizó el medio de cultivo Czapek con extracto de malta. Se observó colonias típicas y células al microscopio. Se realizó el recuento de colonias.

Nº de *Saccharomyces sp.* viables g⁻¹: 2 x 10⁵ ufc g⁻¹

El recuento se encuentra en el rango declarado por la empresa en el marbete del producto.

Micorrizas: En cuanto a las micorrizas, no se consideró apropiado realizar Intensidad de micorrización, dado que la empresa declara que el producto contiene *Endogone sp* 1 x 10⁵. No se dispuso al momento del implante de los ensayos de la técnica de recuento de micorrizas en raíces. Se adeuda este dato y se realizará por la técnica del Método del Número Más probable (NMP) según Sieverding, 1991, en plantas trampa. (se conserva intacto un envase enviado por la empresa, del mismo lote que el usado en los ensayos).

ENSAYO EN INVERNÁCULO

El objetivo de este ensayo fue evaluar los productos sin la competencia de la microflora presente en el suelo. Para ello, las plantas se condujeron en macetas de 1200 cm³ con vermiculita y suelo estéril en relación 1:1. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento y se mantuvieron en invernáculo durante 60 días desde emergencia plena.

De los 30 a los 60 días se ubicaron fuera del invernáculo para someterlas a igual condición climática que las que se encontraban en el ensayo a campo.

La siembra se realizó el 14 de junio y se utilizó la variedad Baguette P 11.

Se inoculó la semilla según dosis recomendadas por los fabricantes.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente por medio del Análisis de la Varianza y el Test de Tuckey para la diferencia de medias (p<0.05%) con paquete estadístico INFOSTAT.

INVERNÁCULO 30 DÍAS

Tabla 1. Peso seco (g) y longitud (cm) de plantas crecidas en invernáculo a los 30 días desde emergencia.

TRATAMIENTO.	P. seco pta.	Long p.a	Long raíz	Long total
TESTIGO	0,18 a	8,9 a	8,51 a	17,41 a
PSEUDOMONAS	0,16 a	8,86 a	9,34 b	18,2 b
AZOSPIRILLUM	0,16 a	8,99 a	9,29 b	18,28 b
PSEUDO/AZO	0,15 a	9,39 a	10,37 bc	19,76 bc
CRINIGAN S/D	0,17 a	9,40 a	11,87 c	21,27 c
CRINIGAN D/D	0,18 a	10,07 a	11,32 c	21,39 c

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

Referencias:

P.seco pta.: peso seco de la planta (g)

Long p.a: longitud parte aérea (cm)

Long total de la planta (cm)

No se registraron diferencias estadísticamente significativas ni en peso seco de la planta ni en longitud de la parte aérea. La longitud de raíces fue mayor en los inoculados, con respecto al testigo. El inoculante CRINIGAN se comportó similar al tratamiento co-inoculado y no se registraron diferencias entre dosis.

INVERNÁCULO 60 DÍAS

Tabla 2: Peso (g), longitud (cm) y número de macollos por planta a los 60 días desde emergencia.

TRATAMIENTO	P fr raíz	P fr pa	P fr total	Long	Nº mac/pta	Ps raíz	P s p.a	P s total
TESTIGO	10,00 a	11,86 a	21,86 a	28,38 a	9,00 a	2,74 a	1,89 a	4,63 a
PSEUDOMONAS	14,02 bc	11,7 a	25,72 bc	28,13 a	11,00 b	3,69 ab	1,87 a	5,56 ab
AZOSPIRILLUM	12,64 ab	11,76 a	24,4 b	29,31 a	10,00 ab	4,55 b	2,08 a	6,63 b
PSEUDO/AZO	13,95 bc	11,52 a	25,47 bc	27,83 a	11,00 b	4,10 b	2,12 a	6,22 b
CRINIGAN S/D	16,52 c	12,1 a	28,62 c	27,99 a	12,00 b	4,59 b	2,02 a	6,61 b
CRINIGAN D/D	15,83 c	12,13 a	27,96 c	27,83 a	11,00 b	4,56 b	1,98 a	6,54 b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

Referencias:

P. fr. raíz: peso fresco raíz (g)
P. fr. p.a: peso fresco parte aérea (g)
P. fr. total: peso fresco total (g)
Long.: longitud total de la planta (cm)
Nº mac/pta: Número de macollos por planta
Ps. raíz: peso seco de la raíz (g)
P.s. p.a: peso seco parte aérea (g)
P.s. total: peso seco total (g)

A los 30 días, se ubicaron las macetas fuera del invernáculo para someter a las plantas a las mismas temperaturas que las del ensayo a campo debido a que se venían soportando sostenidas temperaturas bajo cero. Se mantuvieron siempre en condiciones óptimas de riego.

No se registraron diferencias estadísticamente significativas ni en peso fresco y seco de la parte aérea de la planta, ni en longitud de planta. Peso fresco y peso seco de raíz y Nº de macollos por planta (de 2 a 3 macollos más que el testigo) fue significativo en todos los inoculados. Para CRINIGAN no se registraron diferencias entre dosis.

ENSAYO A CAMPO

El ensayo se realizó sobre un suelo Argiudol vértico, serie Roldán en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNR), de la localidad de Zavalla, provincia de Santa Fe (32° 43' 27" S; 60° 55' 18" W), durante la campaña 2007. El diseño experimental fue en bloques completamente aleatorizados con 3 repeticiones por tratamiento, con un tamaño de la parcela de 7 surcos por 5,50 m de largo, con separación de 2m entre parcelas y entre bloques para evitar contaminación entre tratamientos. Se desinfectó las tolvas entre tratamientos inoculados para disminuir al mínimo la contaminación entre tratamientos.

Se inoculó la semilla según dosis recomendadas por los fabricantes.

La siembra se realizó el 14 de junio y se utilizó la variedad Bagette P 11.

El cultivo sufrió sequía durante los meses de julio y agosto, un largo período de heladas y una breve caída de granizo en periodo de espigazón y llenado de grano.

Tabla 3. Registro de lluvias (mm) durante el cultivo del trigo a campo.

LLUVIAS (mm)					
Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
0.0	11.00	63.00	138.7	35.00	84.9

Parámetros evaluados en cultivo:

Las evaluaciones en planta se realizaron en macollaje, espigazón y a cosecha. Las plantas fueron extraídas al azar de los surcos centrales de las parcelas, fuera del área de cosecha, a razón de 15 plantas por tratamiento con sus raíces hasta los 30 cm de profundidad.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente por medio del Análisis de la Varianza y el Test de Tuckey para la diferencia de medias ($p < 0.05\%$) con paquete estadístico INFOSTAT.

MACOLLAJE

Tabla 4. Número de plantas por metro lineal y número de macollos por planta, en ensayo a campo.

TRATAMIENTO	Nº plantas/m lineal	Nº macollos/planta
TESTIGO	47 a	4 a
PSEUDOMONAS	52 ab	5 a
AZOSPIRILLUM	53 ab	4 a
PSEUDO/AZO	55 ab	5 a
CRINIGAN S/D	62 c	5 a
CRINIGAN D/D	65 c	6 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

CRINIGAN presentó el 32 y 38% más plantas por metro lineal que el tratamiento testigo. No se registraron diferencias estadísticamente significativas en el número de macollos por planta.

Tabla 5. Longitud (cm) y peso seco (g) de plantas en macollaje, a campo.

TRATAMIENTO	Long p.a	P. seco raíz	P. seco p.a	P. seco total
TESTIGO	50,93 a	0,73 a	2,88 a	3,61 a
PSEUDOMONAS	56,60 b	1,22 b	3,89 ab	5,11 bc
AZOSPIRILLUM	54,33 b	0,85 ab	3,19 ab	4,04 ab
PSEUDO/AZO	56,27 b	0,84 ab	3,35 ab	4,19 ab
CRINIGAN S/D	58,15 bc	0,90 ab	3,94 ab	4,84 bc
CRINIGAN D/D	62,00 c	1,57 b	4,36 b	5,93 c

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

La Tabla 5 muestra diferencias estadísticamente significativas en los inoculados con respecto al testigo en todos los parámetros evaluados. En cuanto al inoculante CRINIGAN, se observa una tendencia a favor del tratamiento a dosis doble.

ESPIGAZÓN

Tabla 6. Longitud (cm), número de macollos, hojas y espigas por planta, en espigazón, a campo.

TRATAMIENTO	Long p.a	Nº mac/ pta	Nº hojas/mac	Nº espigas
TESTIGO	73,58 a	3 a	18 a	3 a
PSEUDOMONAS	75,50 ab	3 a	17 a	3 a
AZOSPIRILLUM	79,53 b	3 a	15 a	3 a
PSEUDO/AZO	77,33 ab	3 a	16 a	3 a
CRINIGAN S/D	76,60 ab	3 a	16 a	3 a
CRINIGAN D/D	77,02 ab	4 a	15 a	4 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

No se observan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, con excepción del inoculado con *Azospirillum* que en longitud de la parte aérea difiere del testigo, pero no del resto de los inoculados.

Tabla 7. Peso seco (g) en raíz, parte aérea y espigas por planta, en espigazón, a campo.

TRATAMIENTO	P.seco p.a	P. seco raíz	P. seco total	P. seco espig
TESTIGO	3,14 a	0,83 a	3,97 a	0,74 a
PSEUDOMONAS	3,08 a	0,87 ab	3,75 a	0,81 ab
AZOSPIRILLUM	3,26 a	0,92 ab	4,18 a	1,10 b
PSEUDO/AZO	3,19 a	0,86 ab	4,05 a	0,98 b
CRINIGAN S/D	3,02 a	0,88 ab	3,9 a	1,12 b
CRINIGAN D/D	5,24 b	1,24 b	6,48 b	1,55 b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En peso seco en parte aérea de la planta y peso seco total, CRINIGAN a doble dosis presenta diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos. En peso seco raíz, difiere del testigo pero no de los demás inoculados y en peso seco de espigas no se registran diferencias entre los tratamientos inoculados.

A COSECHA

Se cosechó un m^2 de los dos surcos centrales de las parcelas, descartando los extremos de la misma. Se cortaron a nivel de cuello de la planta, se separaron las espigas y se pasaron por trilladora manual. Se realizó peso total ($kg m^{-2}$) y de 1000 semillas. De surcos contiguos se extrajeron espigas para peso de 100 espigas.

Tabla 8. Parámetros de rendimiento: peso (g) de 100 espigas (g), 1000 semillas (g) y $kg m^{-2}$ y $kg ha^{-1}$

TRATAMIENTO	P. 100 espigas	P. 1000 sem	$kg m^{-2}$	$kg ha^{-1}$
TESTIGO	99,66 a	30,64 a	0,191 a	1910 a
PSEUDOMONAS	107,49 a	34,79 b	0,246 ab	2460 ab
AZOSPIRILLUM	107,55 a	31,95 ab	0,239 ab	2390 ab
PSEUDO/AZO	104,71 a	32,08 ab	0,254 b	2540 b
CRINIGAN S/D	103,87 a	32,67 ab	0,25 b	2500 b
CRINIGAN D/D	104,77 a	32,67 ab	0,252 b	2520 b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En peso de 100 espigas no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En peso de 1000 semillas se registra una leve diferencia a favor del tratamiento 2 y en $kg m^{-2}$ y $kg ha^{-1}$, CRINIGAN se comporta similar al co-inoculado, no registrándose diferencias entre los tratamientos 5 y 6. En parámetros de rendimiento se pierden las diferencias a

favor del tratamiento CRINIGAN a dosis doble que se observaron en macollaje y en espigazón.

En valores absolutos, se registraron diferencias en rendimiento con respecto al testigo de 29% para el inoculado con *Pseudomonas*, 25% para el inoculado con *Azospirillum*, 33% para el co-inoculado y 35% y 32% para CRINIGAN a dosis simple y doble, respectivamente.

V. COMENTARIOS FINALES

En nuestro país desde hace 25 años se están utilizando productos a base de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV), siendo *Azospirillum* el más investigado y evaluado hasta el momento en cultivos de cereales, en el país y en el mundo (Rodríguez Cáceres, 2007). La bibliografía es muy abundante sobre ensayos que evalúan el aporte de esta bacteria y los resultados son diversos.

Productos a base de otros MPCV tales como *Pseudomonas*, otros fijadores de nitrógeno de vida libre y hongos micorrícicos han sido menos experimentados y los datos bibliográficos son aún escasos.

En cuanto a inoculantes endomicorrícicos (*Endogonaceae*), la bibliografía es aún mas escasa sobre datos de ensayos en cultivos extensivos (Frioni, 2006).

En general, los trabajos informan desde falta total de respuesta hasta incrementos en biomasa vegetal, en especial en sistema radicular e incrementos en rendimiento del 5 al 30% sobre el testigo.

En nuestro ensayo, los resultados obtenidos a campo en macollaje son coincidentes con los registrados en el ensayo de invernáculo donde se había eliminado por esterilización la microflora del suelo. Cabe aclarar que los suelos presentan una buena dotación de microorganismos naturalizados que colonizan las raíces al implantar el cultivo y lo mismo sucede con las micorrizas. Como no se pudo analizar la presencia y el recuento de micorrizas en el producto a evaluar, esta coincidencia se considera de importancia al momento de sacar conclusiones.

Las lluvias totales recibidas por el cultivo fueron menores a los 300 mm, con un fuerte período de sequía durante julio y agosto; a ello se sumó un prolongado período de heladas, y una breve granizada, esto afectó el desarrollo vegetativo del cultivo y sus rendimientos

La inoculación con los productos a base de microorganismos promotores del crecimiento vegetal habrían permitido una mayor resistencia a la sequía y a las condiciones ambientales adversas. Los resultados presentaron una tendencia a favor de los tratamientos inoculados, con respecto al testigo, no pudiendo diferenciar un mejor comportamiento a favor de ninguno de los productos evaluados. La respuesta en rendimiento es coincidente con datos encontrados en la bibliografía (del 25 al 33%).

Las diferencias encontradas en los parámetros sobre cultivo a favor del inoculante CRINIGAN a dosis doble, se diluyeron en los parámetros de rendimiento.

Ing. Agr. Silvia Toresani