

## **NOTA DE INVESTIGACION**

### **EFFECTO DE LA INOCULACIÓN CON *Azospirillum* Y FERTILIZACIÓN CON FÓSFORO EN EL ESTABLECIMIENTO DE *Setaria sphacelata***

Tomei, Carlos E.; Oreña Daniel; Ciotti, Elsa M.; Castelán, María E.; Hack, Claudina M, Iglesias, M.C.  
Instituto Agrotécnico P. M. Fuentes Godo, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE  
tomeice@agr.unne.edu.ar

#### **RESUMEN**

El objetivo fue determinar el efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en el establecimiento de *Setaria sphacelata*. El trabajo se desarrolló en invernadero y a campo sobre un Hapludol Entico de Jardín América, Provincia de Misiones. En invernadero se utilizaron macetas, con 0,75 kg del suelo. En cada maceta se sembraron 10 semillas. Se estableció un diseño en bloques al azar de cuatro tratamientos con tres repeticiones. Los tratamientos fueron: T = Testigo; A = Inoculada con *Azospirillum*; A+SF = Inoculada y fertilizada con superfosfato triple; SF = Solo fertilizada. El inoculante se usó a razón de 2 l de cultivo por cada 10 kg de semillas y el superfosfato triple en dosis de 100 P kg ha<sup>-1</sup>. Se evaluó altura de plantas, número de macollos y rendimiento de MS de parte aérea y de raíces. El experimento de campo se realizó en microparcels, de 1 m<sup>2</sup>, en un diseño en bloques con seis tratamientos y cinco repeticiones. Los tratamientos fueron: T = Testigo; A = Inoculada; A+SF = Inoculada y fertilizada con superfosfato triple aplicado; SF = Fertilizada con superfosfato triple; A+H = Inoculada y recubierta con hiperfosfato; A = Solo recubierta con hiperfosfato. Se sembró a razón de 10 kg ha<sup>-1</sup> y las dosis de P usadas fueron 63 kg ha y 52 kg ha para las dos fuentes. Se cosechó a los 90 días y se determinó rendimiento de MS de parte aérea y radicular. Los datos fueron estudiados según el análisis de variancia, probándose las diferencias entre medias con la prueba de Tukey, al nivel del 5%. La inoculación con *Azospirillum* sin el agregado de fertilizante no influyó en el establecimiento de *S. sphacelata*. La inoculación mejoró el efecto del P. El recubrimiento de semilla con hiperfosfato fue superior a la fertilización con superfosfato.

**Palabras clave:** *Setaria sphacelata*, *Azospirillum brasilense*, fertilización fosfórica

#### **SUMMARY**

The aim was to determine the effect of *Azospirillum brasilense* inoculation and phosphate fertilization on *Setaria sphacellata* establishment. Work was carried on greenhouse and field using a soil classified as Hapludol entic, from Jardín América (Misiones). In greenhouse trial was done using pots of 0.75 kg capacity. Soil was dried, grounded and screened. Ten seeds were sown per pot. Experimental design was block at random with four treatments and three replications. Treatments were: control (T), inoculated (A), inoculated plus super phosphate (A+SF), fertilized with super phosphate (SF). Inoculo was used at a rate of 2 l per 10 kg seeds, and the doses used were 63 kg ha and 52 kg ha for super phosphate and hiper phosphate respectively. Height, number of tiller and dry matter yield of areal and root parts. Field experiment was done in microplots of 1 m<sup>2</sup>. Experimental design was block at random with five replications. Treatments were: T: control; A: inoculated; A+SF: inoculated plus super phosphate; SF: fertilized with super phosphate; A+H: inoculated plus hiper phosphate Sown in sward was at a rate of 10 kg ha<sup>-1</sup>. Plants were harvested at 90 days and dry matter of areal and roots parts were determined. Data was analyzed with variance and mean differences were tested with Tukey at level 5%. *Azospirillum* inoculation without fertilizer supply did not affect *S. sphacelata* establishment. Inoculation improved P effect. The covering of seeds with hiper phosphate was superior than super phosphate supply.

**Key words:** *Setaria sphacelata*, *Azospirillum brasilense*, phosphorus fertilization

**ANTECEDENTES**

Las deficiencias de P son frecuentes en los suelos del área mesopotámica del Nordeste Argentino (Tomei *et al*, 1999) y limitan el crecimiento de leguminosas subtropicales y templadas. Menos conocidas son las consecuencias de estas deficiencias en el crecimiento de gramíneas subtropicales en esos suelos. La etapa de germinación y establecimiento es crítica en las forrajeras tropicales por su lento crecimiento inicial y determina el éxito de su competencia con las malezas. Papadakis (1980) indicó la necesidad de recubrir las semillas con fuentes de P, tanto en leguminosas como en gramíneas a fin de favorecer el establecimiento de las plántulas.

Las bacterias fijadoras de N atmosférico se asocian frecuentemente con gramíneas sin provocar la formación de nódulos en las raíces. Las implicancias ecológicas y fisiológicas han sido estudiadas por Baldani *et al* (1997). Los antecedentes sobre inoculación de gramíneas con *Azospirillum* sp. indican que los resultados son contradictorios (Basham y Holguin, 1997). En especies forrajeras tropicales como *Digitaria decumbens* (pasto pangola) y *Panicum maximum* (pasto guinea) la inoculación con *Azospirillum* permitió incrementos de 66% en el rendimiento de MS sobre el control (Smith *et al.*, 1976). El efecto de la inoculación parece evidenciarse en los estadíos tempranos del vegetal.

*Setaria sphacelata* es una especie forrajera de gran adaptación en la región del nordeste argentino, que responde a condiciones mejoradas de fertilidad (Humphreys, 1978).

El objetivo fue determinar el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* y la fertilización con fosforo en el establecimiento de *Setaria sphacelata*.

**MATERIALES Y MÉTODOS.**

El trabajo se realizó en invernadero en la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste y a campo en un establecimiento ganadero, ubicado a 18 km de Jardín América (27°09' S – 55°11' W), Provincia de Misiones. El suelo estudiado en ambos casos fue un Hapludol Entico, pardo rojizo, poco profundo, franco arcilloso, con presencia de gravilla, cuyas características químicas se detallan en Tabla 1.

Tabla 1.- Características químicas del suelo estudiado

	pH	C.O. %	P ppm	K ppm	Ca meq 100 g	Mg meq 100 g
Hapludol Entico	5,9	4,83	2,4	0,29	20,4	2,5

Los métodos de análisis de los suelos fueron: C.O.: Walkley y Black modificado; pH: poten-

ciométrico, relación suelo:agua 1:2,5; P: Bray Kurtz II; K: Fotometría de llama; Ca y Mg: Complejometría EDTA.

La etapa de estudio en invernadero se realizó utilizando macetas con drenaje situadas sobre platos, en las que se colocó 0,75 kg del suelo previamente secado al aire, molido y tamizado. Se agregó superfosfato triple de calcio en los tratamientos correspondientes, mezclando con el suelo y luego compactando. En cada maceta se sembraron 10 semillas de *Setaria sphacelata* cv. Kazungula, con un valor cultural de 45, humedeciendo el suelo por capilaridad. Se estableció un diseño en bloques al azar de cuatro tratamientos con tres repeticiones. Los tratamientos fueron:

**Testigo** = *Setaria* sin inocular ni fertilizar (T)

**T2** = Inoculada con *Azospirillum* (A)

**T3** = Inoculada y fertilizada con superfosfato triple (100 P kg ha<sup>-1</sup>) (A+SFT)

**T4** = Fertilizada con superfosfato triple (100 P kg ha<sup>-1</sup>) (SFT)

El inoculante usado fue *Azospirillum brasilense*, Az 39 INTA con una concentración de 1,2 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. Se aplicó a las semillas una cantidad equivalente a 20 ml de solución por kg, preparada con goma arábica al 2,0 % como adhesivo y el cultivo de *Azospirillum*. Con esta solución se humedecieron las semillas y luego se secaron al aire en la sombra.

Se evaluó altura de plantas durante tres semanas, cada 7 días a partir de los 14 días de la siembra y se contaron macollos en la tercera y cuarta semana. A los 90 días se cosechó la parte aérea y se extrajeron las raíces, que se limpiaron con agua corriente. Se determinó rendimiento de MS y relación parte aérea y parte radicular.

En el experimento de campo se adaptó el método de las microparcels de Hardy (1966) modificado por Martini (1969) estableciéndose un diseño en bloques con seis tratamientos y cinco repeticiones; las parcelas fueron de 1 m<sup>2</sup>.

Los tratamientos fueron:

Trat.	Inoculación	P kg ha <sup>-1</sup>	Fertilizante
T	No	No	
A	Si	No	
A+ SFT	Si	63,0	Superfosfato Triple
SFT	No	63,0	Superfosfato Triple
A + HF	Si	5,2	Hiperfosfato
HF	No	5,2	Hiperfosfato

El suelo se preparó eliminando las malezas con labores mecánicas. Se probaron dos fuentes de P: superfosfato triple (SFT) con 19,6% e hiperfosfato (HF) con 13,08% de P respectivamente. El SFT se incorporó en los primeros 5 cm antes de la siembra. El HF en polvo se incorporó como recubrimiento de las semillas a razón de 0,52 kg por kg de semillas. La inoculación se efectuó como se describió para el ensayo en macetas. La

siembra se realizó al voleo a razón de 10 kg ha<sup>-1</sup>; se hizo un corte a los 90 días a cinco cm de altura y se determinó rendimiento de MS. Se calculó la eficiencia de la fertilización dividiendo los kg MS ha<sup>-1</sup> producidos por los kg P ha<sup>-1</sup> agregados. Los datos de rendimiento de MS de parte aérea y de raíces, recuento de macollos y altura de plantas se sometieron al análisis de variancia, probándose las diferencias entre medias con la prueba de Tukey, nivel 5 %. El análisis estadístico se realizó con el software InfoStat (2002).

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el ensayo con macetas bajo invernadero la altura de las plantas no fue influida por la sola inoculación con *Azospirillum*. Las mediciones siguientes indicaron que a partir de la segunda semana la combinación *Azospirillum* con P tuvo diferencias altamente significativas con respecto a los tratamientos que no contienen P (Tabla 2). En la cuarta semana también se registró diferencia altamente significativa entre el tratamiento solo fertilizado con el que contenía la combinación *Azospirillum* + P.

La altura de las plantas aumentó lentamente en los tratamientos T y A durante el período de evaluación, mientras que, tanto SFT como A+SFT lo hicieron en forma rápida a partir de la segunda fecha. El rápido incremento en altura como efecto de estos dos tratamientos es de importancia en la competencia inicial con malezas.

El número de macollos no mostró diferencias significativas entre las medias de los tratamientos en el primer recuento a los 21 días de la siembra. En el segundo, a los 28 días, el número de macollos fue afectado principalmente por la fertilización fosfatada. No hubo diferencia significativa entre A+SFT y SFT (Tabla 2).

En cuanto a la producción de MS aérea y raíces también se manifestó el efecto favorable de la combinación A+SFT. La inoculación por si sola

no provocó respuestas sobre rendimiento de del peso seco, siendo necesario el agregado de P para lograr un aumento. Estos resultados también se han registrado en maíz en suelos con bajos contenidos de P, K y MO (Alvarez Solís *et al*, 1996). En este cultivo se encontró mayor eficiencia de la inoculación cuando se fertiliza con P y N; Tilak *et al* (1982) también encontraron efecto de la inoculación con *A. brasilense* tanto en maíz como en sorgo. El incremento en el crecimiento de raíces sitúa a la planta en condiciones de explorar mayor volumen de suelo para acceder a los nutrientes y al agua, aumentando las posibilidades de un establecimiento adecuado del cultivo. La relación entre MS aérea y de raíces indica que la inoculación con *Azospirillum* incrementó el crecimiento de estas últimas. Esto coincidiría con resultados de Fulcheri y Frioni (1994) que reportaron una significativa estimulación del desarrollo de raíces y aumento del peso seco de granos en maíz, inoculando con *Azospirillum lipoferum*. Este efecto positivo sobre el crecimiento de raíces podría explicarse por la capacidad de esta bacteria de producir giberelinas (Piccoli *et al*, 1999).

Los resultados del ensayo de campo ratificaron los del ensayo en macetas (Tabla 3). La combinación de inoculación con fertilización fosfórica fue la única que difirió significativamente del testigo, tanto para superfosfato como para hiperfosfato. Esto era de esperar ya que hay respuesta a la inoculación con *Azospirillum* sp. cuando existen limitaciones de nutrientes minerales en el suelo como N, P, K y microelementos (Okon y Labandera-Gonzalez, 1994).

La falta de respuesta a la inoculación podría deberse a la competencia de otros microorganismos por P en este suelo pobre en este nutriente o por la presencia de cepas nativas de *Azospirillum* mejor adaptadas.

Tabla 2.-Ensayo en macetas: Altura (cm), N° de macollos, Materia Seca aérea (A) y de raíces ( R) en g maceta<sup>-1</sup>, relación A/R.

Tratamiento	Altura			N° Macollos		Mat. Seca		
	14 días	21 días	28 días	21 días	28 días	Aérea	Raíces	A/R
1) T	4,80 ab	6,0 b	8,33 c	1,0 b	1,0 b	0,082 c	0,08 c	1,02 b
2) A	4,50 b	6,20 b	8,20 c	1,0 b	1,0 b	0,03 c	0,10 c	0,27 c
3) A+ SFT	5,85 a	11,97 a	28,10 a	6,67 b	13,67 a	2,03 a	1,80 a	1,13 b
4) SFT	5,3 ab	13,60 a	23,13 b	2,67 b	11,0 a	1,32 b	0,75 b	1,75 a
DMS Tukey 5 %	1,24	1,99	2,96	2,13	4,77	0,36	0,262	0,598
C.V. %	9,29	8,09	6,68	28,82	27,39	16,04	14,68	21,96
R <sup>2</sup> Aj	0,5	0,96	0,99	0,89	0,91	0,98	0,98	0,85

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, Tukey 5 %.

Tabla 3.- Ensayo de campo producción de MS kg ha<sup>-1</sup>, eficiencia del uso del P.

Tratamiento	MS kg ha <sup>-1</sup>	Eficiencia en el uso de P
Testigo	1028,32 b	-----
A	1829,44 ab	-----
A+ SFT	2687,68 a	26,46 b
SFT	2050,88 ab	16,30 b
A + HF	2501,44 a	1133,17 a
HF	2164,48 ab	873,97 a
DMS Tukey 5 %	1238,52	79,71
C.V. %	30,99	8,49
R <sup>2</sup> Aj	0,36	0,98

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, Tukey 5 %

La presencia de *Azospirillum brasilense* nativo en suelos tropicales puede incrementar la fijación de N y los rendimientos de los cultivos.

Analizando la eficiencia en el uso del P agregado en la producción de materia seca, los resultados indicaron una superioridad del tratamiento HF en semillas sobre la incorporación directa al suelo de SFT. Esto se explica ya que con el recubrimiento de semillas se logra una localización más accesible del P, efecto que favorece el establecimiento de la planta. Esta técnica es un complemento de la fertilización directa en el suelo que podría bajar los costos de fertilización. El alcance del trabajo es solo sobre el establecimiento de la forrajera estudiada. Su efecto sobre el crecimiento debería ser estudiado a mediano o largo plazo.

## CONCLUSIONES

La inoculación con *Azospirillum* no influyó en el establecimiento de *S. sphacelata* sin la fertilización con P. La inoculación mejoró su efecto cuando se fertilizó con P. La aplicación de éste en forma de hiperfosfato recubriendo las semillas incrementó el rendimiento de MS en relación al agregado de superfosfato al suelo.

## BIBLIOGRAFÍA.-

- Alvarez Solís, J.D.; Ferrera, Cerrato R.; Santizo, Rincón J.A. y Zebrowski, C. 1996. Establecimiento y actividad de *Rhizobium* y de *Azospirillum* introducidos en tepetate durante el primer año de rotación. *Agrociencia* 30: 177-185
- Basham, Y. And Holguin, G. 1997. *Azospirillum* - plant relationships: environmental y physiological advances (1990 - 1996). *Can. J. Microbiol.* 43: 103 - 121.
- Fallik, E. And Okon, Y. 1994. The response of maize (*Zea mays*) to *Azospirillum* inoculation in various types of soils in the field. *World Journal Of Microbiology & Biotechnology*, 12: 511 - 515.
- Fulchieri, M. And Frioni, L. 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea Mays*): effect on yield in a field experiment in central Argentina. *Soil Biology And Biochemistry*. 26: 921 - 923.
- Hardy, F. Y Bazán, R. 1966. The maize microplot method of soil testing. *Turrialba* 16(3): 267 - 270.
- Infostat. 2002 Versión 1.1. Grupo Infostat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Hue, N. V., Hikawa, H. Y Silva, J. A. 1994. Increasing plant available p in an ultisol with yard - waste compost. *Soil Sci. Plant Anal.* 25:329-330.
- Humphreys, L. R. 1978. Pasturas mejoradas para regiones tropicales y subtropicales: Una Guía: 43 pp.
- Martini, J.A. 1969. La microparcela de campo como un método biológico rápido para evaluar la fertilidad del suelo. *Turrialba* 19(2): 261 - 266.
- Okon, Y. And Labandera-Gonzalez, C.A. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology And Biochemistry*. 26: 1591 - 1601.
- Papadakis, J. 1980. Ecología y manejo de cultivos, pasturas y suelos. Ed. Albatros: 199 - 207
- Piccoli, P.; Masciareli, O. y Bottinini, R. 1999. Gibberellin production by *Azospirillum Lipoferum* cultured inchemically - defined medium as affected by oxygen availability and water status. *Symbiosis*, 27: 135-145
- Tilak, K.V.B.R.; Singh, C.S.; Rov, N.K. And Subra Rao, N.S. 1982. *Azospirillum Brasilense* and *Azotobacter Chroococum* inoculums effect on yield of maize (*Zea mays*) and sorghum (*Sorghum bicolor*). *Soil Biol Biochem* Vol 14: 417-418.
- Tomei, C.E.; Castelán, M.E.; Ciotti, E.M.; Benítez, J.A. y Hugué, H.H. 1999. Deficiencias nutritivas para *Stylosanthes Guianensis* en suelos de corrientes, Argentina. *Agrotecnia* 5: 16 - 19.