

EVALUACIÓN DE UN INOCULANTE SOBRE LA BASE DE *Sinorhizobium meliloti*, *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* en el cultivo de ALFALFA (*Medicago sativa*)

Investigación Aplicada

Autor: Ing. Agr. Hugo A. Ferlini Micheli

AGROFER S.R.L. – Investigación y Desarrollo

Mariano Moreno 350 – Santa Clara de Saguier – Santa Fe – Argentina

E-mail: hferlini@hotmail.com

INTRODUCCIÓN:

El cultivo de la alfalfa (*Medicago sativa*), para diversos usos, ocupa una importante superficie en la República Argentina, siendo esta de aproximadamente, 6.500.000 de hectáreas (datos INASE). Es así la forrajera más importante dentro de los planteos productivos de leche y carne. Esta especie aporta un importante volumen de forraje, de excelente calidad, siendo imprescindible su uso en planteos de alta producción.

El desarrollo de variedades del cultivo de alfalfa ha sido intenso en estos últimos años, pasando de producciones de alrededor de 7 Tn de M.S. ha⁻¹ en los años '70 con 5 a 6 cortes anuales, a 18 Tn M.S. ha⁻¹ en la actualidad con 7 a 9 cortes anuales.

Junto a este desarrollo genético se fue desarrollando la técnica de la inoculación, para favorecer la fijación biológica de nitrógenos atmosférico, mediante la incorporación de una bacteria específica, *Sinorhizobium meliloti*, la cual produce nódulos radiculares, aumentando la capacidad fijadora de nitrógeno de la alfalfa.

En los últimos años, a la ya generalizada inoculación con *Sinorhizobium meliloti*, se le sumaron otras bacterias, caso *Azospirillum brasilense*, esta bacteria genera una promoción en el desarrollo radicular y un mayor número de nódulos, favoreciendo la productividad de esta noble forrajera y aumentando la captación de nitrógeno atmosférico.

Avanzando en la técnica de la inoculación e intentando mejorar la productividad de los alfalfares, se comenzaron las investigaciones básicas sobre los probables beneficios que podría aportar la incorporación de una nueva bacteria, *Pseudomonas fluorescens*, a las anteriormente mencionadas, esta bacteria aporta la posibilidad de mineralizar fósforo edáfico que no está disponible para los vegetales, además de mejorar la sanidad radicular por su producción de sideróforos, comenzando la era de los inoculantes tri-bacteriales en la inoculación de semillas de alfalfa.

La presente evaluación se basa en la hipótesis de que un complejo de bacterias fijadoras de nitrógeno, promotora del desarrollo radicular y mineralizador de fósforo, incrementará la producción de materia verde, materia seca por hectárea y mejorarán la calidad nutritiva del cultivo de alfalfa en comparación con el tratamiento mono-bacterial utilizado generalmente en la implantación del cultivo de alfalfa.

MATERIALES Y MÉTODOS:

La presente evolución se realizó en el establecimiento del Sr. Diego R. Pioli, (Lat.S:31° 18'15.03" – Long.O:61°48'01.32") ubicado en la localidad de Santa Clara de Saguier, departamento Castellanos, en la provincia de Santa Fe, República Argentina.

Los suelos corresponden a una asociación de Argiudoles ácuicos, Argialboles típicos y Argiudoles típicos, predominando los Argiudoles ácuicos, el régimen de lluvias es en promedio de 850 mm. anuales, concentrándose en los meses de verano y otoño, las temperaturas oscilan entre los 5°C y 10°C en invierno, y entre los 28°C y 32°C en verano, con extremos de -3 °C a -4°C en invierno y de 40°C a 42°C en verano.

El cultivo antecesor, fue maíz (*Zea mays*) el cual fue utilizado para confeccionar un silo, dejando un escaso rastrojo. Se realizó un barbecho posterior a su corte, con un herbicida de acción total, presentando el lote al momento de su siembra, un muy buen control de malezas.

El sistema de siembra utilizado fue el de directa, con una sembradora marca Tanzi de 25 líneas de siembra, distanciadas a 17,5 cm. La sembradora posee dos cajones, para depósito de semillas, independientes, llenándose el cajón de la derecha, mirando la sembradora de atrás, con semilla tratada con el tri-bacterial y el cajón de la izquierda con el tratamiento testigo (*Sinorhizobium meliloti*).

La variedad utilizada fue Salinera INTA, de producción particular, con buen poder germinativo (+ 85%), la densidad de siembra fue de 15 kg ha⁻¹, con un peso de 2,37 gr. cada 1000 semillas.

Se prepararon 50 kg de semilla para cada tratamiento, utilizándose una hormigonera para la inoculación y cura de semillas.

La siembra se efectuó el día 10/04/2010

Se realizó un tratamiento de control de malezas, en preemergencia con 500 cc ha⁻¹ de Flumetsulam (12%)

Los diferentes tratamientos son:

Testigo: Fungicida (Carbendazim + thiuran) 400 cc + 340 gr. de inoculante sobre la base de *Sinorhizobium meliloti*, en turba, con una concentración bacteriana declarada de más de 1x10⁹ bacterias gramo⁻¹ (C.K.C. Alfalfa) + 250 gr de Imidacloprid (insecticida sistémico 70%), cada 50 kg de semillas.

Tratamiento: idem al testigo + 250 cc de Rizoflo C.K.C. (*Azospirillum brasilense*, con una concentración declarada de 5x10⁶ ml⁻¹ + *Pseudomonas fluorescens*, con una concentración declarada de 1x10⁷ ml⁻¹) cada 50 kg de semillas.

Según la modalidad de siembra quedaron conformadas franjas de un ancho de 4,375 metros de cada evaluación, con un largo de 560 metros, cubriendo una superficie de 2.450 m²

Primer visita: 23/04/2010 (13 días de siembra)

A los 13 días de implantado, se efectuó una recorrida por el lote, corroborando un muy buena implantación y se procedió a demarcar las correspondientes franjas a evaluar. A su vez se extrajeron plántulas de alfalfa, notándose que en las raíces de las plantas tri – inoculadas ya aparecían algunos nódulos, no así en las del testigo, corroborando esto, que la incorporación de *Azospirillum brasilense* y/o *Pseudomonas fluorescens*, aceleran la nodulación.

Segunda visita: 06/06/2010 (54 días de siembra)

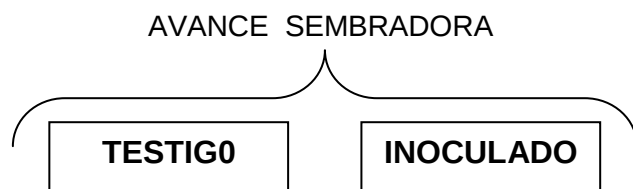
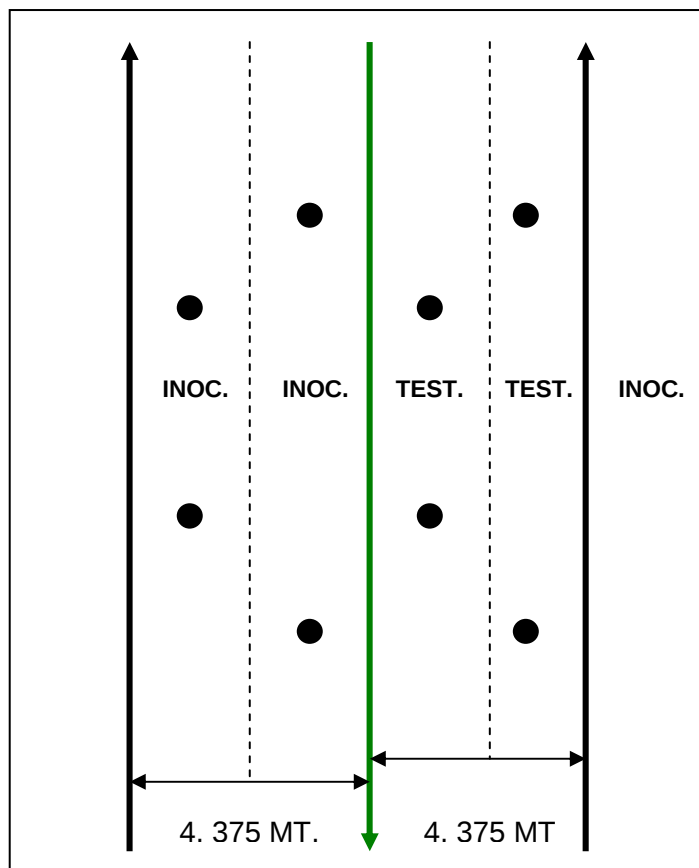
Se extrajeron plantas al azar de ambos tratamientos, para determinar visualmente el desarrollo radicular, notándose el mayor desarrollo de las mismas en el sector tri-inoculado, ratificando de esta manera la promoción radicular que provoca la inoculación con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens*.

Tercer visita 05/07/2010 (83 días de siembra)

Se procedió a la toma de muestras de las evaluaciones. Se tomaron 8 muestras por tratamiento a una distancia de 25 metros una de la otra, alternando una a cada lado de la división de franjas, conformadas por la ida y vuelta de la sembradora, para cada tratamiento. Se extrajo la totalidad del forraje contenido en un aro de 0,25 m² de superficie, dejando un residuo de 5 a 7 cm. asemejando el consumo animal bovino. Junto a esto se extrajeron las raíces de un tramo de 15 cm. contenidas dentro de la superficie del aro, para efectuar el conteo y el pesado de las mismas.

En el laboratorio se procedió al análisis de las muestras extraídas, cuantificándose su peso en materia verde, materia seca y relación tallos/hojas (ésta se realizó sobre una muestra representativa de cada muestreo)

DIAGRAMA DE EXTRACCIONES:



● Punto de extracción por muestra.

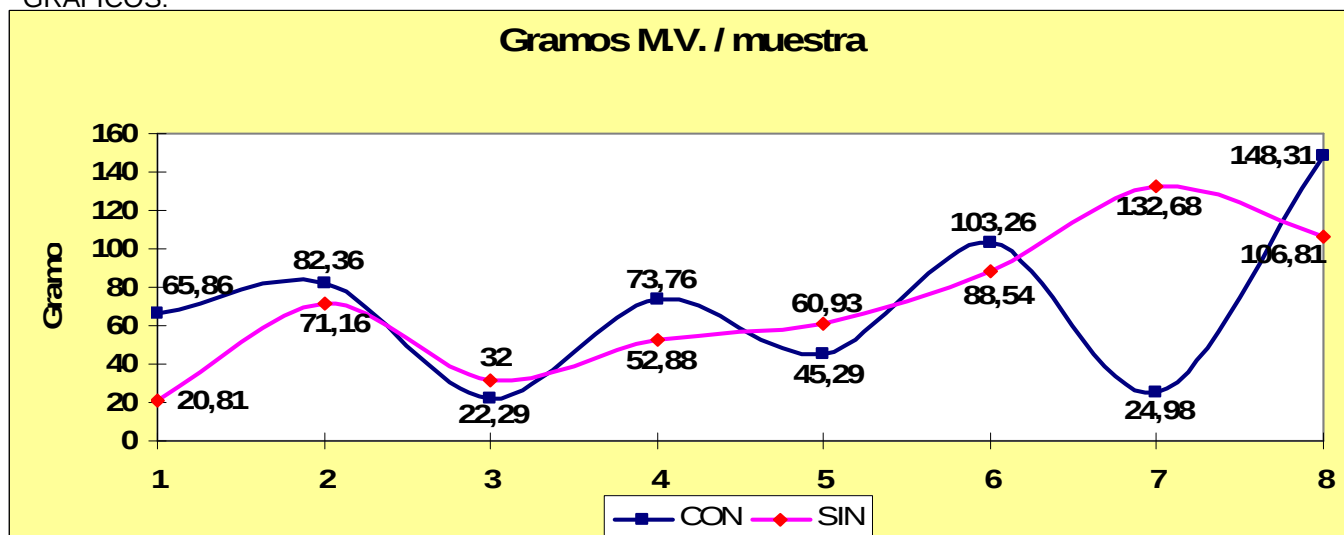
RESULTADOS:

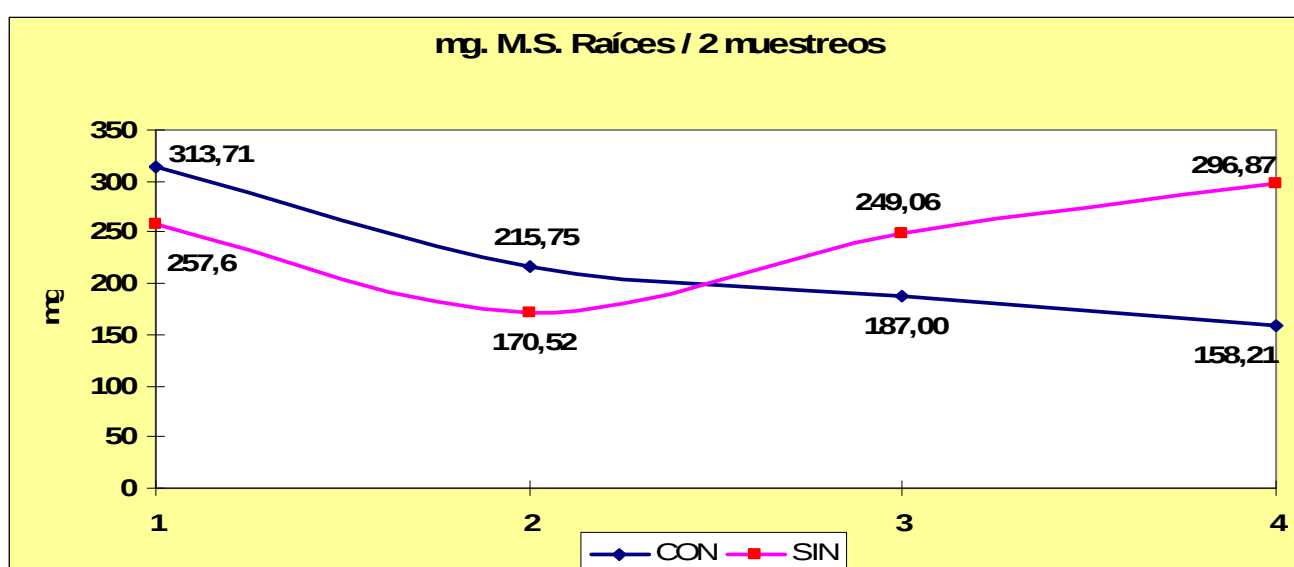
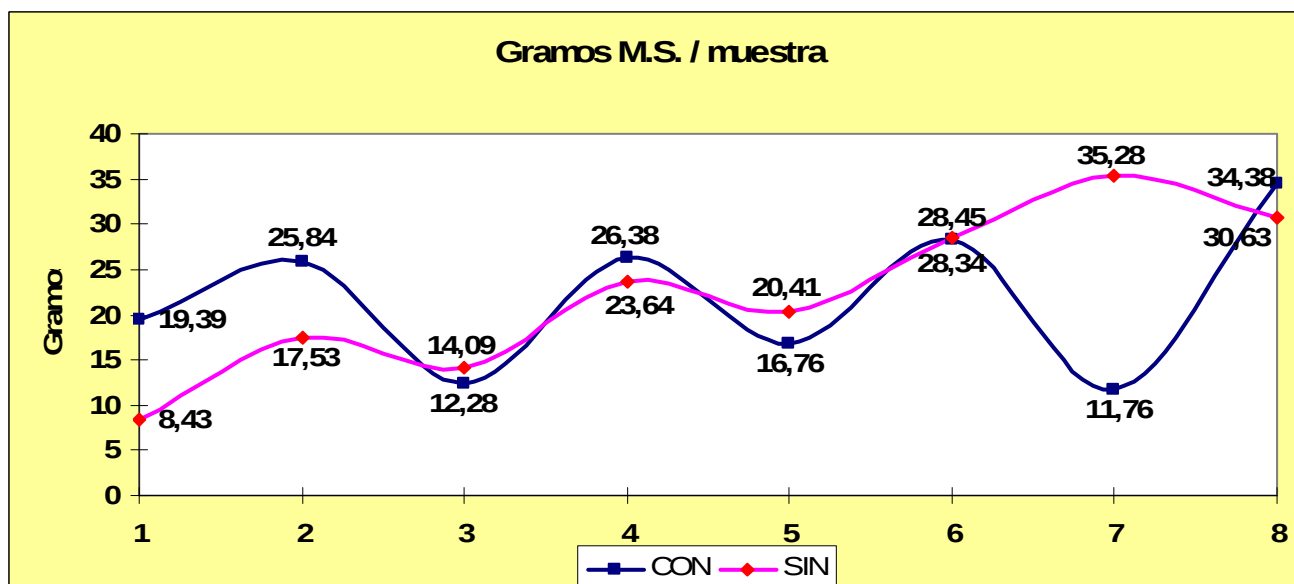
Los resultados obtenidos nos manifiestan, que en la mayoría de los parámetros productivos evaluados, el testigo supera al tri-inoculado, notándose aún más estas diferencias cuando las evaluaciones se efectúan sobre la base de M.S. Esto es así, dado que los cultivos inoculados con bacterias promotoras del desarrollo vegetal contienen una mayor cantidad de agua.

DATOS PROMEDIOS / TRATAMIENTO / PARÁMETRO PRODUCTIVO:

Trat.	Kg M.V ha ⁻¹	Kg M.S.ha ⁻¹	Kg M.S.Raíces ha ⁻¹	% M.S.	Rel. T/H -M.V.	Rel. T/H-M.S.	Nº pl/m ²
Testigo	2829	892	9,74	31	46,38	34,5	648
Inoculado	2831	876	8,74	32	43,63	35,63	667

GRÁFICOS:



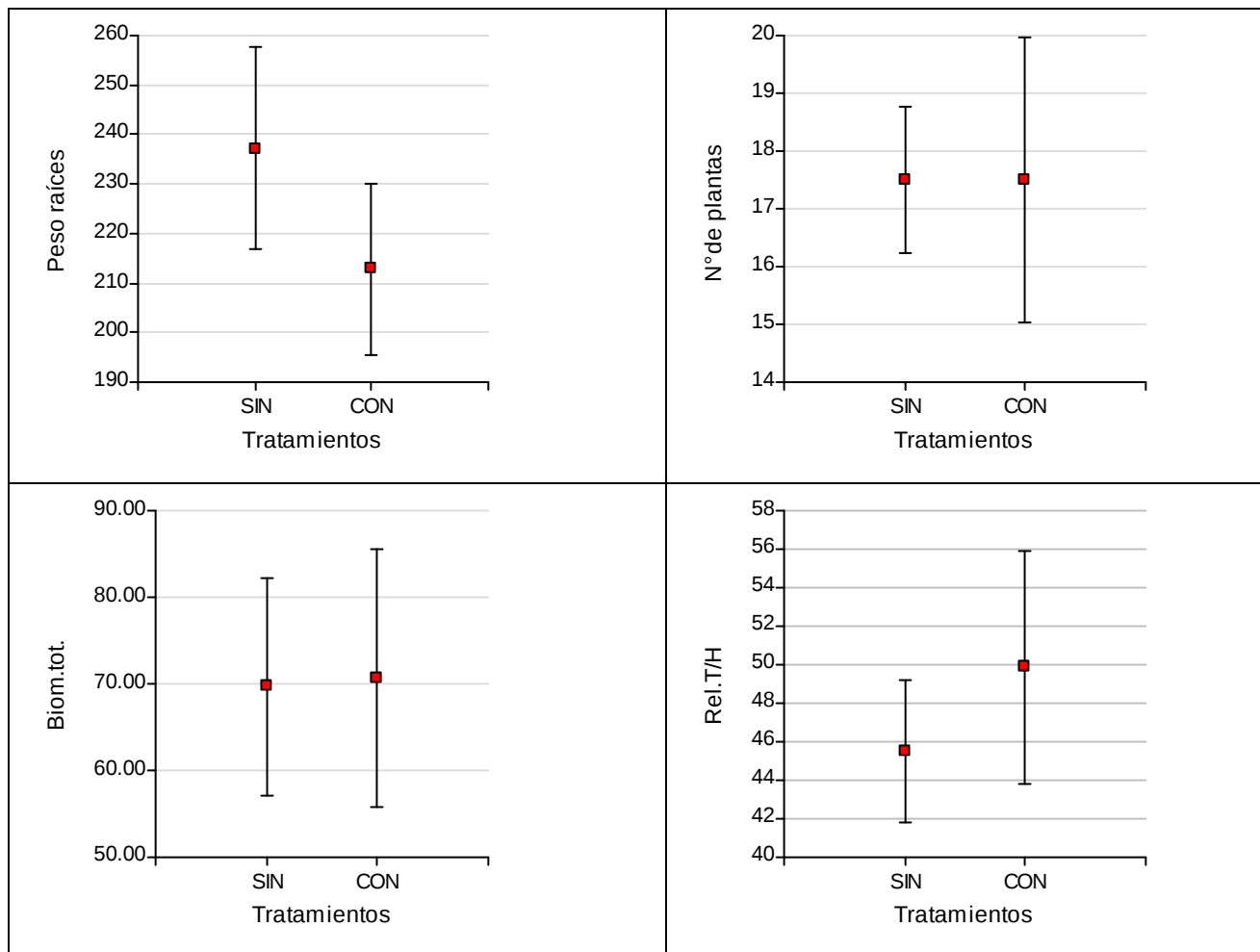


Análisis Estadísticos: Prueba T para muestras Independientes

Esta prueba compara las medias de dos grupos de datos independientes, como sería en este caso, se hace un análisis para cada variable. Lo resultados indican en todos los casos, dado que el p valor es mayor a 0.05, que no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Variable	Grupo(1)	Grupo(2)	n(1)	n(2)	media(1)	media(2)	P (Var.Hom)	T	p
Peso raíces	{CON}	{SIN}	70	68	212.83	237.24	0.2343	-0.92	0.3602
N° de plantas	{CON}	{SIN}	4	4	17.50	17.50	0.2981	0.00	0.9999
Biomasa total	{CON}	{SIN}	8	8	70.63	69.75	0.6762	0.05	0.9647
Rel. T/H	{CON}	{SIN}	8	8	49.88	45.50	0.2057	0.62	0.5468

Gráficos Análisis Estadísticos:



CONCLUSIONES:

Si bien en los resultados obtenidos, en la mayoría de los parámetros evaluados, no arrojan diferencias significativas, la tendencia sobre el uso de tribacterial en el cultivo de alfalfa es alentadora, esto se fundamenta en el hecho de que es llamativa las diferencias arrojadas en el punto de extracción N° 7 (CON), donde los parámetros evaluados son altamente contrastantes con el resto, haciendo suponer que un problema no asociado al tratamiento hizo que la producción de la alfalfa tri inoculada sea manifiestamente inferior.

Una mención especial merecen los resultados arrojados en el desarrollo radicular, dado que los mismos no coinciden con los datos obtenidos en evaluaciones de *Sinorhizobium meliloti* y de *Sinorhizobium meliloti* + *Azospirillum brasilense*, realizadas por otros investigadores. Analizando este parámetro en particular, podemos manifestar que siendo esta una combinación de tres bacterias, las proporciones de UFC (unidades formadoras de colonias) de cada una de ellas es de suma importancia, dado que según las mismas se puede lograr un efecto de sinergismo o de antagonismo (Dr. Yacoob Okon y Dra. Dulce Nombre Navarro Rodriguez, comunicación personal).

Considerando lo anterior, se debería continuar con las evaluaciones de tribacterial en el cultivo de alfalfa, a los fines de fundamentar la conveniencia de su aplicación. Junto a esto, sería importante evaluar combinaciones diferentes de UFC de cada una de las bacterias, para lograr la combinación mas adecuada.

BIBLIOGRAFÍA:

Ing. Ferlini Micheli Hugo A.; Prof. Díaz, Shirley; Traut, Cristian O. – “Inoculación con Azospirillum en el cultivo de alfalfa” – Ensayo a campo - Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas - Universidad Nacional del Nordeste – Corrientes – 2005.

Ing. Ferlini Micheli Hugo A.; Prof. Díaz, Shirley – “Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium* y *Azospirillum brasilense*” – XXIII Reunión Latinoamericana de Rizobiología – Los Cocos – Córdoba – 2007.

Dardanelli, Marta S.; Rodríguez-Navarro, Dulce N.; Megías-Guijo, Manuel & Okon Yaacob – “Influencia de la Co-Inoculación *Azospirillum*-Rizobios sobre el crecimiento y la fijación de nitrógeno de leguminosas de interés agronómico” – *Azospirillum sp: cell physiology plant interactions and agronomic research in Argentina* – Cap. 9 pág.143 a 150 – Editorial Asociación Argentina de Microbiología - 2008

Megías Manuel (et al) – “Influencia del estrés abiótico en la comunicación simbiótica entre leguminosas y rizobios” – Conferencia XXIII Reunión Latinoamericana de Rizobiología – Los Cocos – Córdoba – 2007.

Burdmann, S.; Hamaoui, B. y Okon, Y. - 2000 - " Improvement of legume crop yields by co-inoculation with *Azospirillum* and *Rhizobium*". The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. The Hebrew University of Jerusalem, Israel.