

***Azospirillum brasilense* Y NITRÓGENO EN MAÍZ CHIPÁ (*Zea mays* L. var. *amylacea*) EN EL DEPARTAMENTO DE CANINDEYÚ (AÑO II)**

EVELYN MIRANDA GÓMEZ

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del título de Ingeniera Agrónoma.

Universidad Nacional de Asunción
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Ingeniería Agronómica
Área de Suelos y Ordenamiento Territorial
San Lorenzo-Paraguay

2017

***Azospirillum brasilense* Y NITRÓGENO EN MAÍZ CHIPÁ (*Zea mays* L. var. *amylacea*) EN EL DEPARTAMENTO DE CANINDEYÚ (AÑO II)**

EVELYN MIRANDA GÓMEZ

Orientador: **Ing. Agr. (Dr.) JIMMY W. RASCHE ALVAREZ**
Co orientadora: **Ing. Agr. (M.Sc) MARÍA DEL PILAR GALEANO**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del título de Ingeniera Agrónoma

Universidad Nacional de Asunción
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Ingeniería Agronómica
Área de Suelos y Ordenamiento Territorial
San Lorenzo-Paraguay

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

***Azospirillum brasilense* Y NITRÓGENO EN MAÍZ CHIPÁ (*Zea mays* L. var.
amylacea) EN EL DEPARTAMENTO DE CANINDEYÚ**

Esta tesis fue aprobada por la Mesa Examinadora como requisito parcial para optar por el grado de Ingeniera Agrónoma, otorgado por la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción.

Autora: **Evelyn Miranda Gómez**

Miembros del Comité Asesor:

Prof. Ing. Agr. (Dr.) Jimmy W. Rasche Alvarez
Orientador

Prof. Ing^a. Agr^a. (M.Sc) María del Pilar Galeano Samaniego
Co-Orientadora

Miembros de la Mesa Examinadora

Prof. Ing. Agr. (Dr.) Jimmy W. Rasche Alvarez

Prof. Ing^a. Agr^a. (M.Sc.) María del Pilar Galeano Samaniego

Prof. Ing. Agr. (M.Sc.) Diego Augusto Fatecha Fois

Ing. Agr. Derlis Enciso Santacruz

San Lorenzo, 21 de diciembre del 2017

DEDICATORIA

A mi madre, Rosa Josefina Miranda

A mi padre Julio Alberto Miranda

A mi hermana Viviana Miranda

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida, por mantenerme con salud, guiar mis pasos y darme la fortaleza necesaria para cumplir mis metas.

A mi madre, Rosa Josefina Miranda y a mi padre, Julio Alberto Miranda, quienes me dieron la fortaleza y el apoyo incondicional para mi formación académica y/o profesional, por haberme inculcado los mejores valores. De ellos es este triunfo y para ellos es todo mi agradecimiento.

A mi hermana Viviana Miranda por ser mi soporte y por estar siempre a mi lado dándome la fuerza necesaria para salir adelante.

A mi profesor y orientador Prof. Ing. Agr. (Dr.) Jimmy W. Rasche Alvarez, agradezco por guiarme en la elaboración de este trabajo, por la paciencia, por todos los conocimientos transmitidos, por siempre estar disponible para responder mis dudas y cuyas correcciones ayudaron sustancialmente el desarrollo de este trabajo.

A la Prof^a. Ing^a. Agr^a. (M.Sc.) María del Pilar Galeano S. por brindar tiempo y conocimiento para la elaboración de este trabajo.

A la familia Duarte, por proveer el terreno para la instalación de la parcela experimental.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento de la tesis dentro del marco del Proyecto 14-INV-130 "Manejo sostenible de la fertilidad de suelos para la producción de alimentos".

A mis amigas, en especial Rosa Díaz, Clarita Aguilera y Bereniz Silva quienes estuvieron apoyándome durante la carrera.

A mis compañeros de curso quienes estuvieron apoyando para la realización de este trabajo, en especial a Jorge Melgarejo Kennedy, Vicente Romero Riveros y Guillermo Garay.

***Azospirillum brasilense* Y NITRÓGENO EN MAÍZ CHIPÁ (*Zea mays* L. var. *amylacea*) EN EL DEPARTAMENTO DE CANINDEYÚ**

Autora: **EVELYN MIRANDA GÓMEZ**

Orientador: **Prof. Ing. Agr. (Dr.) JIMMY W. RASCHE A.**

Co-Orientadora: **Prof. Ing. Agr. (M.Sc) MARIA DEL PILAR GALEANO S.**

RESUMEN

El maíz requiere altas dosis de nutrientes, que generalmente son suplidos mediante fertilizantes químicos, esto implica una alta inversión en costos y por ende riesgos para el productor. Una alternativa para evitar el uso excesivo de fertilizantes químicos es la inoculación con microorganismos promotores de crecimiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense* con diferentes dosis de nitrógeno en maíz chipa. El ensayo fue instalado en el Departamento de Canindeyú, Distrito de Yvyrarovaná siendo el segundo año de experimento, donde se empleó un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial en parcelas divididas, siendo los factores estudiados la aplicación de inoculante a base de *A. brasilense* (con y sin) y seis dosis de nitrógeno (0, 30, 60, 90, 120, 150 kg ha⁻¹ de N), totalizando doce tratamientos con cuatro repeticiones. El inoculante fue aplicado a dosis de 3 mL kg⁻¹ de semilla. Se evaluó el rendimiento del grano de maíz en respuesta a los tratamientos; el efecto de los tratamientos en número de espigas por planta, diámetro del tallo, longitud de la espiga, diámetro de la espiga, rendimiento, peso hectolitrico, peso de mil granos. No se obtuvo diferencia significativa en el rendimiento de granos tanto con la aplicación del inoculante y entre las dosis de nitrógeno, el mayor rendimiento (5.978 kg ha⁻¹) se obtuvo con dosis de 120 kg ha⁻¹ de N, y con inoculación al 100% (5.329 kg ha⁻¹).

La aplicación de *Azospirillum brasilense*, con distintas dosis de nitrógeno no incidió en el rendimiento del maíz chipá.

PALABRAS-CLAVE: Fertilizantes nitrogenados, nitratos, inoculante, microorganismos.

***Azospirillum brasilense* AND NITROGEN IN MAIZE (*Zea mays* L. CHIPA var. *amylacea*) IN THE DEPARTMENT OF CANINDEYU**

Author: **EVELYN MIRANDA GÓMEZ**

Adviser: **Prof. Ing. Agr. (Dr.) JIMMY W. RASCHE A.**

Co-Adviser: **Prof. Ing. Agr. (M.Sc) MARIA DEL PILAR GALEANO S.**

SUMMARY

Corn requires high doses of nutrients, which implies a high investment in costs and therefore risks for the producer. An alternative to avoid the excessive use of chemical fertilizers is inoculation with microorganisms that promote growth. The objective of this work was to evaluate the implementation of inoculant to basis of *Azospirillum brasilense* with different doses of nitrogen in corn chipa. The trial was installed in the Department of Canindeyú, District of Yvyrarovana being the second year of experiment, where the experimental design was a randomized complete block design with factorial arrangement in divided plots, being the factors studied the application of inoculant to basis of *Azospirillum brasilense* (with and without) and 6 doses of nitrogen (0, 30, 60, 90, 120, 150 kg N ha⁻¹), for a total of 12 treatments with four replications. The inoculant was applied at a dose of 3 mL kg⁻¹ of seed. We evaluated the performance of the grain of maize in response to treatments; the effect of the treatments in terms of the number of ears per plant, stem diameter, length of the pin, diameter of the pin, performance, weight hectolitric, weight of 1,000 grains. There was no significant differences in the grain yield both with the implementation of the inoculant and between doses of nitrogen.

The application of *Azospirillum brasilense*, with different doses of nitrogen, did not affect the yield of the chipá corn.

KEY-WORDS: Nitrogen fertilizer, nitrates, inoculant, micro-organisms.

***Azospirillum brasilense* E NITROGÊNIO EM MILHO (*Zea mays* L. var. *CHIPA amyloacea*) NO DEPARTAMENTO DE CANINDEYU**

Autora: **EVELYN MIRANDA GÓMEZ**

Conselheiro: **Prof. Ing. Agr. (Dr.) JIMMY W. RASCHE A.**

Co-Conselheiro: **Prof. Ing. Agr. (M.Sc) MARIA DEL PILAR GALEANO S.**

RESUMO

O milho requer altas doses de nutrientes, o que implica um alto investimento em custos e, portanto, riscos para o produtor. Uma alternativa para evitar o uso excessivo de fertilizantes químicos é a inoculação com microorganismos que promovem o crescimento. O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicação de inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* com diferentes doses de nitrogênio em milho chipa. O ensaio foi instalado no Departamento de Canindeyú, sendo Yvyrarovana no segundo ano do experimento, onde o delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com parcelas divididas em esquema fatorial, sendo os fatores estudados a aplicação de inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* (com e sem) e 6 doses de nitrogênio (0, 30, 60, 90, 120, 150 kg N há⁻¹), para um total de 12 tratamentos com quatro repetições. O inoculante foi aplicado na dose de 3 mL kg⁻¹ de sementes. Avaliamos o desempenho do grão de milho, em resposta aos tratamentos; o efeito dos tratamentos em termos do número de espigas por planta, diâmetro do caule, comprimento do pino, diâmetro do pino, o desempenho hectolitrico, peso, peso de 1.000 grãos. Não houve diferenças significativas na produtividade de grãos com a aplicação do inoculante e entre doses de nitrogênio.

A aplicação de *Azospirillum brasilense*, com diferentes doses de nitrogênio, não afetou o rendimento do milho chipá.

PALAVRAS-CHAVE: Adubação nitrogenada, nitratos, inoculante, microorganismos.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PORTADA.....	i
HOJA DE APROBACIÓN.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN.....	v
SUMMARY.....	vi
RESUMO.....	vii
TABLA DE CONTENIDO.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	x
LISTA DE ANEXOS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 El maíz.....	3
2.2 Promotores de Crecimiento (PGPR).....	5
2.3 Género <i>Azospirillum</i>	6
2.4 Experimentos basados en la inoculación de <i>Azospirillum brasilense</i> en diferentes cultivos.....	7
2.5 El nitrógeno en las plantas.....	10
2.5.1 Fuentes, disponibilidad y pérdidas del nitrógeno en el suelo.....	11
2.5.2 Fertilización nitrogenada.....	12
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
3.1 Local del experimento.....	14
3.1.1 Características climáticas y edafológicas del experimento.....	15
3.2 Recursos materiales y equipos técnicos.....	16
3.3 Diseño para la recolección de datos.....	17
3.5.1 Preparación del terreno.....	19
3.5.2 Inoculación de los granos.....	19

3.5.3 Fertilización química.....	19
3.5.4 Variedad de maíz y época de siembra.....	19
3.5.5 Densidad de siembra.....	19
3.5.6 Método de siembra.....	20
3.5.7 Cuidados culturales.....	20
3.5.8 Cosecha.....	20
3.6 Métodos de control de calidad de los datos.....	21
3.7 Análisis de datos.....	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
4.1 Número de espigas por planta y diámetro del tallo.....	23
4.2 Longitud y diámetro de espiga.....	25
4.3 Número de hilera de granos por espiga.....	27
4.4 Rendimiento de grano del maíz.....	28
4.5 Peso hectolitrico y peso de 1000semillas.....	31
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	34
5.1 Conclusiones.....	34
5.2 Recomendaciones.....	34
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
ANEXOS.....	43

LISTA DE FIGURAS

Pág.

1.	Imagen satelital de la parcela experimental obtenida de Google earth del Distrito Ybyrarobana, en el mapa de Paraguay.....	14
2.	Precipitación mensual y temperatura media ocurrida durante el ciclo del experimento (setiembre de 2016 hasta febrero de 2017), medido con un pluviómetro instalado en el área del experimento	16
3.	Distribución de tratamientos en el área experimental. Canindeyú, Paraguay, 2015.....	18
4.	Curva de respuesta relacionada al número de hileras de granos, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i> . Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.....	28

LISTA DE TABLAS

	Página
1. Tratamientos utilizados en el experimento de Canindeyú, Paraguay.....	17
2. Medias de la variable correspondiente al número de espigas por planta de maíz y diámetro del tallo (cm) sometidas a diferentes dosis de Nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i> . Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.....	23
3. Medias de la variable correspondiente a la longitud de espiga (cm), diámetro del espiga (mm) y número de hileras de granos por espiga, sometidas a diferentes dosis de Nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i> . Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.....	26
4. Medias de la variable correspondiente al número de hileras de granos, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i> . Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.....	27
5. Medias de la variable correspondiente a rendimiento de granos de maíz (kg ha^{-1}), sometidas a diferentes dosis de Nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i> . Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.....	29
6. Medias de la variable correspondiente a Peso hectolitro (kg/hl) y Peso de mil granos (g), sometidas a diferentes dosis de Nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i> . Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.....	32

LISTA DE ANEXOS

		Página
1.	Análisis de varianza de la variable número de espigas por planta sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	44
2.	Análisis de varianza de la variable diámetro del tallo sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	44
3.	Análisis de varianza de la variable longitud de espigas sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	44
4.	Análisis de varianza de la variable diámetro de la espiga (mm) sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	45
5.	Análisis de varianza de la variable número de hileras de granos por espigas sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	45
6.	Análisis de varianza de la variable rendimiento de granos sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	45
7.	Análisis de varianza de la variable peso hectolitro sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	46
8.	Análisis de varianza de la variable peso de 1000 granos sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de <i>Azospirillum brasilense</i>	46
9.	Datos de las mediciones realizadas a las variables para cada unidad experimental.....	47
10.	Datos de las mediciones realizadas a las variables para cada unidad Experimental (Continuación).....	48
11.	Datos de las mediciones realizadas a las variables para cada unidad experimental (Continuación).....	49
12.	Precipitaciones ocurridas en los meses de (setiembre- enero).....	50
13.	Temperatura media ocurrida en los meses de (setiembre-enero).....	51

1. INTRODUCCIÓN

El maíz, *Zea mays* L., es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conoce, pertenece a la familia de las Poáceas. Es de gran importancia en la alimentación humana y en nuestro país es parte de la dieta nacional. Tradicionalmente fue considerado un rubro de autoconsumo, sin embargo, en los últimos años, con la apertura del comercio externo y el mejoramiento del cultivo se ha transformado en un cultivo de renta impulsado fuertemente por la agricultura empresarial mecanizada.

El maíz requiere altas dosis de nutrientes, que generalmente son suplidos mediante fertilizantes químicos, esto implica una alta inversión en costos y por ende riesgos para el productor. Una alternativa para evitar el uso excesivo de fertilizantes químicos es la inoculación con microorganismos promotores de crecimiento.

El uso excesivo de fertilizantes podría causar un desbalance nutricional en el ambiente. La fuente de contaminación por nitratos en el suelo y agua (superficiales y subterráneas) se asocia generalmente a actividades agrícolas. Una alternativa de contrarrestar este efecto negativo podría ser el uso de fijadores biológicos de nitrógeno, reduciendo de esa manera la aplicación nitrogenada en forma inorgánica.

Se demuestra que existen algunos resultados beneficios en la aplicación de *Azospirillum brasilense* en el maíz, sin embargo, en ocasiones la aplicación no puede arrojar resultados satisfactorios debido a factores que influyen en el desarrollo y la proliferación de las bacterias, estos factores podrían ser, las condiciones ambientales en que se desarrollan las bacterias, el estrés hídrico, u origen de las cepas del inoculante.

El objetivo general de este trabajo consistió en evaluar el efecto de la aplicación con y sin *Azospirillum brasilense* con diferentes dosis de nitrógeno sobre la producción de maíz chipá (*Zea mays* L. var. *Amylacea*); los objetivos específicos fueron evaluar el diámetro del tallo, cantidad de mazorcas por planta, diámetro de la mazorca, longitud de la mazorca, número de hileras por mazorca, rendimiento del grano, peso hectolitrico y peso de 1000 granos.

El presente trabajo pretendió demostrar que los mejores valores de los caracteres agronómicos en estudio se obtendrían utilizando inoculante a base de *A. brasilense* con menor dosis de nitrógeno.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El maíz

El maíz, *Zea mays* L., es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen, pertenece a la familia de las Poáceas. Es una planta C4 con una alta tasa de actividad fotosintética, tiene el más alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie por día (Paliwal et al. 2001).

El maíz es de gran importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento humano, como alimento para el ganado o como fuente de gran número de productos industriales. La diversidad de los ambientes bajo los cuales es cultivado el maíz es mayor que la de cualquier otro cultivo (Paliwal et al. 2001).

Este cereal es de suma importancia para el consumo humano, porque aporta grandes cantidades de carbohidratos alrededor del 58 a 72%, entre las clases de maíz que existe, el blanco se destaca por ser el más nutritivo debido al alto nivel de vitamina A y se distingue por ser el único cereal que puede ser consumida en diferentes etapas de desarrollo de la planta (López et al. 2015).

Según investigaciones realizadas en el Paraguay, en tres cultivos diferentes para consumo humano entre ellas estaba el poroto, la mandioca y el maíz, se pudo constatar que el maíz ocupa el primer lugar en valoración social para las familias (Carballo et al. 2010).

Las exigencias nutricionales del cultivo del maíz debe ser a base de los macronutrientes esenciales, y micronutrientes ya que son esenciales para el

crecimiento normal de la planta y la disponibilidad de los mismos dependerá de muchos factores, dichos nutrientes participan en los procesos fisiológico del cultivo, éstos permiten la producción de biomasa: follaje y grano (CENTA 2008).

Estudios realizado en el cultivo maíz demostraron que para un rendimiento de $12.000 \text{ kg ha}^{-1}$ dicho cultivo necesita absorber aproximadamente 264, 48, 48 kg ha^{-1} de nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S), respectivamente (García 2004).

Según Acosta (2009) el maíz, está clasificado en siete grupos, en donde consideró la diferencia que existe entre los granos, maíz tunicado: *Zea mays tunicata* St.; maíz pichingá o pororó: *Zea mays everta* St.; maíz cristalino: *Zea mays indurata* St.; maíz dentado: *Zea mays indentata* St.; maíz dulce: *Zea mays saccharata* St.; maíz ceroso: *Zea mays ceratina* Kul.; maíz amiláceo: *Zea mays amylácea* St.

El maíz amiláceo o también conocido es uno de las variedades más cultivadas debido a su consistencia harinosa, tierna, granos de gran tamaño y posee un alto rendimiento.

Anteriormente según el último censo en Paraguay el maíz chipa se siembra principalmente en fincas de 1 a 20 ha, siendo uno de los rubros de consumo humano más difundidos en las pequeñas fincas, donde se siembra aproximadamente en 80.759 ha arrojando un promedio de 134.835 fincas, con una producción promedio de 1.062 kg ha^{-1} (MAG, 2008).

La siembra del maíz, variedad avatí moroti (chipa) se realiza generalmente en la época de julio a octubre y su ciclo promedio de crecimiento es de 120 días (MAG 2006). Pero según Rodriguez y Rabery (2003) la época no influye en el rendimiento del maíz amiláceo (avati moroti) esto se constató con siembras realizadas en distintas épocas y densidades, en donde la primera época de siembra fue agosto, arrojó un rendimiento de 1.084 kg ha^{-1} y la segunda época fue la de octubre en donde se obtuvo un rendimiento 1.101 kg ha^{-1} .

El cultivo del maíz requiere de altas dosis de fertilizantes químicos, esto implica una alta inversión en costos y por ende riesgos para el productor. Una alternativa para evitar el uso excesivo de fertilizantes químicos es la inoculación con microorganismos promotores de crecimiento (García- Olivares et al. 2007).

2.2 Promotores de Crecimiento (PGPR)

Kloepper definió en 1978 a varias bacterias como PGPR (por sus siglas en inglés, que significan plant growth promoting rhizobacteria, o rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, las cuales mostraron ser organismos altamente eficientes para aumentar el crecimiento de las plantas e incrementar su tolerancia a otros microorganismos causantes de enfermedades (Aguilar y Montiel 2003).

Las bacterias promotoras del crecimiento de plantas, corresponden a un grupo de microorganismos benéficos para los cultivos, debido a la capacidad que tienen de colonizar tanto la superficie de las raíces, como el tejido interno de las mismas (Davison 1988; Kloepper et al 1989 citado por Mansano et al. 2014).

Favoreciendo el crecimiento de las plantas a través de distintos mecanismos como la fijación biológica de nitrógeno. O la síntesis de fitohormonas como las auxinas (grupo de hormonas que estimulan la elongación), particularmente el ácido indol acético, induce al crecimiento de las raíces y la proliferación de los pelos radiculares, mejorando la absorción de agua, y minerales del suelo, y con ello confiriendo mejor y mayor desarrollo de la planta (Caballero- Mellado 2006).

El éxito de las bacterias promotoras del crecimiento, depende directamente de como las bacterias interactúan con la planta hospedera, y de esto depende la capacidad de sobrevivir y persistir en el suelo, así como la colonización de la rizosfera. Estos microorganismos presentan la capacidad de promover el crecimiento de plantas por distintos mecanismos tales como aumento de la actividad del nitrato reductasa. Por otro lado las micorrizas pueden actuar indirectamente en la planta,

como protectores contra hongos del suelo y de bacterias fitopatógenas (Rodríguez et al. 2004 citado por Piccinin et al. 2015).

2.3 Género *Azospirillum*

Este género fue descubierto por Beijerinck en 1925, y desde su descubrimiento se lo llamó *Spirillum lipoferum*. En 1978, después de sucesivos aislamientos de esta bacteria se sugirió agrupar en un nuevo género al que se lo denominó *Azospirillum* (Parra et al. 2001). El género *Azospirillum* corresponde a bacterias Gram negativas, heterotróficas, que pertenece a la subclase de las proteobacterias (Aguilar et al. 2008).

Las altas concentraciones de amonio, y bajas concentraciones de oxígeno y carbono inhiben el complejo nitrogenasa (enzimas utilizadas por las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico para romper el N₂ presente en la atmósfera y combinarlo con hidrógeno, con el objetivo de formar amonio (NH₄⁺)) de las bacterias del género *Azospirillum*, de esa manera se reduce la población (Kavadia et al. 2008 citado por Mello 2012).

Anteriormente se consideraba a la bacteria *Azospirillum brasilense* como un microorganismo capaz de crecer utilizando nitrógeno atmosférico, como única fuente de nitrógeno, actualmente se asocian con raíces de diversos cultivos de importancia agrícola, como el maíz, el trigo, sorgo y arroz (Döbereiner 1991).

El *Azospirillum* como es una bacteria fijadora de nitrógeno de vida libre tiene una baja eficiencia en fijar nitrógeno atmosférico (0,5 a 1 kg de N ha año), en cambio cuando se asocian a las plantas su capacidad de fijación aumenta (hasta 30 kg de N ha año) (Paredes, 2013).

El *Azospirillum* modifica el sistema radicular por un mecanismo o mecanismos aún no completamente establecidos, sin embargo, esto se atribuye al menos en parte, a su capacidad de producir sustancias que regulan el crecimiento

vegetal, conduciendo a un incremento en el número de las raíces laterales y pelos radiculares, aumentando la superficie disponible para la absorción y el flujo de protones en la membrana de la raíz, lo que promueve la captación de agua y minerales (Aguilar et al. 2008). El género *Azospirillum* se encarga de la biosíntesis de fitohormonas, sobre todo de las auxinas, hormonas que pueden favorecer al crecimiento y el desenvolvimiento de las plantas (Martínez- Morales et al. 2003).

Faggioli et al. (2007) demostraron que, en estadios iniciales del cultivo de maíz (V4) la inoculación con cepas de *P. flourescens* y *A. brasilense* promueven el incremento de raíces en un 20 a 25% superior a lo normal, este hecho es muy importante para el buen establecimiento del cultivo, ya que con un sistema radicular abundante hay menor probabilidad de sufrir deficiencia hídrica como también llegar a aquellos nutrientes de baja movilidad como por ejemplo el fósforo.

Las alteraciones morfológicas en las que se encuentra la planta, proporcionan la elongación, y el aumento de tamaño de las raíces, favoreciendo a la planta un mayor desenvolvimiento (Silva 2004). Las semillas inoculadas con bacterias diazotróficas del género *Azospirillum*, son más saludables, más productivas y con mayor capacidad fotosintética (Bashan et al. 2004). Basi et al. (2011) observaron que la inoculación de las semillas y la aplicación en surcos de *A. brasilense*, no incrementó la productividad del cultivo de maíz, excepto en la altura del cultivo.

2.4 Experimentos basados en la inoculación con *Azospirillum brasilense* en diferentes cultivos

La utilización de *Azospirillum* en el cultivo del maíz promueve el aumento de la disponibilidad del N, como así también produce auxinas, lo que posibilita la reducción de la aplicación de fertilizantes nitrogenados (Renai 2007 citado por Mazza 2014).

En experimentos realizados en México con promotores de crecimiento, entre ellos el *A. brasilense* y *A. lipoferum* en cultivos de maíz, sorgo y trigo, se pudo observar beneficios potenciales únicamente en la producción de grano de sorgo, con

la aplicación de cepas de *A. brasilense*, estos resultados también demostraron la afinidad existente entre cepas y genotipo vegetal, en donde se obtuvo un rendimiento significativo en los granos de un 49 a 55%, en comparación al testigo que fue fertilizado con nitrógeno (Rangel et al. 2014).

Según Dartora et al. (2013) trabajando con la aplicación de *A. brasilense*, *A. herbaspirillum*, y fertilización nitrogenada en semillas de maíz se observó que la fertilización nitrogenada favoreció al cultivo, y la inoculación de las bacterias combinadas proporcionó el incremento en materia seca de la parte aérea pasando de 6.116 kg⁻¹ a 10.753 kg⁻¹ y en la productividad 10.916 kg⁻¹ en relación al testigo indicando beneficios en la combinación de dichas bacterias diazotróficas.

La asociación de fertilizantes nitrogenados y la inoculación de semillas con bacterias diazotróficas, entre ellas *A. brasilense* y *A. herbaspirillum*, proporcionaron beneficios para el cultivo del maíz, aumentando de 15 a 23 cm en la longitud de la planta y en la producción de masa seca de 1,23 g por plántula, ésta asociación también promovió al aumento de la producción de granos de 9.460 a 10.303 kg ha⁻¹ (Oliveira 2013).

En la Región semiárida central de la Argentina, se realizó un experimento basado en los factores que afectan la colonización de *Azospirillum spp.* en el cultivo de trigo, maíz y pastura, los ensayos se realizaron en distintas épocas; verano e invierno, dependiendo de qué cultivo era, donde se pudo concluir que los factores que podrían haber afectado la homogeneidad de los resultados son: el estrés hídrico y el origen de las cepas del inoculante, bajo condiciones de estrés puede existir una fuerte competencia entre las poblaciones rizosféricas, situación en la cual las cepas nativas tienen ventajas por su mayor adaptación en el medio, esto demuestra que la respuesta en condiciones de campo a menudo es poco consistente, por tal motivo la inoculación con esta bacteria es variable (Abril et al. 2006).

Se realizó un experimento de investigación en donde fueron seleccionados rizobacterias entre ellas *Rhizobium*, *Azospirillum* o *Azobacter* con potencial

promotoras de crecimiento, utilizando como cultivos indicadores al pimentón y maíz bajo condiciones de laboratorio e invernadero, el resultado obtenido fue que en el pimentón se observó que la inoculación con dichas bacterias aumentó la germinación en 11% y el peso seco en 20 % con todas las cepas evaluadas y el porcentaje de nitrógeno en la mayoría de ellas, mientras que todas las cepas indujeron una disminución del P foliar en 45% para el momento del muestreo (a las seis y nueve semanas para el maíz y el pimentón respectivamente), mientras que en el maíz no se observaron los resultados esperados con todas las cepas como ocurrió con el pimentón (Reyes et al. 2008).

Según Britez (2013) la aplicación a campo de diferentes dosis de *A. brasilense* y nitrógeno en maíz, en el Departamento de Cordillera (Paraguay), no arrojó diferencias significativas en la altura de la planta, rendimiento del cultivo, peso de mil granos, peso de espigas, masa seca de raquis, masa seca de granos, masa seca de brácteas, ni la longitud de las mazorcas. Sin embargo, en cuanto la longitud de espigas, masa seca de granos, masa seca de brácteas, peso de espiga, rendimiento del cultivo y el peso de mil granos se observó una tendencia positiva con la inoculación de *Azospirillum* más de nitrógeno, aunque, la masa seca del raquis arrojó el mejor resultado con la inoculación de *A. brasilense* sin la aplicación de nitrógeno.

Estudios realizados en Quirinopolis- Brasil, sobre la eficiencia con aplicación de *A. brasilense* en el crecimiento y la productividad del maíz en la segunda zafra, el método de aplicación de dicho promotor de crecimiento fue de inoculación en las semillas y aplicación foliar (en la etapa V4), y uno sin ningún tipo de inoculante, donde se observó que la inoculación de semillas y la aplicación de *Azospirillum* de manera foliar en la etapa V4 arrojó resultados satisfactorios en el aumento de la productividad del maíz en 29% en la segunda zafra, en comparación a las plantas no inoculadas (Costa 2015).

En una investigación realizada en el cultivo del maíz, con *A. brasilense* y dosis de nitrógeno, donde se utilizó 5 dosis distintas de nitrógeno, como la inoculación de las semillas, con y sin la bacteria promotora de crecimiento, hubo

aumento significativo en número y en la masa de las espigas comerciales en un 30% en la asociación de dicha bacteria con las distintas dosis de nitrógeno (Araújo et al. 2014).

Repke et al (2013) observaron en un experimento con diferentes dosis de nitrógeno y aplicación de *A. brasiliense* que tampoco hubo diferencias en el diámetro del tallo, este resultado se observó a los 60 días de la emergencia, en donde el aumento del diámetro del tallo pudo ser interferido por la remoción de los nutrientes contenido en él para sostener de manera adecuada el estadio de floración y desarrollo de la espiga. La dosis que representó un mejor resultado fue la de mayores a 80 kg ha⁻¹, Brites (2013) tampoco observó diferencias significativas en la aplicación o no de *Azospirillum* asociada a distintas dosis de nitrógeno, igualmente Repke et al (2013) tampoco pudieron observar con la aplicación de 80 kg ha⁻¹ de N en cuanto a la longitud el mayor valor fue de 15,9 cm.

2.5 El nitrógeno en las plantas

El nitrógeno es un macronutriente esencial para el crecimiento vegetativo de los cultivos, también es considerado como un limitante para el desarrollo de la planta, ya que se requiere en gran cantidad. La importancia del nitrógeno para la planta se debe a las múltiples funciones que cumple, tales como la síntesis de proteínas, aminoácidos, y ácidos nucleicos, clorofila, constituyentes de coenzimas y enzimas y por alargar las fases del cultivo, también favorece la multiplicación celular y estimulan el crecimiento (Rodríguez 2014). Es esencial para la utilización del carbohidrato en el interior de la planta, estimula el crecimiento y el desenvolvimiento de la raíz, como también la captación de otros nutrientes (Brady 1989).

Según Below (2002) el nitrógeno puede ser absorbido por las plantas en formas de anión nitrato (NO₃⁻) o como catión amonio (NH₄⁺), aunque el nitrato es la forma de N absorbida predominante en el maíz

El nitrógeno es uno de los elementos absorbidos en mayor cantidad por el maíz, con aumento lineal de la absorción en función de la mayor producción de biomasa, aproximadamente 21 kg por tonelada de grano (Cubilla et al. 2012).

La extracción de nutrientes del suelo por el maíz a lo largo del ciclo del cultivo está relacionado con la acumulación de materia seca en la planta, el nitrógeno debe estar asimilable por la planta en el período de sus necesidades máximas, esto quiere decir, en el estado vegetativo tardío, en donde se da la formación del tallo y durante el llenado del grano, la absorción de nutrientes continua hasta la madurez de la planta (López Bellido 1991).

Según Navarro (2003) la forma de asimilación del N (nitrato o amoniacal), depende en gran manera de la edad de la planta, y especies, también del pH del suelo, de su composición e incluso de la pluviometría anual. El maíz y la cebada se desarrollan de forma satisfactoria en suelos privados de nitratos, utilizando solo nitrógeno amoniacal.

El exceso de N origina plantas muy suculentas, con pocas partes leñosas, disminución muy marcada en el desarrollo de las raíces con un amplio desarrollo vegetal aéreo. En muchos cereales alarga el periodo de crecimiento, lo que trae consigo un mayor contenido en paja con relación al grano (Navarro 2003).

2.5.1 Fuentes, disponibilidad y pérdidas del nitrógeno en el suelo

La fuente de nitrógeno en el suelo se puede originar a través ciertos materiales, como residuos de cultivos, fertilizantes comerciales, abonos verdes, así como también por sales de amonio y nitratos adicionados por precipitación, aparte de estas formas el nitrógeno se puede obtener por fijación de nitrógeno atmosférico originada por ciertos microorganismos, mientras que las pérdidas se dan principalmente por lixiviación, cosecha, volatilización, denitrificación, erosión y escurrimiento. Las proteínas son convertidas en varios productos de descomposición, luego parte del nitrógeno se encuentra en forma de nitratos, no queda inactivo porque

este nitrato es utilizado por los microorganismos y por las raíces vegetales, o eliminado por lavado o también perdido por volatilización (Brady 1989).

Según la misma fuente en los suelos minerales el nitrógeno se encuentra de tres formas principales, nitrógeno orgánico asociado con el humus del suelo, nitrógeno amoniacal fijados por ciertos minerales de arcilla y amonio inorgánico soluble y compuesto de nitratos.

El nitrógeno, en forma natural entra al suelo por medio de la fijación biológica y/o descomposición de residuos animales o vegetales. La mayor parte del nitrógeno en el suelo se encuentra en la materia orgánica, donde este N no se encuentra directamente disponible para las plantas, sino que solo una porción de N en el material orgánico se encuentra disponible por mineralización, los microorganismos se encuentran involucrados en dicho proceso, la liberación es lenta, y como alternativa se requiere realizar fertilizaciones para el cultivo del maíz, para así obtener un óptimo crecimiento y rendimiento (Below 2002).

2.5.2 Fertilización nitrogenada

Según el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- INTA (2008) el principal nutriente que condiciona la productividad del maíz es el nitrógeno siendo éste el elemento más requerido por el cultivo. En caso de que la planta sufra una deficiencia de nitrógeno, ésta manifiesta reducción en granos, y sus componentes a través de la merma en la materia seca total.

El bajo rendimiento del maíz muchas veces es influenciado por los problemas de estrés ambiental, entre los cuales se destaca la baja fertilidad del suelo, que en la mayoría de los casos, se debe a la deficiencia de fertilizantes nitrogenados, que puede reducir el rendimiento de grano entre el 14 y el 80% (Bueno dos Reis Junior et al. 2008).

La fertilización nitrogenada produce un rápido crecimiento y gran aumento de producción de materia seca, variando la respuesta básicamente de acuerdo a la fuente de nitrógeno empleada, el momento de aplicación, la dosis, el contenido de humedad en el suelo y nitratos del suelo (Bianchini 2006).

Según Fatecha (2001) aplicaciones tardías de nitrógeno en cobertura no producen el efecto esperado. La fertilización nitrogenada en maíz posee respuesta lineal si es aplicada hasta en tres oportunidades, una dosis a la siembra, la segunda 25 a 30 días después de la germinación y la restante a 30 a 45 días de la siembra.

Investigaciones realizadas en maíz para ensilaje, sobre diferentes densidades y fertilización nitrogenada en distintas dosis de 150, 300 y 450 kg de N ha⁻¹ demostró que al aumentar la cantidad de nitrógeno, incrementa el rendimiento del forraje y de proteína por hectárea. Este incremento fue de 3,8 t de MS ha⁻¹ al pasar 150 a 300 kg de N ha⁻¹ y 2,0 t MS ha⁻¹ al aumentar de 300 a 450 kg de N ha⁻¹ y el contenido de proteína con un aumento entre un 1,4 y 0,8 % para los intervalos comprendidos entre 150 a 300 y 300 a 450 kg de N ha⁻¹, respectivamente (Soto et al. 2000).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Local del experimento

El experimento fue realizado en la propiedad del productor Alejandro Duarte Sanabria, ubicada a 330 kilómetros de Asunción, en el Distrito Ybyrarobana, localizado entre los Distritos de Santo Domingo e Yjhovy del Departamento de Canindeyú (Figura1).



Figura1. Localización de la parcela experimental (S 24°20'10,7" O 55°07'06,9") obtenida de Google earth. Distrito de Ybyrarobana, Departamento Canindeyú.

3.1.1 Características climáticas y edafológicas del experimento

La zona presenta características climáticas subtropicales, en donde en verano la temperatura máxima es de 39°C y en invierno la mínima es de 0°C, el promedio anual de temperatura es de 21°C. El promedio de precipitación es de 1700 milímetros (DINAC 2013).

Según López et al (1995), el suelo predominante en la zona donde se realizó el experimento es clasificado como Arenic Rhodic Paleudult (Soil Taxonomy USDA)

Las condiciones climáticas durante la conducción del experimento (setiembre 2016 hasta enero 2017), fueron favorables para el desarrollo del cultivo, principalmente en la distribución de la lluvia

Teniendo en cuenta que el cultivo del maíz para completar su ciclo vegetativo y expresar su potencial productivo tiene una necesidad hídrica entre 600-800 mm y es fundamental que no falte agua durante la germinación y la floración, la falta de agua y nutrientes, principalmente nitrógeno, durante la etapa de floración y llenado de grano perjudica la cosecha de forma irreversible y en cuanto a la temperatura, requiere entre 14 y 29 °C (MAG).

La precipitación total registrada durante el ciclo del experimento fue de 864 mm, de acuerdo a estos datos y teniendo en cuenta las necesidades del cultivo la precipitación presentada durante el experimento fue relativamente alta en relación a datos históricos, lo cual podría influir en los resultados finales del experimento (Figura 2).

La temperatura que se presentó durante el ciclo del experimento ha sido muy variado (figura 2), registrando temperaturas máximas de hasta 36 °C y mínimas de 17°C, sin embargo estas temperaturas son favorables para el buen desarrollo del cultivo.

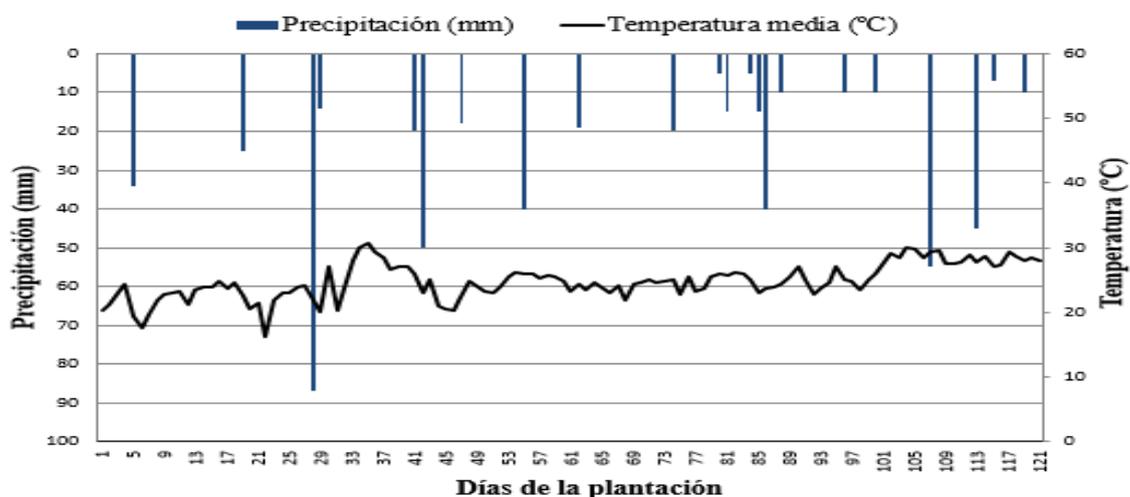


Figura 2. Precipitación mensual y temperatura media ocurrida durante el ciclo del experimento (setiembre de 2016 hasta febrero de 2017), medido con un pluviómetro instalado en el área del experimento.

Fuente: IPTA (Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria). Datos climáticos del campo experimental Yjhovy.

3.2 Recursos materiales y equipos técnicos

Materiales de campo: azada, machete, carretillas, bolsas, rastrillos, estacas, hilo ferretería, pala, etc.

Material biológico:

Semillas: Se utilizó un lote de semillas de maíz variedad Avati moroti (chipá), con un ciclo de 120 días.

Inoculante: Se adquirió el inoculante líquido a base dePGPR, el cual se utilizó para la inoculación de semillas de acuerdo a la dosis recomendada.

Materiales de gabinete: cinta métrica, bolígrafo, hojas, computadora, impresora, balanza electrónica, calculadora, cámaras fotográficas, computadora, etc.

Fertilizantes: Urea (45-0-0), súper fosfato triple, cloruro de potasio, cal agrícola.

3.3 Diseño para la recolección de datos

Los tratamientos consistieron en la aplicación de diferentes dosis de N, con y sin inoculación de *Azospirillum brasilense*. En cuanto a los demás fertilizantes se realizó una aplicación base, los fertilizantes utilizados como fuente de N, P₂O₅, K₂O fueron urea, SFT, y Cloruro de Potasio, en una dosis de 30 kg ha⁻¹ en la siembra, 80 kg ha⁻¹ y 60 kg ha⁻¹ respectivamente según la necesidad del cultivo. El nitrógeno se aplicó en forma fraccionada en dos oportunidades (siembra y 45 días después de la siembra). Se emplearon semillas sin tratamiento químico y la inoculación con *A. brasilense* se realizó en el momento de la siembra empleando un diseño experimental bifactorial, con parcelas divididas, siendo el factor 1 la aplicación o no de PGPR y el factor 2, seis dosis de nitrógeno, en el campo el diseño estuvo dispuesto en forma de bloques completamente al azar, totalizando doce tratamientos con cuatro repeticiones, como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos que fueron utilizados en el experimento de Canindeyú, Paraguay, 2016

Tratamientos	Descripción	
	<i>Azospirillum brasiliense</i>	Dosis de N (kg ha ⁻¹)
T1	Sin	0
T2	Sin	30
T3	Sin	60
T4	Sin	90
T5	Sin	120
T6	Sin	150
T7	Con	0
T8	Con	30
T9	Con	60
T10	Con	90
T11	Con	120
T12	Con	150

*Dosis recomendada del inoculante: 3 mL kg⁻¹ de semilla de maíz

Las unidades experimentales (UE) consistieron en parcelas de 5 m x 3,5 m, con una superficie de 17,5 m² y el área experimental (AE) de 840 m². La siembra se realizó con un espaciamiento de 0,70 m entre hileras y 0,25 m entre plantas (Figura 2).

IB IIB IIIB IVB
14 metros

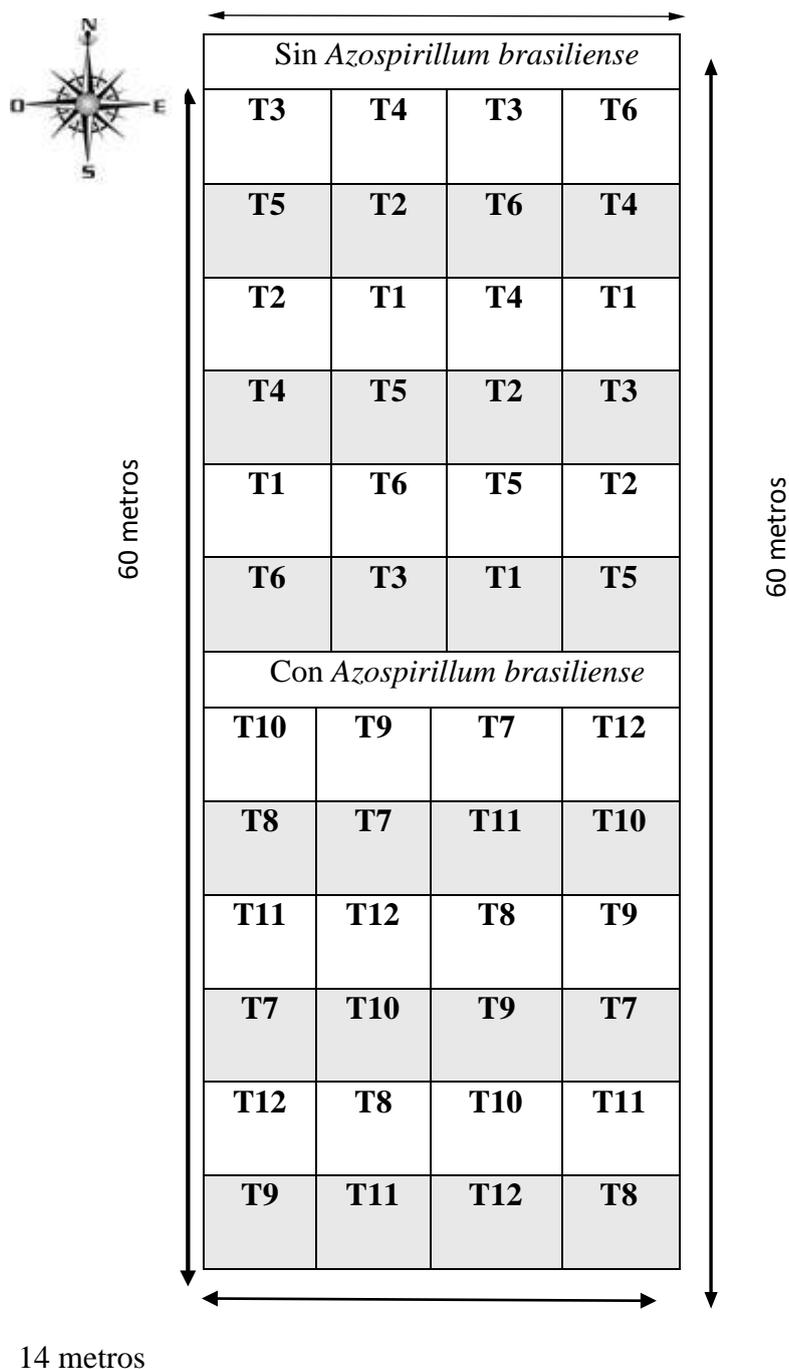


Figura 3 Distribución de tratamientos en el área experimental. Canindeyú, Paraguay, 2015.

3.5.1 Preparación del terreno

El terreno fue preparado en forma de siembra directa (cultivo anterior mucuna), primeramente se procedió a limpiar el terreno de forma manual eliminando las malezas, etc., despejando completamente el área, posteriormente se realizó el surcado.

3.5.2 Inoculación de los granos

Se emplearon semillas sin tratamiento químico y la inoculación se realizó en el momento de la siembra y la dosis 100 % de PGPR de acuerdo la recomendada por el fabricante (3 mL kg⁻¹ de semilla de maíz).

3.5.3 Fertilización química

Se aplicó nitrógeno en dos oportunidades, en siembra y en cobertura a los 45 días según recomendación, también se aplicó otros fertilizantes de acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de suelos, estas aplicaciones se realizaron en el momento de la siembra teniendo en cuenta el requerimiento nutricional del cultivo.

3.5.4 Variedad de maíz y época de siembra

La variedad que fue utilizada es Avati moroti, es una variedad rústica, posee alta estabilidad y puede ser sembrada en todas las zonas productoras, se adapta a suelos de baja fertilidad y es tolerante a la sequía, además responde de buena manera a la aplicación de fertilizantes, su época de siembra va desde julio a octubre (MAG, 2010).

La siembra se llevó a cabo en la segunda quincena de setiembre.

3.5.5 Densidad de siembra

Atendiendo a las recomendaciones técnicas de espaciamiento por el MAG (2006), en este experimento se usó un espaciamiento de 0,25 m entre plantas y 0,70

m entre hileras con 1 semillas por hoyo según la recomendación, totalizando una población de 6000 plantas en 840 m².

3.5.6 Método de siembra

La siembra se realizó en forma manual a una profundidad de 3–4 cm aproximadamente, para hacer los hoyos se utilizó matraca, sembrando dos semillas por hoyo. Posteriormente se raleó dejando una planta por hoyo.

3.5.7 Cuidados culturales

Los cuidados culturales se realizaron de forma manual, utilizando azada, machete, etc., de acuerdo a la incidencia de malezas que presente las parcelas experimentales se realizarán las carpidas.

3.5.8 Cosecha

Una vez que los cultivos han completado su ciclo (120 días), se procedió a realizar la cosecha de forma manual.

Las variables evaluadas fueron:

Número de espigas: Se evaluó doce plantas de cada unidad experimental escogidas al azar al momento de la cosecha, se contó el número de espigas que poseían

Diámetro del tallo: Se evaluó doce plantas de cada unidad experimental escogidas al azar al momento de las cosechas, se midió la caña con un paquímetro a 5 cm del suelo, los resultados fueron expresados en milímetros.

Longitud de espigas: Se evaluaron doce mazorcas provenientes de plantas de cada unidad experimental escogidas al azar, las espigas fueron medidas con cinta métrica y los resultados fueron expresados en centímetros.

Diámetro de las espigas: Se evaluó doce mazorcas de cada unidad experimental que fueron escogidas, posteriormente fueron medidas en la parte media de la espiga, con un paquímetro el diámetro de las espigas y los resultados fueron expresados en milímetros.

Número de hilera: Se evaluó doce espigas provenientes de plantas de cada unidad experimental escogidas al azar, y se procedió a contar el número de hileras que posee las mazorcas.

Rendimiento del grano de maíz: Se cosecharon las espigas manualmente de las hileras centrales (un total 2,1 m² de área) y las mismas fueron desgranadas a mano una vez que hayan estado bien secas, fueron pesados los granos en una balanza electrónica determinando el peso por unidad experimental extrapolándose los resultados en kg ha⁻¹.

Peso de mil semillas: de las mazorcas seleccionadas de cada unidad experimental se quitaron una muestra de 1000 granos y se determinó su peso en gramos.

Peso hectolitro: Se pesó la cantidad de granos que entra en un recipiente de 100 ml, y el resultado fue expresado en kilogramos por hectolitro.

3.6 Métodos de control de calidad de los datos

Después de cada levantamiento de datos de la fuente primaria, según el cronograma establecido previamente, se verificó la consistencia y la calidad de los mismos por medio de análisis y técnicas comúnmente aplicadas con ese propósito. Si algunas de las unidades de observación o parcelas de datos registran valores de ciertas

variables que no respondían alestáandar y fueron dudosas, porque se distancian de los límites reales esperados,se verificó y se volvió a medir.

3.7 Análisis de datos

Los valores obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANAVA) y las medias de cada tratamiento, para cada una de las variables, para detectar diferencias significativas entre los tratamientos comparados y posteriormente se realizó las comparaciones de medias con el Test de Tukey al 5 % de probabilidad para categorizar a los tratamientos.

Los resultados obtenidos fueron presentados e interpretados mediante tablas y figuras.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Número de espigas por planta y diámetro del tallo

En la Tabla 2 se observan los resultados correspondientes a las variables de número de espigas por planta, que fueron sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *A. brasilense*.

Según el análisis estadístico no hubo diferencias estadísticamente significativas en la aplicación de diferentes dosis de nitrógeno, con y sin aplicación de inoculante a base de *A. brasilense* sobre el número de espigas por planta. Arrojando así un resultado de 1,12 espigas por planta con *Azospirillum*, y 1,11 espigas por planta sin *A. brasilense*. No hubo interacción significativa entre los dos factores.

Tabla 2. Medias de la variable correspondiente al número de espigas por planta de maíz y diámetro del tallo (cm) sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *A. brasilense*. Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.

Inoculante (Factor A)	Niveles (%)	Número de espigas por planta	Diámetro del tallo (mm)
Sin <i>Azospirillum brasilense</i>	0	1,11 a	24,55 a
Con <i>Azospirillum brasilense</i>	100	1,12 a	23,18 a
Media		1,11	23,86
Dosis de N (Factor B)	kg ha ⁻¹		
T1	0	1,13 a	23,25 a
T2	30	1,16 a	24,71 a
T3	60	1,10 a	24,12 a
T4	90	1,10 a	23,51 a
T5	120	1,10 a	23,79 a
T6	150	1,10 a	23,81 a
Media		1,11	23,86
Coeficiente de variación (%)		12,97%	10,67%

Medias seguidas por letras iguales en la columna no difieren estadísticamente.

Resultados semejantes fueron obtenidos en un experimento realizado por Santos et al. (2013) con distintas dosis de nitrógeno en maíz, en donde tampoco se

observó que la fertilización nitrogenada haya influenciado en el número de espigas por planta. Este resultado se podría deber a las altas concentraciones de sales cerca de las raíces lo que podría haber inhibido la absorción de agua por las plantas lo que llevaría a reducir el crecimiento de la planta y así también la producción del número de espigas por planta.

.De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 2), no existe diferencia significativa en la aplicación de *A. brasilense* sobre el diámetro del tallo. Numéricamente con la aplicación de *A. brasilense* se obtuvo un promedio de 23,18 mm de diámetro de tallo, y en los tratamientos sin *A. brasilense* se obtuvo en promedio 24,55 mm de diámetro del tallo (Tabla 2).

El diámetro del tallo tampoco presentó diferencias significativas con la aplicación de dosis de N, donde el promedio más alto, numéricamente (24,71 mm), se obtuvo con el tratamiento de 30 kg ha⁻¹ de N, con una diferencia de 1,46 mm en relación al testigo.

La combinación de los factores estudiados no presentaron interacción para la variable diámetro de tallo, teniendo como resultado un promedio general de 23,86 mm de diámetro de tallo.

Las probables causas podrían haberse dado por factores propias de las bacterias como la elección de la cepa, el número ideal de células por semilla (10 millones de células viables por mL⁻¹ o sea 17 mil unidades formadoras de colonias) y su viabilidad, justificando y concordando así con (Mehnaz & Lazarovits 2006), siendo también otro factor que afectaría el buen desenvolvimiento de las bacterias diazotróficas la adición de fertilizantes nitrogenados, lo que altera la diversificación de las bacterias (Hungria 2011).

Sin embargo Dartora et al. (2013) pudieron observar efecto significativo en el diámetro del tallo, en un 15% sobre el testigo con la aplicación de distintas dosis de nitrógeno asociada a *A. brasilense* y *H. seropedicae*, esto se pudo deber a la

producción de fitohormonas como la auxinas, giberelinas y citosinas (Moreira et al. 2011).

4.2 Longitud y diámetro de espiga

En la Tabla 3 se observan los resultados que arrojaron las mediciones de la longitud de espiga y diámetro de la espiga. En la longitud de espiga, según el análisis estadístico hubo diferencias estadísticamente significativa con la aplicación de inoculante a base de *A. brasilense*, afectando de manera negativa la longitud de espiga, en donde con la aplicación de *A. brasilense* se obtuvo 17,27 cm de longitud y sin la aplicación 18,22 cm.

La combinación de los factores estudiados (Anexo3) no presentó interacción teniendo como resultado un promedio general de 17,74 cm de longitud de la espiga.

La aplicación de dosis de nitrógeno no presentó diferencias significativas en la longitud de espigas, la longitud osciló entre 18,02 cm y 17,26 cm con dosis de 120 y 30 kg ha⁻¹ de N respectivamente, arrojando así un promedio general de 17,74 cm.

Cadore (2014) no observó efectos en la longitud de la espiga con la aplicación de *A. brasilense*, solo con las diferentes dosis de nitrógeno en cobertura, coincidiendo con el presente experimento. Según (Reis et al 2008) la falta de respuesta a la aplicación de organismos vivos muchas veces pueden verse afectadas por la inconsistencia de la colonización radicular, problemas de supervivencia del inóculo o por condiciones ambientales desfavorables.

Enciso (2017) en maíz chipa, tampoco obtuvo diferencias estadísticamente significativas tanto en la aplicación de *Azospirillum* como en las distintas dosis de nitrógeno, pero obtuvo mayor longitud de espigas a medida que iba incrementando las dosis de N.

Tabla 3. Medias de la variable correspondiente a la longitud de espiga (cm) y diámetro de la espiga (mm) sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con

y sin aplicación de inoculante a base de *A. brasilense*. Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.

Inoculante (Factor A)	Niveles (%)	Longitud de la espiga (cm)	Diámetro de la espiga (mm)
Sin <i>Azospirillum brasilense</i>	0	18,22 a	38,06 a
Con <i>Azospirillum brasilense</i>	100	17,27 b	36,10 b
Media		17,74	37,08
Dosis de N (Factor B)	kg ha ⁻¹		
T1	0	17,90 a	36,11 a
T2	30	17,26 a	37,71 a
T3	60	17,92 a	37,13 a
T4	90	17,63 a	37,06 a
T5	120	18,02 a	37,28 a
T6	150	17,72 a	37,20 a
Media		17,74	37,08
Coefficiente de variación (%)		5,18	3,58

Medias seguidas por letras iguales en la columna no difieren estadísticamente.

Los datos del diámetro de la espiga se observan en la Tabla 3, en la misma se verificó que hubo respuestas significativas negativa a la aplicación de *A. brasilense* donde existe una variación de 1,96 mm en relación a los tratamientos sin inoculantes. En esta variable tampoco se observó efecto de interacción entre los factores, lo que indica que los factores actuaron de forma independiente.

Entre las dosis de nitrógeno no se observaron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, se puede observar que entre el testigo y el tratamiento con 120 kg ha⁻¹ de N se destacan por presentar una tendencia de mayor diámetro donde existe una diferencia de 1,17 mm con el testigo.

Melo (2014) también observó que no hubo efecto significativo en los tratamientos con y sin *A. brasilense*, en cambio con la fertilización nitrogenada con dosis de 160 kg ha⁻¹ se obtuvo un promedio de 52,2 mm, de esta manera se evidencia que para tener un efecto significativo sobre el cultivo del maíz es necesaria la fertilización nitrogenada, debido a que existen altas probabilidades de que ocurran deficiencias de N en el cultivo.

4.3 Número de hilera de granos por espiga

Se observa que existe interacción entre los factores como se observa en la Figura 2, aplicando *A. brasilense* con dosis de N 30 y 120 kg ha⁻¹ se observa un aumento de número de hileras de granos, en cambio sin la aplicación de *A. brasilense* y dosis de N se observa un aumento a medida que aumentan las dosis de nitrógeno

Tabla 4. Medias de la variable correspondiente al número de hileras de granos, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*. Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.

Inoculante	Dosis de N en kg ha ⁻¹					
	0	30	60	90	120	150
Con <i>A. brasilense</i>	12,85aA	12,17bA	12,55aA	12,45aA	12,60bA	12,80bA
Sin <i>A. brasilense</i>	12,37aB	13,47aA	12,72aAB	12,72aAB	13,42aA	13,50aA

Medias seguidas por letras minúsculas iguales en la columna y mayúsculas iguales en las líneas no difieren estadísticamente.

En estudios anteriores Araújo et al. (2013) pudieron observar que con dosis de 120 kg ha⁻¹ de N y con la aplicación de *A. brasilense* ocurre un mayor número de hileras de granos por espiga.

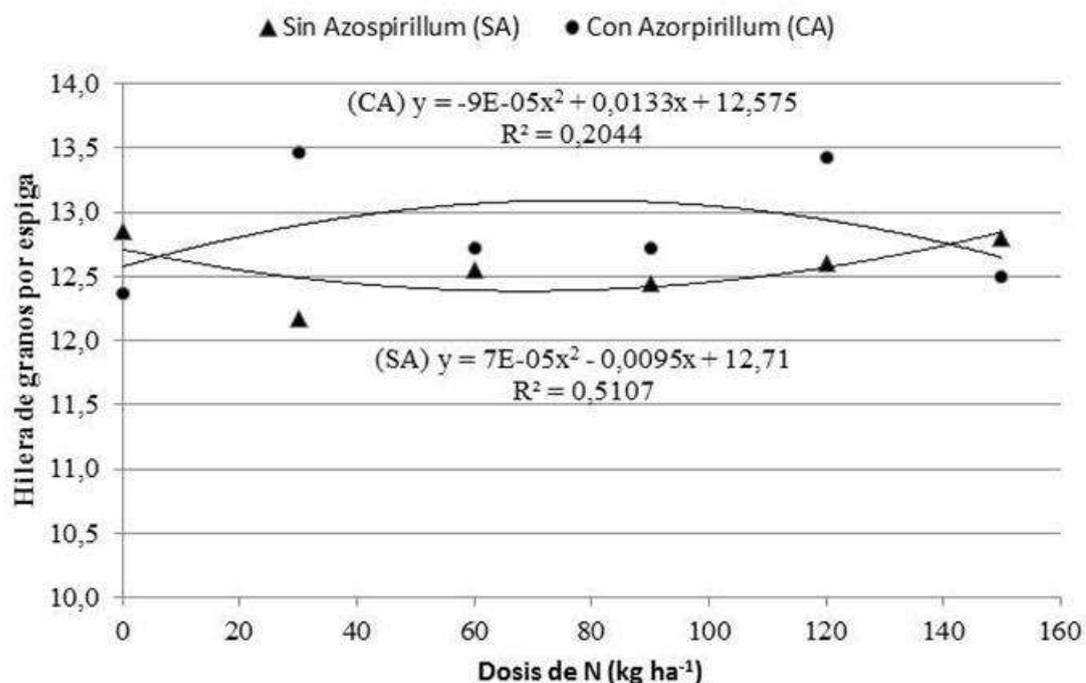


Figura 4. Curva de respuesta relacionada al número de hileras de granos, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*. Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.

Enciso (2017) menciona que a medida que aumenta las dosis de nitrógeno existe un aumento del número de hileras de granos por espiga, como se pudo observar en su experimento con dosis de 150 kg ha⁻¹ hubo un aumento de 0,8 hileras de granos por espiga en relación al testigo, coincidiendo de esa manera con Araujo et al (2013).

4.4 Rendimiento de grano del maíz

En la Tabla 6, se presentan los resultados correspondientes al rendimiento de granos en kilogramos por hectárea, en donde se observa que no existe diferencia significativa sin y con la aplicación de *A. brasiliense*, donde el rendimiento de granos oscila entre 5.319 kg ha⁻¹ con la aplicación de *A. brasiliense* y 5.520 kg ha⁻¹ sin la aplicación de *A. brasiliense*, la combinación de estos factores no presentó interacción.

Los rendimientos para los tratamientos aplicados con diferentes dosis de nitrógeno estuvieron entre 5.987 kg ha⁻¹ y 5.424 kg ha⁻¹ en donde estos resultados no arrojaron diferencias estadísticas.

Tabla 5. Medias de la variable correspondiente a rendimiento de granos de maíz (kg ha⁻¹), sometidas a diferentes dosis de Nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*. Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.

Inoculante (Factor A)	Niveles (%)	Rendimiento del grano de maíz (kg ha ⁻¹)
Sin <i>Azospirillum brasilense</i>	0	5.520 a
Con <i>Azospirillum brasilense</i>	100	5.319 a
Media		5.419
Dosis de N (Factor B)	kg ha ⁻¹	
T1	0	5.424 a
T2	30	5.455 a
T3	60	5.311 a
T4	90	5.033 a
T5	120	5.987 a
T6	150	5.306 a
Media		5.419
Coefficiente de variación (%)		12,68

Medias seguidas por letras iguales en la columna no difieren estadísticamente.

Fornazier (2014) también observó que no hubo diferencias significativas en el rendimiento de granos en kilogramos por hectárea con la inoculación de *A. brasiliense*, sin embargo, con la fertilización nitrogenada se pudo observar un aumento del 10,71 y 11,71 % en la productividad de granos, cuando se aplicó dosis de 55 y 110 kg ha⁻¹, respectivamente.

Resultados semejantes también se obtuvieron en experimentos realizados en Brasil por Anderson et al. (2011) quien tampoco observó diferencia alguna en la inoculación con *A. brasilense*, pero si se pudo observar diferencias en la aplicación de nitrógeno siendo la mejor dosis en la siembra 20 kg ha⁻¹ y en cobertura 70 kg ha⁻¹ con un coeficiente de variación de 12,88%.

Dartora (2013) tampoco pudo observar diferencias significativas con la inoculación de *A. brasilense* con la que se obtuvo una media de 10.916 kg ha⁻¹ y

la aplicación de diferentes dosis de nitrógeno en cobertura incrementó el desenvolvimiento del cultivo y la producción de granos $11.800 \text{ kg ha}^{-1}$ aproximadamente con dosis aplicada de 160 kg ha^{-1} .

La ausencia de respuesta a la inoculación se pudo ver afectada también por las condiciones del suelo del área experimental que presentó altos niveles de fertilización nitrogenada, considerando que estos tipos de suelo (textura arenosa) alteran la diversidad de las bacterias (Hungria, 2011), la bacteria pudo verse afectada por factores extrínsecos como: las condiciones del ensayo y técnicas que se utilizaron en la inoculación, las características físicas-químicas del suelo y las propias interacciones de *A. brasilense* con la comunidad microbiana nativa del suelo, que linealmente pudo haber afectado la productividad (Chotte et al. 2002, citado por Fonseca et al. 2014).

Según Perotti et al. (2005) la ausencia de respuesta podría estar relacionada con el tipo de suelo (arenoso y pobre en materia orgánica) en donde se llevó a cabo el experimento, debido a que estos microorganismos se desarrollan mejor en suelos con cantidades elevadas de materia orgánica.

La ausencia del efecto de la fertilización nitrogenada según Leguizamón et al (2012) podría ser por pérdida de N por volatilización debido a que el N es más susceptible a pérdidas en sistemas de siembra directa que en sistemas de siembra convencional, esto se debe a la presencia de restos del cultivo anterior, que aumentan la actividad de ureasa en relación al suelo convencional, otras de las causas podría deberse a las altas precipitaciones registradas durante el experimento (Figura 2), en donde el N se perdió por lavado teniendo en cuenta la segunda aplicación de dosis de N y que el suelo donde fue implantado el experimento presentaba una textura arenosa.

El maíz es un cultivo que remueve altas dosis de N, es por ello que requiere el uso intensivo de fertilizantes nitrogenados para llegar a rendimientos elevados

(Cubilla et al. 2012), de esa manera se concluye que la mayor dosis de nitrógeno favoreció al llenado de granos, y consecuentemente un mayor rendimiento final.

Aunque los experimentos con fertilización nitrogenada proporcionan productividades superiores comparado con el uso de las bacterias diazotroficas, esto no significa que se reduce el potencial de su uso (Hungria et al.2010) en ese sentido el uso de microorganismos en la agricultura podría contribuir a la economía de fertilizantes nitrogenados, mejorar la eficiencia de absorción cooperando para el desarrollo de sistemas productivos, pero para ello se deben tener en cuenta los factores que podrían afectar la proliferación y adaptación de las bacterias.

Sin embargo Bulla et al. (2012) observaron diferencias significativas con la aplicación de *Azospirillum* en el rendimiento de granos con un aumento del 4,5% con relación al testigo, en donde sin *Azospirillum* se obtuvo 12.500 kg ha⁻¹ y con *Azospirillum* 13.000 kg ha⁻¹ en cambio, con la fertilización nitrogenada no se observó diferencia significativa.

Otro resultado positivo observado en el experimento realizado en el primer año por Enciso (2017), fue el resultado positivo con la aplicación de *Azospirillum brasilense* aumentando el rendimiento, 3.437 kg ha⁻¹ con respecto a los tratamientos sin inoculación de 3.070 kg ha⁻¹.

4.5 Peso hectolitrico y peso de 1000semillas

Los datos del peso hectolitrico se presentan en la Tabla 6, donde se verifica que las medias, tanto con la aplicación de inoculantes a base de *A. brasilense* como entre las dosis de N, no hubo diferencia estadística significativa y la combinación de estos factores no presentaron interacción para la variable de peso hectolitrico (Anexo7).

Tabla 6. Medias de la variable correspondiente a peso hectolitrico (kg hL^{-1}) y peso de mil semillas (g), sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*. Ybyrarobana, Canindeyú, 2017.

Inoculante (Factor A)	Niveles (%)	Peso hectolitrico (kg hL^{-1})	Peso de mil semillas (g)
Sin <i>A. brasilense</i>	0	67,8 a	256,2 b
Con <i>A. brasilense</i>	100	68,4 a	264,2 a
Media		68,1	260,2
Dosis de N (Factor B)	kg		
T1	0	67,3 a	265,1 a
T2	30	67,6 a	254,6 a
T3	60	67,5 a	256,0 a
T4	90	68,5 a	262,5 a
T5	120	68,8 a	260,3 a
T6	150	68,8 a	262,7 a
Media		68,1	260,2
Coefficiente de variación (%)		3,52	4,62

Medias seguidas por letras iguales en la columna no difieren estadísticamente.

Según experimento realizado en el año 1 Enciso (2017), tampoco observó diferencias significativas con respecto al peso hectolitrico con y sin la aplicación de *A. brasilense* como entre las dosis de fertilizantes nitrogenados con una media de $69,5 \text{ kg hL}^{-1}$

Con respecto a los datos de peso de mil semillas del maíz, que también se presentan en la Tabla 6, se puede observar que hubo diferencias significativas en los dos factores estudiados, con la aplicación de inoculante a base de *A. brasilense* se presentó un promedio mayor de 264,2 g, que con los tratamientos que no recibieron la aplicación de inoculante a base de *A. brasilense* 256,2 g, no hubo interacción entre las mismas (Anexo 8).

En un experimento realizado en Brasil Fornazier (2014) no observó diferencias significativas a la inoculación con *A. brasilense* ni con la aplicación de distintas dosis de nitrógeno.

Sin embargo, Bulla (2012) observó diferencias significativas en el peso de

mil semillas, con la aplicación de dosis de nitrógeno, donde a mayor dosis de N, mayor fue el peso de mil semillas, observando que con la inoculación de *A. brasilense*, Melo (2014) también pudo observar el mismo resultado de Bulla (2012) de que a medida que aumentó las dosis de nitrógeno aumentó el peso de 1000 semillas, y donde con la aplicación de 160 kg ha^{-1} de N se dió un resultado de 316,7 g.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En las condiciones del experimento se concluye que:

Las variables diámetro del tallo, peso hectolitrico, y rendimiento de granos, en cuanto al rendimiento con la aplicación de *A. brasilense* se observó disminución con una diferencia de 201 kg ha⁻¹ no presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la aplicación de inoculante de *A. brasilense* y las dosis de nitrógeno.

Para la variable número de hileras de granos por espiga los tratamientos presentaron interacción entre los factores.

Y por otro lado, las variables longitud de espigas, diámetro de espigas y peso de 1000 semillas presentaron diferencias estadísticamente significativa en la aplicación de inoculante a base de *A. brasilense*, afectando de manera negativa y las dosis de nitrógeno no presentaron resultados significativos.

La adopción de las prácticas de inoculación no sustituye el uso de fertilizantes nitrogenados, en las condiciones de estudio de este trabajo.

5.2 Recomendaciones

En base a la experiencia y los resultados obtenidos en este ensayo, se recomienda realizar más experimentos a campo con inoculantes a base de *A. brasilense* a nivel país, en los diferentes tipos de suelos de la región paraguaya y

de esta manera generar una fuente de información válida, precisa y más acorde a las condiciones edafoclimáticas que se presenta en nuestro país y de esta manera basados en resultados científicos poder definir las dosis adecuada de fertilización nitrogenada en combinación con inoculante a base de *A. brasilense*.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril, A; Biasutti, C; Maich, R; Dubbini, L; Noe, L. 2006. Inoculación con *Azospirillum spp.* en la región semiárida-central de Argentina: factores que afectan la colonización rizosférica (en línea). Córdoba, AR. Consultado 26 oct. 2016. Disponible en http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-20672006000100002
- Acosta, R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación (en línea). La Habana, CU. Consultado 10 abr. 2017. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215047017>
- Aguilar, M; Montiel, L. 2003. Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR (en línea). Veracruz, MX. Consultado 21 jul. 2016. Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062p.pdf>
- Aguilar, J; Xiqui, M; García, S; Baca, B. 2008. Producción del ácido indol-3- acético en *Azospirillum* (en línea). Consultado 14 ago. 2016. Disponible en www.bashanfoundation.com/handle/doc/966908
- Araújo, E; Mercante, F; Vitorino, A; Nunes, D; Paim, L; Mendes, D. 2013. Productividade do milho em resposta a aplicação de nitrogênio á inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*(en línea). Florianópolis, BR. Consultado 18 sep. 2017. Disponible en <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/966908>
- Araújo, R; Araújo, A; Pinheiro, L; Barreto, M. 2014. Resposta do milho verde á inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio (en línea). BR. Consultado 8 mar. 2017. Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782014000901556&script=sci_abstract&tlng=pt
- Bashan, Y; Holguin, G; Bashan, E; 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003) (en línea). CA. Consultado 23 sep. 2016. Disponible en <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/w04-035>

- Basi, S. 2011. Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura em cultura na cultura do milho (en línea). Guarapuava, BR. Consultado 23 sep. 2016. Disponible en http://www.unicentroagronomia.com/destino_arquivo/dissertacao_de_mestrado_simone_basi.pdf
- Below, F. 2002. Fisiología, nutrición y fertilización nitrogenada en maíz (en línea). Consultado 11 abr. 2017. Disponible en [http://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/\\$webindex/EED445602FD388C005256F34006A2495/\\$file/Fisiologia,+nutrici%C3%B3n+y+fertilizaci%C3%B3n+nitrogenada+del+ma%C3%ADz.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/$webindex/EED445602FD388C005256F34006A2495/$file/Fisiologia,+nutrici%C3%B3n+y+fertilizaci%C3%B3n+nitrogenada+del+ma%C3%ADz.pdf)
- Bianchini, A. 2006. Nutrientes de verdes y pasturas (en línea). Consultado 24 oct. 2016. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_fertilizacion/34-nutricion.pdf
- Bueno dos Reis, F; Torres, C; Toledo, A; Sodek, L. 2008. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois génotipos de milho sob diferentes regímenes de nitrógeno (en línea). Campinas, BR. Consultado 25 oct. 2016. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v32n3/a22v32n3.pdf>
- Brady, N. 1989. Natureza e Propiedades dos solos. 7 ed. Rio de Janeiro, BR. 898 p.
- Britez, S. 2013. Efecto de la aplicación de diferentes dosis de inoculante a base de *Azospirillum brasilense* en maíz var. Karape Pyta. Tesis (Ing. Agr.) San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica FCA – UNA. 47 p.
- Cadore, R. 2014. Associação entre *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em híbridos de milho (en línea). Goiás, BR. Consultado 16 sep. 2017. Disponible en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
- Carballo, D; Gavilán, M; Benítez, C. 2010. Disponibilidad de poroto, mandioca y maíz y su valoración social por familias de la comunidad Piray, Distrito Abaí, Departamento Caazapá (en línea). Abaí, PY. Consultado 10 abr. 2017. Disponible en <http://scielo.iics.una.py/pdf/ia/v12n1/v12n1a07.pdf>
- Caballero-Mellad, J. 2006. Programa de ecología molecular y microbiana (en línea) Cuernavaca, MX. Consultado 12 ago. 2016. Disponible en <http://www.fiagro.org.sv>
- CNTAF (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal). 2008. Variedad de maíz de alta calidad proteica (en línea). Consultado 18 ago. 2016. Disponible en <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/granos%20basicos/Boletin%20Protemas%20PDF.pdf>

- Costa, R; Da Silva, G; Freitas, D; Barbosa, C; De Souza, A. 2015. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize (en línea). Goiás, BR. Consultado 8 mar. 2017. Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-40632015000300006
- Cubilla, M; Wendling A; Eltz, F; Amado, T; Mielniczuk, J. 2012. Recomendaciones de fertilización para soja, trigo y girasol bajo el sistema siembra directa en Paraguay. Asunción, P, Capeco. 88 p.
- Da Fonseca, L; Dos Reis, D; Guiero, C; Ribas, R; Oliveira, C; Marriel, I. 2014. Avaliação da Inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum sp.* Na produtividade de milho sob quatro níveis de nitrogênio (en línea). Consultado 18 sep. 2017. Disponible en <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/992242/avaliacao-da-inoculacao-com-diferentes-estirpes-de-azospirillum-sp-na-produtividade-de-milho-sob-quatro-niveis-de-nitrogenio>
- Dartora, J; Guimarães, V; Marini, D; Sander, G. 2013. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho (en línea). Campina Grande, BR. Consultado 7 oct. 2016. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v17n10/01.pdf>
- Dobereiner, J; Day, J. 1976. Associative symbioses in tropical grasses characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In Newton, We Nyman, C (ed.) Proceeding of the 1st. Intl. Symp. Nitrogen Fixation. V. 2 Pullman, Washintong, Univ Press. p. 518-38.
- Dobereiner, J; Day, J. 1991. The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. In Ballows, A; Trupper, H; Dworking, M; Harder, W (ed). The Prokaryotes. 2 ed. p. 2236-3353. v. 3.
- Dos Santos, L; Aquino, L; Marques, P; Oliveira, F. 2013. Doses de Nitrogênio na cultura do milho para altas produtividades de grãos (en línea). Minas Gerais, BR. Consultado 15 sep. 2017. Disponible en <http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v12n3p270-279>
- Enciso, D. 2017. *Azospirillum brasiliense* y dosis de Nitrógeno en maíz chipá en el departamento de Canindeyú. Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, Paraguay, Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Asunción. 72 p.
- Faggioli, V; Cazorla, C; Vigna, A; Berti, M. 2007. Fertilizantes biológicos en maíz Ensayo de inoculación con cepas de *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* (en línea). Consultado 12 sep. 2016. Disponible en <http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2009/09/mj-fertiliz-biologica-maiz-inoc-cepas-azospirillum-y-pseudomonas.pdf>
- Fatecha, A. 2001. Guía para la fertilización de cultivos anuales y perennes de la región oriental del Paraguay. Boletín técnico de la SOPASIS (Sociedad Paraguaya de Ciencias del Suelo) 1:33.

- Fernandes, L. 2006. Regulação do metabolismo de nitrogênio em *Azospirillum brasilense* (en línea). Curitiba, BR. Consultado 7 oct. 2016. Disponible em https://www.researchgate.net/profile/Luciano_Huergo/publication/26977173_Regulacao_do_metabolismo_de_nitrogenio_em_Azospirillum_brasilense/links/0deec533c1a407eca8000000/Regulacao-do-metabolismo-de-nitrogenio-em-Azospirillum-brasilense.pdf
- Fornasero, L; Toniutti, M. 2015. Evaluación de la nodulación y rendimiento del cultivo de la soja con la aplicación de distintas formulación de inoculantes (en línea). Consultado 28 may. 2017. Disponible en <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FAVEAgrarias/article/viewFile/5708/8501>
- García, F. 2004. Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo de maíz (en línea). Consultado 24 oct. 2016. Disponible en <http://agrolluvia.com/wp-content/plugins/download-monitor/download.php?id=2254>
- García, J; Moreno, V; Rodríguez, I; Mendoza, A; Mayek, N. 2007. Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento del grano de maíz (en línea). Chapingo, MX. Consultado 24 oct. 2016. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61003013>
- González, A. 1995. El maíz y su conservación. México, Editorial trillas. 399 p.
- Guillén, G; Lucca, A; Gomes, L; Scapim, C; Gonçalves, G; Kazume, A. 2014. Inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação de biorregulador (en línea). Consultado 15 ago. 2016. Disponible em https://www.researchgate.net/publication/280016025_Inoculacao_das_sementes_de_trigo_com_Azospirillum_brasilense_associada_a_aplicacao_de_biorregulador
- Hungria, M. 2011. Inoculação com *Azospirillum brasilense*; invocação em rendimento a baixo custo (en línea). Londrina, BR. Consultado 16 sep. 2017. Disponible en <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29560/1/DOC325.2011.pdf>
- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 2008. Eficiencia del uso del Nitrógeno en maíz con siembra directa: efectos de diferentes dosis (en línea). AR. Consultado 7 oct. 2016. Disponible en http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2001/a2001_110.htm
- Leguizamón, C; Bayer, C; Vieira, S; Weber, M; Vieiro, F. 2012. Volatilização de amônia da ureia alternada por sistemas de preparo de solo e plantas de cobertura invernais no centro-sul do Paraná (en línea). BR. Consultado 4 oct. 2017. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v36n1/v36n1a27.pdf>.
- López, L. 1991. Cultivos Herbáceos Cereales. Madrid, ES, Mundí Prensa. 539 p. v. 1.

- López, M; Figueroa, U; Fortis, M; Núñez, G; Ochoa, E; Sánchez, J. 2015. Evaluación de dosis equivalentes de fertilizante y estiércol en la producción de maíz forrajero (*Zea mays*). Revista Internacional de Botánica Experimental. 84:8-13.
- López, O; González, E; Llamas, P; Molinas, A; Franco, E; García, S; Ríos, E. 1995. Estudio de reconocimientos de suelos, capacidad de uso de la tierra y propuesta de ordenamiento territorial preliminar de la Región Oriental del Paraguay (en línea). Asunción, PY. Consultado 28 abr. 2018. Disponible en <http://www.geologiadelparaguay.com/Estudio-de-Reconocimiento-de-Suelos-Regi%C3%B3n-Oriental-Paraguay.pdf>
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2010. Análisis del comportamiento de rubros agrícolas: Censo Agropecuario 2008 (en línea). PY. Consultado 15 abr. 2017. Disponible en <http://www.mag.gov.py/dgp/Analisis%20comportamiento%20de%20Rubros%20Agricolas.pdf>
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2006. Dirección de Educación agraria: cultivo del maíz (en línea). PY. Consultado 15 mar 2017. Disponible en <https://bibliotecadeamag.wikispaces.com/file/view/Cultivo+de+Ma%C3%ADz.pdf>
- Mansano, V; Mitio, A; Diamante, M; Dalastra, G; Gusatto, F; Guimarães, V; Rampin, L. 2014. Qualidade fisiológica de sementes de milho submetido á bioestimulantes e inoculação de bactérias diazotróficas (en línea). BR. Consultado 16 ago. 2016. Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000400020.
- Martínez, L; Sotto L; Baca, B; Sánchez, J. 2003. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense* (en línea). BR. Consultado 22 sep. 2016. Disponible en <http://femsle.oxfordjournals.org/content/228/2/167.abstract>
- Mazza, L. 2014. Interação genótipo vs formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho. BR. Consultado 11 abr. 2017. Disponible en <http://hdl.handle.net/11449/115859>
- Mehnaz, S; Lazarovits, G. 2006. Inoculation effects of *Pseudomonasputida*, *Ghiconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on com plant growth iinder greenhouse conditions. Microbial Ecology 51(3):326-335.
- Melo, H. 2014. Adubação nitrogenada e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho (en línea). Santa Catarina, BR. Consultado 16 sep. 2017. Disponible en <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/130349>.
- Mello, N. 2012. Inoculação de *Azospirillum brasilense* nas culturas de milho e trigo (en línea). BR Consultado 25 sep. 2016. Disponible em <http://www.ppgagro.upf.br/download/naianademello.pdf>

- Moreira, F; Da Silva, K; Nóbrega, R; Carvalho, F. 2010. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações (en línea). Minas Gerais, BR. Consultado 16 sep. 2017. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Fatima_Moreira/publication/279467287_Diazotrophic_associative_bacteria_Diversity_ecology_and_potential_applications/links/566eb08608ae62b05f0b5bfa.pdf
- Navarro, G. 2003. Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida del vegetal. 2 ed. Madrid, ES, Mundi-Prensa. 487 p.
- Oliveira, E; Piretti, D; Martins, F; Tadeu, A; Espínola, D; Quinão, S. 2013. Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas (en línea). BR. Consultado 7 oct. 2016. Disponible em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/94732/1/17.ERICAQUALIDADE.pdf>
- Paliwal, L. 2001. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Roma, Italia, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 392 p.
- Paredes, M. 2013. Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas (en línea). Consultado 21 jul. 2016. Disponible en <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/fijacion-biologica-nitrogeno-leguminosas.pdf>
- Piccinin, G; Bracinni, A; Gomes de Moraes, L; Scapim, C; Mariucci, G; Kazume A. 2015. Inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* asociada á aplicação de biorregulador (en línea). BR. Consultado 21 jul. 2016. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/280016025_Inoculacao_das_sementes_de_trigo_com_Azospirillum_brasilense_associada_a_aplicacao_de_biorregulador
- Primavesi, O; Primavesi, A; Correa, L; Da Silva, A; Cantarella, H. 2006. Lixiviação de nitrato em pastagem de coastcross adubada com nitrogênio (en línea). BR. Consultado 15 sep. 2017. Disponible en <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPPSE/16294/1/PROCIOP2006.00013.pdf>
- Rangel, J; Ramírez, R; Cervantez, F; Mendoza, M; García, E; Rivera G. 2014. Biofertilización de *Azospirillum*spp. y rendimiento de grano de maíz, sorgo y trigo (en línea). MX. Consultado 30 sep. 2016. Disponible en http://revista.fca.uncu.edu.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=278:biofertilizacion-de-azospirillum-spp-y-rendimiento-de-grano-de-maiz-sorgo-y-trigo&catid=18:en-prensa&Itemid=23
- Reis, J; Machado, C; Machado, A; Sodek, L. 2008. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio (en línea). São Paulo, BR. Consultado 16 sep. 2017. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v32n3/a22v32n3.pdf>

- Rodríguez, J; Rabery, S. 2003. Rendimiento del maíz amiláceo variedad avati moroti sembrado en dos épocas y tres distancias entre hileras. *Investigación Agraria* 5(2):30-36.
- Reyes, I; Álvarez. L; El-Ayoubi, H; Valery, A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz (en línea). San Cristóbal, VE. Consultado 23 oct. 2016. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612008000100005
- Silva, O. 2004. Ação do *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas de trigo (variedad IAC-24) e cevada (variedade CEV 95033) (en línea). BR. Consultado 23 sep. 2016. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/929/92900304.pdf>
- Soto, P; Janh, E; Arredondo, S. 2000. Población y Fertilización en un híbrido de maíz para ensilaje en el valle central regado (en línea). Chillán, CL. Consultado 11 abr. 2017. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-

ANEXOS

Anexo1. Análisis de varianza de la variable número de espigas por planta, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)

FV	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	0,00	1	0,00	0,0	0,8
Factor B	0,02	5	0,00	0,2	0,9
Factor A*Factor B	0,02	5	0,00	0,2	0,9
Tratamientos	0,05	11	0,00	0,2	0,9
Error	0,75	36	0,20		
Total	0,80	47			

Anexo2. Análisis de varianza de la variable diámetro del tallo, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)

F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	22,34	1	22,3	3,4	0,07
Factor B	10,43	5	2,08	0,3	0,89
Factor A*Factor B	3,76	5	0,75	0,1	0,98
Tratamientos	36,53	11	3,32	0,5	0,88
Error	233,4	36	6,48		
Total	269,9	47			

Anexo3. Análisis de varianza de la variable longitud de espiga, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)

F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	10,83	1	10,83	1	0,0
Factor B	3,03	5	0,60	0	0,6
Factor A*Factor B	2,30	5	0,46	0	0,7
Tratamientos	16,17	11	1,47	1	0,1
Error	30,44	36	0,84		
Total	46,61	47			

Anexo4. Análisis de varianza de la variable diámetro de la espiga, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)					
F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	45,82	1	45,82	25,9	<,0001
Factor B	11,17	5	2,23	1,26	0,29
Factor A*Factor B	12,07	5	2,41	1,36	0,25
Tratamientos	69,07	11	6,27	3,56	0,00
Error	63,46	36	1,76		
Total	132,5	47			

Anexo5. Análisis de varianza de la variable número de hileras de granos por espiga, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)					
F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	3,20	1	3,20	14,9	0,00
Factor B	1,82	5	0,36	1,71	0,15
Factor A*Factor B	3,69	5	0,73	3,45	0,01
Tratamientos	8,72	11	0,79	3,71	0,00
Error	7,69	36	0,21		
Total	16,41	47			

Anexo6. Análisis de varianza de la variable rendimiento del grano de maíz, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)					
F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	4856	1	48566	1,02	0,31
Factor B	3981	5	79620	1,68	0,16
Factor A*Factor B	4100	5	82012	1,73	0,15
Tratamientos	8567	11	77884	1,64	0,12
Error	1701	36	47259		
Total	2558	47			

Anexo7. Análisis de varianza de la variable peso hectolitro, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)					
F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	4,08	1	4,08	0,70	0,40
Factor B	21,66	5	4,33	0,75	0,59
Factor A*Factor B	33,41	5	6,68	1,15	0,34
Tratamientos	59,16	11	5,37	0,93	0,52
Error	207,5	36	5,76		
Total	266,6	47			

Anexo8. Análisis de varianza de la variable peso de 1000 granos, sometidas a diferentes dosis de nitrógeno con y sin aplicación de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*

Cuadro de Análisis de la Varianza (SCTipo I)					
F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Factor A	760,0	1	760,0	5,25	0,02
Factor B	678,3	5	135,6	0,93	0,46
Factor A*Factor B	956,8	5	191,3	1,32	0,27
Tratamientos	2395	11	217,7	1,50	0,17
Error	5205	36	144,5		
Total	7600	47			

Anexo 9. Costo de producción a nivel de finca del cultivo de maíz chipa.

Concepto	Unidad	Cantidad	Costo Unitario	Costo Total (Gs.)
1- Costos Directos				
1.1 Insumos técnicos				
Semillas de maíz	kg	22	5.000	110.000
Fertilizantes				
Superfosfato Triple	Kg	195,6	3.500	684.600
Cloruro de Potasio	Kg	114,3	3.250	371.475
Urea	Kg	166,7	3.650	608.455
PGPR		1	127.000	127.000
Cal agrícola	Kg	1.000	500	500.000
Insecticida	Litros	1	200.000	200.000
Sub. Total 1				2.601.530
1.2 Insumos físicos				
Siembra	Jornal	3	70.000	210.000
Limpieza	Jornal	6	70.000	420.000
Control sanitario	Jornal	3	70.000	210.000
Fertilización	Jornal	3	70.000	210.000
Cosecha	Jornal	4	70.000	280.000
Sub. Total 2				1.430.000
Total 1+2				4.031.530
Imprevisto (10%)				403.153
Total				4.434.683

Anexo 10. Datos de las mediciones realizadas a las variables para cada unidad experimental.

Factor A	Factor B	Diámetro	Numero	Longitud	Diámetroe	Núm.
		tallo	espiga	espiga	spiga	hilera
Con Az.	0 kg ha ⁻¹	23,9	1	17,4	34,3	13,2
Con Az.	0 kg ha ⁻¹	20,9	1	17,8	35,8	12,8
Con Az.	0 kg ha ⁻¹	22,4	1,3	17,6	35,9	12,6
Con Az.	0 kg ha ⁻¹	23,9	1,2	17,2	33,9	12,8
Con Az.	30 kg ha ⁻¹	27,1	1,1	15,1	36,1	12,2
Con Az.	30 kg ha ⁻¹	24,8	1,4	17,4	36,7	12,6
Con Az.	30 kg ha ⁻¹	19,6	1	16,1	36,5	11,3
Con Az.	30 kg ha ⁻¹	25,6	1,1	16,9	35,6	12,6
Con Az.	60 kg ha ⁻¹	27,0	1,1	17,9	37,8	12,4
Con Az.	60 kg ha ⁻¹	22,6	1	17,1	37,4	12,2
Con Az.	60 kg ha ⁻¹	21,4	1	16,9	35,7	13
Con Az.	60 kg ha ⁻¹	23,5	1,3	18,1	36	12,6
Con Az.	90 kg ha ⁻¹	22,3	1	17,8	37,4	12,2
Con Az.	90 kg ha ⁻¹	22,1	1	17,5	36,9	12,2
Con Az.	90 kg ha ⁻¹	23,0	1,3	17,1	36,3	12,2
Con Az.	90 kg ha ⁻¹	22,8	1,1	16	36,1	13
Con Az.	120 kg	23,6	1,1	16,4	37	12,8
Con Az.	120 kg	27,0	1,1	18,4	35,5	12,4
Con Az.	120 kg	20,1	1,3	18,8	36,2	12,6
Con Az.	120 kg	22,4	1	17,9	33,7	12,6
Con Az.	150 kg	26,5	1	19,2	37,9	13,2
Con Az.	150 kg	21,9	1,3	16,1	36,3	12,8
Con Az.	150 kg	22,4	1	18,1	35	12,6
Con Az.	150 kg	19,9	1,3	15,7	36,6	12,6
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹	28,1	1	18,2	37,8	12,5
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹	23,5	1,4	18,4	35,8	12,9
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹	20,9	1,1	18,7	39,3	12,4
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹	22,5	1,1	17,9	36,1	11,7
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹	23,5	1	17,3	39,2	14
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹	28,6	1,3	19,9	38,4	12,2
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹	25,5	1	17,7	38,4	13,5
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹	23,0	1,4	17,7	40,8	14,2
Sin Az.	60 kg ha ⁻¹	27,6	1	19,2	39,4	12,5
Sin Az.	60 kg ha ⁻¹	21,8	1	17,7	35,9	12,3
Sin Az.	60 kg ha ⁻¹	23,9	1,2	19	37,2	12,6
Sin Az.	60 kg ha ⁻¹	25,3	1,2	17,5	37,7	13,5
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹	20,5	1	18,1	36,5	12,5
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹	27,8	1,2	19,4	37,2	12,9
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹	27,9	1	17,4	36,7	13,4

Anexo 11. Datos de las mediciones realizadas a las variables para cada unidad experimental (Continuación).

Factor A	Factor B	Diámetro tallo	Numero espiga	Longitud espiga	Diámetros espiga	Núm. hilera
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	21,9	1,2	17,8	39,4	13,3
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	24,6	1	17,9	38,9	13,3
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N	24,4	1,2	18	39,5	13,4
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	24,1	1,1	18,8	39,6	13,8
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N	24,1	1,1	18	37,9	13,2
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	28,4	1,1	18,8	36,6	13,3
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	24,6	1	19,1	38,1	13,9
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	22,6	1	18	35,6	13
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	24,3	1,1	16,8	41,5	13,8
Factor A	Factor B	Rendimiento	Peso de mil granos		Peso hectolitrico	
Con Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	4901	272		68	
Con Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	5726	270		70	
Con Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	5829	268		67	
Con Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	5760	267		69	
Con Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	4427	270		65	
Con Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	5920	264		64	
Con Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	4914	255		72	
Con Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	5086	236		72	
Con Az.	60 kg ha ⁻¹ N.	4165	269		67	
Con Az.	60 kg ha ⁻¹ N.	4966	265		65	
Con Az.	60 kg ha ⁻¹ N.	5640	269		69	
Con Az.	60 kg ha ⁻¹ N.	5023	273		65	
Con Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	5094	269		69	
Con Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	5474	269		68	
Con Az.	90 kg ha ⁻¹ N;	5463	260		69	
Con Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	4589	246		69	
Con Az.	120 kg ha ⁻¹ N	5081	268		68	
Con Az.	120 kg ha ⁻¹ N	5429	272		72	
Con Az.	120 kg ha ⁻¹ N	6274	268		73	
Con Az.	120 kg ha ⁻¹ N	5463	243		68	
Con Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	6097	269		66	
Factor A	Factor B	Rendimiento	Peso hectolitrico		Peso de mil semillas	
Con Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	5777	266		72	

Con Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	6029	267	68
Con Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	4537	266	68
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	4669	267	62
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	5257	234	69
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	5989	269	66
Sin Az.	0 kg ha ⁻¹ N.	5263	274	68
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	4171	238	66
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	5920	267	68
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	7223	273	66
Sin Az.	30 kg ha ⁻¹ N.	5983	234	68
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	6503	234	67
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	5097	246	72
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	6057	246	69
Sin Az.	90 kg ha ⁻¹ N.	5040	246	66
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	4954	246	72
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	6189	268	67
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	4646	275	67
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	3863	267	69
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	5766	269	68
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	6869	248	70
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	7063	246	65
Sin Az.	120 kg ha ⁻¹ N.	5960	269	67
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	4869	268	69
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	5126	250	72
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	4857	268	68
Sin Az.	150 kg ha ⁻¹ N.	5159	248	68

Anexo 12. Precipitaciones mensuales ocurridas durante el periodo del experimento (setiembre de 2016 hasta enero de 2017), medido con un pluviómetro instalado en el área del experimento.

Días	Setiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
1					
2					
3	20	25		5	
4				15	
5	55				45
6					
7				5	7
8			40	15	
9				40	
10					
11				10	10

12		87		
13		14		
14				
15			19	5
16				
17				
18				
19	34			10
20				
21				
22				
23				10
24				
25				
26		20		
27		50	20	
28				
29				
30				55
31		18		

Anexo 13. Temperatura media mensual ocurrida durante el periodo del experimento (setiembre de 2016 hasta enero de 2017), medido con un termometro instalado en el área del experimento.

Días	Meses 2016-2017					
	Setiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero
1		23,7	28,8	23,6	27,5	
2		24,5	24	25,4	27,4	
3		22,5	23,2	25,8	27,7	
4		20,5	23	25,7	28,8	
5		21,4	24	26,2	27,8	
6		16,3	25,5	25,8	28,7	
7		21,8	26,2	25,1	27,1	
8		23	25,9	23	27,3	
9		23	26	23,6	29,3	
10		23,9	25,2	24	28,6	
11		24,2	25,7	24,4	28	
12		22	25,5	25,4	28,4	
13		20,1	24,7	27	28	
14		27	23,2	25,1	28,7	
15	20,2	20,3	24,3	22,8	29,6	
16	21,2	23,6	23,4	23,8	27,3	

17	23	28	24,6	24,5	25,6	
18	24,3	30	23,7	27,2	25,8	
19	19,4	30,8	23	25,1	28,3	
20	17,5	29,2	24,2	24,8	28	
21	19,6	28,5	21,8	23,4	28	
22	21,8	26,7	24,4	25	28,2	
23	22,8	27	24,6	26		
24	23	27,2	25	27,7		
25	23,2	26	24,5	29		
26	21,2	23	24,7	28,5		
27	23,5	25	25,1	30		
28	24	20,9	22,7	29,7		
29	24	20,5	25,6	28,5		
30	24,7	20,2	23,3	29,2		
31		22,3		29,55		