

## CARACTERIZACION DE BIOPOLIMERO NATURAL COMO VEHÍCULO DE BIOFERTILIZANTES PARA MANÍ

**Mariana Melchiorre**, Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV-CIAP-INTA), CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales-UNC melchiorre.mariana@inta.gob.ar

**Joaquín Mongillot**, Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV-CIAP-INTA), Facultad de Ciencias Agropecuarias-UNC monguillot.joaquin@inta.gob.ar

**Juan López**, Rizobacter jlopez@rizobacter.com.ar

**Gustavo Gonzalez Anta**, Rizobacter, Universidad Nacional del Noroeste de Buenos Aires (UNNOBA) gganta@rizobacter.com.ar

**Patricia Montoya**, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales-UNC pmontoya,@unc.edu.ar

**Resumen**—Una opción de alta sustentabilidad para la adquisición de N<sub>2</sub> en maní es la fijación biológica de N<sub>2</sub> y el modo de proveer bioinsumos a base de rizobacterias puede ser vía biopolímeros. La aplicación de este biopolímero natural, formulado por nuestro grupo fue mediante paila rotativa de escala laboratorio y con un equipo universal de recubrimiento, Willy Niklas, de escala piloto industrial.

La fluidez de las semillas, evaluada por deslizamiento de estas a través de una tolva y determinación del peso/unidad de tiempo no disminuyó debido a la presencia del recubrimiento.

Se evaluó el espesor de capa y el desprendimiento del biopolímero, sometiendo a las semillas a fricción en dastómetro.

Las semillas fueron cultivadas en invernadero y las plantas provenientes de semillas con recubrimiento en doble capa produjeron mayor biomasa de nódulos.

La sobrevivencia sobre semillas de las rizobacterias incluidas en el biopolímero (por recuento de unidades formadoras de colonias, UFC), fue mayor hasta los 30 días que las aplicadas en forma líquida.

Esta forma de vehiculizar bioinsumos en biopolímeros es una alternativa ventajosa para mantener semillas preinoculadas con baja pérdida de viabilidad de las rizobacterias sin afectar la respuestas de crecimiento de las plantas de maní.

**Palabras clave**— *biopolímeros, maní, recubrimiento*

### 1. Introducción

Córdoba posee la mayor superficie cultivada con maní (*Arachis hypogaea L.*) y concentra el 95% de la producción Argentina. El cultivo ocupa cerca de 400 mil hectáreas y según la Bolsa de Cereales de Córdoba el área creció hacia el centro de la provincia [1]. La disponibilidad de nitrógeno es un aspecto central para el desarrollo de los cultivos debido a la frecuencia con que se observan deficiencias en suelos agrícolas y a los elevados requerimientos nutricionales, necesarios para generar granos de maní con 25-28 % de proteínas y 43-55 % de aceite.

El crecimiento de la población mundial y los aumentos de los precios de los alimentos señalan la fragilidad de los sistemas de producción y de modo constante, promueve encontrar soluciones

científicas y tecnológicas para fortalecer la seguridad alimentaria y en particular, abordar el problema de la provisión y disponibilidad de nitrógeno en los cultivos [2, 3].

El aumento en el uso de fertilizantes nitrogenados, que en 2017 en el país fue el 60% del total de los grupos de fertilizantes producidos [4], ha contribuido a elevar los rendimientos, aunque es importante señalar el impacto negativo que su uso en exceso posee sobre el ambiente. Por esto, aumentos en la productividad, vitales para satisfacer la demanda, deben articularse con protección medioambiental y con la implementación de tecnologías sustentables [5, 6].

Una alternativa segura al uso de fertilizantes químicos, ampliamente conocida y altamente sustentable es la fijación biológica del nitrógeno (FBN), que por vía de asociación ente leguminosas y microorganismos diazotófos, posibilita la síntesis de  $\text{NH}_3$  asimilable por acción del complejo nitrogenasa bacteriano, en el interior de los nódulos de la planta, a partir del  $\text{N}_2$  del aire. En el caso de maní, esta interacción ocurre con rizobacterias del género *Bradyrhizobium sp* y para este cultivo se ha establecido e incorporado a la práctica agrícola el uso de biofertilizantes a base de ellas, siendo la forma líquida el modo convencional de aplicación. No obstante, es creciente el interés por modos alternativos de vehiculizar estos bioinsumos debido a que estas formulaciones líquidas, requiriendo la presencia de protectores que garanticen la estabilidad biológica y minimicen la pérdida de viabilidad rizobacteriana debido a malas prácticas de manejo y/o almacenamiento o manipulación deficiente.

De modo permanente las industrias buscan opciones de proveer bioinsumos a los sistemas agrícolas que permitan además simplificar la aplicación e incrementar la sobrevivencia de los microorganismos en el tiempo. Nuestro grupo ha desarrollado un recubrimiento biopolimérico natural a base de materiales biodegradables, de bajo costo y alta disponibilidad, que permite incorporar y vehiculizar bioinsumos [7].

En este trabajo se describe la formulación y desarrollo de un biopolímero natural a base de almidón de mandioca, colágeno parcialmente hidrolizado, y polialcoholes [8 ] que aplicado como recubrimiento biopolimérico sobre semillas de maní permite vehiculizar rizobacterias en la matriz, mejorar su distribución sobre ellas e incrementar el tiempo que transcurre entre la inoculación y la siembra; con baja afectación del crecimiento y desarrollo de las plantas de maní en relación a la inoculación líquida convencional.

El recubrimiento a las semillas de maní con este biopolímero, otorga a su vez protección al tegumento seminal, disminuyendo las pérdidas por roturas asociadas a la manipulación, sin disminuir la fluidez por incremento de la fricción entre las semillas, que garantiza la no interferencia con la mecánica de la siembra.

El recubrimiento biopolimérico conteniendo el biofertilizante a base de *Bradyrhizobium sp.*, se aplicó en presencia de un fungicida, ensayando la incorporación del inoculante rizobiano en monocapa o bien, aplicando el biofertilizante incluido en una capa de recubrimiento y el fitoterápico en otra capa sucesiva.

Se realizó el seguimiento de viabilidad de las rizobacterias sobre las semillas en el tiempo, y se analizó el poder germinativo de las semillas y la producción de materia seca y de nódulos.

## **2. Materiales y Métodos**

*Material vegetal:* Se emplearon semillas de maní (*Arachis hypogaea L.*) cv Granoleico.

*Bioinoculante.* Se empleó RizoliqTOP® (Rizobacter) biofertilizante a base *Bradyrhizobium spp*  $1 \times 10^9$  cél/mL. (Tratamiento Inoculado)

*Fitoterápico:* Se empleó Maxim Evolution® (fungicida de amplio espectro, para control de patógenos, compatible con *Bradyrhizobium sp*) se usó 1mL/kg semilla (Tratamiento Curado).

*Biopolímero:* Se formuló con 4% (p/v) de almidón de mandioca, 0.1% (p/v) de colágeno parcialmente hidrolizado y 2,5% (p/v) glicerol, todos los componentes de grado alimenticio. (Tratamiento Recubierto)

*Condiciones de recubrimiento:*

- a) Paila rotativa Se empleó una paila rotativa con velocidad de 20 rpm para tratar 200 g de semillas. El biopolímero se depositó por goteo y homogenización durante un minuto. Las semillas se secaron por convección forzada de aire ( $90 \text{ m}^3/\text{h}$ ) durante 10 minutos, hasta percibir las secas al tacto. Para la operación de recubrimiento en monocapa se usaron 12 ml/200 g de semillas. Igual cantidad en cada una de las capas en el recubrimiento bicapa, secando entre capas. Para compensar el volumen aportado por el biofertilizante en los tratamientos inoculados, el biopolímero se deshidrató previo a su adición. Se usaron 0,5 mL de RizoliqTOP® cada 100 g de semillas. (Figura 1)



Figura 1. Paila para recubrimiento de semillas de maní

- b) Equipo de tratamiento universal a semillas Willy Niklas, WN 5/01 de escala piloto industrial procesa entre 0,5 y 6 L de semillas. Con este equipo, el biopolímero se aplicó en una proporción de 6 mL/kg de semilla en lotes de 1,2 Kg de semillas. En este equipo, el tambor biconico con deflectores gira a 700 rpm y el dosificador central a 200 rpm permitiendo, con poco volumen de biopolímero, recubrir de modo homogéneo y lograr el secado al tacto en 1 minuto aproximadamente (Figura 2). Para compensar el volumen aportado por biofertilizante, el biopolímero se deshidrató previo a su adición. Se usaron 0,5 mL de RizoliqTOP® cada 100 g de semillas.

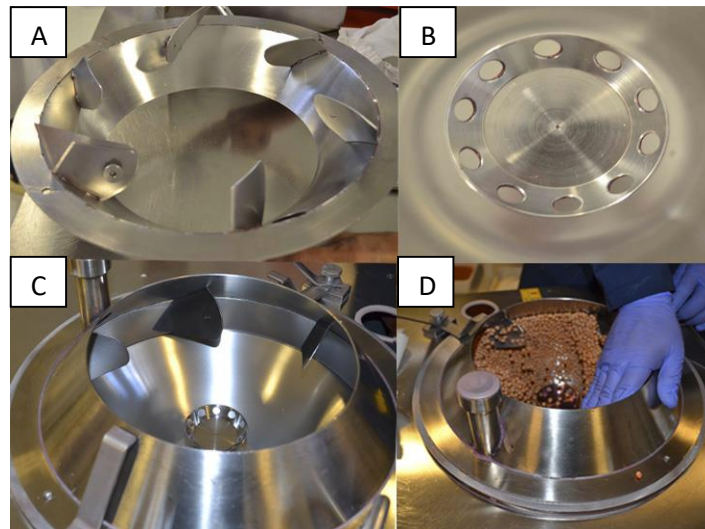


Figura 2: Equipo de tratamiento universal a semillas Willy Niklas WN 5/01. A: Detalle de tambor bicónico con deflectores B: Detalle de difusor central con forámenes C-D: Tambor de recubrimiento

c) Inoculación de semillas de modo convencional, sin recubrimiento. Doscientos gramos de semillas fueron inoculadas en un recipiente cerrado con 1 mL de RizoliqTOP® y agitadas durante 5 minutos a fin de asegurar su distribución homogénea en la superficie. Se conservaron 24 h a temperatura ambiente y luego fueron sembradas según se describe más abajo. (Tratamiento No Recubierto Inoculado líquido convencional, NR-IC).

En Tabla1 se detallan los tratamientos ensayados

Tabla 1. Diseño experimental de los tratamientos de recubrimiento biopolimérico usando paila o equipo de recubrimiento universal Willy Niklas WN 5/01.

Equipo	Tratamientos
W. Niklas 6 mL/Kg	Recubierto Monocapa No inoculado <b>(R-NI)</b>
	Recubierto Monocapa Inoculado Rizoliq Top <b>(RI)</b>
	Recubierto Bicapa A Capa1+Inoculado Rizoliq Top-Capa2+ Maxim Evolution <b>(R-BiA)</b>
	Recubierto Bicapa B Capa1+Maxim Evolution-Capa2+ Inoculado Rizoliq Top <b>(R-BiB)</b>
Paila 60 mL/Kg	Recubierto Monocapa No inoculado <b>(R-NI)</b>
	Recubierto Monocapa Inoculado Rizoliq Top <b>(RI)</b>
	Recubierto Bicapa A Capa1+Inoculado Rizoliq Top-Capa2+ Maxim Evolution <b>(R-BiA)</b>
	No Recubierto No inoculado <b>(NR-NI)</b>
	No Recubierto Inoculado liquido Rizoliq Top (convencional) <b>(NR-IC)</b>

*Comportamiento de semillas recubiertas*

*a) Ensayos Físicos*

*Fluidez:* Se determinó la influencia del recubrimiento en la fluidez, como parámetro predictivo del comportamiento de las semillas en un tren de siembra. Se usó para ello un medidor de fluidez (Willy Niklas tipo SO-260) que consiste en una tolva con apertura neumática y determinación del peso de semillas descargadas en un tiempo definido. Se ajustó la descarga de 1,2 Kg de semillas en 0,7 segundos. Este método refleja el rendimiento del flujo húmedo/seco de la semillas recubiertas, respecto de las sin tratar. Se considera aceptable una reducción en la fluidez de hasta el 20% respecto de las semillas sin tratar desde el tiempo 0 de aplicado el recubrimiento.

*Desprendimiento de polvo (Dust off)* El desprendimiento del recubrimiento se evaluó por el método de Heubach (Heubach dustometer), sometiendo una muestra de semillas a fricción dentro de un tambor rotatorio sellado asociado a vacío, para valorar el peso del polvo desprendido de acuerdo a los estándares ESTA (European Seed Treatment Assurance) [9]. Para maní se establece como valor límite que el desprendimiento de polvo sea inferior a 0.75g/100.000 semillas.

*b) Ensayos Biológicos*

*Sobrevivencia de rizobacterias en semillas recubiertas:* Para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) se sumergieron 10 g de semillas en 90 mL de solución fisiológica durante 10 min (lavado), se tomó una muestra de 10 mL y a partir de ella se realizaron diluciones seriadas que fueron sembradas en medio LMA y cultivadas en estufa a 28°C según [10]. Las semillas se evaluaron un día después de aplicado el recubrimiento con el equipo Willy Niklas, o de la inoculación líquida convencional, y a los 30, 60 y 90 días. Las semillas recubiertas se conservaron en cámara a 4°C.

*Plantas:* Se sembraron 30 semillas recubiertas con Willy Niklas en envases de 300 cm<sup>3</sup> conteniendo vermiculita estéril y se mantuvieron en condiciones de invernadero. Las plantas se regaron alternativamente con agua y solución nutritiva ByD [11] sin nitrógeno. Se dispusieron bloques completamente aleatorizados y las plantas fueron cosechadas a los 35 días. Se registró el peso fresco y seco de raíz, parte aérea y biomasa de nódulos.

*Análisis estadístico:*

Los datos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de la varianza (ANOVA) y test de comparaciones múltiples a posteriori (DGC) con el programa Infostat [12].

### **3. Resultados y Discusión**

*El biopolímero:* El recubrimiento biopolimérico adecuado para semillas de maní se obtuvo luego de varias etapas de investigación comenzando con el análisis de diferentes tipos y proporciones de componentes y modos de aplicación [8]. Se determinó apropiado el uso de 4% de almidón de mandioca, obteniéndose un producto de alta viscosidad, 428 cP a temperatura ambiente, inocuo para las rizobacterias. Polímeros naturales y sintéticos se usan frecuentemente para la encapsulación de rizobacterias con el propósito de asegurar la sobrevivencia de los microorganismos y tolerancia a las condiciones de desecación en suelo y/o sobre las semillas. Schoebitz y colaboradores (2013) describen hidrogeles naturales como alginatos y carrageninos como matrices de soporte para bioinsumos, así como carbohidratos y almidones usados principalmente en encapsulaciones de microorganismos por secado en spray [13]. En este trabajo hemos conseguido formular un biopolímero con componentes naturales, de grado

alimenticio y no contaminante que posee gran elasticidad y capacidad de adhesión a las semillas de maní

#### *Condiciones de recubrimiento*

Tanto con paila como con el equipo Willy Niklas se logró una cobertura homogénea de las semillas, aunque se empleó con el primer equipo 10 veces más cantidad de biopolímero. No obstante en ambos sistemas la cantidad de RizoliqTOP® adicionado fue  $5 \times 10^8$  cel/100 g de semillas, lo que hace comparable los ensayos en términos del aporte de bioinsumo. En el ensayo de recubrimiento con paila, el espesor del recubrimiento fue de 110  $\mu\text{m}$  [8], y para el recubrimiento con Willy Niklas no pudo determinarse debido al escaso espesor de la capa que no pudo desprenderse independientemente del tegumento.

#### *Comportamiento de semillas recubiertas*

##### *a) Ensayos Físicos*

El análisis de la fluidez se realizó a través del paso de las semillas por una tolva de apertura neumática durante 0,7 segundos para el pasaje de 1,2 kg de semillas no recubiertas (NR), considerado control y comparación por evaluación del peso de las semillas recubiertas colectadas en ese tiempo. Este ensayo de fluidez se realizó inmediatamente aplicado el recubrimiento a T0, y el pasaje de la misma muestra a 1 minuto, 3 minutos y 24 horas. El peso de las semillas en cada tratamiento se evaluó relativo a la muestra control de semillas NR. Todos los tratamientos mostraron reducciones significativas ( $p < 0,01$ ) en el peso de la muestra colectada a tiempo 0 y 1 minuto. A los 3 minutos sólo el tratamiento de recubrimiento en Bicapa B (primera capa conteniendo el fitoterápico y segunda capa conteniendo el biofertilizante) mostró reducciones significativas respecto de NR. Luego de 24 h no se observaron diferencias respecto del control. Se considera aceptable que la fluidez de las semillas recubiertas no sea inferior al 80 % de la registrada en semillas NR [9]. La reducción en la fluidez en los primeros minutos de aplicado el recubrimiento biopolimérico podría deberse al grado de adhesividad del almidón de mandioca y colágeno que lo constituyen, pero es importante remarcar que desde 3 minutos posteriores a la aplicación no hay diferencias de fluidez respecto del control, aunque hay una leve reducción de la fluidez en los tratamientos en bicapa que desaparece luego de 24 h de aplicado el recubrimiento (Figura 3). Los datos de fluidez de las semillas recubiertas en paila a las 24 h muestran diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en todos los tratamientos respecto del control NR, aunque la reducción en ningún caso fue mayor al 20 % del control, mostrando que esta forma de aplicación y cantidad de biopolímero son aceptables y adecuadas para maní (Tabla 2). De acuerdo con Pedrini y colaboradores, (2016) [14] aplicar una fina capa de recubrimiento a las semillas de maní resultó en una forma efectiva de reducir la fricción y mantener la fluidez, al tiempo que en otros ensayos no mostrados, verificamos además que este recudimiento permite disminuir la rotura de semillas.

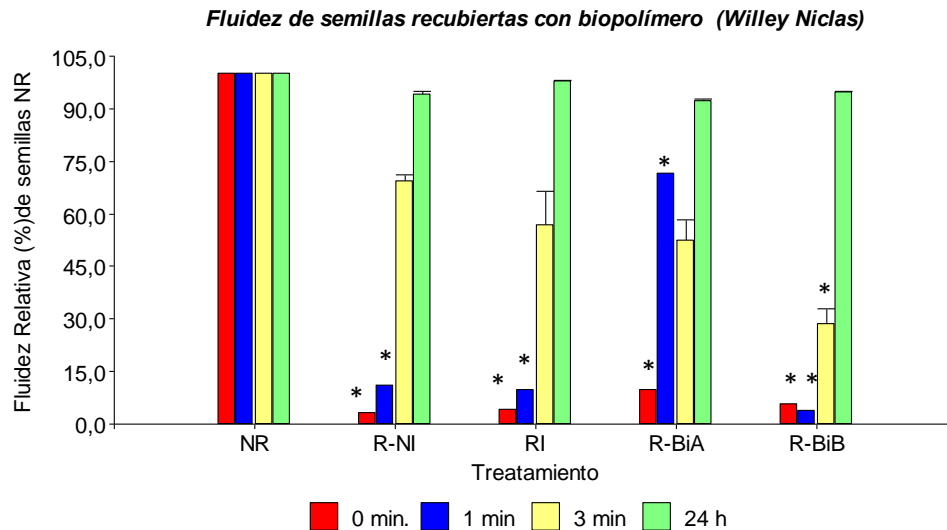


Figura 3. Fluidez de semillas de maní con recubrimiento biopolimérico (6 mL/kg) aplicado con equipo Willy Niklas. NR: No Recubierto; R-NI: Recubierto No Inoculado; RI: Recubierto Inoculado; BiA: Recubierto Bicapa (Capa1+Inoculante-Capa2+ fitoterápico); BiB: Recubierto Bicapa B (Capa1+fitoterápico -Capa2+ Inoculante. \* muestran diferencias significativas respecto de NR en cada tiempo (p< 0,01)

Tabla 2. Fluidez de semillas de maní luego de 24h de aplicar recubrimiento biopolimérico (60 mL/kg) con paila. NR: No Recubierto; R-NI: Recubierto No Inoculado RI: Recubierto Inoculado; R-BiA: Recubierto Bicapa (Capa1+Inoculante-Capa2+ fitoterápico). Letras distintas significan diferencias significativas (p< 0,01).

Recubrimiento en Paila	Fluidez	E.E.
R-BiA	87,09	0,41 a
R-NI	91,19	0,41 b
RI	91,55	0,41b
NR	100	0,41c

*Desprendimiento de polvo (Dust off)* El desprendimiento del recubrimiento se evaluó por el método de Heubach (Heubach dustometer). Los tratamientos de recubrimientos aplicados con equipo Willy Niklas se encuentran dentro de los límites de tolerancia de 0,75 g de polvo desprendido cada 100.000 semillas, según a los estándares ESTA, (European Seed Treatment Assurance, excepto el recubierto inoculado RI. Este dato debe ser reconfirmado pero podría deberse a interferencia del biofertilizante con estructura biopolimérica del almidón-proteína. Las semillas recubiertas con paila mostraron valores dentro de la tolerancia de la norma [9] (Tabla 3). Desarrollar recubrimientos con escaso desprendimiento de polvo contribuye a la seguridad ambiental y humo al momento de manipular semillas que incluyen en sus formulaciones poliméricas pesticidas e insecticidas [15].

Tabla 3. Desprendimiento de polvo en dastómetro, g/100.000 semillas de maní recubiertas en equipos Willy Niklas y paila. Tolerancia de 0,75 g/100.000 semillas (European Seed Traetment Assurance. NR: No Recubierto; R-BiA: Recubierto Bicapa (Capa1+Inoculante-Capa2+ fitoterápico); R-BiB: Recubierto Bicapa (Capa1+ fitoterápico-Capa2+Inoculante); RI: Recubierto Inoculado; R-NI: Recubierto No Inoculado.

Tratamiento	WillyNiklas (g/100.000 sem)	Paila (g/100.000 sem)
NR	0,07	0,293
R-BiA	0,36	0,162
R-BiB	0,13	ND
RI	1,56	0,065
R-NI	0,07	0,097

*b) Ensayos Biológicos*

*Sobrevivencia de Rizobacterias sobre semillas:*

La sobrevivencia de las rizobacterias se determinó por lavado desde las semillas y recuento de UFC desde el T0 de la aplicación en los recubrimientos biopoliméricos o en las semillas sin recubrimiento inoculadas de forma líquida convencional (NR-IC). En T0 las semillas inoculadas de manera convencional, tuvieron el mismo recuento de UFC que las recubiertas en bicapa, R-BiA y R-BiB mientras el RI en monocapa fue significativamente diferente ( $p < 0,01$ ) a este tiempo. A los 30 días se observa claramente que los bioinoculantes en recubrimientos muestran una cantidad de UFC significativamente mayor que la inoculación convencional líquida y a los 60 días es posible contabilizar UFC del orden  $10^5$  UFC/mL en las semillas recubiertas en bicapa B mientras NR-IC muestra un orden de magnitud menor (Figura 4). Este resultado muestra que si bien hasta los 30d es posible contar  $10^5$  UFC/mL con la inoculación convencional (NR-IC) este es el valor mínimo requerido para el establecimiento exitoso de la simbiosis [16] y esta magnitud es significativamente mayor con la incorporación del bioinsumo en el recubrimiento biopolimérico.

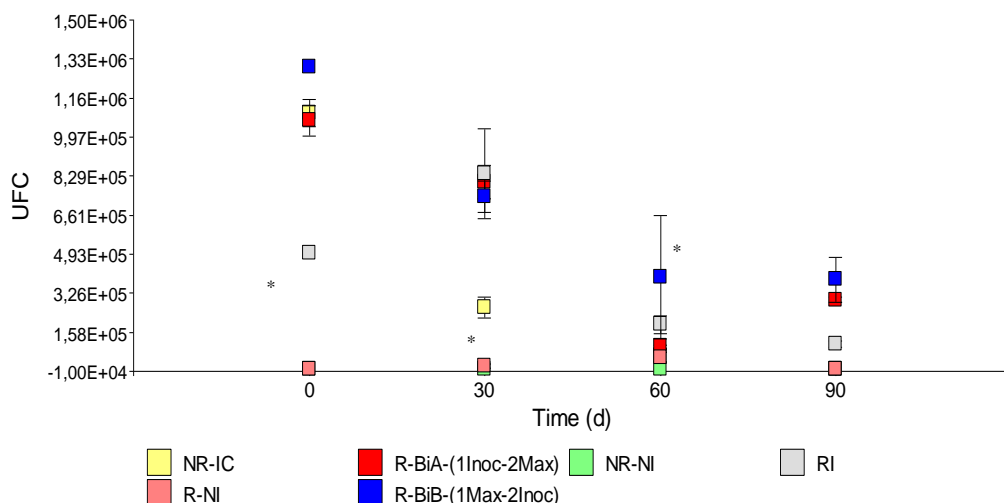


Figura 4. Sobrevivencia sobre semillas de maní de bioinsumos vehiculizados en recubrimientos biopoliméricos aplicados con equipo Willy Niklas. NR-IC: No Recubierto Inoculado Líquido Convencional; R-NI: Recubierto No Inoculado; R-BiA: Recubierto Bicapa (Capa1+Inoculante-Capa2+ fitoterápico); R-BiB: Recubierto Bicapa B (Capa1+fitoterápico-Capa2+ Inoculante); NR-NI: No recubierto No Inoculado; RI: Recubierto Inoculado.



*Plantas*

Las semillas recubiertas con el biopolímero fueron sembradas en condiciones controladas y se evaluó a los 35 días la biomasa aérea y radicular y la producción de nódulos (biomasa). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos de recubrimiento respecto de las no recubiertas, aunque la biomasa aérea de las plantas R-BiB mostró una leve reducción. La biomasa de raíces fue significativamente mayor ( $p < 0,01$ ) en plantas provenientes de semillas no recubiertas no inoculadas, sin diferencias entre los otros tratamientos (Tabla 4).

La producción de nódulos fue significativamente mayor ( $p < 0,01$ ) en plantas provenientes del tratamiento de doble recubrimientos (R-BiA) mientras que el tratamiento R-BiB mostró la biomasa más pequeña y no se observaron diferencias entre la inoculación convencional líquida (RI-IC) y la inoculación vehiculizada en monocapa (RI) (Figura 5).

Tabla 4. Producción de biomasa aérea y radicular en plantas de maní con bioinsumos vehiculizados en recubrimientos biopoliméricos aplicados con equipo Willy Niklas. R-BiA: Recubierto Bicapa (Capa1+Inoculante-Capa2+ fitoterápico); R-BiB: Recubierto Bicapa B (Capa1+fitoterápico-Capa2+ Inoculante); RI: Recubierto Inoculado; R-NI: Recubierto No Inoculado; NR-IC: No Recubierto Inoculado líquido convencional; NR-NI: No recubierto No Inoculado.

Tratamiento	Biomasa aérea (g)	E.E.	Biomasa Raices (g)	E.E.
R-BiB(1Max-2Inoc)	0,63	0,05	0,18	0,01
R-BiA-(1Inoc-2Max)	0,78	0,05	0,17	0,01
RI	0,8	0,07	0,21	0,02
R-NI	0,8	0,06	0,21	0,01
NR-IC	0,81	0,05	0,2	0,01
NR-NI	0,92	0,07	0.24*	0,02

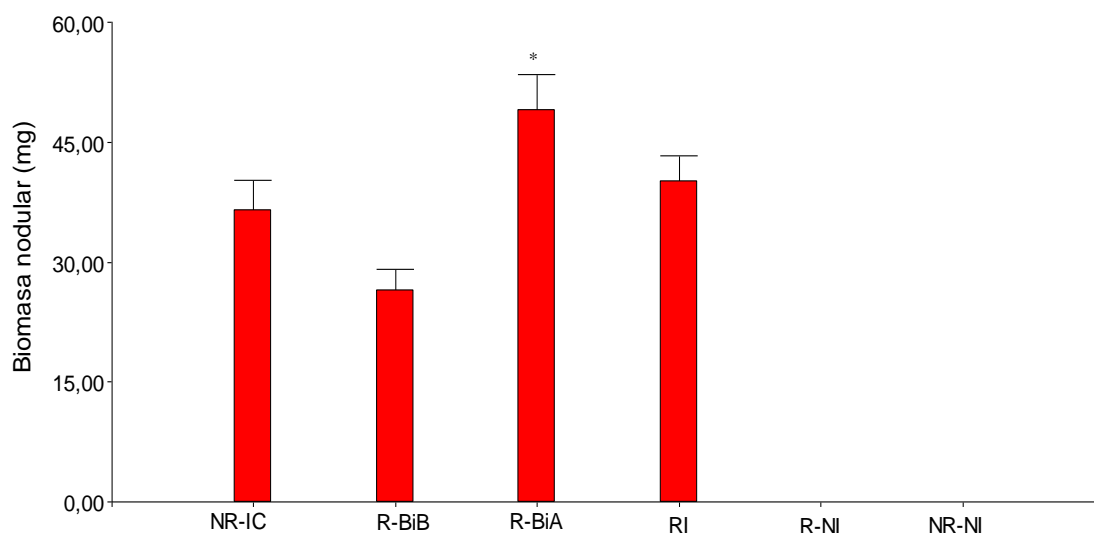


Figura 5. Producción de biomasa de nódulos en plantas de maní con bioinsumos vehiculizados en recubrimientos biopoliméricos aplicados con equipo Willy Niklas. NR-IC: No Recubierto Inoculado líquido convencional; RI: Recubierto Inoculado; R-BiA: Recubierto Bicapa (Capa1+Inoculante-Capa2+ fitoterápico); R-BiB: Recubierto Bicapa B (Capa1+fitoterápico-Capa2+ Inoculante).

#### **4. Conclusiones y recomendaciones**

En este trabajo se mostró la factibilidad de formular y aplicar un recubrimiento natural constituido por sustancias renovables, no contaminantes, de bajo costo y elevada disponibilidad, para vehicular bioinsumos y con la potencialidad de ser soporte de otros compuestos de interés agronómico. Se determinó que las rizobacterias contenidas en la matriz biopolimérica sobreviven en cantidad aceptable para la práctica de la biofertilización hasta sesenta días desde su inclusión y que el comportamiento de las semillas recubiertas durante la germinación y emergencia no se afecta negativamente. Se concluye que este biopolímero es adecuado para la protección de semillas de maní y para su implementación como vehículo de bioinsumos.

El trabajo fue financiado con fondos del Convenio INTA AUDEAS CONADEV (CIAC N° 940156) y realizó en Planta Piloto del Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos (ICTA) FCEFYN UNC, laboratorios del Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (IFRGV-CIAP-INTA) y Seedcare IntituteTM de SYNGENTA Argentina.

#### **5. Referencias**

- [1] REDACCIÓN AGROVOZ 08/01/2018 <http://agrovoz.lavoz.com.ar/agricultura/mani-termino-la-siembra-en-cordoba-y-la-superficie-crecio-11900-hectareas>.
- [2] OLDROYD G, DIXON R. (2014). Biotechnological solutions to the nitrogen problem. *Curr Opin Biotechnol.* 2014 26:19-24.
- [3] BEATTY P, GOOD A. (2011). Future prospects for cereals that fix nitrogen. *Science* 333:416-417.
- [4] FERTILIZAR Asociación Civil. Informe Consumo de fertilizantes en Argentina (2017). <https://www.fertilizar.org.ar/subida/Estadistica/EvolucionConsumo/EvolucionMercadoFertilizantesArgentino>
- [5] FAO (2015). Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030 - <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s11.htm>.
- [6] SAHUQUILLO HERRAIZ, A. (1993). Reflexiones sobre la planificación hidrológica. In: ANDREU ÁLVAREZ, J. (Ed.) *Conceptos y métodos para la planificación hidrológica*. Barcelona: Centro Internacional de Métodos Numéricos en Ingeniería. p.1-14.
- [7] MONTOYA P., BIANCO M., PAEZ G., MELCHIORRE M. (2016). Biopolímero natural: su utilización como vehículo de biofertilizantes de maní” *XXVII Reunión Latinoamericana de Rizobiología*. ISBN: 978-85-69146-03-2 (Londrina (PR), Brasil).
- [8] BARBEITO C., CANETO N. (2013). *Estudio e implementación de biopolímeros como recubrimiento protector en semillas de maní (Arachis hypogaea)*. Tesis de Grado Ingeniería Química- Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. UNC 176pp-

- [9] ESA STAT *Assessment of free floating dust and abrasion particles of treated seeds as a parameter of the quality of treated sedes*. European Seed Association aisbl PHYSICAL METHOD Dust Working Group Version: 1.0 Date: 23.03.2011. 13p
- [10] ALBANESI A., BENINTENDE S., CASSAN F., PERTICARI A. (2013). *Manual de procedimientos microbiológicos para la evaluación de Inoculantes* REDCAI A Ed. ISBN 978-987-26716-4-8
- [11] BROUGHTON W.J., DILWORTH M.J. (1971). *Control of leghemoglobin synthesis in snake beans*, Biochem. J. 125 1075–1080.
- [12] DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZÁLEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C.W. *InfoStat versión 2014*. Grupo InfoStat, FCA-UNC Córdoba, Argentina.
- [13] SCHOEBITZ M., LÓPEZ M., ROLDÁN A (2013). *Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization. A review*. Agron. Sustain. Dev. 33:751–765 DOI 10.1007/s13593-013-0142-0.
- [14] PEDRINI S., MERRITT DJ, STEVENS J., DIXON K. (2016). *Seed Coating: Science or Marketing Spin?* Trends in Plant Science 22: (2)  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.11.002>
- [15] HALECKY A., REN N., LU J., WANG J., LOCKWOOD F. (2016). *Correlation of the mechanical properties of seed coating films and dust-off, flowability, and plantability tests*. In STP1595 Pesticide Formulation and Delivery Systems: 36th Vol. Emerging Trends Building on a Solid Foundation. Poenberger C., Heuser J. (Eds) ASTM INTERNATIONAL DOI: 10.1520/STP159520160082.
- [16] IZAGUIRRE MAYORA ML., LABANDERA C., SANJUÁN J. Eds. (2008). *Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial*. La Habana, Ed Universitaria ISBN 978-959-16-1031-7 104 pp