

EVALUACIÓN DEL EFECTO BIOESTIMULANTE DE BACILLUS SPP COMO RIZOBACTERIA PROMOTORA DEL CRECIMIENTO VEGETAL SOBRE EL CULTIVO DE MAÍZ (ZEA MAYS L.)

Ayoub, I.¹; Bigatton, E.D.¹; Ballatore, A.¹; Gastaldi, N.¹; Berdini, A.¹; Archilla, M.V.¹; Bruno, M.A.¹; Pizzolitto, R.P.^{1,2}; Martín, M.P.¹; Dubini, L.E.¹; Vázquez, C.¹; Merlo, C.^{1,2}; Lucini, E.I.¹

¹Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Microbiología Agrícola. Córdoba. Argentina.

²Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-CONICET). Córdoba. Argentina.

iaayoub@unc.edu.ar

RESUMEN

En Argentina se siembran más de 7 millones de hectáreas del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) siendo, además, el tercer país exportador de maíz detrás de Brasil y Estados Unidos. En el año 2019 el consumo de fertilizantes en Argentina alcanzó las 4,7 millones de toneladas. Los biofertilizantes se presentan como una alternativa suplementaria a la fertilización química. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto biofertilizante y promotor del crecimiento de bacterias sobre el rendimiento del cultivo de maíz. El experimento fue llevado a cabo en un campo de la zona centro de la provincia de Córdoba, Argentina. El híbrido utilizado fue La Tijereta 722 VT3P y el microorganismo *Bacillus* spp. aislado a partir de suelo rizosférico. Las plantas inoculadas con *Bacillus* alcanzaron un rendimiento de 151,1 qq.ha⁻¹, en relación a los 125,21 qq.ha⁻¹ alcanzados por el control sin microorganismos. La inoculación con *Bacillus* spp. incrementó el rendimiento.

Palabras clave: Bioinsumos – rizobacteria promotora del crecimiento vegetal – rendimiento – fijación biológica de nitrógeno.

INTRODUCCIÓN

En Argentina, el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos extensivos de mayor importancia en el país. A nivel mundial, Argentina es el tercer país exportador de maíz detrás de Brasil y Estados Unidos (Orus, 2019). En el año 2020 se exportaron 36 millones de toneladas de granos de maíz, siendo el registro de exportaciones más alto en la historia (Efeagro, 2021). El área sembrada para la campaña 19/20 fue de 7,26 millones de ha, con un rinde promedio de 82,4 qq.ha⁻¹ (Di Yenno, 2021). La producción en la provincia de Córdoba representó en la campaña 17/18 el 32% del maíz sembrado a nivel nacional (Ministerio de hacienda, 2019), porcentaje que ascendió al 42% para la campaña 19/20, ocupando el sexto puesto a nivel mundial dentro de las 98 regiones productoras de maíz. Estas regiones, conjuntamente, representan el 87% de las exportaciones mundiales (Departamento de Economía BCCBA, 2020).

En el año 2019 el consumo de fertilizantes en Argentina alcanza 4,7 millones de toneladas, un incremento de 10 veces lo consumido por el sector agropecuario en las últimas 3 décadas (De Bernardi et al., 2020; Terré & Treboux, 2020). La demanda de fertilizantes en 3 cultivos: soja, maíz y trigo, alcanza un promedio anual de 237 mil toneladas de fertilizantes fosfatados y 561 mil toneladas de fertilizantes nitrogenados (Ministerio de

Agroindustria, 2017). Cabe destacar, que el 65 % de los fertilizantes son importados y presentan una baja eficiencia de asimilación, por lo que representan un costo ambiental y económico (De Bernardi et al., 2020; Terré & Treboux, 2020). En el caso de los fertilizantes nitrogenados, la fracción no incorporada por las plantas puede sufrir volatilización, lixiviación, etc., infiltrándose profundamente en las napas. La incorporación de estos productos a las napas provoca contaminación y conlleva posteriormente a la eutrofización de lagos y lagunas, además modifica el pH del suelo y provoca pérdida de estructura (Ongley, 1997; Montejo Martínez et al., 2018). En el contexto actual con un aumento de los costos de insumos y la necesidad de transformar el sector productivo hacia una agricultura sostenible, el empleo de tecnologías, técnicas e insumos que permitan incrementar la eficiencia, y reducir los impactos negativos en el ambiente son necesarias. Es allí donde los biofertilizantes y bioestimulantes se presentan como una alternativa con el fin de sustituir al menos en forma parcial la fertilización química (Montejo Martínez et al., 2018).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) se encuentran asociadas a la rizósfera del cultivo, que se ubica en la porción de pocos milímetros de espesor (2-5 mm) entre la superficie de la raíz y la matriz del suelo (Hashem et al., 2019). Allí las bacterias se establecen y

colonizan la superficie de la raíz, compitiendo por espacio y nutrientes. Los géneros más característicos dentro de las PGPR son *Pseudomonas* spp., *Azospirillum* spp. y *Bacillus* spp. (Kejela; Thakkar; Patel, 2017; Kumar & Verma, 2018; Zarei et al., 2019).

Algunas PGPR pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* tienen la capacidad de promover el crecimiento de los cultivos a través de diversos procesos como: la solubilización de fósforo (mediante la producción de fosfatasas ácidas y la producción de ácidos orgánicos), la producción de fitohormonas y también la producción y liberación de COVs (Compuestos Orgánicos Volátiles). Además, a través de la síntesis de sideróforos, antibióticos y COVs actúan como agentes de control biológico y permiten la inducción de resistencia sistémica de la planta (Kumar et al., 2019). Debido a todos estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto bioestimulante y promotor del crecimiento de las bacterias PGPR sobre el rendimiento del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) de fecha de siembra tardía en la zona centro de Córdoba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para realizar los ensayos se utilizaron semillas del híbrido comercial “La Tijereta” 722 VT3P, adquirido por el productor a un distribuidor comercial de la marca. Este híbrido presenta un ciclo intermedio y grano de tipo dentado color anaranjado. Además, dispone de triple protección contra lepidópteros, tolerancia a glifosato y está tratado con Acelleron un producto fungicida e insecticida como curasemilla. El peso de mil semillas es de 366 gramos.

Microorganismos

Las semillas fueron inoculadas con un bioinsumo líquido formulado con la cepa *Bacillus* sp. a una concentración aparente de 1.10^9 UFC.mL⁻¹. El bioinsumo fue proporcionado por la cátedra de Microbiología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Córdoba) Cepa aislada y caracterizada de suelos productivos de la provincia de Córdoba.

Diseño experimental

Ubicación del ensayo

El ensayo fue llevado a cabo durante la campaña 2021 en el campo del productor Agustín Ballatore, ubicado en la zona centro de la provincia de Córdoba Argentina, a 10 km de Córdoba capital y en la zona rural de Villa Esquiú. Las coordenadas de la parcela experimental son 31°21'00" S, 64°03'23" O

Diseño experimental

Se sembraron tres parcelas de 80 metros de ancho por 280 metros de largo, las cuales a su vez se subdividieron en tres subparcelas de 92 metros de largo cada una, configurando una superficie de 2,24 ha por tratamiento. Se sembraron dos tratamientos: a) control (semillas sin inocular) en la parcela 1 y b) semillas inoculadas con la bacteria *Bacillus* spp. en la parcela 2. La densidad de siembra fue de 3,5 pl.m⁻¹ estableciendo un total de aproximadamente 67300 pl.ha⁻¹. La fecha de siembra fue el 6 de enero de 2021. En este sentido, las precipitaciones acumuladas en el período desde la siembra y hasta el 1 de junio de 2020 fueron 347 mm según datos relevados en el campo por el productor. Las temperaturas medias diarias se muestran en la **Figura 1**.

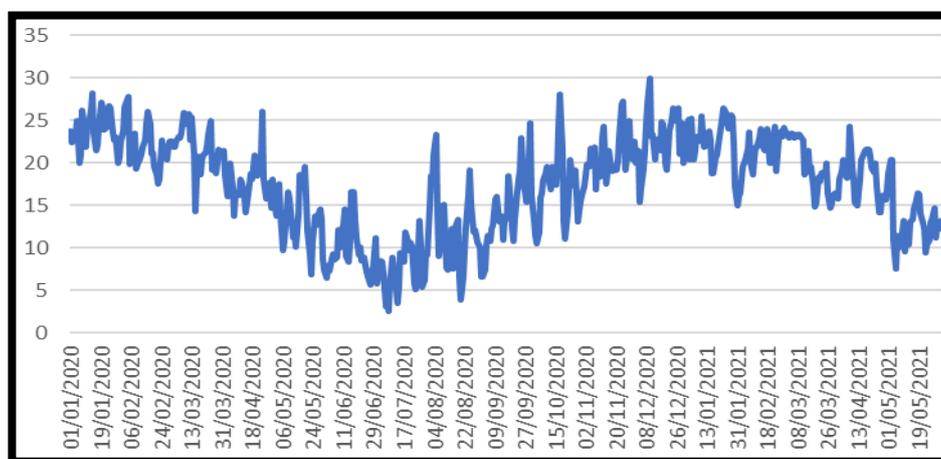


Figura 1. Marcha térmica diaria correspondiente al ciclo de crecimiento del cultivo desde la fecha de siembra (01/01/2020) hasta madurez fisiológica (19/05/2021). Los datos registrados corresponden a la estación ubicada en Villa Retiro (Red de Estaciones Meteorológicas del Ministerio de Agricultura de la Provincia de Córdoba), estación más próxima al sitio experimental.

Se aplicaron a la siembra como fertilizante 60 kg.ha⁻¹ (27-0-0 + 6% CaO + 4% Mg) el nitrógeno es aportado en forma de nitrato de amonio, luego se aplicaron 100 kg.ha⁻¹ en V4. Respecto a los tratamientos fitosanitarios se realizó una aplicación de Clorantraniliprole con una dosis de 0,100 cc.ha⁻¹ en V6 con fecha 6 de febrero de 2021. Además, el cultivo estival precedente en la campaña 2019-2020 fue soja y como cultivo invernal un cultivo combinado de *Avena sativa* más *Vicia villosa*.

Para evaluar la respuesta a la inoculación, en ambas parcelas (inoculada y no inoculada) se determinó: a) número de granos (NG), b) peso de los granos (PG), y c) rendimiento.

Análisis Estadísticos

Para realizar el análisis de los datos obtenidos, se utilizó el software Infostat (Di Rienzo et al., 2017). Los datos fueron analizados mediante ANOVA y el método de comparación de medias LSD ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS

En la **Tabla 1** se observa que el número de granos/m² presenta diferencias significativas entre los tratamientos analizados. En este sentido, en el tratamiento inoculado con *Bacillus* spp. se detectó un incremento de aproximadamente 14,5% en relación con el tratamiento control (4.946 versus 4.224 granos). Otra variable que presentó diferencias significativas fue el rendimiento. El rendimiento promedio del control (sin inocular) fue de 12.521 kg.ha⁻¹, mientras que el tratamiento con *Bacillus* spp. fue de 15.110 kg.ha⁻¹ (**Figura 2**).

Tabla 1. Determinación de Rendimiento del cultivo de maíz bajo efecto de la inoculación con *Bacillus* spp. Los datos representados indican la media de los parámetros medidos. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba LSD; $p \leq 0,05$).

Tratamiento	Granos.m ²	NG1	NG2	P/100 granos
Control s/inocular	4224 ± 260 a	536 ± 47 a	345 ± 88 a	296,40 ± 78 a
<i>Bacillus</i> spp.	4946 ± 125 b	567 ± 17 a	386 ± 55 a	305,52 ± 75 a

NG1: Número de granos en espiga primaria.

NG2: Número de granos en espiga secundaria.

P/100 granos: Peso promedio de 100 granos

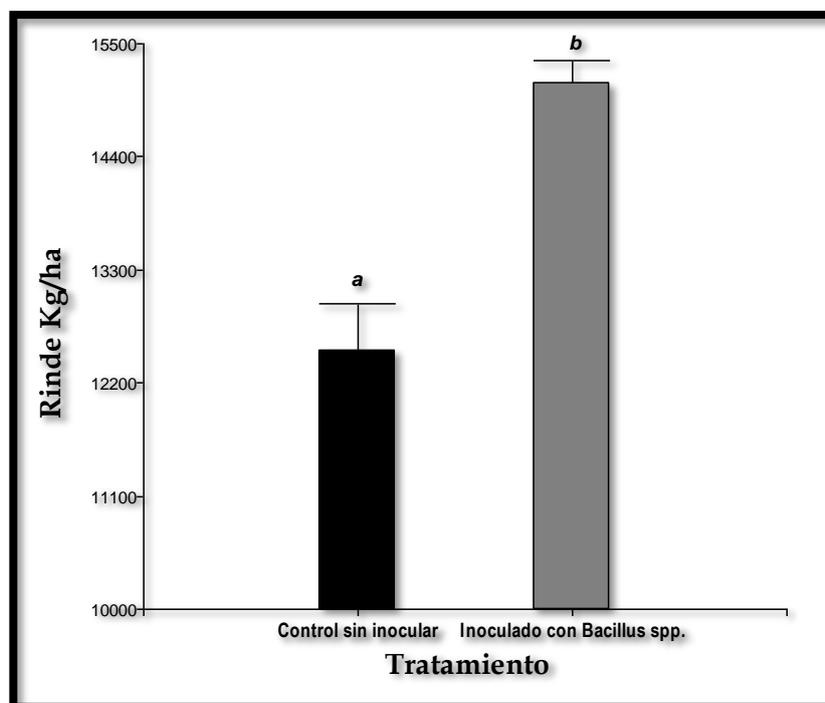


Figura 2. Valores medios (±EE) del rendimiento en kilogramos por hectárea según tratamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba LSD; $p \leq 0,05$).

En la **Figura 3** se muestra la relación entre granos/m² y el rendimiento por ha. Siendo el primero el principal

componente del rendimiento que define y determina el rendimiento por ha (Pagano & Maddonni, 2007).

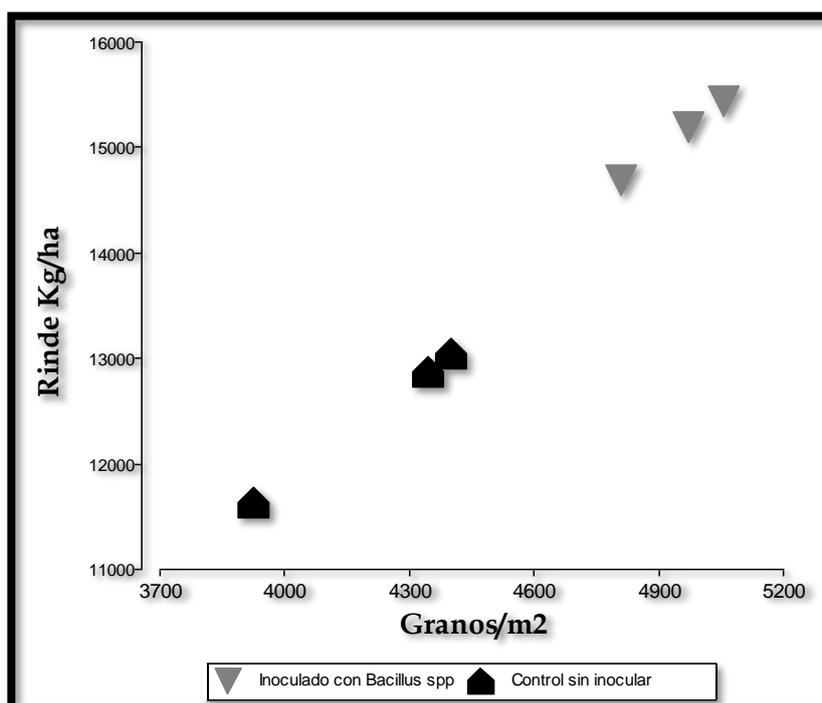


Figura 3. Relación entre el rendimiento (Kg.ha⁻¹) y los granos/m², en el cultivo de maíz bajo efecto de la inoculación con *Bacillus* spp

Por otra parte, y en relación con el número de granos en espigas primarias y secundarias no se observan diferencias significativas. Respecto al peso de los granos no hubo diferencias significativas entre tratamientos, siendo de 296,4 gr/100 granos para el control y de 305,52 gr/100 granos para el tratamiento con *Bacillus* spp (**Figura 4**).



Figura 4. Comparación entre el tamaño promedio de espigas primarias del tratamiento control versus el tratamiento inoculado con *Bacillus* spp.

DISCUSIÓN

Al realizar el análisis de los resultados obtenidos se destaca la importante diferencia encontrada en el rendimiento entre los tratamientos evaluados (14,5% más en el tratamiento inoculado). Las diferencias encontradas probablemente se encuentren relacionadas al incremento en el número de granos/m², siendo este, además, el principal componente que define el rendimiento del cultivo de maíz (Pagano & Maddonni, 2007).

Estos resultados concuerdan con lo reportado por varios investigadores en diversos cultivos (Husseini et al., 2012; Bigatton et al., 2020; Ipek et al., 2014; Sood et al., 2018). En un ensayo a campo en seco, realizado en la zona rural de Colonia Cocha, donde se inoculó con diversas bacterias PGPR promotoras del crecimiento en el cultivo de maíz, se obtuvieron aumentos del rendimiento del 11 al 15 % mediante la utilización de esta cepa de *Bacillus* spp (Datos preliminares y aún no publicados). Incluso ensayos realizados durante dos años consecutivos en el cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.) con esta misma

cepa evidenciaron un incremento de 25% de la biomasa aérea total y un aumento del rendimiento de un 22% (Bigatton et al., 2020).

Esta respuesta puede deberse principalmente a la producción por parte de la cepa de fitohormonas (e.g., ácido, giberélico, citocininas), que intensifican la producción de flores generando de esta manera un impacto en la eficiencia reproductiva (se define como la relación entre el número total de frutos en función de las flores producidas) (Bhattacharyya & Jha, 2012; Gouda et al., 2018). Diversos autores han documentado en diferentes cultivos, estos comportamientos de las cepas de *Bacillus* spp. sobre la floración (e.g., azafrán, trigo, maíz, algodón, banana), concluyendo que hubo un incremento no solo en la cantidad de flores, sino también en el número de frutos y del peso medio de esos frutos. (el Hussein et al., 2012; Esitken et al., 2006; Sharaf-Eldin et al., 2008). El mayor número de frutos afecta directamente el número de granos por metro cuadrado que como mencionamos anteriormente se constituye en el principal componente de rendimiento.

Es importante agregar que en ensayos a campo llevados a cabo por investigadores pertenecientes al equipo de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional De Córdoba, demostraron que esta cepa de *Bacillus* incrementó un 52% la masa radical en los primeros 20 cm de profundidad en el cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.) (Bigatton et al., 2021). Resultados similares fueron reportados por Basu et al. (2021).

El mayor desarrollo radical permite una mayor capacidad de absorción de nutrientes que impactan en el desarrollo de biomasa, sumado además a una mayor disponibilidad de nutrientes como el Fósforo que se encuentra inmóvil, ya que las bacterias PGPR mediante la liberación de ácidos orgánicos y fosfatasas ácidas permiten su solubilización y mayor disponibilidad en la solución del suelo (Zarei et al., 2019)

CONCLUSIONES

El uso de un bioinsumo formulado con la bacteria *Bacillus* spp. en el cultivo de maíz incrementó el número de granos por m², principal componente del rendimiento. La inoculación del cultivo de maíz contribuyó a incrementar el rendimiento, por lo que este trabajo pone de manifiesto la importancia del uso de bioestimulantes como una herramienta de manejo para incrementar la productividad de los sistemas agrícolas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & El Enshasy, H. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability*, 13(3), 1140. <http://dx.doi.org/10.3390/su13031140>
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Bigatton, E. D., Ayoub, I., Palmero, F., Berdini, A., Baldessari, J. J., Castillejos Sanchez, M. Á., Lucini, E. I., & Haro, R. J. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Effects on root growth and yield of peanut (*Arachis hypogaea*L.) crop. *South American Sciences*, 2(1), 1–9. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.52755/sas.v.2i\(e desp1\)126](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.52755/sas.v.2i(e desp1)126)
- Bigatton, E. D., Haro, R. J., Ayoub, I., Castillejos Sanchez, M. Á., & Lucini, E. I. (2020). Efectos de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal sobre la producción de biomasa, rendimiento y la calidad física del grano de maní (*Arachis hypogaea*L.). *South American Sciences*, 1(2), 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.17648/sas.v1i2>
- Bigatton, E. D., Haro, R. J., Berdini, A., Baldessari, J. J., & Lucini, E. I. (2020). Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) y sus efectos sobre la floración, ontogenia del grano y la granometría del cultivo de maní (*Arachis hypogaea*L.). *South American Sciences*, 1(2), 1–11. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17648/sas.v1i2.59>
- De Bernardi, L., Stuhldreher, G., & Iglesias, C. (2020). PRODUCCIÓN GRANARIA ARGENTINA Y EL CONSUMODE FERTILIZANTE POR CULTIVO CAMPAÑA 2019/2020.
- Departamento de Economía BCCBA, C. (2020). Córdoba escala 2 puestos en el ranking de producción de los principales exportadores del mundo (313th ed.).
- Di Yenno, F. (2021). Balance regional del maíz 2020/21 (1993rd ed.).
- Efeagro. (2021, January 26). El volumen de exportaciones de granos de Argentina bajó un 6% en 2020.
- Hussein, M. M., Bochow, H., & Junge, H. (2012). The biofertilising effect of seed dressing with PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 42 combined with two levels of mineral fertilising in African cotton production. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 45(19), 2261–2271. <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.673259>
- Esitken, A., Pirlak, L., Turan, M., & Sahin, F. (2006). Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrition of sweet cherry. *Scientia Horticulturae*,

- 110(4), 324–327.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.07.023>
- Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., & Patra, J. K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*, 206, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016>
- Ipek, M., Pirlak, L., Esitken, A., Figen Dönmez, M., Turan, M., & Sahin, F. (2014). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (Pgpr) Increase Yield, Growth And Nutrition Of Strawberry Under High-Calcareous Soil Conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 37(7), 990–1001.
<https://doi.org/10.1080/01904167.2014.881857>
- Ministerio de Agroindustria, A. (2017). PERSPECTIVAS DEL MERCADO DE FERTILIZANTES PARA LA COSECHA 2016/17 EN ARGENTINA.
- Ministerio de hacienda, A. (2019). INFORMES DE CADENAS DE VALOR Maíz (41st ed.).
- Montejo Martínez, D., Casanova Lugo, F., García Gómez, M., Oros Ortega, I., Díaz Echeverría, V., & Morales Maldonado, E. R. (2018). Respuesta foliar y radical del maíz a la fertilización biológica-química en un suelo Luvisol. *Agronomía Mesoamericana*, 29(2), 325–341.
<https://doi.org/10.15517/ma.v29i2.29511>
- Ongley, O. D. (1997). Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos (F. & A. Org, Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Orus, A. (2019). Ranking de los mayores países exportadores de maíz en el mundo en 2019. Julio 2020.
<https://es.statista.com/estadisticas/598887/principal-es-paises-exportadores-de-maiz-a-nivel-mundial/>
- Pagano, E., & Maddonni, G. A. (2007). Intra-specific competition in maize: Early established hierarchies differ in plant growth and biomass partitioning to the ear around silking. *Field Crops Research*, 101(3), 306–320.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.12.007>
- Raffi, M. M., & Charyulu, P. B. B. N. (2021). Azospirillum-biofertilizer for sustainable cereal crop production: Current status. In *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry* (Vol. 2, pp. 193–209). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821406-0.00018-7>
- Sharaf-Eldin, M., Elkholy, S., Fernández, J.-A., Junge, H., Cheetham, R., Guardiola, J., & Weathers, P. (2008). *Bacillus subtilis* FZB24® Affects Flower Quantity and Quality of Saffron (*Crocus sativus*). *Planta Medica*, 74(10), 1316–1320. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1081293>
- Sood, G., Kaushal, R., Chauhan, A., & Gupta, S. (2018). Effect of conjoint application of indigenous PGPR and chemical fertilizers on productivity of maize (*Zea mays* L.) under mid hills of Himachal Pradesh. *Journal of Plant Nutrition*, 41(3), 297–303.
<https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1381116>
- Suhameena, B., Uma Devi, S., Shymala Gowri, R., & Dinesh Kumar, S. (2020). Utilization of Azospirillum as a Biofertilizer –An Overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 62(2), 141–145.
- Terré, E., & Treboux, J. (2020). Récord de consumo de fertilizantes en el 2019, con una participación de importados del 65% (1958th ed.).