

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.)

Submetido - 30 jul. 2020

Aprovado - 09 set. 2020

Publicado – 14 out. 2020



<http://dx.doi.org/10.17648/sas.v1i2.59>

Ezequiel Darío Bigatton

Ingeniero Agrónomo. Máster Science. Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. Estudiante de Doctorado FCA-UNC (Argentina)- UCO (España). CONICET. ezequielbigatton@gmail.com; ebigatton@agro.unc.edu.ar.

Ricardo Javier Haro Juárez

Ingeniero Agrónomo. Doctor en Ciencias Agropecuarias. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)-Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Manfredi. Investigador en Ecofisiología de Cultivos, Grupo Recursos Naturales y Manejo de Cultivos. Profesor Titular de Ecofisiología de Cultivos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Córdoba. haro.ricardo@inta.gov.ar.

Agustín Berdini Berdini

Estudiante de Ingeniería Agronómica. Alumno colaborador de Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. agustin.berdini@mi.unc.edu.ar.

Jorge Javier Baldessari

Ingeniero Agrónomo. Doctor en Ciencias Agropecuarias. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)-Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Manfredi. Investigador a cargo del programa de mejora genética de maní. baldessari.jorge@inta.gov.ar.

Enrique Iván Lucini

Ingeniero Agrónomo. Doctor en Ciencias Agropecuarias. Profesor Adjunto de Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. eilucini@agro.unc.edu.ar.

RESUMEN

Córdoba es la principal provincia productora de maní en Argentina con un promedio de 280-310 mil hectáreas sembradas por año. Las necesidades de incrementar los rendimientos y disminuir las presiones ambientales determinan la potencialidad de las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) como alternativa productiva. Las PGPR pueden estimular el crecimiento de los cultivos de forma directa o indirecta y, dentro de ellas se incluyen a los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*. La estimulación del cultivo por medio de las PGPR ocurre generalmente por producción de fito-hormonas y la solubilización de nutrientes que afectan entre otros parámetros la etapa reproductiva del cultivo y con ello la floración, formación de los frutos y rendimiento del cultivo. En este ensayo se utilizaron cepas nativas aisladas de suelos provenientes del cultivo de maní los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, evaluando su efecto sobre la dinámica de floración, formación de vainas, ontogenia del grano, en un cultivar Granoleico tipo runner completando un ciclo de 150 días de siembra a cosecha. La cepa 002 de *Bacillus* spp. incremento la floración en relación con los controles y al resto de los tratamientos, traduciéndose en incrementos de la eficiencia reproductiva (+12%) y un aumento en el número de granos (+50%) de los calibres de granos de mayor diámetro (9-10 mm de diámetro medio de los granos). *Pseudomonas* spp. cepa 001 no alteró sustancialmente la eficiencia reproductiva (+1%), pero registró un incremento en la producción de granos relación al control (+45%).

Palabras clave: *Bacillus*; *Pseudomonas*; Confitería; Fito-hormonas.

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and its effects on flowering, grain ontogeny and the granometry in peanut (*Arachis hypogaea* L.)

ABSTRACT

Córdoba is the most important Argentina province that produces peanuts in an average of 280-310 thousand hectares per year. The need to increase yields and to reduce the environmental impacts determine the potential use of the Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), as a productive alternative. PGPRs can stimulate the growth of crops by directly or indirectly process and it includes the genera *Pseudomonas* and *Bacillus*. The growth stimulation of the PGPR habitually occurs by the production of phytohormones and the solubilization of nutrients that affect, among other parameters, the crop reproductive stages as flowering, pod set and seed yield. In this trial, the genera *Pseudomonas* and *Bacillus*, native strains isolated from peanut area, were used and their effects on flowering, pod set, grain ontogeny of the Granoleico cultivar were evaluated. *Bacillus* spp. affected positively early reproductive stage (flowering) concerning the treatments and, it increased the reproductive efficiency (+ 12%) and the seed number (+ 50%) of the highest calibers (9-10 mm mean grain diameter) respect to control treatment. *Pseudomonas* spp. strain 001 produced a slight modification in reproductive efficiency (+ 1%) but it increased the seed yield (+ 45%) respect to the control.

Keywords: Bacillus; Pseudomonas; Confectionery; Phytohormones.

Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCP) e seus efeitos sobre a floração, a ontogenia dos grãos e a granulometria do cultivo de amendoim (*Arachis hypogaea* L.)

RESUMO

Córdoba é o Estado da Argentina mais importante na produção de amendoim, com média de 280 a 310 mil hectares por ano. A necessidade de aumentar a produtividade e reduzir os impactos ambientais por meio do potencial uso de Rhizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCP) pode ser uma alternativa viável. As RPCPs que podem estimular o crescimento das culturas por processo direto ou indireto, incluem os gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*. O estímulo do crescimento das RPCPs, ocorre habitualmente pela produção de fitohormônios e pela solubilização de nutrientes que afetam, entre outros parâmetros, os estágios reprodutivos das culturas como floração, formação de vagens e rendimento de sementes. Neste ensaio, foram utilizados os gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, linhagens nativas isoladas da área de amendoim. Foram avaliados seus efeitos sobre a floração, a formação de vagens, a ontogenia dos grãos da cultivar Granoleico. *Bacillus* spp. afetou positivamente o estágio reprodutivo precoce (floração) dos tratamentos e aumentou a eficiência reprodutiva (+ 12%) e o número de sementes (+ 50%) dos calibres mais altos (9-10 mm de diâmetro médio), em relação ao tratamento controle. A cepa 001 de *Pseudomonas* spp. produziu uma leve modificação na eficiência reprodutiva (+ 1%), mas aumentou o rendimento das sementes (+ 45%), em relação ao controle.

Palavras-chave: Bacillus; Pseudomonas; Confeitaria; Fitohormônios.

Introducción

En la República Argentina, la provincia de Córdoba es la principal productora de maní (*Arachis hypogaea* L.) con un promedio anual de entre 280-317 mil hectáreas sembradas (ARGENTINA, 2018). Las nuevas tendencias como la utilización de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) se plantean como alternativa y

complemento a la utilización de fungicidas y fertilizantes de síntesis industrial (KEJELA; THAKKAR; PATEL, 2017).

Las PGPR inducen el crecimiento y el rendimiento de los cultivos a través de una variedad de mecanismos de acción directos e indirectos (GOUDA *et al.*, 2018). Dentro de las PGPR más relevantes se encuentran las bacterias del género *Pseudomonas* y *Bacillus*. Ambas intervienen por medio de diferentes mecanismos en la solubilización de fósforo mediante la producción y liberación de ácidos orgánicos en el suelo y fosfatasas ácidas (KEJELA; THAKKAR; PATEL, 2017). *Pseudomonas* y *Bacillus*, además, son productoras de fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas que inducen incrementos en la actividad meristemática a nivel radicular y de los meristemas reproductivos, incrementando principalmente el número de flores, eficiencia reproductiva y el rendimiento (BHATTACHARYYA y JHA, 2012; IPEK *et al.*, 2014; KUMAR *et al.*, 2019). Estos aspectos aún no han sido ampliamente explorados en el cultivo de maní bajo una escala de análisis de 'Campo'. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de cepas de PGPR de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* sobre la floración del cultivo y la formación y ontogenia de los granos.

Materiales y métodos

Se realizó un experimento en la Estación Experimental Agropecuaria Manfredi (Córdoba, Argentina), perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, en un suelo Haplustol Típico Serie Manfredi (Limosa Fina, Mixta, Térmica) donde se sembró el cultivar *Granoleico* el 8/10/2019 y su cosecha se realizó el día 6/03/2020. El cultivo creció sin restricciones hídricas y las parcelas fueron mantenidas libres de malezas e insectos.

Las semillas de maní fueron inoculadas con las PGPR. Se evaluaron veinticuatro cepas pertenecientes a los géneros *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., previamente aisladas y caracterizadas genéticamente por el laboratorio de Microbiología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Además, se utilizó un control negativo (sin microorganismos) y un control con una cepa

de *Bradyrhizobium japonicum* perteneciente a dicho laboratorio. Complementariamente a la inoculación pre-siembra, se efectuó una dosificación del caldo bacteriano sobre la hilera de plantas en estadio R3 (comienzo de formación de vainas) bajo una dosis equivalente a 190 l. ha⁻¹ del formulado de PGPR a una concentración de 1.10⁹ bacterias viables por mililitro de solución.

La unidad experimental estuvo constituida por plantas distribuidas al azar. A partir de R1 y hasta R8 (cosecha final) se realizó conteo diario de flores sobre las plantas tratadas con cada una de las cepas PGPR. a cosecha, se determinó el número de vainas por planta. la ubicación radial de las mismas en función del eje principal se realizó agrupándolas entre los siguientes intervalos 0-5, 5-10, 10-15, 15-20 y >20 cm. desde el eje central. También se evaluaron el número de granos, el peso medio del grano y la granometría. Esta última se determinó según la retención de granos en zarandas de diversos diámetros (zarandas de 10 mm, 9 mm y 8 mm de diámetro de alveolo). Aquellos granos retenidos en zarandas mayor a 8 mm fueron considerados granos de maní confitería y aquellos en zarandas menores a 8 mm fueron categorizados como granos industria.

Se realizó una regresión lineal sobre la fase lineal de cada una de las curvas de floración acumulada y una prueba de comparación de medias mediante un $\alpha = 0,05$ para las pendientes de cada una de las rectas considerando 3 repeticiones. También se realizó una prueba de comparación de medias mediante un $\alpha = 0,05$ para las variables número de vainas y número de granos utilizando el software estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017). Los resultados y la discusión se centraron en aquellas cepas con respuestas superadoras a las manifestadas por los controles.

Resultados y Discusión

Los tratamientos del género *Bacillus* (cepa 001 y 002) y género *Pseudomonas* (cepa 001) se destacaron respecto de los controles y como se indican en otros estudios a nivel bibliográfico, los comportamientos entre PGPR fue diferente ante una misma situación de cultivo como (ESITKEN *et al.*, 2006; BHATTACHARYYA y JHA, 2012; KUMAR *et al.*, 2019).

Bacillus spp. cepa 002 manifestó una mayor pendiente significativa ($p > 0.05$) de flores acumuladas en la fase lineal (12.41 flores/día) respecto a las cohortes florales de los restantes tratamientos/controles evaluados (10.79-11.09 flores/día) (**Figura 1**). Esto fue confirmado ante la mayor producción diaria de flores hasta inicios de enero (mayor área bajo la curva respecto a los restantes tratamientos) (**Figura 2**), sugiriendo que tal respuesta podría haber sido mediada por efectos estimulatorios de tipo hormonal (citoquininas y giberelinas) sobre la producción de flores (BHATTACHARYYA y JHA, 2012; GOUDA *et al.*, 2018). En el cultivo de maní, flores precoces se asocian con clavos y vainas próximos al eje principal. Este tipo de respuesta también implica que las vainas cercanas al eje principal contienen granos de gran tamaño debido a la disponibilidad de un largo período de tiempo para crecimiento de los mismos. Esos granos generalmente son los que constituyen la fracción maní confitería (granos ≥ 8 mm). Una respuesta opuesta, es la que manifiestan aquellos granos contenidos en vainas ubicadas hacia extremos distales de las ramas. Estos granos son de tamaño pequeño y peso restringido, y generalmente representa la fracción maní industria (granos ≤ 7 mm).

La precocidad floral evidenciada en *Bacillus spp* cepa 002 no se tradujo en mayor número de vainas en regiones próximas al eje principal (**Figura 3**), determinándose consecuentemente similar número de vainas entre tratamientos. Cuando se focalizó el análisis entre el número de vainas según su disposición respecto al eje principal de la planta (**Figura 3**) y el número de los granos (**Figura 4**), se evidenció una diferencia en la eficiencia de fertilidad (número de granos por vaina). Es decir, que números similares en la cantidad de vainas próximas al eje principal entre los tratamientos no implicaron el mismo patrón de distribución en el número de granos. En este sentido, los tratamientos de las PGPR estimularon un mayor número de granos retenidos en las zarandas ≥ 8 mm de diámetro y las cepas 001 y 002 de *Bacillus spp.* se destacaron por incrementar la eficiencia reproductiva entre un 6-12% respecto a los controles. Sin embargo, dentro de *Bacillus spp.*, la cepa 002 se destacó respecto de la cepa 001 por formar un mayor número de vainas y granos de alto calibre ($>$ diámetro de grano). Considerando el número total de granos producidos por planta, el

incremento de las cepas con relación al control 'sin microorganismos' fue 50%, 45% y 22% para *Bacillus spp. cepa 002*, *Pseudomonas spp. cepa 001* y *Bacillus spp. cepa 001*, respectivamente.

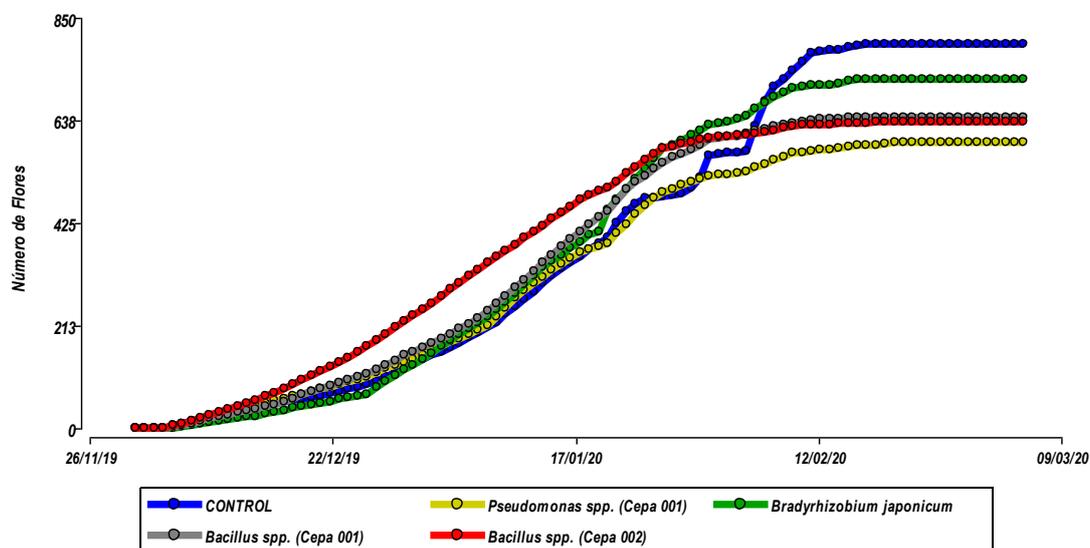


Figura 1. Floración acumulada de maní frente a las cepas de PGPRs. El conteo de floración se realizó diariamente desde el día 45 después de la siembra (R1) al día 150 (R8).

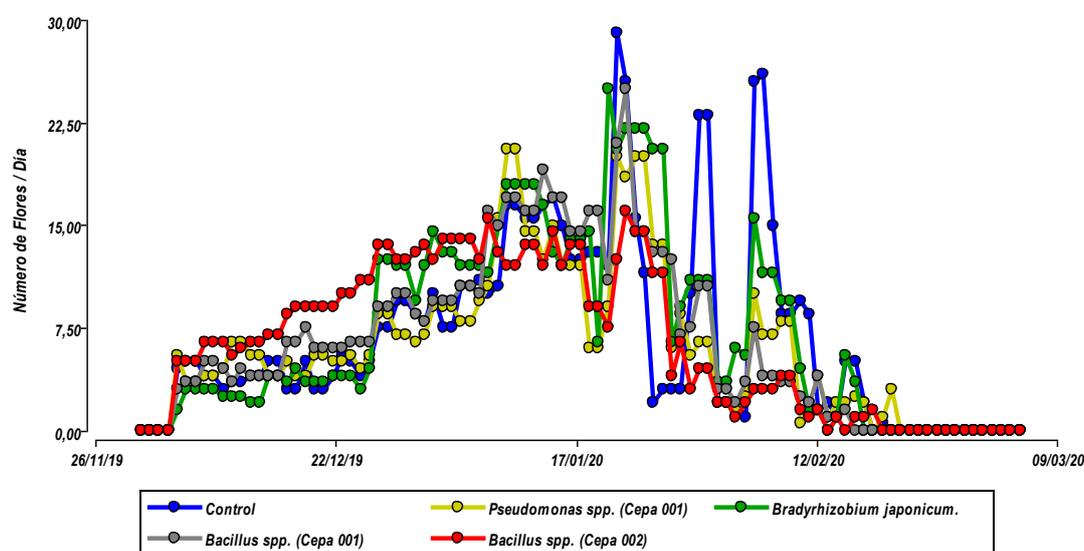


Figura 2. Marcha de floración diaria de maní frente a las cepas de PGPRs. El conteo de floración se realizó diariamente desde el día 45 después de la siembra (R1) al día 150 (R8).

A pesar de que el análisis general del peso medio de los granos no determinó diferencias entre tratamientos (**Figura 5**), un análisis puntual sobre *Bacillus spp. cepa 002* indica que esta cepa incrementó la participación de granos retenidos en la zaranda 9 mm (**Figura 4**). Estos comportamientos de las cepas de *Bacillus spp.* sobre la floración ya han sido

documentados en otros cultivos (e.g., azafrán, trigo, maíz, algodón, banana), allí se concluyó que *Bacillus* spp. incrementó la cantidad total de flores, número de frutos formados e incrementó el peso medio del fruto (ESITKEN *et al.*, 2006; SHARAF-ELDIN *et al.*, 2008; HUSSEINI; BOCHOW; JUNGE, 2012).

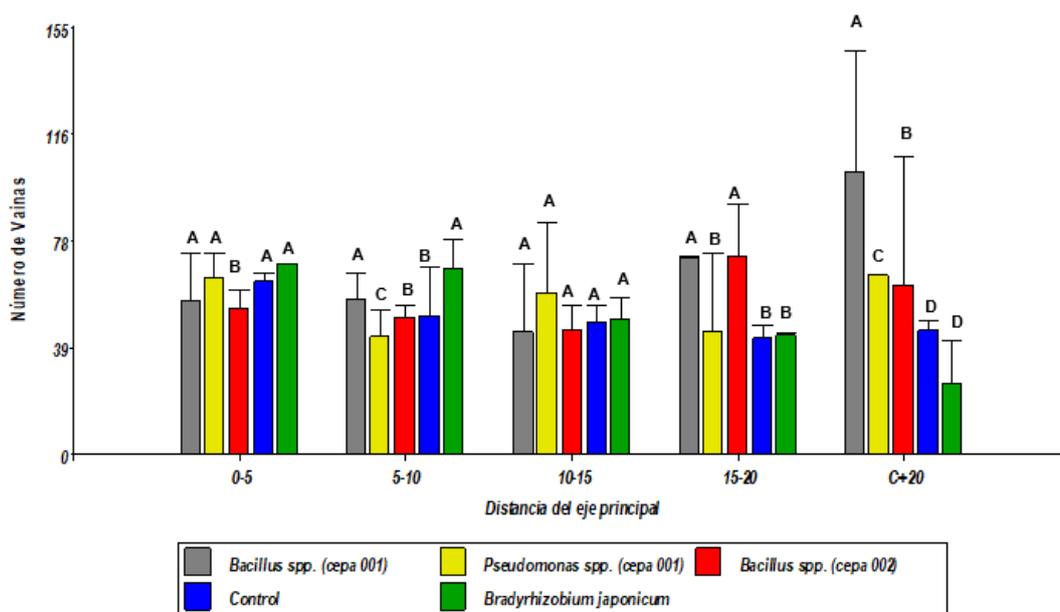


Figura 3. Número de vainas en función de su distancia radial al eje principal de la planta. 5 zonas: 0-5 cm, 5-10 cm, 10-15 cm, 15-20 cm y >20cm. Barras con letra común dentro de cada intervalo de distancia, indican que no hay evidencia suficiente para afirmar que las medias son significativamente diferentes ($p>0,05$).

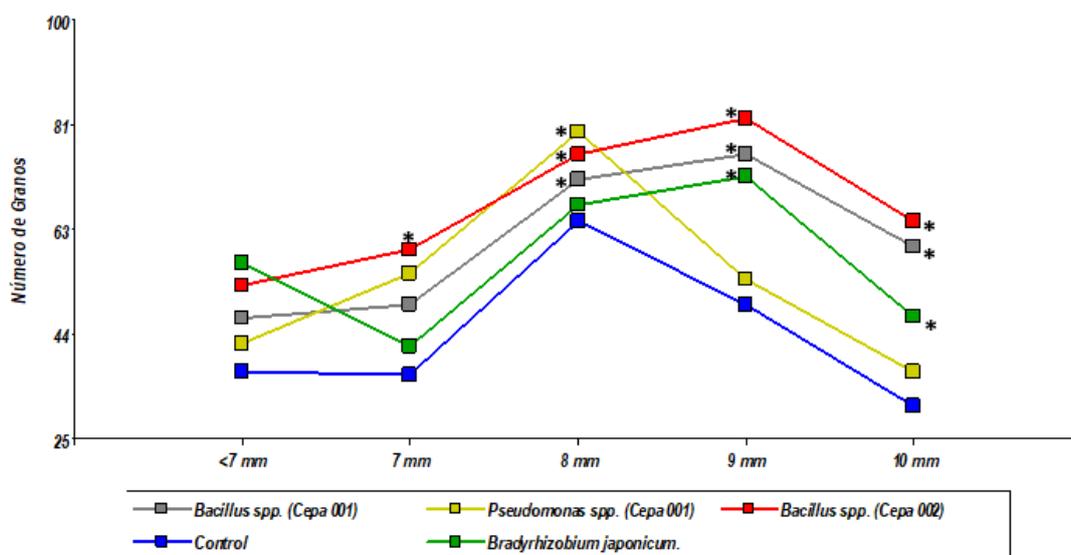


Figura 4. Número de granos en función de la granometría (Zarandas de 10 mm, 9 mm, 8 mm y 7 mm de diámetro de alveolo). El asterisco (*) indica diferencia significativa entre los tratamientos con relación al control y su ausencia indica que no hay evidencia suficiente para afirmar que las medias son significativamente diferentes ($p>0,05$).

La literatura evidencia que las alteraciones en los patrones de floración podrían ser relacionados con aumentos en la síntesis de fitohormonas (e.g., ácido indol acético y citoquininas), las cuales estimularían la inducción floral y el desarrollo del fruto (IPEK *et al.*,2014).

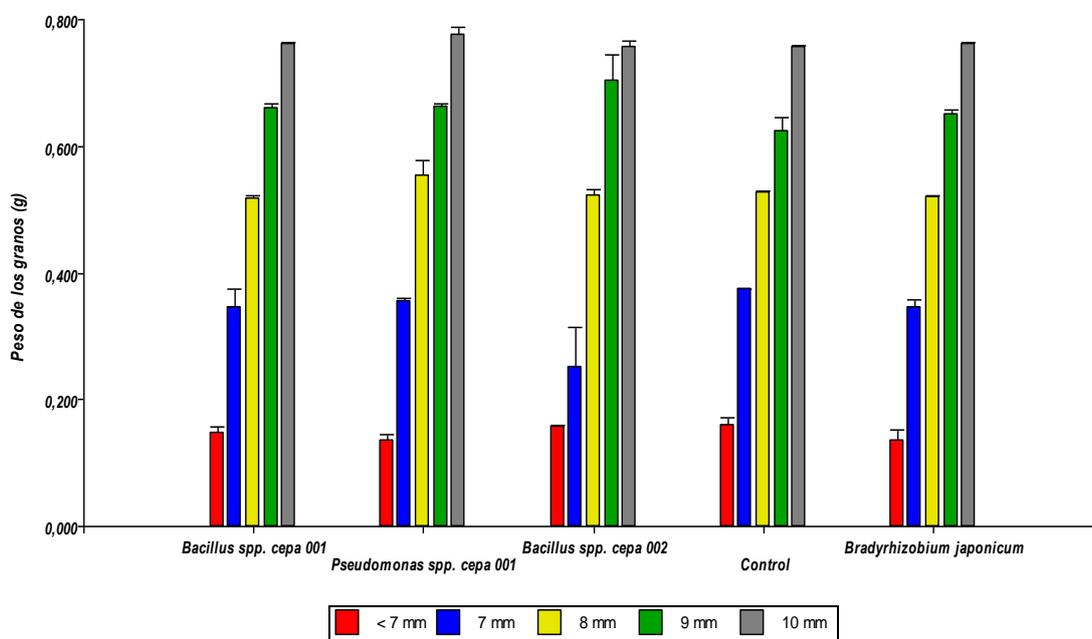


Figura 5. Peso medio de granos para cada uno de los tratamientos, en función de la clasificación realizada tras el paso por las zarandas (Zarandas de 10 mm, 9 mm, 8 mm y 7 mm de diámetro de alveolo).

Conclusión

La inoculación del cultivo de maní con microorganismos promotores del crecimiento demostró la capacidad de estas bacterias para propiciar cambios sobre los procesos de floración, formación de vainas y granos. La cepa 002 de *Bacillus* spp. demostró la capacidad de este género para potenciar los procesos reproductivos en el maní, generando precocidad en la floración e incrementando la eficiencia reproductiva. La cepa de *Pseudomonas* no manifestó una respuesta marcada como las cepas evaluadas de *Bacillus* spp., pero aun así la eficiencia reproductiva y el número de granos mejoró con relación a los controles, confirmando también los efectos beneficiosos de las fitohormonas sintetizadas a partir de los estímulos de las *Pseudomonas*. A pesar de los hallazgos promisorios en este estudio, todos ellos son parciales y son necesarios mayores estudios futuros para confirmar los beneficios de las PGPR sobre el cultivo de maní y garantizar su estabilidad ante diferentes condiciones ambientales.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de la República Argentina que sustenta el doctorado del Ing. Agr. Bigatton. A la FCA-UNC y al INTA por brindar laboratorios y el sitio experimental.

Bibliografía

ARGENTINA. MINISTERIO DE HACIENDA DE LA NACIÓN ARGENTINA. **Informes y Publicaciones Provinciales**. 2018. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/hacienda>. Acceso: 15 jun. 2020.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 1327-1350, 24 dez. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>

DI RIENZO, Julio A, *et al.* **InfoStat**. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 2017.

ESITKEN, Ahmet *et al.* Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrition of sweet cherry. **Scientia Horticulturae**, [S.L.], v. 110, n. 4, p. 324-327, nov. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2006.07.023>

GOUDA, Sushanto *et al.* Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, [S.L.], v. 206, p. 131-140, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016>

HARO, Ricardo J.; BALDESSARI, Jorge; OTEGUI, María E. Genetic improvement of peanut in Argentina between 1948 and 2004: seed yield and its components. **Field Crops Research**, [S.L.], v. 149, p. 76-83, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.021>

HARO, Ricardo J.; BALDESSARI, Jorge; OTEGUI, María E. Genetic improvement of peanut in Argentina between 1948 and 2004: light interception, biomass production and radiation use efficiency. **Field Crops Research**, [S.L.], v. 204, p. 222-228, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2017.01.021>

HUSSEINI, Monir M. El; BOCHOW, Helmut; JUNGE, Helmut. 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**, [S.L.], v. 45, n. 19, p. 2261-2271, dez. 2012. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2012.673259>

IPEK, Muzaffer *et al.* Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (Pgpr) Increase Yield, Growth And Nutrition Of Strawberry Under High-Calcareous Soil Conditions. **Journal Of Plant Nutrition**, [S.L.], v. 37, n. 7, p. 990-1001, maio 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2014.881857>

KEJELA, Tekalign; THAKKAR, Vasudev R.; PATEL, Ravi R. A novel strain of *Pseudomonas* inhibits *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* infections and promotes germination of coffee. **Rhizosphere**, [S.L.], v. 4, p. 9-15, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.05.002>

KUMAR, Ashok *et al.* Recent advances of PGPR based approaches for stress tolerance in plants for sustainable agriculture. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [S.L.], v. 20, p. 101271, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101271>

SHARAF-ELDIN, Mahmoud *et al.* Bacillus subtilis FZB24® Affects Flower Quantity and Quality of Saffron (*Crocus sativus*). **Planta Medica**, [S.L.], v. 74, n. 10, p. 1316-1320, ago. 2008. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2008-1081293>