

“Efecto de la aplicación *Azospirillum brasilense* sobre los estadios iniciales de Poáceas utilizadas para césped”

Valeria Jacob

Docente tutor:

Ing. Agr. (Dra.) María de las Mercedes Longás

Docentes consejeros:

Ing. Agr. (Dr) Gastón Alejandro Iocoli

Ing. Agr. María Celeste Detzel



**Universidad Nacional del Sur
Departamento de Agronomía**

**Bahía Blanca
26 de Diciembre de 2024**

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	2
RESUMEN	4
AGRADECIMIENTOS	5
INTRODUCCIÓN	6
El Césped	6
Céspedes de la familia Poáceas	7
<i>Festuca rubra</i> L.	8
<i>Poa pratensis</i> L.	10
Biofertilizantes	12
<i>Azospirillum brasilense</i>	12
Caracterización climática de Bahía Blanca	14
OBJETIVOS	15
Objetivo general	15
Objetivos específicos	15
MATERIALES Y MÉTODOS	16
Material biológico	16
Procedimiento experimental	16
Estimación de los parámetros evaluados	17
Análisis estadísticos	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
CONCLUSIÓN	22
BIBLIOGRAFÍA	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del hábito de crecimiento de una Poácea: **a)** planta individual, **b)** planta perenne con rizomas y **c)** vista superior de una planta de *Poa pratensis* con sus brotes vegetativos. Adaptado de Christians et al., 2016. 7

Figura 2. Esquema básico de la estructura de la hoja de una Poácea. Adaptado de Christians et al., 2016. 7

Figura 3. *Festuca rubra*. **a)** Planta adulta con inflorescencias, **b)** raíz en cabellera con rizomas desarrollándose desde la corona, **c)** tallos extra vaginales, **d)** cuello de la vaina cerrado, **e)** lígula membranosa truncada, **e)** cariopse y **f)** espiguilla **g)** lema con palea y raquila. Adaptado de Open herbarium (2024), Flora del Cono Sur (2024) y Stace et al., (1992). 9

Figura 4. *Poa pratensis*. **a)** planta adulta con rizomas e inflorescencias, **b)** ápice de la lámina en forma de bote, **c)** lígula membranosa, **d)** espiguilla, **e)** flor **f)** semilla. Adaptado de Darwinion (2024) y Open herbarium (2024). 11

Figura 5. Vista al microscopio **de A)** una colonia y **B)** una bacteria de *Azospirillum brasilense*. **C)** Vista al microscopio electrónico de bacterias colonizando sobre una raíz. Adaptado de biologicals Latam (2024) y SLT (2024). 13

Figura 6. Localización de Bahía Blanca en la provincia de Buenos Aires (Pinassi, 2012). 14

Figura 7. Esquema del ensayo realizado. Cada círculo representa una maceta (unidad experimental) dispuesta en un diseño experimental en bloques con cuatro réplicas. Los tratamientos fueron: testigo regado únicamente con agua de red sin agregados (T), riego con *Azospirillum brasilense* (A) y riego con *Azospirillum brasilense* (A) más protector (A+P) sobre plántulas de *Poa pratensis* (Pp) o *Festuca rubra* (Fr). 16

Figura 8. Establecimiento del ensayo. **A)** Parcela experimental Departamento de Agronomía, Campus de Palihue de la Universidad Nacional del Sur. **B)** Bloques con las macetas (unidades experimentales). **C)** Preparación del riego con *Azospirillum* y protector. **D)** Riego sobre las plántulas con los diferentes tratamientos. 17

Figura 9. **A)** Corte aéreo de *Festuca rubra* seleccionada al azar. **B)** Maceta luego de ser cortada la biomasa aérea. **C)** Fotografía de plántulas de *Poa pratensis* y **D)** *Festuca rubra* para procesar con el programa ImageJ®. 18

Figura 10. **A)** Bloque previo a ser fragmentado en biomasa aérea y subterránea. **B)** Estufa donde se llevaron las muestras a fin de secar el material. **C)** Balanza analítica pesando el total de raíces de una maceta. **D)** Balanza analítica pesando el total de biomasa aérea de una maceta **E)**

Secuencias de imágenes en tiempo para calcular el porcentaje de cobertura de suelo con la aplicación móvil Canopeo®. 19

Figura 11. Influencia de un riego con agua (T), agua con *Azospirillum* (A) y agua, *Azospirillum* y protector (A+P) sobre: **A) y C)** el número de hojas por plántula y, **B) y D)** el largo total de las mismas en *Poa pratensis* (gráficos superiores) y *Festuca rubra* (gráficos inferiores). Las columnas con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ($p < 0,05$). 20

Figura 12. Influencia de un riego con agua (T), agua con *Azospirillum* (A) y agua, *Azospirillum* y un protector (A+P) sobre: **A) y C)** el peso seco de la biomasa aérea por maceta (g) y, **B) y D)** el peso seco de la biomasa subterránea por maceta (g); en *Poa pratensis* (gráficos superiores) y *Festuca rubra* (gráficos inferiores). Las columnas con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ($p < 0,05$). 21

RESUMEN

El césped se define como un tapiz herbáceo de baja altura, compuesto principalmente por especies de la familia Poáceas, siendo su implementación esencial en el diseño de jardines y campos deportivos. Dentro de las especies más utilizadas se encuentra *Poa pratensis* y *Festuca rubra*, Poáceas perennes de ciclo Otoño-Inverno-Primaveral valoradas por su valor ornamental, adaptabilidad a zonas sombreadas y tolerancia al tránsito. Las rizobacterias son un grupo diverso de bacterias que habitan en la rizosfera y pueden tener efectos beneficiosos para la planta al favorecer su crecimiento. Esto ha impulsado su uso en biofertilizantes para reducir el empleo de agroquímicos sintéticos y fomentar prácticas agrícolas sostenibles. El objetivo de la presente tesina se basó en evaluar el impacto de la aplicación de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento inicial de *P. pratensis* y *F. rubra*. Para tal fin, se aplicó la bacteria, con (A+P) y sin protector (A), junto con el riego durante la etapa de implantación de los céspedes. Posteriormente, se registró la cobertura del suelo semanalmente durante dos meses, se cuantificó el número y el largo de las hojas en dos fechas y finalmente se determinó el peso seco de la biomasa aérea y de las raíces. En *P. pratensis*, el largo de las hojas se incrementó bajo A+P ($p < 0,05$) y el peso radicular con (A). Por el contrario, en *F. rubra* no se evidenciaron diferencias significativas en el crecimiento de las plántulas ($p > 0,05$). El suelo de textura arenosa donde fue aplicado la bacteria, y la forma de aplicación del biofertilizante no pareció contribuir al éxito de la práctica. En función de estos resultados se puede concluir que no sería recomendable la incorporación de inoculantes en base a *A. brasilense* con el agua de riego en céspedes ya implantados. Habría que evaluar mayores dosis y/o períodos de evaluación más prolongados.

Palabras claves: *Poa pratensis*, *Festuca rubra*, biofertilizante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad pública, especialmente a la UNS, por formarme no solo en lo académico, sino y, sobre todo, como un sujeto comprometido con la acción colectiva. Gracias a todas las personas que defienden y trabajan por una educación de calidad, que luchan para que todxs tengan acceso a ella.

Gracias a mi familia y amigxs por ser incondicionales.

Gracias a Mecha, mi directora de tesis, por ser guía, compañera y sostén en este último tramo de la carrera.

INTRODUCCIÓN

EL CÉSPED

El césped juega un papel fundamental en la creación de ambientes agradables tanto en jardines y parques como en espacios urbanos más amplios. Sus beneficios van más allá de lo estético y se extienden a múltiples aspectos medioambientales, recreativos y deportivos

Su establecimiento contribuye positivamente en las siguientes áreas.

● **Aportes al medio ambiente:**

- Purificación del aire. El césped actúa como un filtro natural, absorbiendo dióxido de carbono (CO₂) y liberando oxígeno, lo que mejora la calidad del aire. Además, su capacidad para capturar partículas de polvo ayuda a reducir la contaminación atmosférica, lo que lo convierte en un aliado esencial, especialmente en áreas urbanas.
- Prevención de erosión. La cubierta vegetal del césped protege el suelo de la erosión causada tanto por el agua como por el viento. Las raíces de las plantas estabilizan el terreno, mientras que la biomasa aérea reduce el impacto de las gotas de lluvia sobre el suelo, evitando la escorrentía y la pérdida de nutrientes.
- Filtrado natural del agua. Las raíces del césped no solo consolidan el terreno, sino que también facilitan la absorción de agua, mejorando la calidad de los líquidos que se filtran hacia las napas subterráneas.
- Regulación térmica. En entornos urbanos, donde el cemento y el asfalto pueden generar calor excesivo, el césped ayuda a mantener las superficies frescas, funcionando como un regulador natural de temperatura. Esto es crucial para mitigar el efecto de las "islas de calor" en ciudades densamente pobladas.
- Reducción del ruido. Las zonas cubiertas de césped actúan como amortiguadores acústicos, absorbiendo el sonido y reduciendo el nivel de ruido ambiental, lo que resulta en espacios más tranquilos y agradables.

● **Aportes a los espacios de ocio:**

El césped es una de las bases más versátiles para crear ambientes recreativos y de esparcimiento. Proporciona un espacio natural y cómodo para diversas actividades, desde juegos infantiles hasta momentos de relajación. Algunas de sus contribuciones más destacadas incluyen:

- Bienestar físico y mental. Un espacio verde estimula el contacto con la naturaleza, favoreciendo la relajación y reduciendo el estrés. Las personas pueden disfrutar de actividades como picnics, caminatas, o simplemente descansar, promoviendo la salud y el bienestar general.
- Fomento de actividades al aire libre. El césped ofrece un espacio ideal para una amplia gama de actividades recreativas abarcando desde juegos en familia hasta deportes informales.
- Estética. El césped aporta frescura y homogeneidad visual a jardines, parques y plazas, contribuyendo a una atmósfera natural y relajante.

● **Aportes al ámbito deportivo:**

El césped es esencial para el desarrollo de ciertas disciplinas deportivas. Ofrece una superficie suave y amortiguada que ayuda a prevenir lesiones y favorece el rendimiento de los atletas, a su vez mejora el rodamiento y pique de la pelota. Paralelamente y en caso de lluvia, contribuye al drenaje adecuado del agua dentro de la cancha.

De lo expuesto queda en evidencia que el césped es un aliado esencial, especialmente en áreas urbanas. Al incorporarlo en nuestros espacios exteriores, no solo estamos creando entornos más atractivos y agradables, sino que también estamos contribuyendo al equilibrio ecológico y a la salud de las comunidades.

Céspedes de la familia Poáceas

Un césped está integrado, en su mayor parte, por especies pertenecientes a la familia de las Poáceas (Gil Durá, 2016). Los miembros de esta familia se caracterizan por poseer hojas lineales, lámina foliar con nervaduras paralelas, raíces fibrosas, extendidas y ramificadas. En lugar de tallo poseen una caña, envuelta por una vaina (Recasens & Conesa, 2009; Fig. 2). Por su parte, la caña presenta nudos y las porciones comprendidas entre dos nudos se denomina entrenudo. El meristema se encuentra protegido en la base y forma el ápice, que es lo que determina la altura de corte (Fig. 1a). La inflorescencia depende de la especie, pudiendo ser espigas o panojas. Las especies mayormente utilizadas como césped son perennes, reproduciéndose de manera vegetativa principalmente mediante rizomas o estolones (Recasens & Conesa, 2009; Fig. 1b-c)

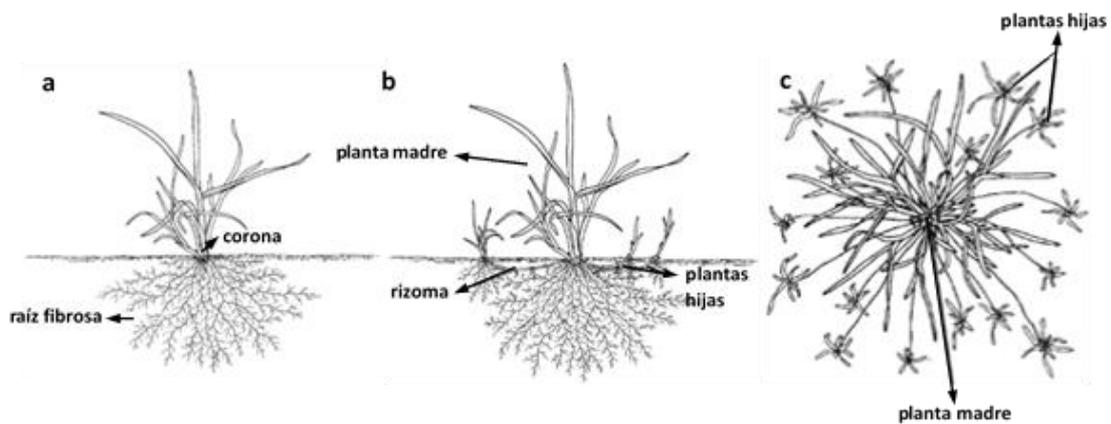


Figura 1. Esquema del hábito de crecimiento de una Poáceas: a) planta individual, b) planta perenne con rizomas y c) vista superior de una planta de *Poa pratensis* con sus brotes vegetativos. Adaptado de Christians et al., 2016.

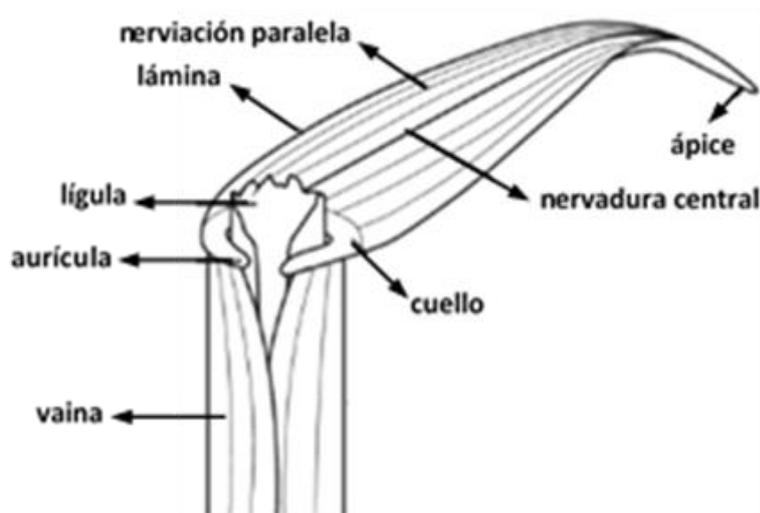


Figura 2. Esquema básico de la estructura de la hoja de una Poáceas. Adaptado de Christians et al., 2016.

Las especies de Poáceas analizadas en esta tesina son perennes, con un ciclo de crecimiento otoño-inverno-primaveral, y poseen características adecuadas para su comercialización como césped.

***Festuca rubra* L.**

- Etimología. Tanto el género como la especie derivan del latín. *Festuca* hace referencia al “tallo o brizna de paja”; mientras que *rubra* significa “rojo” (Linnaeus, 1799).
- Morfología. Presenta un hábito de crecimiento rastrero con renuevos extravaginales (Christians et al., 2016; Fig. 3c). Sus hojas de prefoliación convolutada poseen láminas erectas y delgadas (0,6-0,75 mm), lisas en la superficie inferior y villosas en la superior, con ápices obtusos o agudos (Christians et al., 2016; Flora del Cono Sur, 2024). Las vainas son cerradas en aproximadamente 3/4 de su longitud cuando son jóvenes y se abren fácilmente con la edad (Open herbarium, 2024; Fig. 3d). Las lígulas son membranosas de 1 mm, truncadas y también glabras (Flora del Cono Sur; Fig. 3e). Puede alcanzar alturas de 40 a 100 cm. Sus cañas floríferas son erectas y lisas, y las panículas, que miden entre 10 y 20 cm, pudiendo ser densas o laxas, con ramas erectas y un raquis liso (Fig. 3a). Las espiguillas son elípticas, miden entre 7 y 12,5 mm de largo y son verdosas, a veces con tintes púrpuras (Flora del Cono Sur; Fig. 3f).
- Distribución. Inicialmente se encontraba en zonas húmedas méxicas de Eurasia y América del Norte, para luego ser introducida en Sudamérica, incluyendo regiones de Argentina y Chile. En nuestro país, se utiliza principalmente en la Patagonia dada su resistencia al frío, aunque se puede desarrollar en climas secos y templados, desde el nivel del mar hasta 3300 m de altitud (Flora del Cono Sur, 2024).
- Características agronómicas. Se destaca por su resistencia al frío y adaptabilidad a climas secos templados, siendo adecuada para céspedes que requieren poco mantenimiento. Prospera en suelos pobres y salinos y es poco exigente en fertilización (Parracia, 2012).
- Siembra y mantenimiento. Se propaga por semillas (Fig. 3g), siendo la mejor época para la siembra en otoño o principios de primavera, a una profundidad de 1 cm en suelos previamente preparados. La siembra se realiza al voleo, cubriendo las semillas con humus de lombriz o arena de río (Guash, 2024). La densidad de siembra recomendada es de 1 kg de semillas cada 20 m². Aunque forma un césped resistente al pisoteo, su crecimiento puede ser irregular, dejando huecos. Para mejorar la uniformidad, se combina frecuentemente con especies como *Poa pratensis* y *Lolium perenne*. La altura de corte ideal es de 5-7 cm, ya que no tolera cortes bajos (Parracia, 2012).

- Ventajas:

- Tolerancia al frío y a la sombra.
- Resistencia moderada a la sequía, lo que reduce los costos de riego.
- Adaptación a diversos tipos de suelo, incluidos los salinos y pobres en nutrientes.
- Alto grado de tolerancia al pisoteo, lo que la convierte en una especie persistente.
- Hojas finas que aportan calidad decorativa.
-

- Desventajas:

- Crecimiento desigual que puede afectar la estética del césped.
- Producción elevada de biomasa, requiriendo cortes más frecuentes.

- No tolera cortes excesivamente bajos.

F. rubra presenta tres subespecies principales, cada una con características específicas que las condicionan para diferentes usos en jardinería y paisajismo (Gil Durá, 2016) :

- *Festuca rubra* sp. *rubra*: de crecimiento reptante.
- *Festuca rubra* sp. *commutata*: comúnmente utilizada como césped.
- *Festuca rubra* sp. *trichophylla*: considerada semirreptante.

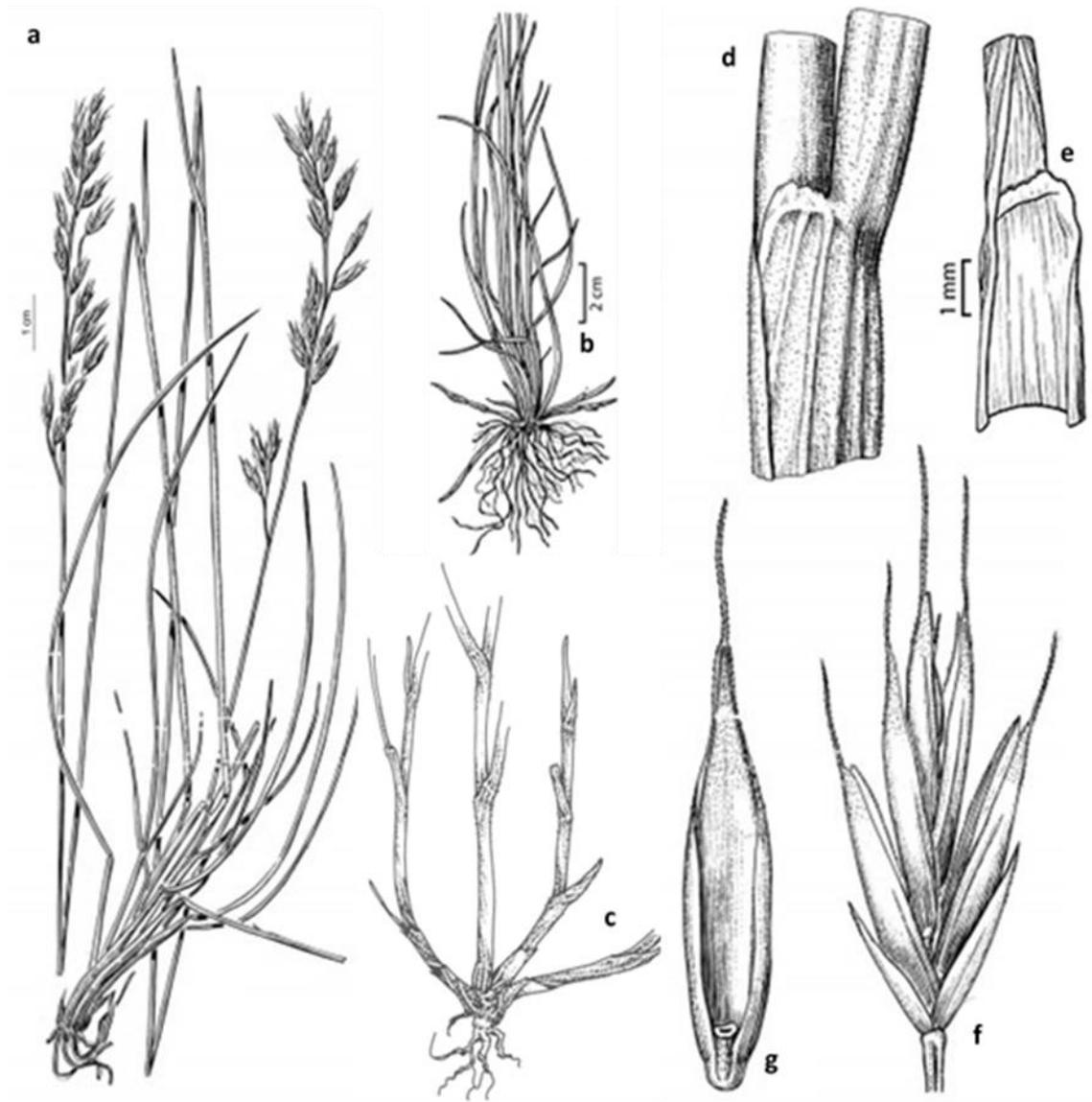


Figura 3. *Festuca rubra*. **a)** Planta adulta con inflorescencias, **b)** raíz en cabellera con rizomas desarrollándose desde la corona, **c)** tallos extra vaginales, **d)** cuello de la vaina cerrado, **e)** lígula membranosa truncada, **e)** cariopse, **f)** espiguilla, **g)** lema con palea y raquilla. Adaptado de Open herbarium (2024), Flora del Cono Sur (2024) y Stace et al., (1992).

***Poa pratensis* L.**

- Etimología. El género *Poa* deriva del griego y se refiere a una “hierba que se usa principalmente como forraje”. La especie *pratensis* es un epíteto latino que significa “de los prados” (Linnaeus, 1799).
- Morfología. Su hábito de crecimiento es rizomatoso, formando macollos solitarios o agrupados, de color verde a verde azulado y a veces glaucos, con una altura de 30 a 70 cm (Open herbarium, 2024, Fig. 4a). La ramificación basal es principalmente extra vaginal o uniformemente extra vaginal e intra vaginal (Open herbarium, 2024). La disposición de las hojas es plegada y poseen láminas con puntas en forma de barco (Fig. 4b), alcanzando 20 cm de largo y 3-5 mm de ancho, pulidas o ligeramente rugosas. Las vainas son cerradas $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ de su longitud, generalmente glabras (Open herbarium, 2024). El cuello es ancho y dividido, sin aurículas, y la lígula es redondeada a truncada, de 1-2 mm de largo (Christians et al., 2016, Fig. 4c). Las flores se agrupan en panículas cónicas de 10-20 cm de largo, con bases que presentan de 3 a 5 ramitas. Las espiguillas son ovales, de color verde, miden entre 3 y 6 mm de largo y contienen de 2 a 5 flores (Fig. 4d). Los brotes se desarrollan principalmente en primavera y finales de verano; durante la primavera tardía y el verano, crecen erectos y verticales, mientras que en la primavera temprana tienden a estar más recostados.
- Distribución: Es originaria de Europa y se ha difundido en regiones templadas, donde se cultiva con frecuencia. En Sudamérica, se encuentra en Brasil, Uruguay y gran parte de Chile. Está naturalizada en Argentina, siendo común en suelos fértiles y faldas gramíneas, con un rango altitudinal que va desde el nivel del mar hasta 3.800 m (Flora del Cono Sur; 2024).
- Características agronómicas. La especie es valorada como césped en ciertos sistemas, pero considerada maleza en otros, especialmente en pastizales naturales, donde compite con especies nativas y afecta la biodiversidad y el ciclo del nitrógeno. Crece en climas templados, tolera bien el frío, pero detiene su crecimiento en condiciones de calor intenso y es poco tolerante a la sequía. Prefiere buena iluminación, aunque también tolera la sombra, con un pH óptimo para el crecimiento de 6 a 7. Soporta suelos pesados y mal drenados (Canals et al., 2016). Se utiliza en céspedes de jardinería pública y privada, así como en campos deportivos con pisoteo intenso (fútbol, hípica, rugby, campos de golf) debido a su resistencia a las actividades deportivas.
- Siembra y mantenimiento: se propaga a través de semillas (Fig. 4f), siendo la mejor época para su siembra en primavera y otoño, a una profundidad de 1 cm en suelos previamente preparados. La siembra se realiza al voleo, cubriendo las semillas con humus de lombriz o arena de río (Guash, 2024). La densidad de siembra recomendada es de 1 kg cada 70 m². Aunque su establecimiento es lento, una vez consolidada, se expande rápidamente, creando un césped resistente al tránsito. No tolera cortes frecuentes, ya que requiere tiempo para recuperar su área foliar. Soporta bien las bajas temperaturas y la media sombra, pero es sensible a la sequía y a suelos salinos. Puede resistir altas temperaturas en verano con riego adecuado, por lo que es esencial contar con un sistema de riego bien diseñado. Los requerimientos de nitrógeno son mayores durante el año de establecimiento en comparación con los años posteriores. Su altura de corte ideal es de 5 cm.
- **Ventajas:**
 - Excelente tolerancia al frío y las heladas.
 - Césped de alto poder tapizante y resistente al pisoteo.

- Gran valor ornamental gracias a su textura media-delgada y color verde azulado brillante.
- **Desventajas:**
 - Poco tolerante a la falta de agua.
 - Sus rizomas son muy agresivos, considerándose invasora en algunas áreas.
 - Se siembra con menor frecuencia que *Lolium perenne* y *Festuca*, debido a su menor competitividad.
 - Sensible a la sequía y a suelos salinos.

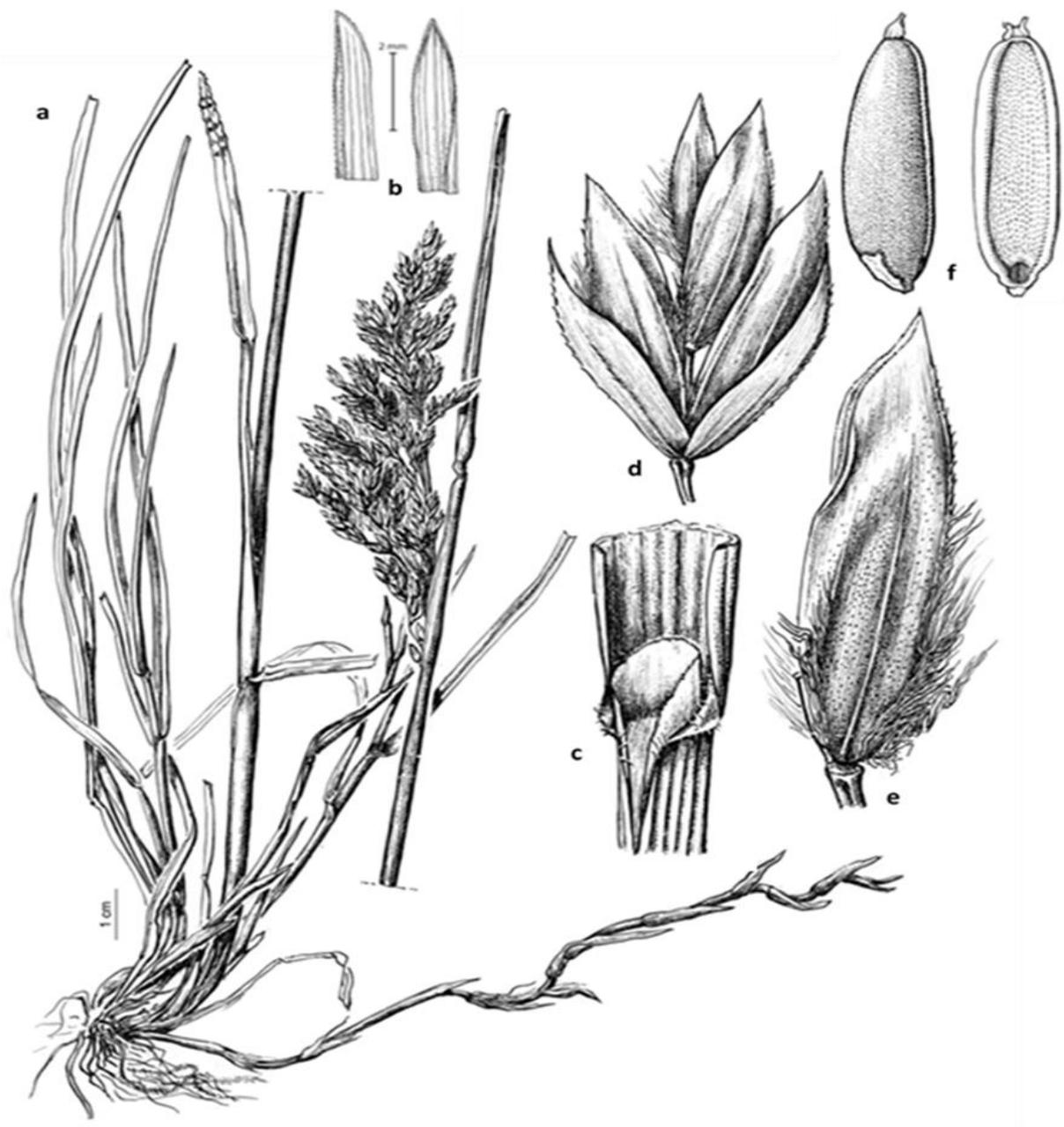


Figura 4. *Poa pratensis*, a) planta adulta con rizomas e inflorescencias, b) ápice de la lámina en forma de bote, c) lígula membranosa, d) espiguilla, e) flor f) semilla. Adaptado de Darwinion (2024) y Open herbarium (2024).

BIOFERTILIZANTES

Un fertilizante es un compuesto, ya sea de origen natural o sintético, que contiene uno o más nutrientes esenciales para las plantas. Se aplica al suelo, mediante el riego, o directamente sobre los cultivos, con el objetivo de proporcionarles nutrición adicional para corregir deficiencias del medio ambiente o mejorar alguna de sus características (Sabry, 2015). Aunque los fertilizantes sintéticos son los más utilizados, su uso excesivo puede resultar perjudicial. Los efectos negativos incluyen el debilitamiento de las raíces de las plantas, un aumento en la incidencia de enfermedades, la acidificación del suelo, así como la contaminación y eutrofización de las aguas subterráneas y superficiales. Por ejemplo, cuando los nitratos se filtran en las aguas subterráneas, que luego son consumidas por los seres humanos, pueden provocar el "síndrome del bebé azul" o "metahemoglobinemia adquirida" (Daniel et al., 2022). Por ello, es fundamental buscar alternativas ecológicas.

Un biofertilizante o inoculante es un producto que contiene microorganismos vivos, los cuales, al colonizar la rizosfera o el interior de las plantas, mejoran el suministro de nutrientes y promueven su crecimiento (Silva & Reis, 2009). Estos productos se aplican sobre las semillas, las plantas o el suelo y representan una tecnología prometedora y sostenible que puede sustituir parcialmente la fertilización nitrogenada sintética (Daniel et al., 2022; Silva & Reis, 2009).

Los microorganismos promotores del crecimiento vegetal participan en diversas actividades bióticas en el ecosistema del suelo, dinamizándolo (Daniel et al., 2022). En particular, las bacterias que habitan la rizosfera y establecen relaciones beneficiosas con las plantas son conocidas como Rizobacterias o PGPR (*Plant Growth Promoter Rhizobacteria*). Entre los principales beneficios que estos microorganismos ofrecen a las plantas se incluyen la síntesis de fitohormonas, la mejora en la nutrición mineral, y la protección contra fitopatógenos (Rodríguez-Navarro et al., 2007).

Azospirillum brasilense

Las bacterias del género *Azospirillum* spp. pertenecen a la familia Rhodospirillaceae, son Gramnegativas, y no forman nódulos (Daniel et al., 2022). Tienen forma de bastón y su movilidad es en espiral. Poseen la habilidad de fijar nitrógeno atmosférico, son estrictamente aerobias y diazótrofes endófitas facultativas ya que pueden colonizar tanto el interior como la superficie de las raíces de las plantas (Lamm & Neyra, 1981; Fig. 5).

La especie más estudiada y beneficiosa dentro del género *Azospirillum* es *A. brasilense* que, como su nombre lo indica, es originaria de Brasil y se destaca en la inoculación de gramíneas (Cassán et al., 2020; Guimarães et al., 2022). Su inoculación en cultivos como el maíz ha demostrado efectos positivos, tales como el estímulo del crecimiento vegetal y, por consiguiente, un aumento en el rendimiento (Bashan et al., 1995). Estos beneficios se atribuyen principalmente a las modificaciones morfo-fisiológicas que se producen en las raíces como resultado de la solubilización de fosfatos, la producción de vitaminas, sideróforos (moléculas que facilitan la adquisición de hierro del medio ambiente) y estimulantes del crecimiento (IAA, giberelinas y citoquinina) por parte de las bacterias (Cassán et al., 2020). Estas sustancias impactan en la fisiología y la arquitectura de las raíces lo que incrementa la absorción de agua y minerales, y afecta positivamente la exudación radical (Daniel et al., 2022).

Cuando las bacterias de *A. brasilense* llegan al suelo, deben sobrevivir a las interacciones con otros microorganismos allí presentes y llegar a la superficie radical para adherirse y multiplicarse. La asociación con las plantas ocurre en dos etapas: primero, una adhesión rápida y reversible dependiente de proteínas superficiales, seguida de un anclaje lento e irreversible dependiente de polisacáridos extracelulares. La capacidad que tiene *Azospirillum* spp. para adherirse a las raíces es significativamente mayor que la de otras bacterias rizosféricas como

Rhizobium, *Azotobacter* o *Pseudomonas*, lo que la hace altamente competitiva (Umali-García et al., 1980; Fig. 5).

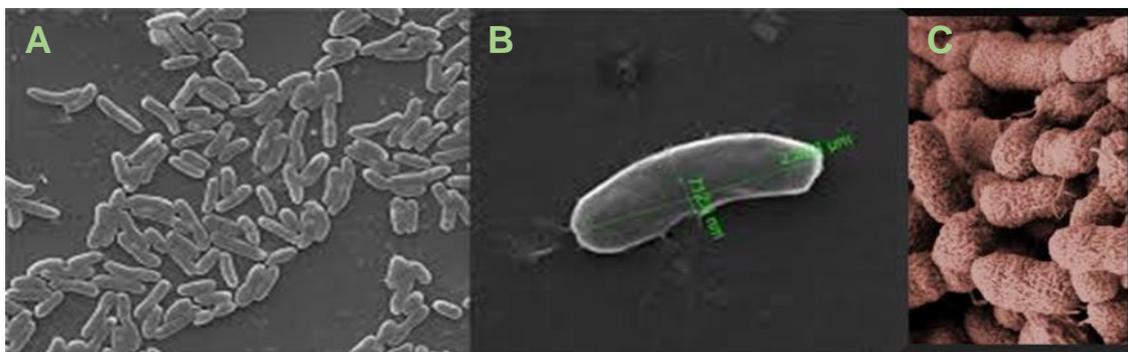


Figura 5. Vista al microscopio de **A)** una colonia y **B)** una bacteria de *Azospirillum brasilense*. **C)** Vista al microscopio electrónico de bacterias colonizando sobre una raíz. Adaptado de biologicals Latam (2022) y SLT (2017).

El género *Azospirillum* muestra una amplia distribución geográfica, siendo muy abundante en las regiones tropicales, aunque también se encuentra en áreas templadas, frías y desérticas. Las condiciones óptimas de *A. brasilense* incluyen temperaturas entre 28 y 41°C y un pH cercano a 7, apareciendo esporádicamente en suelos ligeramente ácidos (pH 4,5-5). Factores como el contenido de arcillas, materia orgánica, capacidad de retención de agua y nitrógeno favorecen su supervivencia (Bashan et al., 1995). Su comercialización es abundante en Sudamérica, incluyendo países como Argentina, Brasil, Uruguay y Paraguay (Cassán et al., 2020).

Ventajas del uso del género *Azospirillum* spp.

1. Promueven el crecimiento general de las plantas: la elongación de las raíces y de la parte aérea.
2. Incrementan la productividad de los cultivos entre un 10-13%, especialmente en Poáceas.
3. Mejoran la resistencia a la sequía y disminuyen el estrés hídrico de las plantas.
4. Compiten con los patógenos del suelo por los nutrientes disponibles, reduciendo su impacto en las plantas.
5. Son biodegradables y no presentan ningún riesgo para humanos, animales y plantas.
6. Su empleo está autorizado en agricultura ecológica.
7. Constituyen una variable natural a la contaminación causada por nitratos y nitritos.
8. Representa una alternativa para la recuperación de suelos erosionados, gracias a su efecto beneficioso en la inoculación de cultivos.

CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DE BAHÍA BLANCA

La ciudad de Bahía Blanca (38° 44' LS; 62° 10' LW; 83 m s.n.m.) se encuentra dentro de la región pampeana, ubicada en el suroeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina (Fig. 6). Su clima es templado, presenta estaciones bien diferenciadas, con temperaturas medias anuales que oscilan entre los 14°C y 20°C. Aunque se encuentra cerca del océano Atlántico, se observa un efecto marcado de continentalidad en las variaciones de temperatura anuales. Los vientos predominantes vienen del noroeste, con una velocidad media anual de 24 km h⁻¹ (cátedra de

agrometeorología, UNS). Su clima puede denominarse como templado subhúmedo (debido a las escasas precipitaciones), templado de transición (por sus características de aridez y su transición hacia la región patagónica) o frío sub-húmedo (por su régimen pluviométrico y su temperatura media anual). Se encuentra bajo la influencia de diferentes masas de aire que modifican sus condiciones del tiempo (Chiozza & Figueira, 1981). La ciudad tiene la particularidad de que el verano es la estación más lluviosa, pero con mayor frecuencia de vientos desecantes provenientes del sector N-O lo que hace más susceptible a las plantas a sufrir estrés hídrico, en cambio, el invierno es menos lluvioso, pero hay más humedad relativa en el ambiente.



Figura 6. Localización de Bahía Blanca en la provincia de Buenos Aires (Pinassi, 2012).

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación mediante riego de *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento inicial de céspedes en la ciudad de Bahía Blanca.

Objetivos específicos

1. Evaluar la cobertura generada en las primeras semanas de implantación ante la aplicación mediante el riego de *A. brasilense* con y sin protector sobre *Poa pratensis* y *Festuca rubra*.
2. Analizar el efecto de la aplicación en riego de *A. brasilense* con y sin protector en el número y largo total de las hojas generadas por *P. pratensis* y *F. rubra* a los 33 y 63 días de la siembra.
3. Contabilizar la materia seca aérea y radical de *P. pratensis* y *F. rubra* al aplicarse en riego *A. brasilense* con y sin protector, a los 35 y 65 días de la siembra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Las semillas utilizadas en el presente estudio, *Poa pratensis* (Pp) y *Festuca rubra* (Fr), son ambas comercializadas por la empresa semillera argentina Guasch S.R.L. Las mismas se encontraban tratadas con VMTBiz®, curasemilla con propiedades antifúngicas que ofrece protección a las plántulas durante la germinación y emergencia, acelera la velocidad de implantación y contribuye a alcanzar un mayor número de plántulas establecidas.

Se utilizó un inoculante líquido para gramíneas denominado Graminosoil-L®, comercializado por LAGE y Cía. S.A. y formulado con *Azospirillum brasilense*. Como bioprotector se empleó una formulación líquida estéril, cuya función fue la protección, adherencia y nutrición de las bacterias a la semilla.

Procedimiento experimental

El ensayo se llevó a cabo en una parcela experimental de 5 * 8 m, delimitada con lona de media sombra y adecuadamente acondicionada, ubicada en el Departamento de Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur, en la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires (Fig. 8A).

El ensayo se realizó en macetas a campo abierto considerándose cada una como una unidad experimental (UE). Se siguió un diseño experimental en bloques con cuatro réplicas (b = 4). Los tratamientos consistieron en la aplicación de inoculante (A), inoculante con protector (A+P) y un testigo sin agregados, utilizando agua de red para el riego. Como se realizaron muestreos destructivos en dos oportunidades, se contó con dos UE por tratamiento por bloque (N = 48; 4 b * 3 tratamientos * 2 muestreos * 2 especies; Fig. 7, 8B). Se utilizaron macetas de plástico soplado de 3 L de capacidad y fueron rellenas con suelo extraído del mismo campus (textura arenoso-franco, bien drenado; MO: 1,1% y pH: 7,7).

El 23 de marzo de 2023 se efectuó la siembra de manera manual y al voleo, utilizando una densidad de 0,88 g de semilla por maceta. Posteriormente, se cubrió con un mantillo del mismo suelo tamizado y se procedió al riego. Cinco días después de la siembra, se produjo la emergencia de las plántulas y, a la semana, se aplicaron los diferentes tratamientos, utilizando 2 mL de la solución correspondiente junto con el agua de riego (Fig. C y D). Para evitar el estrés hídrico y asegurar una buena implantación y crecimiento posterior del césped, se realizó un riego regular cada 2-3 días. El desmalezamiento de las macetas y la eliminación de caracoles se llevaron a cabo manualmente.

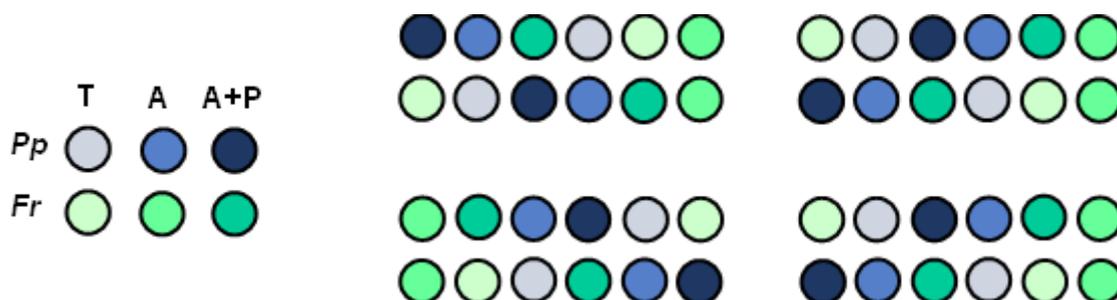


Figura 7. Esquema del ensayo realizado. Cada círculo representa una maceta (unidad experimental) dispuesta en un diseño en bloques con cuatro réplicas. Los tratamientos fueron: testigo sin agregados regado únicamente con agua de red (T), riego con *Azospirillum brasilense* (A) y riego con *Azospirillum brasilense* más protector (A+P) sobre plántulas de *Poa pratensis* (Pp) o *Festuca rubra* (Fr).



Figura 8. Establecimiento del ensayo. **A)** Parcela experimental Departamento de Agronomía, campus de Palihue de la Universidad Nacional del Sur. **B)** Bloques con las macetas (unidades experimentales). **C)** Preparación del riego con *Azospirillum* y protector. **D)** Riego sobre las plántulas con los diferentes tratamientos.

Estimación de los parámetros evaluados

Se evaluó el posible efecto del biofertilizante través de la determinación de diversos parámetros, tales como la cobertura del suelo (CS), el peso seco de la biomasa aérea (PSA) y radical (PSR), el largo total de hojas por plántula (LT) y la cantidad de hojas por plántula (NH).

Para la determinación de la CS (%), se tomaron fotografías semanales de las macetas en siete fechas, y las imágenes fueron procesadas mediante la aplicación móvil Canopeo® (Fig. 10E). A los 33 y 63 días de la siembra, se seleccionaron aleatoriamente cinco plantas de cada unidad experimental (UE; Fig. 9A), las cuales fueron fotografiadas sobre una base de medición graduada en centímetros. Las fotografías obtenidas fueron analizadas con el programa ImageJ® para calcular LT y contar NH (Fig. 9 C y D). El valor de LT se determinó mediante la suma de la longitud total de las hojas por planta. Posteriormente, se procedió a cortar toda la biomasa aérea de manera manual utilizando tijeras (Fig. 9B, 10A). La parte subterránea fue extraída mediante un

lavado completo del pan de tierra, con el fin de separar las raíces de los sedimentos contenidos en el sustrato. Ambas muestras fueron colocadas en sobres de papel rotulados y luego llevadas a una estufa a 70 °C durante 48 h hasta alcanzar peso constante, para finalmente ser pesadas en una balanza de precisión (Fig. 10B-D).



Figura 9. A) Corte aéreo de Festuca rubra seleccionada al azar. B) Maceta luego de ser cortada la biomasa aérea. C) Fotografía de plántulas de Poa pratensis y D) Festuca rubra para procesar con el programa ImageJ®.

Análisis estadísticos

Los tratamientos se evaluaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) seguido por el test LSD de Fisher, mediante el software estadístico Infostat®. En los casos donde no se cumplieron los supuestos de homocedasticidad y/o normalidad requeridos por el test, los datos de CS se transformaron a ArcoSeno (Raíz(X)), mientras que para PSA, PSR, LT, NH se utilizó Raíz cuadrada.



Figura 10. A) Bloque previo a ser fragmentado en biomasa aérea y subterránea. B) Estufa donde se llevaron las muestras a fin de secar el material. C) Balanza analítica pesando el total de raíces de una maceta. D) Balanza analítica pesando el total de biomasa aérea de una maceta y, E) Secuencias de imágenes en tiempo para calcular el porcentaje de cobertura de suelo de con la aplicación móvil Canopeo®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ambas especies, y como era de esperar, los registros de cobertura aumentaron con el tiempo ($p < 0,05$). Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados en ninguna oportunidad ($p > 0,05$), sugiriendo una falta de efecto por parte de la bacteria. En *P. pratensis* el número de hojas evidenció un leve incremento al aplicarse A+P en la primera fecha de evaluación ($p = 0,137$; Fig. 11A), pero estos valores se igualaron entre los tratamientos al siguiente mes ($p = 0,591$; Fig. 11A). Esto podría sugerir que en la etapa inicial el ambiente no era el más propicio para la bacteria por lo que el uso del protector facilitó su colonización manifestándose en el parámetro evaluado. La posterior igualación con el testigo insinúa una caducidad en dicho efecto, posiblemente por verse dificultada la supervivencia del *Azospirillum* en el medio.

En ambas fechas de muestreo, 24/04/2023 y 24/05/2023, el largo de las hojas fue mayor en A+P ($p < 0,05$; Fig. 11B) aunque no se vio reflejado en las imágenes de cobertura. Esto pudo deberse a la disposición vertical que adquieren en la planta, impidiendo que el área real de las mismas quede expuesta en una fotografía. A su vez, indicarían que el protector colaboró en la supervivencia, al menos parcialmente, de las bacterias, siendo este parámetro más sensible que el número de hojas.

En *F. rubra* no se contabilizaron efectos debido a los tratamientos aplicados ($p > 0,05$; Fig. 11 C y D).

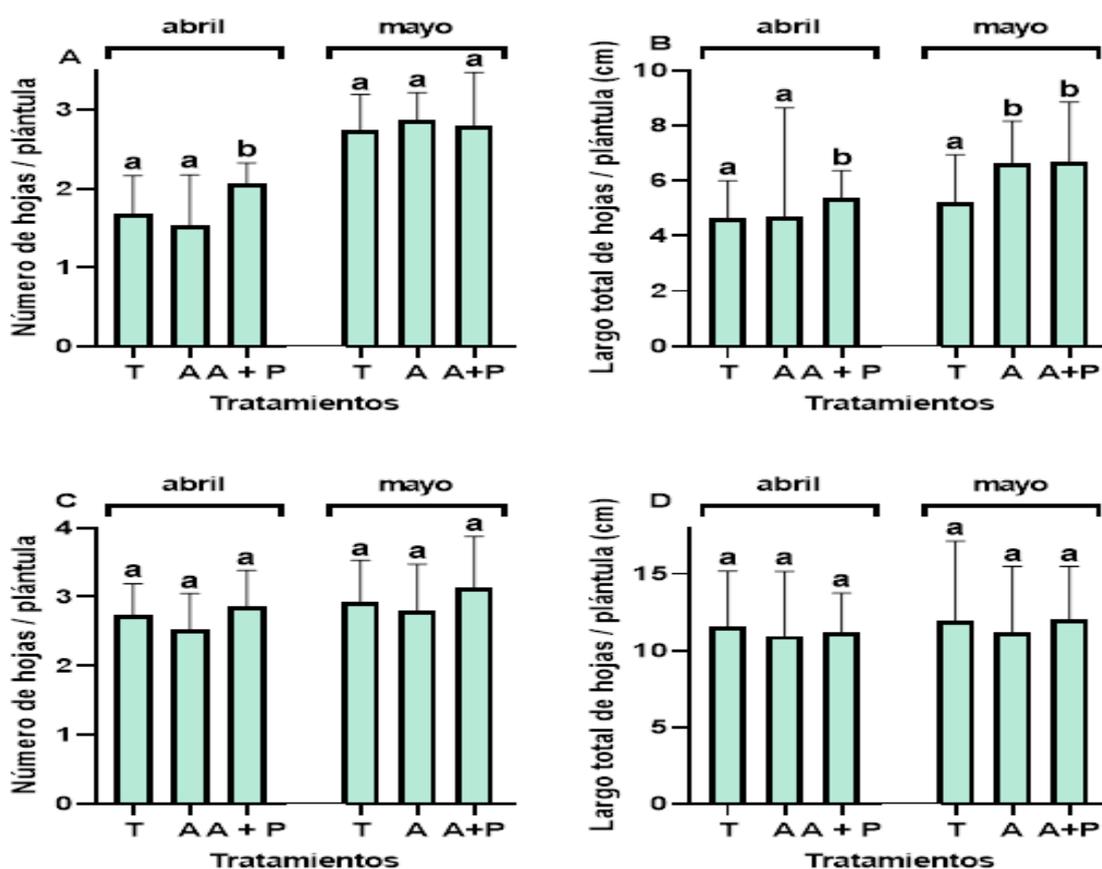


Figura 11. Influencia de un riego con agua (T), agua con *Azospirillum* (A) y agua, *Azospirillum* y protector (A+P) sobre: **A)** y **C)** el número de hojas por plántula y, **B)** y **D)** el largo total de las mismas en *Poa pratensis* (gráficos superiores) y *Festuca rubra* (gráficos inferiores). Las columnas con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

Si bien en *P. pratensis* el peso de la biomasa aérea no mostró diferencias estadísticas debido a los tratamientos aplicados, hubo una tendencia por parte del tratamiento A de incrementar los valores ($p>0,05$; Fig. 12A). A su vez, este tratamiento presentó estadísticamente mayor biomasa radical en ambos muestreos coincidiendo con lo relatado por Guimarães et al. (2022) para maíz ($p<0,05$; Fig. 12B). Considerándose lo observado anteriormente tanto en los parámetros medidos en plantas individuales como en la cobertura, podría deducirse que las bacterias promovieron el crecimiento radical pero dicho efecto no llegó a manifestarse en la parte aérea, al menos en el intervalo de tiempo analizado (Daniel et al., 2022).

En *F. rubra* solamente hubo un incremento en la biomasa subterránea en la primera fecha de muestreo para el tratamiento A+P ($p<0,05$; Fig. 12D). La menor respuesta de esta especie a la bacteria podría explicarse por una menor afinidad entre ellas.

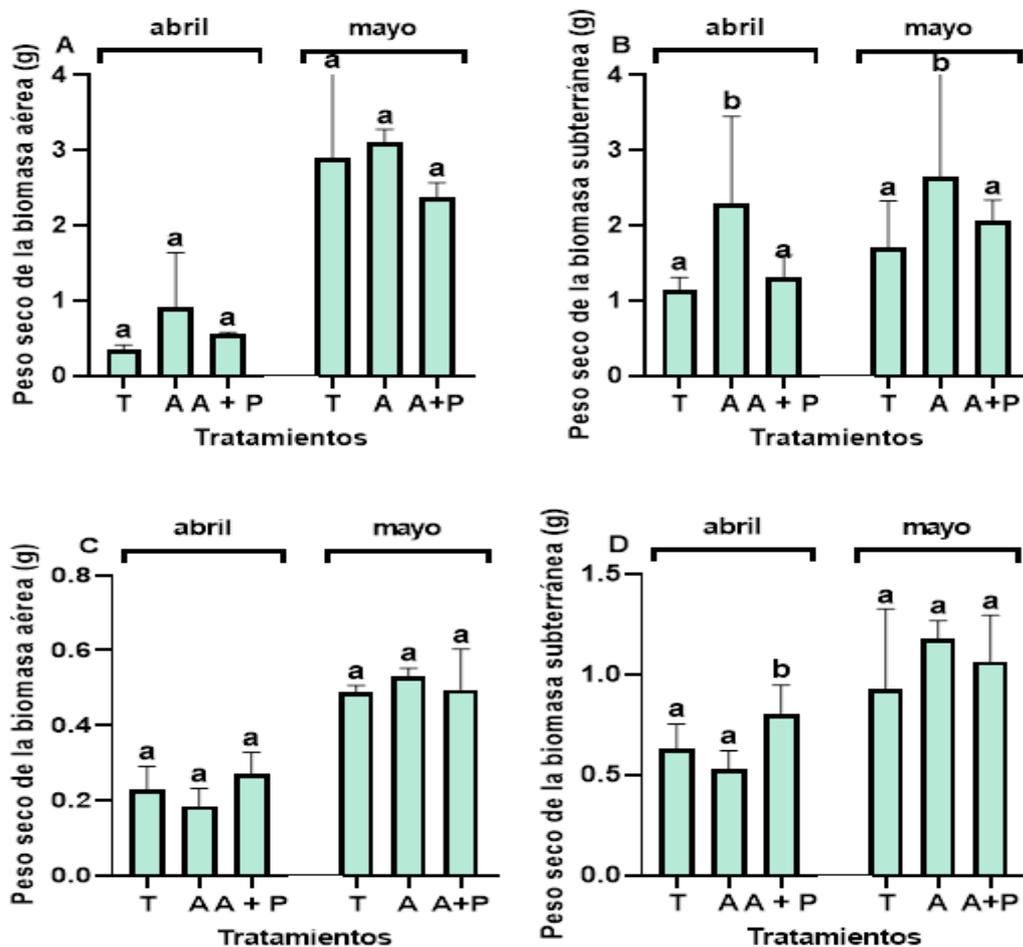


Figura 12. Influencia de un riego con agua (T), agua con *Azospirillum* (A) y agua, *Azospirillum* y un protector (A+P) sobre: **A)** y **C)** el peso seco de la biomasa aérea por maceta (g) y, **B)** y **D)** el peso seco de la biomasa subterránea por maceta (g); en *Poa prátensis* (gráficos superiores) y *Festuca rubra* (gráficos inferiores). Las columnas con una letra común no son significativamente diferentes según el test LSD de Fisher ($p<0,05$).

La baja respuesta a los tratamientos puede asociarse a varias razones, una de ellas es la dificultad para sobrevivir y colonizar con la que se encuentra la bacteria en un suelo de textura arenosa, dado que estas acciones se ven favorecidas ante un considerable contenido de arcillas, materia

orgánica y nitrógeno, así como capacidad de retención de agua (Bashan et al., 1995). Estas condiciones pudieron a su vez, disminuir su potencial competitivo en relación a los microorganismos presentes en el suelo, dificultando aún más su establecimiento en las raíces. Fischer et al. (2000) recalcan que, bajo condiciones de estrés puede existir una fuerte competencia entre poblaciones de la rizosfera y, ante esta situación, las cepas nativas del suelo tienen mayor ventaja sobre las inoculadas por su adaptación al medio. Si bien estudios en otras Poáceas han demostrado que la aplicación foliar en plantas ya establecidas es tan beneficiosa como la inoculación de las semillas (Hungria et al., 2021), realizar un estudio análogo comparando diversas formas de aplicación ayudaría a interpretar de mejor manera el comportamiento de la bacteria bajo las condiciones medioambientales de la ciudad de Bahía Blanca. Además, habría que constatar si ajustando la dosis, los momentos y reiterando las inoculaciones, la falta de éxito de los tratamientos aquí aplicados, podrían ser subsanada.

Cuando el ciclo de la Poáceas es anual, como ocurre con los cereales, la inoculación con *Azospirillum* suele realizarse en la semilla previo a la siembra. Sin embargo, la mayoría de las pasturas del mundo están establecidas con gramíneas perennes, por lo que los agricultores exigieron estudios para investigar la viabilidad de la inoculación foliar por aspersión, los cuales arrojaron, al igual que la aplicación junto con la semilla, excelentes resultados (Guimarães et al., 2022). Una situación análoga sucede con los céspedes, que de lograr un buen tapiz se evitarían, o al menos, se disminuirían las resiembras siendo la inoculación con *Azospirillum* una estrategia interesante donde aún queda mucho por estudiar.

CONCLUSIÓN

A pesar de los beneficios atribuidos a las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en cultivos agrícolas y plantas forrajeras, sus efectos sobre los céspedes carecen de un análisis exhaustivo. En este contexto, la evaluación de los efectos de las PGPR en el establecimiento y posterior mantenimiento de los pastos resulta esencial para promover su utilización.

Bajo las condiciones evaluadas se observaron efectos limitados en la incorporación de A y A+P en agua de riego en el período de implantación de céspedes en otoño. Posiblemente, ajustando algunas variables como la dosis, momento y reiteración en la aplicación, etc. estos resultados se magnifiquen y pueda llegar a ajustarse un protocolo de uso alternativo de las PGPR en céspedes. Si bien la comercialización de inoculantes microbianos ha aumentado significativamente en los últimos años, su uso en céspedes es aún insignificante. De lograr establecer un procedimiento mediante el cual el uso de PGPR genere efectos análogos a los de los fertilizantes sintéticos, estos podrían ser, al menos de manera parcial, sustituidos derivando en beneficios medioambientales contribuyendo a mitigar la emisión de gases de efecto invernadero, además de disminuir la contaminación de los embalses de agua por productos químicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bashan Y; Puente M.E; Rodríguez-Mendoza M.N; Toledo G; Holguin G; Ferrera-Cerrato R. & Pedrin S. (1995). Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1938-1945.
- Canals, R. M., Peralta, J. & Zubiri, E. (2016). *Poa pratensis*. Departamento de producción Agraria Herbario UPNA, Departamento de Ciencias del Medio Natural. Universidad Pública de Navarra. http://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Poa_prat_p.htm
- Cassán F; Coniglio A; López G; Molina R; Nievas S; de Carlan C.L.N; ... & Mora V. (2020). Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. *Biology and Fertility of Soils*, 56:461-479.
- Capelli de Steffens, A., Piccolo, M. C., Campo de Ferrera, A. (2005). *Clima urbano de Bahía Blanca*. Editorial Dunken, Buenos Aires, Argentina.
- Chiozza E. & Figueira R. (1981). *Atlas total de la República Argentina*. Centro Editor de América Latina. Buenos Aires, Argentina.
- Christians N.E; Patton A.J. & Law Q.D. (2016). *Fundamentals of turfgrass management*. 5ta Ed. John Wiley & Sons. USA. 486 p.
- Daniel A.I; Fadaka A.O; Gokul A; Bakare O.O; Aina O; Fisher S. ... & Klein A. (2022). Biofertilizer: the future of food security and food safety. *Microorganisms*, 10(6): 1220.
- Fischer S; Rivarola V. & Mori G. (2000). Colonization of wheat by *Azospirillum brasilense* Cd is impaired by saline stress. *Plant and soil*, 225:187-191.
- Gil Durá J. (2016). *Implantación de especies cespitosas de clima templado*. Tesis Doctoral, Universitat Politècnica de València, España.
- Guimarães G.S; Rondina A.B.L; Santos M.S; Nogueira M.A. & Hungria M. (2022). Pointing out opportunities to increase grassland pastures productivity via microbial inoculants: Attending the society's demands for meat production with sustainability. *Agronomy*, 12(8), 1748.
- Hungria M; Rondina A.B.L; Nunes A.L.P; Araujo, R.S. & Nogueira M.A. (2021). Seed and leaf-spray inoculation of PGPR in brachiarias (*Urochloa* spp.) as an economic and environmental opportunity to improve plant growth, forage yield and nutrient status. *Plant and Soil*, 463, 171-186.
- Lamm R.B. & Neyra C.A. (1981). Characterization and cyst production of *Azospirillum* isolated from selected grasses growing in New Jersey and New York. *Can. J. Microbiol.* 27:1320-1325.
- Linnaeus, C. (1799). *Species plantarum* (Vol. 3). Impensis GC Nauk.
- Parracia, A. N. (2012). *Césped: principales especies, manejo y métodos de propagación usados en parques y jardines [en línea]*. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/cesped-principales-especies-manejo.pdf>
- Recasens J. & Conesa J.A. (2009). *Malas hierbas en plántula: Guía de identificación*. Universitat de Lleida. 1ra Ed. Ediciones de la Universitat de Lleida, España. 454 p.
- Rodríguez-Navarro D.N; Dardanelli M.S. & Ruíz-Saíenz J.E. (2007). Fijación de bacterias a las raíces de plantas superiores. *FEMS microbiology letters*, 272(2):127-136.
- Sabry, A. K. (2015). Synthetic fertilizers; role and hazards. *Fertil. Technol*, 1, 110-133.
- Silva M.F.D. & Reis V.M. (2009). Produção, caracterização e aplicação de anticorpo policlonal contra *Azospirillum amazonense* estirpe Am15. *Bragantia*, 68:1-11.
- Stace, C. A., Al-Bermani, A. K. K. A., & Wilkinson, M. J. (1992). The distinction between the *Festuca ovina* L. and *Festuca rubra* L. aggregates in the British Isles. *Watsonia*, 19(2), 107-112.
- Umali-García M; Hubbell D.H; Gaskins M.H. & Dazzo F.B. (1980). Association of *Azospirillum* with grass roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 39:219-226.

Páginas de internet

- Biológico Latam (2022). *Azospirillum*, una bacteria de uso consolidado en cultivos extensivos. Último acceso 14/12/2024.
<https://biologicalslatam.com/issue-05/azospirillum-una-bacteria-de-uso-consolidado-en-cultivos-extensivos/>
- Cátedra de Agrometeorología de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. Último acceso 11/11/2024.
<https://agrometeorologia.criba.edu.ar/climatologia.htm>
- Darwinion. Último acceso 25/10/2024.
<http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/DetalleEspecie.asp?forma=&variedad=&subespecie=pratensis&especie=pratensis&genero=Poa&espcod=23153>
- Flora del Cono sur. Último acceso 25/10/2024.
<http://conosur.floraargentina.edu.ar/species/details/22164>
http://conosur.floraargentina.edu.ar/storage/midsize/Festuca%20rubra_INTA_FP058.mid.jpg
- Guasch semillería. Último acceso 25/10/2024.
https://guasch.com.ar/website/pages/interior_productos.php?idVariedad=105
https://guasch.com.ar/website/pages/interior_productos.php?idVariedad=95
- Open herbarium. Último acceso 25/10/2024.
<https://openherbarium.org/taxa/index.php?taxon=Festuca%20rubra>
<https://openherbarium.org/taxa/index.php?tid=236919>
- SLT, Sobre La Tierra (2017). Área de divulgación científica y tecnológica en agronomía y ambiente. Identifican una bacteria benéfica para el tomate. Último acceso 24/10/2024.
<https://sobrelatierra.agro.uba.ar/identifican-una-bacteria-benefica-para-el-tomate/>
- Todo césped. Último acceso 24/10/2024.
<https://todocesped.com.ar/general/para-que-sirve-el-cesped/>