



Fotos: Santiago Gonnet y Pablo Torres

# SEMILLAS INTELIGENTES: genética vegetal y genética microbiana se combinan para mejorar la eficiencia de la fertilización fosfatada en soja y reducir el impacto ambiental

Ing. Agr. Mag. Pablo Torres<sup>1</sup>, Ing. Agr. MSc. PhD. Elena Beyhaut<sup>1</sup>, Ing. Agr. Dr. Eduardo Abreo<sup>1</sup>, Ing. Agr. MSc. María José Cuitiño<sup>2</sup>, Ing. Agr. MSc. Sergio Ceretta<sup>2</sup>, Ing. Agr. Guillermo Arrospide<sup>3</sup>, Ing. Agr. MSc. PhD. Nora Altier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Plataforma de Bioinsumos, Programa de Investigación en Producción y Sustentabilidad Ambiental - INIA

<sup>2</sup>Programa de Investigación en Cultivos de Secano - INIA

<sup>3</sup>Calister S.A.

El presente trabajo evaluó el efecto combinado de las variables fertilización fosfatada y coinoculación en el cultivar Génesis 5602. Los resultados observados sugieren que el agregado de *Bacillus* mineralizadores de P orgánico y solubilizadores de P inorgánico mejoró la performance de la planta de Génesis 5602, tanto en situación de P insuficiente como en parcelas con fertilización fosfatada.

## INTRODUCCIÓN

La soja es el cultivo con mayor área sembrada en Uruguay, lo que reviste importancia tanto económica como ambiental. El suelo, el agua, la energía solar y la genética son, a grandes trazos, los recursos de los que depende la producción. INIA se ha abocado a generar conocimiento y tecnologías que incrementen la productividad y reduzcan el impacto ambiental (Altier & Abreo, 2020). El programa de mejoramiento genético de soja

se orienta a alcanzar incrementos en rendimiento y estabilidad y mayor tolerancia a estrés abiótico y biótico (Ceretta & Silva, 2012). El cultivar INIA GÉNESIS 5602 mostró consistentemente un rendimiento superior al testigo comercial en todos los ambientes considerados y ha ocupado el primer puesto en el ranking de rendimiento de grano publicado por INASE (Ceretta *et al.*, 2016). La nutrición del cultivo depende del suministro de nitrógeno (N) y de fósforo (P), los dos macronutrientes principales.

INIA se ha abocado a generar conocimiento y tecnologías que incrementen la productividad y reduzcan el impacto ambiental.

La soja, por ser una leguminosa, puede utilizar el N proveniente de la atmósfera para cubrir sus altos requerimientos mediante la asociación simbiótica con rizobios en el proceso de Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN). Este proceso biológico ha sido jerarquizado como política pública y es una tecnología de amplia adopción en Uruguay, contribuyendo a la sustentabilidad ambiental y al ahorro de divisas.

Por otra parte, el fósforo debe ser agregado previo a la siembra debido a los insuficientes niveles de P disponible en la mayoría de los suelos agrícolas. Este elemento es un recurso natural limitado y no puede ser sintetizado. Su aplicación en cobertura resulta ineficiente debido a que en parte se inmoviliza en el suelo tornándose indisponible para las plantas y en parte se pierde por lavado y arrastre hacia cuerpos de agua. Ambos procesos llevan a una baja eficiencia del uso del fertilizante, lo cual conduce a mayores agregados y posiblemente a mayores pérdidas hacia cursos de agua, donde contribuye al crecimiento de cianobacterias (Aubriot *et al.*, 2020).

La necesidad de reducir los aportes de P al ambiente ha sido reconocida y varias estrategias han sido desarrolladas con este fin (Bindraban *et al.*, 2020). Los microorganismos pueden aumentar la fitodisponibilidad del P a través de procesos de mineralización y solubilización del P inmovilizado y del P aportado por el fertilizante. Favorecer estos procesos microbianos permitiría aumentar la disponibilidad de P para la planta y reducir la cantidad de fertilizante agregado en cada siembra. La utilización de microorganismos del género *Bacillus* que mejoren la disponibilidad de P para el cultivo de soja es una tecnología que ha sido desarrollada por INIA en un trabajo conjunto con empresas nacionales (Altier *et al.*, 2020). En este trabajo, se presentan los resultados experimentales de un ensayo a campo, en el que se evaluó el producto formulado de dos cepas de *Bacillus* de las especies *Bacillus megaterium* y *Bacillus pumilus*, coinoculadas con rizobios comerciales, aplicados en semilla del cultivar Génesis 5602 de INIA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se instaló un ensayo en INIA La Estanzuela en 2019 para evaluar el efecto de la coinoculación con inoculante rizobiano y formulado de *Bacillus* sobre el crecimiento y producción de soja del cultivar Génesis 5602

en un suelo con bajo P (7 ppm de P Bray disponible, ensayo 1). Para este ensayo se estudiaron dos niveles de agregado de fósforo: suelo sin corrección de P y suelo corregido hasta 15-17 ppm de P disponible final.

Las semillas fueron inoculadas con cuatro tratamientos:

1 - Control sin co-inocular (SCOI), semillas inoculadas solamente con rizobios.

2 - Coinoculación 44, semillas coinoculadas con rizobios + *Bacillus* ILBB 44.

3 - Coinoculación 592, semillas coinoculadas con rizobios + *Bacillus* ILBB 592.

4 - Coinoculación Exp A 22, semillas coinoculadas con rizobios + cepa Exp A 22.

La semilla fue previamente tratada con insecticida (Tiametox 350 FS) + fungicida (Fluidox ultra TBZ) compatible con rizobios y *Bacillus* utilizados. En los tratamientos de coinoculación, 25 g de formulado de esporas de *Bacillus* fueron resuspendidos en una mezcla de 200 ml de inoculante líquido Active N + 100 ml adherente ADD IT, para tratar 50 kg de semilla. La concentración celular obtenida fue del orden  $10^6$  células de rizobios y  $10^5$  esporas de *Bacillus* por semilla. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones (cuatro parcelas, diseño de BCA).

Se sembró a una densidad de 20 semillas viables por metro lineal y 0,40 m entre filas. Cada parcela quedó definida por cuatro surcos de 5 m de largo y 1,60 m de ancho (8 m<sup>2</sup>).



Foto: Elena Beyhaut

**Figura 1** - Ensayo en sitio con bajo fósforo disponible en La Estanzuela.

La parcela real cosechada, luego de la eliminación de bordes, fue de 4 m de largo y 1,6 m de ancho (6,4 m<sup>2</sup>). La fertilización de las parcelas con superfosfato (00 40 40 00) se realizó al voleo previo a la siembra. Las parcelas de 8 m<sup>2</sup> recibieron 145,6 g de superfosfato, equivalente a 56 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha. El P disponible verificado luego de la fertilización osciló entre los 15 y 17 ppm.

Se muestrearon tres plantas completas de cada parcela a los 90 días (12 plantas por tratamiento) y se midieron las variables: peso seco de nódulos y peso seco de la parte aérea. En cada parcela se midió el índice de área foliar a los 100 días con un ceptómetro y peso de grano en cosecha (Figura 2).

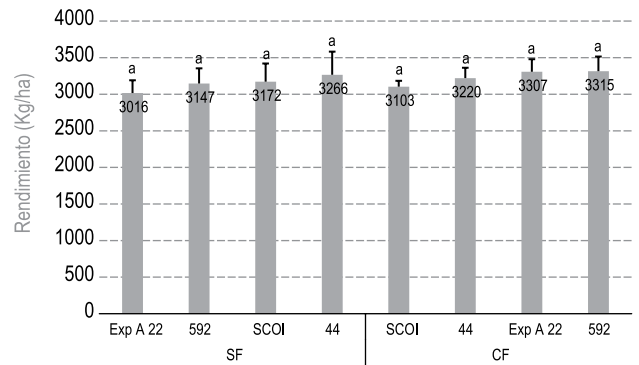
En paralelo, se estableció un ensayo con semillas igualmente tratadas, sembradas en un sitio de alto P (35 ppm de P Bray disponible, ensayo 2), donde no se agregó fertilizante fosfatado.

## RESULTADOS

En el sitio con bajo P disponible (ensayo 1), sin agregado de fertilizante, se verificó el crecimiento y producción de las plantas aun cuando el P disponible era 7 ppm, inferior al umbral mínimo generalmente aceptado de 15 ppm. En esta condición, la semilla coinoculada con la cepa ILBB 44 superó al tratamiento inoculado solo con rizobios (Figura 3, SF). En las parcelas que fueron fertilizadas hasta 17 ppm de P disponible, el efecto de la coinoculación con las tres cepas de *Bacillus* sobre el rendimiento de grano fue evidente, registrándose incrementos entre 117 kg/ha y 212 kg/ha (Figura 3, CF).



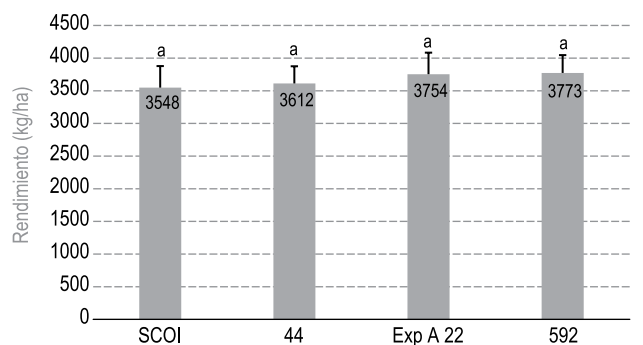
**Figura 2** - Fin de ciclo de soja Génesis 5602 en sitio con bajo fósforo disponible.



**Figura 3** - Rendimiento/ha de tratamiento de coinoculación con cepas de *Bacillus* (44, 592, Exp A22) y el control inoculado solo con rizobios (SCOI) en suelo sin fertilizante agregado (SF, 7 ppm P disponible) y suelo con fertilizante fosfatado agregado (CF, 17 ppm P disponible). Letras distintas en cada situación, con fertilización P (CF) y sin fertilización P (SF), indican diferencias estadísticas entre los tratamientos según test de LSD Fisher ( $p < 0,05$ ).

El impacto favorable de las cepas de *Bacillus* sobre el rendimiento fue más notorio en el caso de la cepa ILBB 592, seguida por Exp A 22 y finalmente ILBB 44. En el sitio con 35 ppm P disponible (ensayo 2), la coinoculación con *Bacillus* superó al control inoculado solo con rizobios en un rango de 64 kg/ha a 225 kg/ha. En este sitio, nuevamente el incremento del rendimiento fue mayor cuando se coinoculó con la cepa ILBB 592, seguido por la cepa Exp A 22 y la cepa ILBB 44 (Figura 4).

Desde el punto de vista de la interacción entre estrategia de coinoculación y fertilización con P en el ensayo 1 (sitio de bajo P inicial), se observó que el control inoculado solo con rizobios y el coinoculado con ILBB 44 redujeron o mantuvieron su rendimiento en grano cuando se fertilizó con P, con respecto a la situación sin fertilizar.



**Figura 4** - Rendimiento/ha de tratamiento de coinoculación con cepas de *Bacillus* (44, 592, Exp A22) y el control inoculado solo con rizobios (SCOI) en suelo de alto P sin fertilizante agregado previo a la siembra (35 ppm P disponible).

Por el contrario, los tratamientos coinoculados con ILBB 592 o Exp A 22 y fertilizados mostraron un incremento en el rendimiento (Figura 5 a).

El índice de área foliar promedio de cada tratamiento mostró un efecto similar al rendimiento. La coinoculación con ILBB 592 o Exp A 22 y la fertilización produjeron un aumento en el área foliar, mientras que este indicador respondió negativamente o en forma neutra cuando la semilla fue inoculada solo con rizobios o coinoculada con ILBB 44 con respecto a las parcelas sin agregado de fertilizante (Figura 5 b).

El peso seco de la parte aérea promedio por planta, estimado a partir de un muestreo de tres plantas por parcela, no respondió al agregado de P cuando se inoculó solo con rizobios, mientras que las coinoculadas con *Bacillus* mostraron una respuesta favorable al agregado de P, en particular la cepa ILBB 592 (Figura 5 c).

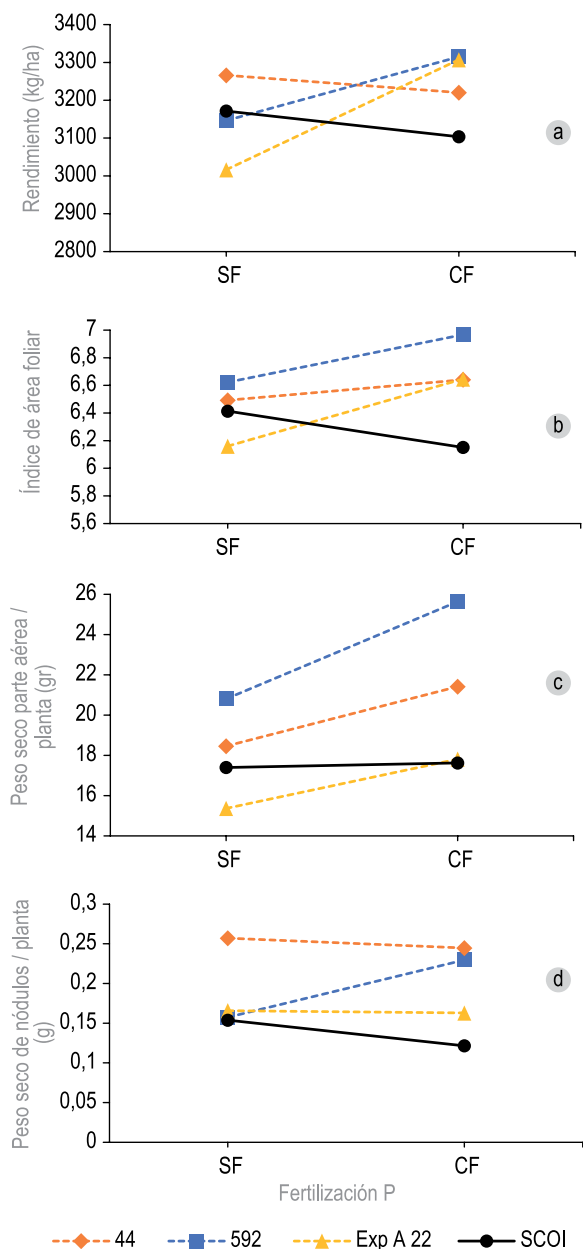
El peso seco de nódulos fue menor en las plantas inoculadas solo con rizobios (SCOI) frente a las coinoculadas con *Bacillus* y esto fue notorio para la cepa ILBB 44 en parcelas sin fertilización y en las cepas ILBB 44 e ILBB 592 en parcelas con fertilización. Las plantas inoculadas solo con rizobios no respondieron a la fertilización con P. La cepa 592 fue la única que favoreció el efecto del agregado de P, pero partiendo de un efecto bajo en suelo sin agregado de P (Figura 5 d).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se evaluó el efecto combinado de las variables fertilización fosfatada y coinoculación en el cultivar Génesis 5602. Se observó un efecto beneficioso de la coinoculación rizobios-*Bacillus* con respecto a la inoculación solo con rizobios en los parámetros peso seco de nódulos, peso seco de parte aérea, índice de área foliar y rendimiento de grano.

La fertilización fosfatada solo tuvo un efecto beneficioso sobre estos parámetros cuando la semilla había sido coinoculada con algunas de las cepas de *Bacillus*. La cepa ILBB 592 fue la que consistentemente produjo una mejoría de todas las variables estudiadas en las parcelas fertilizadas, por lo cual se pudo inferir que esta cepa favoreció la disponibilidad para la planta del P agregado. La cepa ILBB 44 fue la segunda mejor y se destacó en las parcelas sin fertilización en los parámetros peso seco de nódulos y rendimiento de grano.

La fertilización fosfatada no tuvo efecto o tuvo un efecto negativo en las parcelas sembradas con semillas inoculadas solo con rizobios. Este hallazgo coincide con la falta de efecto detectada frecuentemente en ensayos de respuesta a agregado de P u otros nutrientes y es indicativo del impacto, generalmente no considerado, de la comunidad microbiana rizosférica de la soja en la fitodisponibilidad de los nutrientes (Mendes *et al.*, 2014). Los resultados observados sugieren que el agregado de *Bacillus* mineralizadores de P orgánico y solubilizadores



**Figura 5** - a) Rendimiento de grano (kg/ha); b) Índice de área foliar; c) Peso seco de parte aérea/planta; d) Peso seco de nódulos/planta de Génesis 5602 inoculada con rizobios (SCOI), o coinoculada con mezcla de rizobios y *Bacillus* ILBB 44, ILBB 592 o control Exp A 22.

Se observó un efecto beneficioso de la coinoculación rizobios-*Bacillus* con respecto a la inoculación solo con rizobios en peso seco de nódulos, peso seco de parte aérea, índice de área foliar y rendimiento de grano.

de P inorgánico mejoró la performance de la planta de Génesis 5602, tanto en situación de P insuficiente como en parcelas con fertilización fosfatada.

La cepa ILBB 592 podría ser coinoculada con rizobios en este cultivar para mejorar su performance vegetativa y reproductiva cuando se agregue fertilizante, incluso con fertilizaciones que logren el umbral mínimo de 15 ppm. Esta observación se verificó también en el sitio de alto P disponible (ensayo 2), donde el tratamiento de coinoculación con ILBB 592 produjo el más alto rendimiento en grano, superando al tratamiento inoculado solo con rizobios en 225 kg/ha. La cepa ILBB 44 podría producir una mejora en escenarios de bajo P disponible y cuando exista restricción para el agregado de P, como por ejemplo en la cercanía a cursos de agua.

En el aspecto ambiental, no agregar P o limitar el agregado de P puede conducir a una reducción de la pérdida de P del cultivo de soja. La coinoculación de rizobios y *Bacillus* ILBB 44 o ILBB 592 puede contribuir a un uso más eficiente de las reservas de P del suelo y del P agregado, reduciendo los niveles de fertilización fosfatada y posiblemente las pérdidas de P del sistema.

#### AGRADECIMIENTOS

Dr. Juan A. Quincke, Dr. A. Berger de INIA La Estanzuela, personal de Evaluación de Cultivares y Programa Nacional de Producción y Sustentabilidad Ambiental.

#### BIBLIOGRAFÍA

Altier N, Abreo E. (2020) One health: considerations in the International Year of Plant Health. *Agrociencia Uruguay*, 24: NE2, DOI: 10.31285/AGRO.24.422

Altier N, Abreo E, Beyhaut E, Garaycochea S, Torres P, Cerecetto V, Martín N, Cuitiño MJ, Crispo M, Arévalo AP, Rego N, Arrospide G, Lage M, Sundberg G. (2020) Desarrollo de un biofertilizante microbiano para aumentar la disponibilidad de fósforo en el cultivo de soja. *Revista INIA Uruguay*, N° 62, p. 95-100.

Aubriot L, Zabaleta B, Bordet F, Sienna D, Risso J, Achkar M, Somma A. (2020). Assessing the origin of a massive cyanobacterial bloom in the Río de la Plata (2019): Towards an early warning system. *Water Research* <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115944>

Bindraban PS, Dimkpa CO, Pandey R. (2020) Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health. *Biol Fertil Soils*. 56(3): 299–317.

Ceretta S, Sastre M, Castro B, Montaña M, Chevalier D, Rey E. (2016) Variedades de soja de reciente liberación Programa de Mejoramiento Genético de Soja – INIA. *Revista INIA* N° 46, p. 20-22.

Ceretta S, Silva J. (2012) Cultivo de soja: INIA lanza el Proyecto Nacional de Mejoramiento Genético. *Revista INIA Uruguay*, N° 30, p. 32-35.

Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA, van Veen JA, Tsai SM. (2014) Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *Isme J* [Internet]. 8(8):1577–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24553468>



**Figura 6** - La coinoculación de rizobios y *Bacillus* ILBB 44 o ILBB 592 puede contribuir a un uso más eficiente de las reservas de P del suelo y del P agregado.