

Efecto de la adición de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y biochar sobre el desarrollo de *Salvia procurrens*

Effect of plant growth-promoting bacteria and biochar addition on the development of *Salvia procurrens*

Efeito da adição de bactérias promotoras de crescimento vegetal e biochar no desenvolvimento de *Salvia procurrens*

DOI: 10.34188/bjaerv8n3-099

Submetido: 30-05-2025

Aprovado: 15-06-2025

Gabriela Cristina Sarti

Doctorado en Investigación Agraria y Forestal. Universidad de A. Coruña (UDC) y Universidad de Santiago de Compostela (USC). España
Cátedra de Química Inorgánica y Analítica. Departamento de Recursos Naturales y Ambiente.
Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires. Argentina
Correo electrónico: karibu@agro.uba.ar

Ivanna Lorena Avram

Magíster en Estadística Matemática. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina
Cátedra de Química Inorgánica y Analítica. Departamento de Recursos Naturales y Ambiente
Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires. Argentina
Correo electrónico: iavram@agro.uba.ar

Isabel María Maza

Técnica en Jardinería. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Cátedra de Jardinería. Departamento de Ingeniería Agrícola y Uso de la Tierra. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires. Argentina
Correo electrónico: imaza@agro.uba.ar

Marta Josefina Kaplanski

Ingeniera Agrónoma Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Cátedra de Jardinería. Departamento de Ingeniería Agrícola y Uso de la Tierra. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires. Argentina
Correo electrónico: kaplansk@agro.uba.ar

Gonzalo Arnedillo

Licenciado en Ciencias Ambientales. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina
Cátedra de Química Inorgánica y Analítica. Departamento de Recursos Naturales y Ambiente.
Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Correo electrónico: arnedill@agro.uba.ar

Ana Rosa García

Doctorado en Investigación Agraria y Forestal. Universidad de A. Coruña (UDC) y Universidad de Santiago de Compostela (USC). España
Cátedra de Química Inorgánica y Analítica. Departamento de Recursos Naturales y Ambiente.
Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires. Argentina
Correo electrónico: agarcia@agro.uba.ar

Antonio Paz González

Catedrático de Edafología y Química Agrícola. Universidade da Coruña (UDC). España
Grupo AQUATERRA, Centro Interdisciplinar de Química y Biología, CICA-UDC, Universidade da Coruña
Coruña. España
Correo electrónico: antonio.paz.gonzalez@udc.es

Ernesto Benito Giardina

Magíster en Enseñanza Agropecuaria y Biológica. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina
Cátedra de Jardinería. Departamento de Ingeniería Agrícola y Uso de la Tierra. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires. Argentina
Correo electrónico: giardina@agro.uba.ar

RESUMEN

En Argentina, se encuentra una extensa cuenca hidrográfica llamada “Cuenca Matanza-Riachuelo” (CMR), es reconocida por su elevada urbanización e industrialización, lo que plantea importantes desafíos ambientales. En los ambientes acuáticos, la revegetación con especies nativas como *Salvia procurrens* contribuye significativamente a la recuperación de la cobertura vegetal. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la inoculación conjunta (Mix) con microorganismos benéficos, así como la aplicación de un biochar derivado de gallinaza para favorecer el desarrollo de *S. procurrens*.

Los microorganismos *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* y *Azospirillum brasilense* FT 326 crecieron en forma conjunta en un cultivo líquido de medio NB obteniéndose $2,3 \times 10^5$ UFC/mL para *B. subtilis* y $8,9 \times 10^6$ UFC/mL para *A. brasilense*. Las plantas de *S. procurrens* crecieron en un sustrato arenoso durante 160 días. Al finalizar el experimento, aquellas inoculadas con el consorcio bacteriano (Mix) mostraron incrementos significativos en comparación con las plantas control (no inoculadas): un 46 % en la longitud total, 125 % en la biomasa radicular, 105 % en la biomasa aérea, 108 % en el número de hojas y también un aumento en el contenido de clorofila. La aplicación de biochar no resultó en una mejora, al contrario, fue muy perjudicial para las plantas y todas murieron en un lapso de 30 días. Se concluye que la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento fue altamente beneficioso para el desarrollo vegetal, lo que sugiere su potencial aplicación en programas de revegetación con esta especie nativa.

Palabras clave: *Salvia procurrens*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, biochar.

RESUMO

Na Argentina, encontra-se uma extensa bacia hidrográfica denominada Bacia Matanza-Riachuelo (BMR), reconhecida por seu elevado nível de urbanização e industrialização, o que representa importantes desafios ambientais. Em ambientes aquáticos, a revegetação com espécies nativas, como *Salvia procurrens*, contribui significativamente para a recuperação da cobertura vegetal. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da inoculação conjunta (Mix) com microorganismos benéficos, bem como da aplicação de biochar derivado de cama de frango, no desenvolvimento de

S. procurrens. Os microrganismos *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* e *Azospirillum brasilense* FT 326 foram cultivados conjuntamente em meio líquido NB, obtendo-se $2,3 \times 10^5$ UFC/mL para *B. subtilis* e $8,9 \times 10^6$ UFC/mL para *A. brasilense*. As plantas de *S. procurrens* foram cultivadas em um substrato arenoso durante 160 dias. Ao final do experimento, aquelas inoculadas com o consórcio bacteriano (Mix) apresentaram aumentos significativos em comparação com as plantas-controle (não inoculadas): 46% no comprimento total, 125% na biomassa radicular, 105% na biomassa aérea, 108% no número de folhas, além de um aumento no teor de clorofila.

A aplicação do biochar não resultou em melhorias; pelo contrário, foi altamente prejudicial, levando à morte de todas as plantas tratadas dentro de 30 dias.

Conclui-se que a inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal foi altamente benéfica para o desenvolvimento das plantas, sugerindo seu potencial uso em programas de revegetação com essa espécie nativa.

Palavras-chave: *Salvia procurrens*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, biochar.

ABSTRACT

In Argentina, there is an extensive watershed known as the Matanza-Riachuelo Basin (MRB), which is characterized by high levels of urbanization and industrialization, posing significant environmental challenges. In aquatic environments, revegetation with native species such as *Salvia procurrens* plays a key role in the recovery of plant cover.

The objective of this study was to evaluate the effects of co-inoculation (Mix) with beneficial microorganisms, as well as the application of biochar derived from poultry litter, on the development of *S. procurrens*.

The microorganisms *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* and *Azospirillum brasilense* FT 326 were co-cultivated in liquid NB medium, yielding 2.3×10^5 CFU/mL for *B. subtilis* and 8.9×10^6 CFU/mL for *A. brasilense*. *S. procurrens* plants were grown in a sandy substrate for 160 days. At the end of the experiment, those inoculated with the bacterial consortium (Mix) showed significant increases compared to the uninoculated control plants: 46% in total length, 125% in root biomass, 105% in shoot biomass, 108% in leaf number, as well as an increase in chlorophyll content. The application of biochar did not improve plant performance; on the contrary, it was highly detrimental, as all treated plants died within 30 days. It is concluded that inoculation with plant growth-promoting bacteria was highly beneficial for plant development, suggesting its potential use in revegetation programs involving this native species.

Keywords: *Salvia procurrens*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, biochar.

1 INTRODUCCION

En Argentina, en el noreste de la provincia de Buenos Aires se encuentra una extensa cuenca hidrográfica llamada “Cuenca Matanza-Riachuelo (CMR)” con una superficie aproximada de 2.047,86 km². El curso principal de la cuenca es el río Matanza-Riachuelo, que se extiende por 64 km desde su nacimiento en la provincia de Buenos Aires hasta su desembocadura en el Río de la Plata. Esta cuenca es reconocida por su alta urbanización -con 4.703.058 habitantes- que representa aproximadamente el 15% de la población nacional. Además, posee una importante industrialización, lo que ha planteado una serie de desafíos ambientales relacionados con el tratamiento de la contaminación del agua, del aire y del suelo. En diversos tramos de la ribera del río Matanza-

Riachuelo se han incorporado especies vegetales nativas, como *Salvia procurrens* (salvia rastrera), en estrategias de restauración ecológica (De Cabo y Marconi 2021).

Revegetar con *S. procurrens* aporta numerosos beneficios debido a que esta especie actúa como cubresuelo, reduciendo la erosión de ribera y mejorando la calidad del agua al disminuir el ingreso de contaminantes por escorrentía. Además, la vegetación desempeña un papel clave en la estabilización de metales pesados debido a que estos contaminantes son acumulados principalmente en las raíces (Maybis *et al.*, 2022). La implementación de distintas estrategias, como la inoculación con microorganismos benéficos y la incorporación de biochar al sustrato, constituyen alternativas prometedoras para optimizar el crecimiento y desarrollo de esta especie vegetal, minimizando a su vez el impacto ambiental.

Kloepper (1980) destacaron un grupo de bacterias benéficas para las plantas denominadas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por su sigla en inglés *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Entre los géneros más comunes se encuentran *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Rhizobium* entre otros. Es fundamental para todas las PGPR ser competitivas para sobrevivir y proliferar en presencia de la microbiota autóctona del suelo. Los mecanismos utilizados por estas PGPR tendientes a la adquisición de nutrientes y mejorar la estructura de suelos degradados, se relaciona con su capacidad para actuar como “biofertilizantes” a través de diversos procesos, como la fijación biológica del nitrógeno, solubilización y mineralización de fosfatos, movilización de potasio o secuestro de hierro. Todos estos mecanismos favorecen la disponibilidad de nutrientes (Saxena *et al.*, 2020). Asimismo, las PGPR pueden actuar como “fitoestimuladoras”, a través de la producción de hormonas de crecimiento del tipo ácido indol acético (AIA), giberelinas, citoquininas, entre otras; que modifican la morfogénesis y la proliferación celular en los tejidos vegetales (Grove *et al.*, 2021). A su vez, estos microorganismos cuentan con diversos mecanismos para contrarrestar los efectos debido a la presencia de metales tóxicos: precipitación, inmovilización y cambio del potencial redox del metal, entre otros (Marrero-Coto *et al.*, 2010).

El biochar también conocido como biocarbón, es un compuesto con elevado contenido en carbono, estable y recalcitrante, formado a través de un proceso termoquímico llamado pirólisis (Yadav *et al.*, 2020). La materia prima necesaria para su producción proviene de orígenes muy diversos (residuos de cultivos agrícolas, residuos forestales, desechos de madera, porción orgánica de residuos sólidos urbanos, gallinaza y estiércol de animales).

La adición de biochar al suelo puede considerarse como un potencial sumidero de carbono. También cabe destacar la presencia de nutrientes asociados a su fracción mineral (K, Ca, Mg, P, S, etc.) que mejoran la fertilidad de los suelos (Lehmann y Joseph 2015). En general, los biochars son

materiales porosos, poco densos, y caracterizados por una elevada área superficial específica. Las condiciones del proceso de pirólisis y las características de las materias primas utilizadas para su elaboración, determinan en gran medida las propiedades fisicoquímicas (Moreno *et al.*, 2014).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la adición conjunta de un consorcio de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y de un biochar proveniente de gallinaza para favorecer el desarrollo de la especie nativa *Salvia procurrens*, con el fin de su utilización en procesos de restauración de ecosistemas degradados.

2 METODOLOGÍA

2.1 MICROORGANISMOS UTILIZADOS Y ACTIVACIÓN DE LAS CEPAS

Bacillus subtilis subsp. *spizizenii* fue comprado del American Type Culture Collection (ATCC), número de acceso 6633. Para su uso experimental, la cepa fue reactivada a partir del stock, cultivándola en caldo nutritivo bajo agitación a 150 rpm y 30°C durante 24 horas. Posteriormente la bacteria fue cultivada en medio líquido NB a 30°C. *Azospirillum brasilense* FT326, obtenido de EMBRAPA (Seropédica, Brasil), fue reactivado a partir del stock cultivándolo en “NB” bajo agitación a 150 rpm y 30°C durante 48 horas. La composición del medio de cultivo NB es: Malato de sodio 5 g, NH₄Cl 2 g, K₂HPO₄ 0.8 g, KH₂PO₄ 0.2 g, MgSO₄·7H₂O 0.2 g, NaCl 0.2 g, CaCl₂ 0.02 g, FeSO₄·7H₂O 0.01 g, agar 2 g, azul de bromotimol 5 mL de solución al 0.5% y agua destilada 1 litro.

2.1.1 Preparación del inóculo bacteriano y evaluación de la compatibilidad entre las cepas de *B. subtilis* y *A. brasilense*

Se inocularon alícuotas de 1 mL de los cultivos de *B. subtilis* y *A. brasilense* obtenidos como se describió en la sección 2.1, en un matraz Erlenmeyer de 500 mL que contenía 350 mL de caldo NB. Las bacterias se cultivaron de manera conjunta a 30°C con agitación rotatoria a 150 rpm durante 96h. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas en medio sólido NB según (Frioni 1990), obteniéndose un recuento de $2,3 \cdot 10^5$ UFC/mL para *B. subtilis* y $8,9 \cdot 10^6$ UFC/mL para *A. brasilense*.

2.2 ENSAYOS EN INVERNADERO

2.2.1 Sitio experimental, inoculación, siembra y condiciones de cultivo

Las instalaciones del invernadero se encuentran en la Escuela de Floricultura y Jardinería “Juan O. Hall” de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA). La especie *Salvia procurrens* Benth es una planta herbácea perenne, estolonífera y nativa de Argentina, que pertenece a las ecorregiones

Selva Paranaense y Pampeana. Se desarrolla en márgenes de arroyos, lagunas y otros ambientes húmedos, y por su porte rastrero es ideal como planta cubresuelos.

Los ejemplares utilizados en el ensayo se obtuvieron mediante reproducción agámica, utilizando esquejes uninodales. Se seleccionaron plantas sanas, sin floración, con tallos jóvenes, verdes y flexibles. Se cortaron segmentos de entre 10 y 15 cm de longitud que contuvieran al menos un nudo, ya que a partir de este punto se desarrollan las raíces. Los esquejes se plantaron en bandejas forestales (tipo plugs) de 25 celdas, utilizando arena como sustrato. El tiempo de enraizamiento fue de 30 días. Luego de ese período, las plantas se trasplantaron a macetas de 2 litros rellenas con arena o con una mezcla de arena + 10%v/v de biochar elaborado por pirólisis de gallinaza a 300°C, cuyo contenido de C y O es de 33% y 24% respectivamente, y su pH=8,5. En la arena utilizada, los contenidos de N, C, H y S son 0,0047% 0,071%; 0,023% y 0,0017% respectivamente, y su pH=7.

Después del trasplante, un set de 40 plantas fueron inoculadas en la base del tallo de cada una de ellas con 10 mL de un inoculante compuesto por el consorcio bacteriano formado por: *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* y *Azospirillum brasilense*, que será denominado "Mix". Otras 40 plantas se inocularon con 10 mL de agua destilada como control.

Los tratamientos implementados fueron:

- 1: 20 plantas inoculadas con el Mix y crecidas en un sustrato compuesto por arena.
- 2: 20 plantas inoculadas con el Mix y crecidas en un sustrato compuesto por arena + 10% biochar.
- 3: 20 plantas sin inocular y crecidas en un sustrato compuesto por arena.
- 4: 20 plantas sin inocular y crecidas en un sustrato compuesto por arena + 10% biochar.

Los experimentos se realizaron durante la primavera y el verano austral, entre septiembre y marzo, bajo luz natural. La temperatura promedio en el invernadero fue de $30^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Las plantas de salvia se regaron dos o tres veces por semana para mantener la humedad del sustrato cercana a la capacidad de campo. A los treinta días posteriores a la primera inoculación, se aplicó una segunda dosis del mismo inoculante.

2.2.2 Crecimiento y parámetros evaluados durante y al momento de la cosecha

Durante el transcurso del experimento se midió semanalmente la altura de la parte aérea de las plantas. Luego de seis meses, las plantas fueron extraídas de sus sustratos y sus raíces lavadas con agua destilada para eliminar todo residuo de los mismos, y se cuantificó en cada planta la cantidad de hojas.

Para determinar el área foliar, cada hoja se colocó sobre un fondo blanco, completamente expandida, se cubrió con un vidrio de 3 mm de espesor y se la fotografió. El área de cada hoja se

estimó utilizando el software de análisis de imágenes científicas IMAGE J versión 1.8.0 (Schneider *et al.*, 2012). Para determinar la biomasa aérea y radicular, las plantas fueron secadas en estufa a 70°C hasta peso constante y luego pesadas.

2.2.3 Contenido de clorofila en hojas

Para cuantificar el contenido de clorofila, se cortaron dos discos de 1 cm de diámetro del área central de las hojas seleccionadas. Se eligieron tres plantas por tratamiento y se tomaron tres hojas representativas de la parte central. Los discos se colocaron en tubos Eppendorf y se añadieron 1.5 mL de dimetilformamida; posteriormente, se dejaron durante 48 horas en refrigeración y en oscuridad.

La absorbancia se midió a 664 nm, 647 nm y 652 nm para la cuantificación de clorofila a, clorofila b y clorofila total respectivamente (Inskeep 1985) utilizando un espectrofotómetro UV-visible Agilent 8453. Los contenidos de clorofila se expresaron en base fresca como mg de clorofila por gramo de tejido fresco.

Las siguientes ecuaciones se utilizaron para la estimación cuantitativa de los diferentes tipos de clorofila:

- Clorofila a = $12.7 \times \text{Abs } 664 - 2.79 \times \text{Abs } 647$
- Clorofila b = $20.7 \times \text{Abs } 647 - 4.62 \times \text{Abs } 664$
- Clorofila total = $17.9 \times \text{Abs } 647 + 8.08 \times \text{Abs } 652$

Donde Abs 664, Abs 647 y Abs 652 son las absorbancias medidas a 664, 647 y 652 nm, respectivamente.

2.2.4 Diseño experimental y tratamiento estadístico

Los experimentos de laboratorio e invernadero se realizaron bajo un diseño completamente aleatorio. En el laboratorio los ensayos se realizaron por triplicado mientras que en el invernadero se establecieron cuatro tratamientos: plantas inoculadas con el consorcio bacteriano (Mix) cultivadas en arena con y sin biochar y plantas no inoculadas (Control) cultivadas en arena con y sin biochar. Se utilizaron 20 plantas por tratamiento. Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias entre las medias de los tratamientos evaluados en los experimentos en invernadero. Las diferencias estadísticamente significativas se determinaron mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 CRECIMIENTO DEL CONSORCIO MICROBIANO “MIX”

En el medio de cultivo líquido NB sembrado con *B. subtilis* subsp. *spizizenii* y *A. brasilense* Ft 326, ambas bacterias fueron capaces de crecer por lo tanto no se observó incompatibilidad entre ambas cepas bacterianas (Tabla 1). Este resultado indica que el inóculo formado por este consorcio bacteriano (llamado Mix) puede utilizarse para la inoculación de la especie *Salvia procurrens*.

Tabla 1. Determinación de las UFC. mL⁻¹ de *B. subtilis* y *A. brasilense* crecidos en un cultivo líquido de medio NB a 30°C.

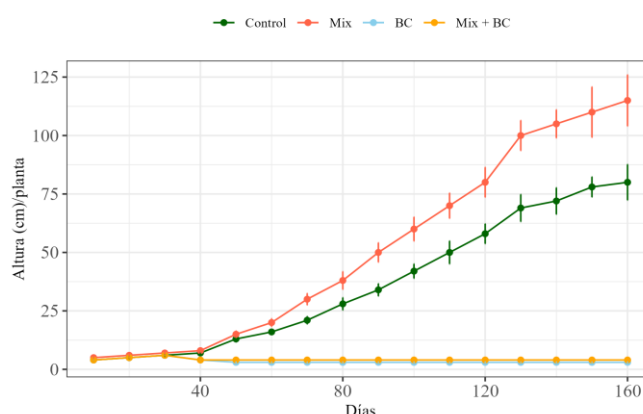
Microorganismos del consorcio “Mix”	UFC. mL ⁻¹
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	2,3 10 ⁵
<i>Azospirillum brasilense</i> FT326	8,9 10 ⁶

De Mata Terra (2024) reportaron el sinergismo producto de la aplicación conjunta con bacterias de los géneros *Bacillus* y *Azospirillum*, los autores evaluaron dos métodos de aplicación (sobre semillas y como spray foliar), encontrando aumentos significativos en la biomasa de *Urochloa brizantha*. El hecho de utilizar más de una cepa bacteriana es muy beneficioso debido a que amplía la variedad de mecanismos que estas bacterias ponen en marcha para promover el crecimiento de la planta.

3.2 ENSAYOS EN INVERNADERO

Teniendo en cuenta la longitud de la parte aérea en las plantas de *Salvia*, desde el inicio hasta finalización del experimento (160 días), las plantas que recibieron la inoculación con el Mix mostraron incrementos del 46% con respecto a las plantas sin inocular (control) (Fig.1). Con respecto a las plantas que fueron crecidas en el sustrato con biochar, independientemente si las mismas fueron inoculadas con el Mix o no, luego de 30 días murieron (Fig.1).

Figura 1. Crecimiento de las plantas de *S. procurrens* “C”: Plantas crecidas en arena; “Mix”: Plantas crecidas en arena e inoculadas con el consorcio bacteriano; “BC”: Plantas crecidas en la mezcla de arena con biochar; “Mix +BC”: Plantas crecidas en la mezcla de arena con biochar e inoculadas con el consorcio bacteriano.



El efecto devastador debido a la incorporación del biochar en la arena, podría explicarse teniendo en cuenta que dado que el biochar proveniente de gallinaza contiene cantidades elevadas de sales que provocan valores de et al. , conductividad que oscilan entre los 0,52 y 2,22 ($\text{dSm}^{-1} 25^{\circ}\text{C}$) (Cantrell *et al.*, 2012; Cely *et al.*, 2015). Esto ocasionaría en las plantas no sólo un fuerte estrés osmótico sino también toxicidad iónica. Otros autores sostienen que el uso de biochar como enmienda mejora significativamente la fertilidad del suelo y puede aplicarse sin inconvenientes a distintos sistemas de cultivo. (Lehmann y Rondon, 2006).

El biochar de gallinaza posee altos valores de pH (entre 8 y 10) y esto se debe a que este producto proviene de una mezcla de estiércol de aves junto con plumas, la cama e incluso restos de alimento (Cely *et al.*, 2015). Dado que la arena carece de capacidad buffer, es decir que no posee un efecto tampón que amortigüe las variaciones de pH, la adición de biochar puede provocar un aumento significativo del mismo. Este incremento puede tener un impacto directo sobre la disponibilidad de ciertos nutrientes esenciales, como fósforo (P), hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn) y cobre (Cu), los cuales ya se encuentran en concentraciones limitadas en un sustrato arenoso deficiente en materia orgánica (Vélez-Bermúdez *et al.*, 2023). Como consecuencia, podrían generarse deficiencias nutricionales severas que afecten el desarrollo de las plantas. En el trabajo realizado por Trujillo (2019) se concluye que los biochars de gallinaza en tratamientos de 1 % a 7 % poseen sustancias tóxicas en cantidades moderadas y que la especie vegetal *Raphanus sativus* es una especie sensible a dichas sustancias fitotóxicas. Rombolà (2015) sostiene que la toxicidad de este tipo de biochar se debe a su elevado contenido de ácidos grasos volátiles (AGVs) y de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), compuestos que también generaron una respuesta fitotóxica en *Lepidium sativum* L.

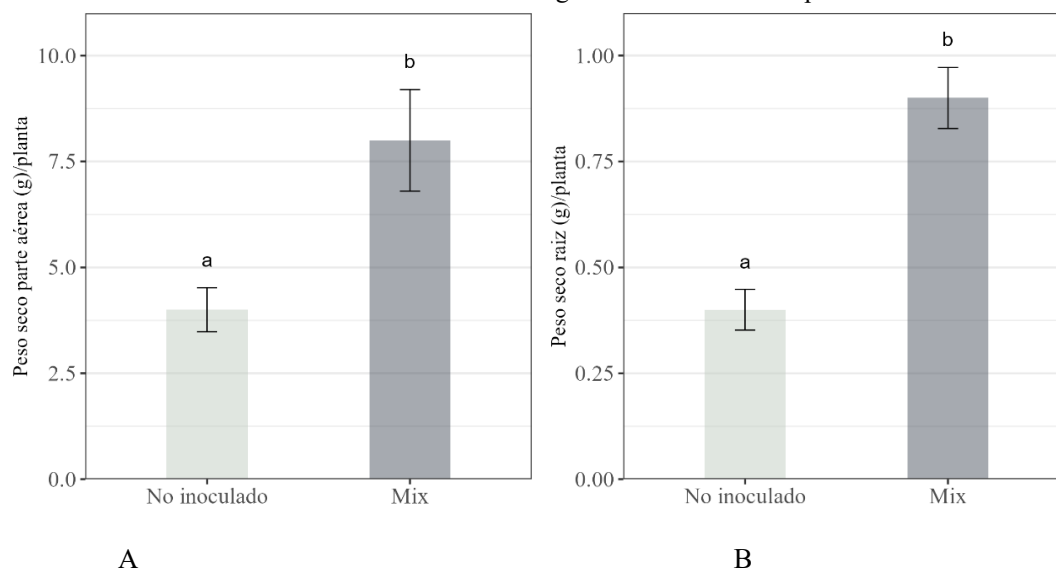
La actividad microbiana del suelo desempeña un papel de gran importancia en el ciclado de nutrientes. El biochar puede inducir un efecto positivo en la microbiota del suelo al proporcionar tanto protección como una fuente de alimento (Palansooriya *et al.*, 2019). En este sentido, Stein (2008) indica que la biomasa microbiana, la diversidad de bacterias y hongos como así también la eficiencia de los microbios (expresada mediante el cociente metabólico) aumentaron de forma lineal y significativa con el incremento de las concentraciones de biochar (50, 100 y 150 g por kg de suelo). Los autores sugieren que el biochar contiene pequeñas cantidades de agentes inhibidores y un alto número de sustancias fácilmente degradables que podrían ser aprovechadas por los microorganismos para su metabolismo. Sin embargo, también ha sido reportada evidencia que señala impactos negativos, como los estudios ecotoxicológicos sobre la bacteria *Vibrio fischeri* dichos estudios mostraron efectos tóxicos con la aplicación de biochar (Oleszczuk *et al.*, 2013).

Se puede concluir que el uso de biochar como enmienda de un sustrato arenoso no presenta un panorama completamente definido. Aunque se han documentado múltiples beneficios agronómicos, también se han reportado efectos adversos, incluidos impactos toxicológicos sobre las plantas (Godlewska *et al.*, 2021; Thomas *et al.*, 2024). Por lo tanto, su aplicación debe evaluarse de manera específica, teniendo en cuenta el tipo de suelo, el cultivo específico y características propias del biochar tales como su origen y la temperatura de pirólisis empleada en su producción (Brtnicky *et al.*, 2021).

La inoculación con el consorcio microbiano fue muy beneficiosa para el crecimiento de *Salvia*. La cepa de *Bacillus* utilizada en este trabajo, además de sintetizar hormonas de crecimiento del tipo ácido indol acético (AIA) y citoquininas también es solubilizadora de P lo cual es un factor de importancia vinculado a beneficiar la nutrición de esta especie vegetal.

Además, dada la capacidad de las bacterias pertenecientes al género *Azospirillum* de fijar N atmosférico, las plantas incrementan la síntesis de fotosintatos, lo que se traduce en una mayor disponibilidad de fotoasimilados para sustentar los procesos de división celular y expansión de tejidos en hojas y raíces. En consecuencia, las plantas inoculadas presentan un crecimiento vegetativo significativamente más vigoroso.

Figura 2. Efecto de la inoculación sobre A) Parte aérea y B) Biomasa radicular de *S. procurrens*. “Mix” indica las plantas inoculadas con el consorcio bacteriano, mientras que “C” representa las plantas no inoculadas (control). Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticamente significativas al nivel de probabilidad de 0.05.



Con la inoculación se observaron incrementos significativos tanto en la biomasa radicular como en la aérea. Para el caso de las raíces, el incremento fue de 125 % en comparación con las plantas no inoculadas, y en la parte aérea fue de 105 % (Fig. 2).

Con la inoculación, el incremento en el desarrollo del sistema radicular podría mejorar no sólo el anclaje sino también el desarrollo de una mayor cobertura vegetal en los ambientes de ribera donde se desarrolla *Salvia*. Esto redundaría en una mayor estabilidad estructural de la planta lo que reduciría la susceptibilidad de estas al arrastre mecánico en respuesta a los pulsos de inundación y retracción del caudal fluvial, lo que contribuiría a mitigar la erosión marginal.

El efecto beneficioso obtenido con la inoculación podría deberse a que ambas bacterias que forman parte del consorcio microbiano “Mix” son productoras de hormonas de crecimiento, particularmente auxinas y citocininas las cuales han sido estudiadas debido a sus implicancias en el desarrollo en diversas especies vegetales (Mengxia *et al.*, 2022, Yaadesh *et al.*, 2023). Hungría (2021) indican que la coinoculación con distintas PGPR, especialmente bacterias del género *Azospirillum*, es una opción beneficiosa debido a su capacidad para fijar N, promover la expansión radicular y de este modo mejorar la absorción de nutrientes.

Figura 3. Efecto de la inoculación sobre A) número de hojas; B) área foliar de *S. procurrens*. “Mix” indica las plantas inoculadas con el consorcio bacteriano, mientras que “C” representa las plantas no inoculadas (control). Las letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticamente significativas al nivel de probabilidad de 0.05.

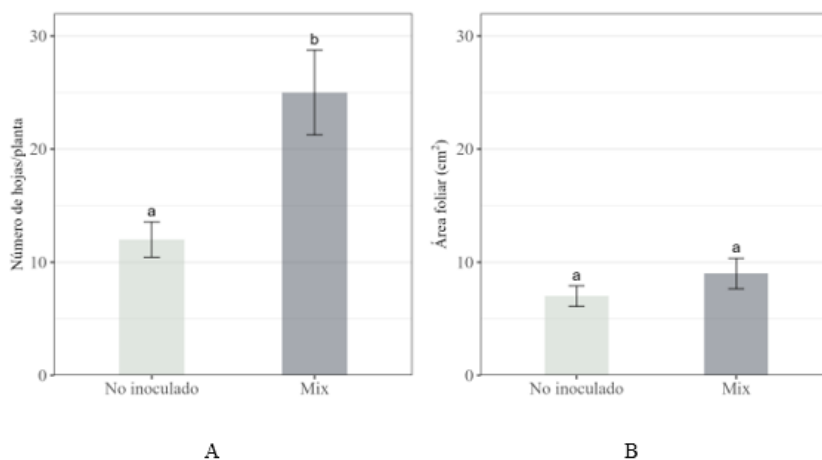
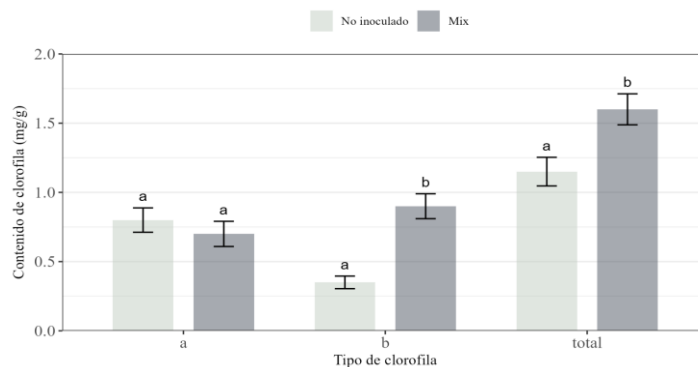


Figura 4 Efecto de la inoculación sobre los contenidos de clorofila a, clorofila b y clorofila total (a) en *S. procurrens*. “Mix” indica las plantas inoculadas con el consorcio bacteriano, mientras que “C” representa las plantas no inoculadas (control). Las letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticamente significativas al nivel de probabilidad de 0.05.



La clorofila, medida en sus distintas formas, es el principal pigmento fotosintético en las plantas superiores, y su contenido en las hojas depende principalmente de la concentración de nitrógeno foliar, la cual regula la actividad fotosintética máxima. Las plantas inoculadas con el Mix mostraron diferencias significativas cuanto a los niveles de clorofila b y clorofila total, en comparación con las plantas sin inocular. (Fig.4).

Este resultado era esperable, dado que la clorofila se encuentra directamente vinculada al contenido de nitrógeno en los tejidos vegetales y que el género *Azospirillum* se caracteriza por su capacidad de fijar N atmosférico.

4 CONCLUSIONES

La inoculación de la especie nativa *Salvia procurrens* con un inóculo mixto formulado a partir de *Bacillus subtilis* y *Azospirillum brasilense* demostró ser altamente beneficiosa para el desarrollo vegetal, lo que sugiere su potencial aplicación en programas de revegetación con esta especie vegetal. En contraste, la adición de biochar a un sustrato arenoso tuvo un efecto fuertemente negativo, resultando letal para las plantas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación fue llevado a cabo en el marco del Proyecto de Ciencia y Técnica financiado por la Universidad de Buenos Aires N° 20020220400161BA titulado “Efectos sinérgicos de la adición conjunta de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y biochar en la producción de un bioinoculante para su aplicación sobre especies hortícolas”

REFERENCIAS

- BRTNICKY, M.; DATTA, R.; HOLATKO, J.; BIELSKA, L.; GUSIATIN, Z. M.; KUCERIK, J.; HAMMERSCHMIEDT, T.; DANISH, S.; RADZIEMSKA, M.; MRAVCOVA, L.; FAHAD, S.; KINTL, A.; SUDOMA, M.; AHMED, N.; PECINA, V. A critical review of the possible adverse effects of biochar in the soil environment. **Science of the Total Environment**, v. 796, p. 148756, 2021.
- CANTRELL, K. B.; HUNT, P. G.; UCHIMIYA, M.; NOVAK, J. M.; RO, K. S. . Impact of pyrolysis temperature and manure source on physicochemical characteristics of biochar. **Bioresource Technology**, v. 107, p. 419-428, 2012.
- CELY, P.; GASCÓ, G.; PAZ-FERREIRO, J.; MÉNDEZ, A. Agronomic properties of biochars from different manure wastes. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 111, p. 173-182, 2015.
- DE CABO, L. I.; MARCONI, P. L.; PERELMAN, P. E.; SANTOS CAPRA, A.; ESCALA, A.; COCONIER, E. G.; ITTEN, B.; NADRA, C. Restauración ecológica de las riberas del Arroyo Morales (Cuenca Matanza-Riachuelo, municipio de Marcos Paz, Buenos Aires, Argentina). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 1161-1169, jan-mar. 2021.
- FRIONI, L., **Ecología microbiana del suelo**. 1990. 519 p. tab.(Colección Reencuentro, 8). Montevideo, Uruguay, 1990.
- GODLEWSKA, P.; OK, Y. S.; OLESZCZUK, P. The dark side of black gold: Ecotoxicological aspects of biochar and biochar-amended soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 123833, 2021.
- GROVER, M.; BODHANKAR, S.; SHARMA, A.; SHARMA, P.; SINGH, J.; NAIN, L. PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. **Frontiers of Sustainable Food Systems**, v. 4, art. 618230, 2021.
- HUNGRIA, M.; LIRIO RONDINA, A. B.; NUNES, A. L. P.; ARAUJO, R. S.; NOGUEIRA, M. A. 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**, v. 463, p. 171-186, 2021.
- INSKEEP, W. P.; BLOOM, P. R. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80% acetone. **Plant Physiology**, v. 77, p. 483-485, 1985.
- KLOEPPER, J. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. **Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria**, Angers, France, v. 2, p. 879-882, ago. 1978.
- LEHMANN, J.; GAUNT, J.; RONDON, M. Biochar sequestration in terrestrial ecosystems – a review. **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, v. 11, p. 395-419, 2006.
- LEHMANNJ., JOSEPH S. **Biochar for Environmental Management: Science and Technology**. Second edition. Earthscan Publications Ltd, London, 2015.
- LÓPEZ H., M. E.; MORALES H., O. E. Fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados: una revisión. **El Higo Revista Científica**, v. 12, n. 2, p. 15-28, dic. 2022.
- LI, M.; ZHU, Y.; LI, S.; ZHANG, W.; YIN, C.; LIN, Y. Regulation of phytohormones on the growth and development of plant root hair. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 865302, 2022.

MARRERO-COTO, J.; DÍAZ-VALDIVIA, A.; COTO-PÉREZ, O. Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. **Revista CENIC. Ciencias Biológicas**, v. 41, n. 1, p. 67-78, 2010.

MORENO, J.; MORAL, R.; GARCÍA-MORALES, J.; PASCUAL, J.; BERNAL, M. **Enmiendas orgánicas de nueva generación: biochar y otras biomoléculas III.8**. Sinopsis Editores Científicos: Mundi-Prensa, 180 p., 2014.

OLESZCZUK, P.; JOSKO, I.; KUSMIERZ, M. Biochar properties regarding to contaminants content and ecotoxicological assessment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 260, p. 375-382, 2013.

OLIVEIRA, C. E. S.; GATO, I. M. B.; MOREIRA, V. A.; JALAL, A.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; OLIVEIRA, J. R.; FERNANDES, G. C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation methods of *Azospirillum brasilense* in lettuce and arugula in the hydroponic system. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 27, p. 653-662, 2023.

PALANSOORIYA, K. N. WONG, J. T. F.; HASHIMOTO, Y.; HUANG, L.; RINKLEBE, J.; CHANG, S. X.; BOLAN, N.; WANG, H.; OK, Y. S. . Response of microbial communities to biochar-amended soils: a critical review. **Biochar**, v. 1, n. 1, p. 3-22, 2019.

ROMBOLÀ, A. G.; MARISI, G.; TORRI, C.; FABBRI, D.; BUSCAROLI, A.; GHIDOTTI, M.; HORNUNG, A.. Relationships between chemical characteristics and phytotoxicity of biochar from poultry litter pyrolysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 30, p. 6660-6667, 2015.

SARTI, G. C.; GALELLI, M. E.; CRISTÓBAL-MÍGUEZ, J. A. E.; CÁRDENAS-AGUIAR, E.; CHUDIL, H. D.; GARCÍA, A. R.; PAZ-GONZÁLEZ, A.. New perspectives for urban horticulture: evaluation of a microbial biofilm as plant growth promoter. **Doctoral Thesis – University of A Coruña**, Coruña, España, 2021.

SARTI, G. C.; GALELLI, M. E.; ARREGHINI, S.; CRISTÓBAL-MIGUEZ, J. A. E.; CURÁ, J. A.; PAZ-GONZÁLEZ, A. Inoculation with biofilm of *Bacillus subtilis* promotes the growth of *Lactuca sativa*. **Sustainability**, v. 15, p. 15406, 2023.

SAXENA, A. K.; KUMAR, M.; CHAKDAR, H.; ANUROOPA, N.; BAGYARAJ, D. J. Bacillus species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. **Journal Applied Microbiology**, v. 128, p. 1583-1594, 2020.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, p. 671-675, 2012.

STEINER, C.; DAS, K. C.; GARCIA, M.; FÖRSTER, B.; ZECH, W. Charcoal and smoke extract stimulate the soil microbial community in a highly weathered xanthic Ferralsol. **Pedobiologia**, v. 51, p. 359-366, 2008.

TERRA, L. E. M. D. M.; SANTOS, M. M. D.; LOPES, M. C. S.; PINHEIRO, D. A.; LOPES, É. M. G.; SOARES, A. S.; BRAZ, T. G. D. S.; NIETSCHKE, S.; COTA, J. Co-inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* sp. enhances biomass and photosynthetic efficiency in *Urochloa brizantha*. **Agriculture**, v. 14, n. 12, p. 2349, 2024.

THOMAS, S. C.; RUAN, R.; GALE, N. V.; GEZAHEGN, S. Phytotoxicity and hormesis in common mobile organic compounds in leachates of wood-derived biochars. **Biochar**, v. 6, p. 51, 2024.

TRUJILLO, E. A.; VALENCIA, C. E. A.; ALEGRÍA, M. C. A.; SOTELO, A. H. M.; CÉSARE, M. F. C. Producción y caracterización química de biochar a partir de residuos orgánicos avícolas. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 85, n. 4, p. 489-504, 2019.

VÉLEZ-BERMÚDEZ, I. C.; SCHMIDT, W. Plant strategies to mine iron from alkaline substrates. **Plant and Soil**, v. 483, p. 1-25, 2023.

YADAV, V.; KHARE, P. Impact of pyrolysis techniques on biochar characteristics: application to soil. In **Biochar Applications in Agriculture and Environment Management**; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, p. 33-52, 2020.

YAADESH, S.; TOMAR, G. S.; KAUSHIK, R.; PRASANNA, R.; GROVER, M. Azospirillum–Bacillus associations: synergistic effects on in vitro PGP traits and growth of pearl millet at early seedling stage under limited moisture conditions. **3 Biotech**, v. 13, p. 90, 2023.