



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

“Trabajo Final presentado para optar al Grado de Ingeniero
Agrónomo”

**EVALUACION DEL EFECTO DE *Achromobacter*
xilosoxidans y *Bacillus pumilus* EN CULTIVO DE GIRASOL
(*Helianthus annuus* L.) EN LA LOCALIDAD DE
MANFREDI**

**Javier Alejandro Torres
DNI: 29.664.307**

**Director: Dr. Ing. Agr. Sergio G. Alemanno
Co-dirección: MSc. Ing. Agr. Daniel Álvarez**

**Río Cuarto – Córdoba
Marzo / 2011.**

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	vi
SUMMARY	vii
INTRODUCCIÓN	1
Importancia económica del girasol	1
Características del girasol	4
Acción de las bacterias promotoras del crecimiento rizosférico	7
Hipótesis	10
Objetivo	10
MATERIALES Y MÉTODOS	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	20
BIBLIOGRAFÍA	21

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Fig. 1: Superficie implantada de girasol 1969-2010.	1
Fig. 2: Superficie cosechada de girasol 1969-2010.	2
Fig. 3: Producción de girasol 1969-2010.	2
Fig. 4: Rendimiento de girasol 1969-2010.	3
Fig. 5. Principales áreas de cultivo de girasol en Argentina.	4
Fig. 6. Peso de mil semillas de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (<i>Nit</i>), y/o inoculadas con <i>Azopirillum</i> (<i>Azo</i>), <i>Bacillus pumilus</i> (<i>Bp</i>), <i>Acrhomobacter xilosoxidans</i> (<i>Ax</i>).	13
Fig. 7. Número de Semillas por Capitulo de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (<i>Nit</i>), y/o inoculadas con <i>Azopirillum</i> (<i>Azo</i>), <i>Bacillus pumilus</i> (<i>Bp</i>), <i>Acrhomobacter xilosoxidans</i> (<i>Ax</i>).	14
Fig. 8 % Humedad de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (<i>Nit</i>), y/o inoculadas con <i>Azopirillum</i> (<i>Azo</i>), <i>Bacillus pumilus</i> (<i>Bp</i>), <i>Acrhomobacter xilosoxidans</i> (<i>Ax</i>).	15
Fig. 9. Rendimiento de grano ajustado por humedad de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (<i>Nit</i>), y/o inoculadas con <i>Azopirillum</i> (<i>Azo</i>), <i>Bacillus pumilus</i> (<i>Bp</i>), <i>Acrhomobacter xilosoxidans</i> (<i>Ax</i>).	16
Fig. 10: % Materia Grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (<i>Nit</i>), y/o inoculadas con <i>Azopirillum</i> (<i>Azo</i>), <i>Bacillus pumilus</i> (<i>Bp</i>), <i>Acrhomobacter xilosoxidans</i> (<i>Ax</i>).	17
Fig. 11: Rendimiento materia grasa ajustado por humedad de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (<i>Nit</i>), y/o inoculadas con <i>Azopirillum</i> (<i>Azo</i>), <i>Bacillus pumilus</i> (<i>Bp</i>), <i>Acrhomobacter xilosoxidans</i> (<i>Ax</i>).	17

Resumen

El girasol (*Helianthus annuus L.*) es una oleaginosa importante para nuestro país. A partir de ello, nuestro grupo de trabajo aisló de raíces de plantas de girasol cultivadas a campo bacterias de *Bacillus pumilus* (*Bp*) y *Achromobacter xylosoxidans* (*Ax*), las cuales presentaron capacidad de promover el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés hídrico *in vitro*, actividad ACC-deaminasa y producción de hormonas vegetales entre otras características. El objetivo propuesto fue evaluar el efecto de las dos cepas a campo. Los ensayos de inoculación se realizaron durante 2 ciclos agrícolas consecutivos en el campo de INTA Manfredi. Los tratamientos realizados fueron: testigo; plantas sin inocular y con urea (280 Kg. ha⁻¹); plantas inoculadas con cepa *Ax*; plantas inoculadas con cepa *Bp*; plantas inoculadas con cepa comercial de *Azospirillum* (*Azo*); plantas inoculadas con *Azo* y urea; plantas inoculadas con cepa *Ax* y urea; plantas inoculadas con cepa *Bp* y urea. Las plantas inoculadas con *Ax* y *Bp* presentaron una mejora en el rendimiento de granos de alrededor de 300 Kg. ha⁻¹, con un mayor rendimiento que el testigo en un 15% para la cepa *Ax* y un 17% para la cepa *Bp*. El rendimiento de materia grasa fue mejor en las plantas inoculadas con la cepa *Bp*, siguiendo las plantas inoculadas con *Ax* y *Azo*. Ninguno de los dos parámetros evaluados presentó diferencias estadísticamente significativas respecto al testigo. Por otra parte, la influencia de las inoculaciones con estas estirpes bacterianas sobre el rendimiento del cultivo superó a los de los cultivos fertilizados químicamente y en algunos casos a las plantas inoculados con bacterias no nativas. Estos nuevos productos podrían mejorar la eficiencia del cultivo de girasol en condiciones agro-ecológicas marginales y presentar la ventaja de ser amigables con el medio ambiente.

Summary

The sunflower (*Helianthus annuus* L.) is very important oilseed in our county. Therefore, our working group isolated bacterias of *Bacillus pumilus* (Bp) y *Achromobacter xylosoxidans* (Ax) from roots of sunflower plants grown under field, which showed ability “in vitro” to promote plant growth in water stress conditions, ACC-desaminase activity, production of plants hormones and other features. The proposed objective was to evaluate the effect of the two strains to field. Inoculation was made by two consecutive seasons in the field of INTA Manfredi. The treatments tested were: control; uninoculated plants plus urea (280 Kg. ha⁻¹); plants inoculated with strain Ax; plants inoculated with strain Bp; plants inoculated with commercial strain of Azospirillum (Azo); plants inoculated with Azo plus urea; plants inoculated with strain Ax plus urea and plants inoculated with strain Bp plus urea. Plants inoculated with Ax and Bp showed an improvement in grain yield of about 300 Kg. ha⁻¹, with higher yields than control by 15% for strain Ax and 17% for strain Bp. The yield of oil was higher in plants inoculated with the strain Bp, following the plant inoculated with the strains Ax and Azo. Neither evaluated parameters showed statistically significant differences compared with the control. Moreover, the influence of inoculations with these bacterial strains on crop yield exceeded those chemical fertilized crops and in some cases to the inoculation of plant with exotic strain. These new products could improve the efficiency of sunflower crop in marginal agro-ecological conditions and have the advantage of being friendly to the environment.

INTRODUCCIÓN

Importancia económica del girasol

El girasol (*Helianthus annuus L.*) es una de las oleaginosas más ampliamente cultivadas en el mundo, siendo Argentina el primer exportador mundial de aceite de girasol. En la campaña 2007/2008, nuestro país vendió 1,45 millones de toneladas (ton) (41,4% del total) de aceite. Junto a sus otros dos competidores (Ucrania, el 33,4%, y la Federación Rusa, el 12%) suman el 87% de la oferta. Algo similar ha ocurrido en las ventas de harina de girasol. Con 1,33 millones de toneladas, nuestro país ha aportado el 37,7% al mercado mundial. Ucrania, con el 33,5% y la Federación Rusa, con el 18%, son nuestros principales competidores (ASAGIR, 2008).

En la campaña 08/09, la superficie implantada fue de 1.967.420 hectáreas (has), (Fig. 1), mientras que en la campaña 09/10 solo se implantaron 1.556.945 has. lo que implicó que en este último ciclo solo se cosechara en una superficie de 1.505.842 has (Fig. 2), la cual fue la más baja de los últimos años.

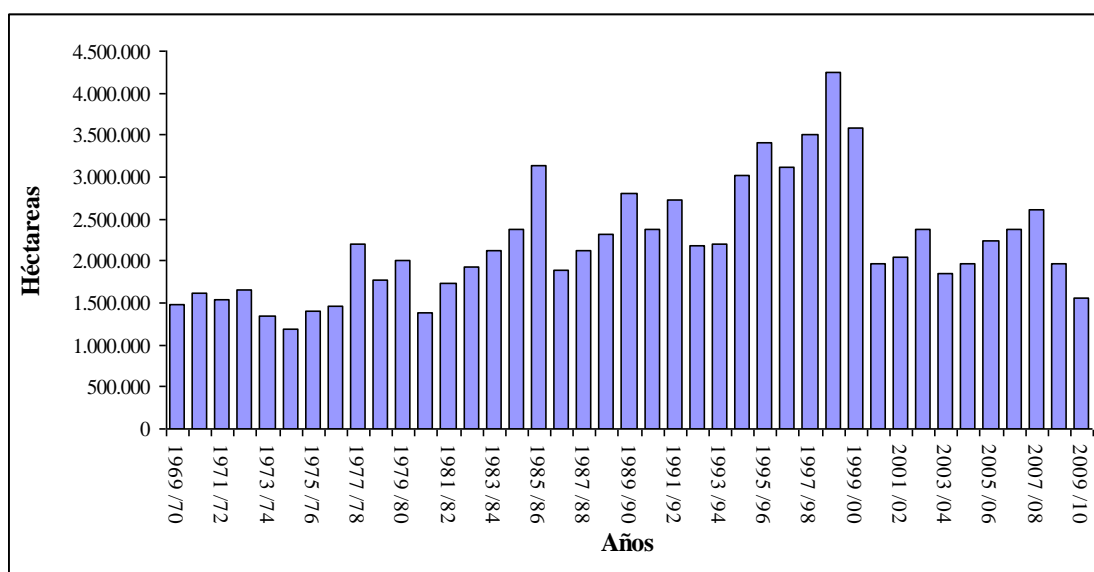


Fig. 1: Superficie implantada de girasol 1969-2010 Fuente: (MAGyP, 2010)

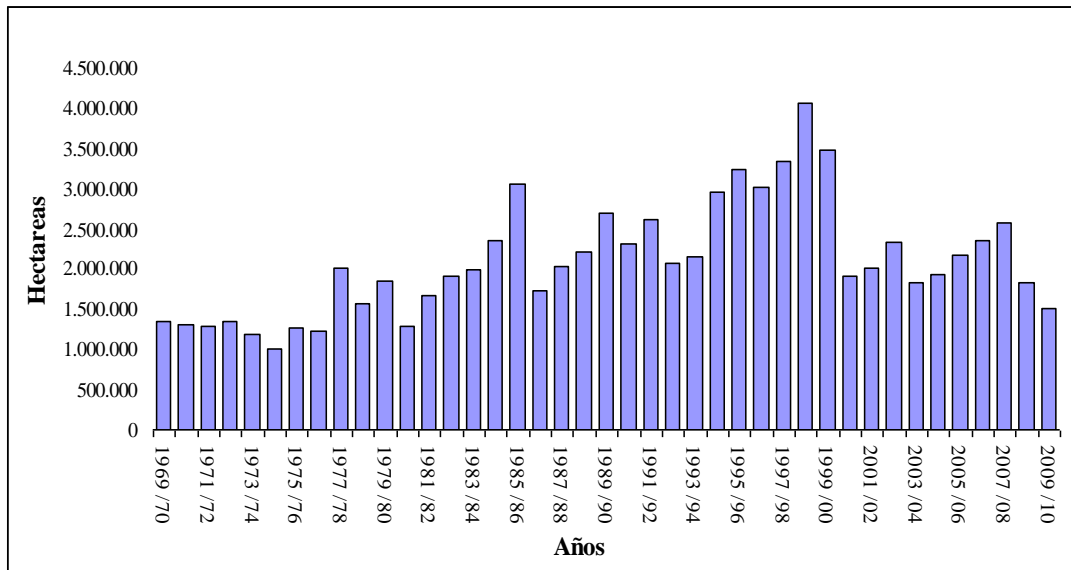


Fig. 2: Superficie cosechada de girasol 1969-2010 Fuente: (MAGyP, 2010)

Esta reducción en la implantación en la última campaña agrícola, implicó una magra producción de granos, que se ubicó en las 2.249.540 ton (Fig. 3), aunque el impacto en la reducción de rendimiento por Ha, no fue tan importante, ubicándose en promedio en 1.493 Kg ha⁻¹ (MAGyP, 2010) (Fig. 4). Esta reducción en las implantación de este cultivo se debería a la sequía que afectó a la zona de cultivo de esta especie y por otra parte al avance del cultivo de soja, este último ha desplazado al girasol hacia zonas agrícolas marginales, donde son más frecuentes los períodos de sequía.

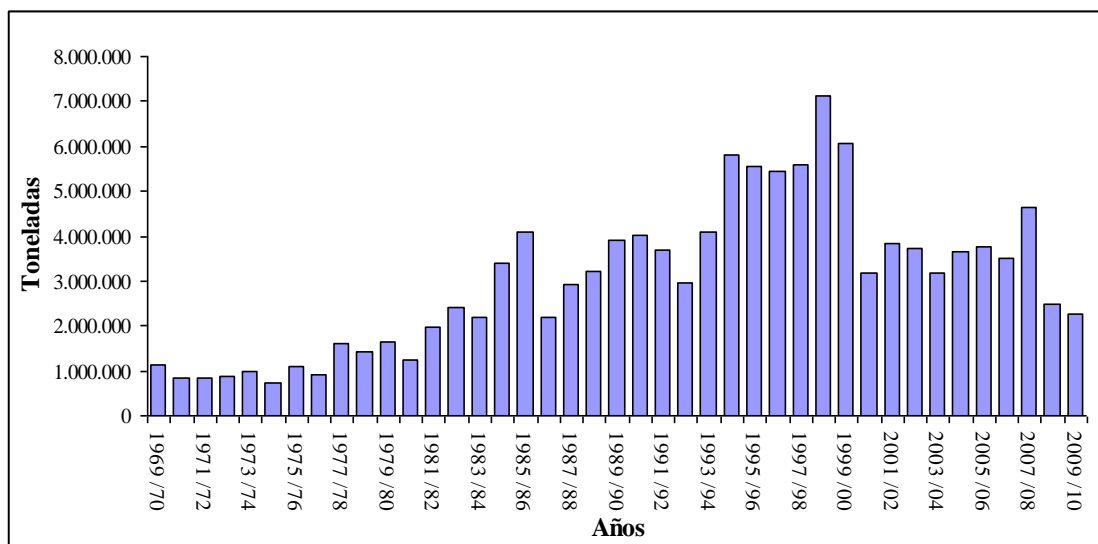


Fig. 3: Producción de girasol 1969-2010 Fuente: (MAGyP, 2010)

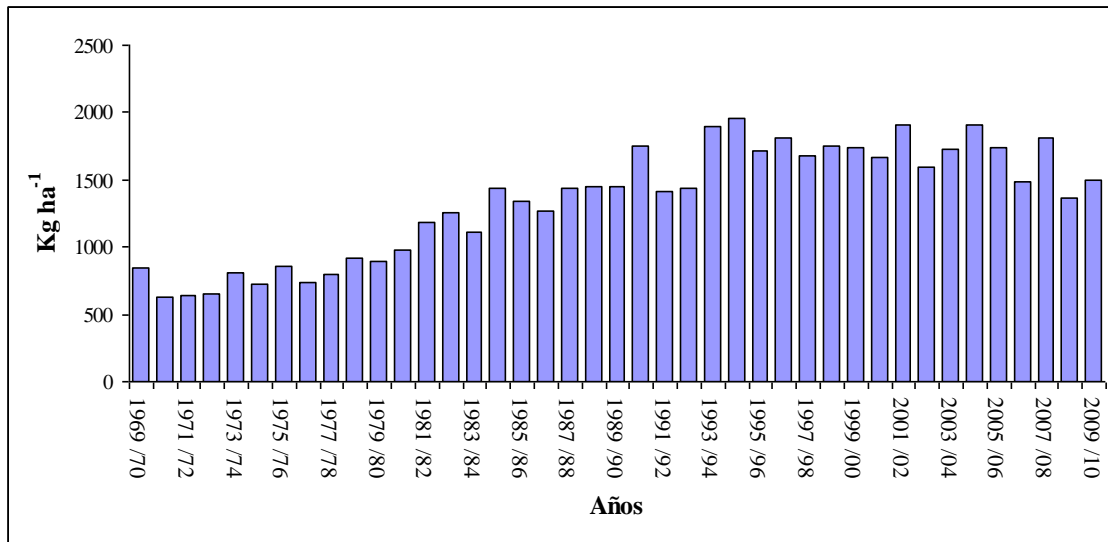


Fig. 4: Rendimiento de girasol 1969-2010 Fuente: (MAGyP, 2010)

Para la campaña actual (2010/2011) “creemos que esta holgura en los niveles de producción en el mercado de oleaginosas continuaría y los stock finales serían más altos que los de la 2009/2010, llegando a los 86,9 millones de ton”, según anticipó Jorge Domínguez Branco, representante de Molinos Río de la Plata, en base a los números del Oil World. En lo que hace a los 17 principales aceites y grasas, en la campaña 2009/2010 se esperaba una fuerte recuperación de la producción y el consumo.”Hacia septiembre de 2010 los stock finales no crecerían tanto como en el caso de las semillas, pero igualmente experimentarían una recuperación (18,18 millones de toneladas en la campaña 2009/2010, versus los 17,8 millones del ciclo previo). La producción total, en tanto, llegaría a los 168,67 millones de toneladas”, agregó el representante de Molinos Río de la Plata. Entretanto, el consumo para biodiesel también crecería, con cotizaciones al compás de los precios de los futuros del gasoil y el petróleo (Agrositio, 2010).

El área potencial del cultivo se extiende desde Chaco en el norte hasta el sur de la región pampeana (Fig. 5 mapa), siendo el segundo cultivo oleaginoso en importancia a escala nacional. Se lo utiliza principalmente para la producción de aceite y en menor medida para confitería, alimentación de aves y como ornamental (Díaz-Zorita *et al.*, 2003), habiéndose desplazado por el cultivo de soja a zonas marginales desde el punto de vista agronómico, que implica que sufra periodos de estrés hídrico, tanto en implantación, como en estadios posteriores, lo que finalmente impacta en una disminución del rendimiento del mismo que puede llegar a 1500 Kg ha⁻¹.

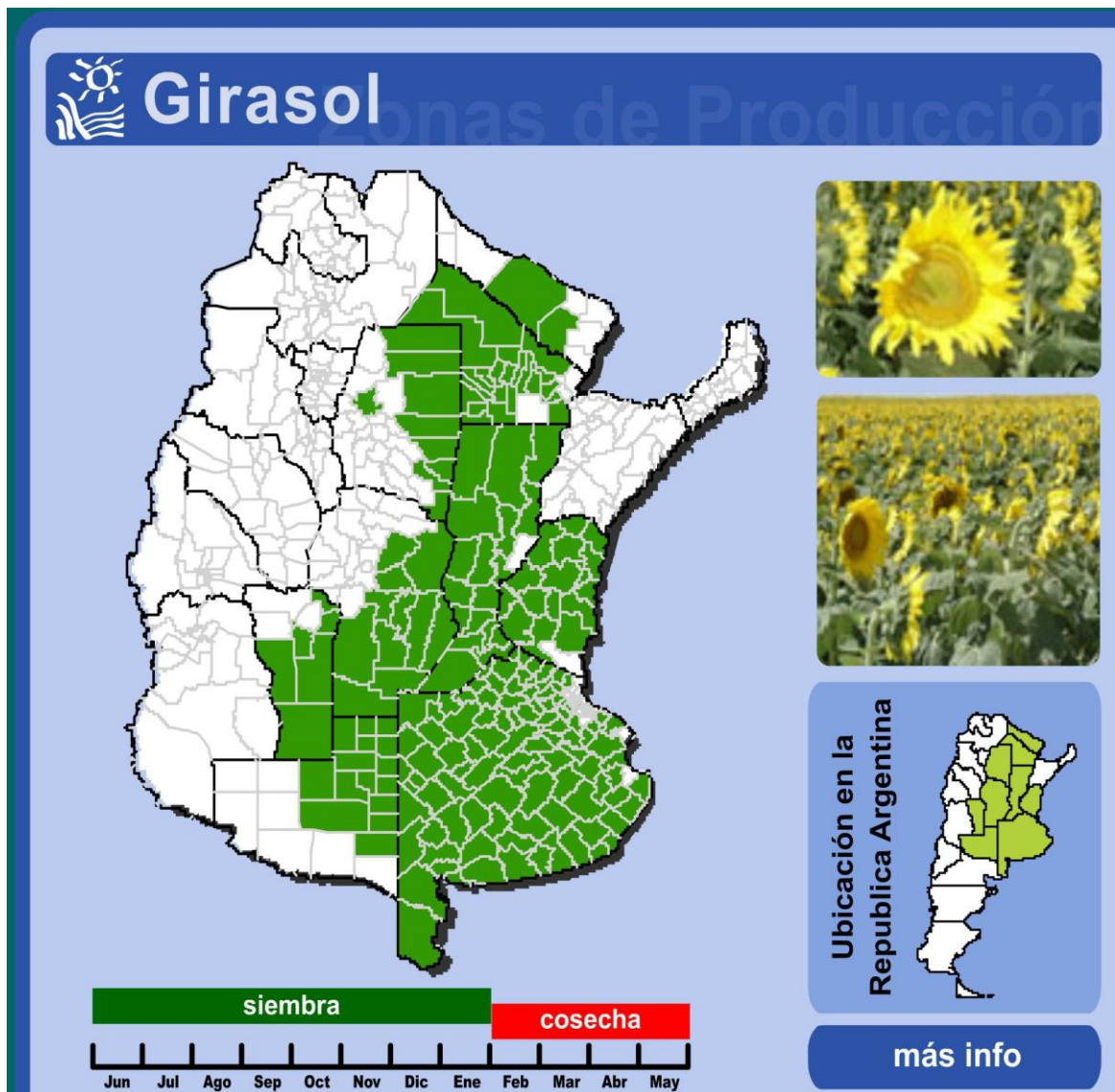


Fig. 5. Principales áreas de cultivo de girasol en Argentina. Fuente: (MAGyP, 2010)

Características del girasol

El girasol pertenece a la familia *Asteraceae*, cuyo nombre científico es *Helianthus annuus L.*, en griego *helios*, significa sol, y *anthos* flor; y el nombre de la especie (*annuus*) alude a la característica de anualidad del ciclo vegetativo - reproductivo de la planta (Alba-Ordóñez y Llanos-Company, 1990). Procede del oeste de América del Norte y se adapta fácilmente a diferentes ambientes por lo que actualmente se lo cultiva en los 5 continentes. Ingresó a la Argentina desde Rusia, en el siglo XIX, y su cultivo se expandió hasta convertir a nuestro país en el primer productor de su aceite.

Las fases fenológicas del cultivo están constituidas por:

La primera etapa del ciclo de vida del girasol comienza con la germinación y el establecimiento de las plantas en el cultivo. La segunda etapa o vegetativa, se caracteriza por el rápido desarrollo de las raíces, tallos y hojas. La tercera etapa o reproductiva, es el período comprendido entre la diferenciación floral y la antesis hasta la fecundación, ocurre el desarrollo de la inflorescencia y también se observa un gran desarrollo en altura y en la masa foliar y del tallo. Esta etapa es de suma importancia para fijar los componentes del rendimiento ya que durante la misma, no solamente se forma el capítulo, sino que también se construye el máximo potencial de almacenaje de carbohidratos y minerales de la planta. La cuarta etapa es la de la fecundación (cuajado), el llenado de los frutos y su posterior maduración (Pedraza *et al.*, 2000).

Se pueden considerar cuatro fases fenológicas, que refieren a los cambios relevantes que sufren las plantas en cada una de ellas (Trápani y López Pereira, 2004).

A- SIEMBRA – EMERGENCIA: es la fase de establecimiento del cultivo en la que tienen lugar la imbibición de las semillas, la emergencia de la radícula, el crecimiento de la plántula y la emergencia de la misma. La temperatura es el factor más importante en el control de la germinación de semillas no dormidas, en suelos no compactados y con adecuada provisión hídrica. La temperatura óptima para la germinación es cercana a los 26°C, con temperaturas máximas de 40°C y mínimas en el rango de entre 3°C y 6°C (Connor y Hall, 1997). En situaciones sin limitaciones hídricas se puede predecir la fecha de emergencia de las plántulas de girasol, conociendo la profundidad de siembra y la temperatura (Villalobos *et al.*, 1994). El agua afecta la emergencia a través de múltiples vías. Directamente, actúa sobre la imbibición de la semilla y sobre el crecimiento posterior de la plántula e indirectamente, condicionando la temperatura y la presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa del suelo. Semillas y plántulas toleran en menor medida el estrés si las comparamos con la planta adulta; por lo tanto, la habilidad de las semillas para convertirse en una planta joven está fuertemente reducida por diferentes tipos de estrés.

B- EMERGENCIA-INICIACIÓN FLORAL: esta fase comienza con la emergencia de la plántula y finaliza cuando el ápice del vástago, productor de primordios foliares, cambia su forma y actividad, pasando a diferenciar la inflorescencia y sus flores. Durante esta fase, se define la capacidad potencial del cultivo en producir área foliar, pues queda fijado el número de hojas por planta. En paralelo, comienza el proceso de establecimiento del canopeo del cultivo, asociado a la expansión de las hojas emergidas. La duración de la fase emergencia - iniciación floral, depende

principalmente del cultivar, la temperatura y el fotoperíodo. La duración de este período será generalmente menor con temperatura, radiación alta y días largos (Trápani y López Pereira, 2004).

C- INICIACIÓN FLORAL – FLORACIÓN: la fase comienza con la aparición de los primeros primordios florales en el ápice y finaliza con el comienzo de la antesis de las flores de la periferia de la inflorescencia. Durante el primer tercio de esta fase se diferencian los primordios florales. Una vez finalizada la diferenciación floral y hasta la antesis, las flores crecen y adquieren funcionalidad: los estigmas adquieren receptividad y el polen viabilidad. La duración de la fase iniciación floral – floración dependen principalmente del cultivar, la temperatura y el fotoperíodo. La temperatura tiene efectos sobre la duración del período de diferenciación de flores y sobre la tasa de diferenciación de las mismas: a mayor temperatura, la tasa aumenta, pero se acorta el tiempo durante el cual se diferencian las flores. El rango de temperaturas apropiado para obtener el mayor número de flores que llegarán a dar granos, se extiende entre los 20 y los 30°C (Chimenti *et al.*, 2001).

D- FLORACIÓN – MADUREZ FISIOLÓGICA: esta fase comienza con la antesis de las flores periféricas del capítulo y finaliza con la madurez fisiológica, cuando los granos alcanzan su máximo peso seco. Para definir madurez fisiológica en forma práctica (aunque menos precisa), se utilizan criterios que toman en cuenta los cambios de color del envés del capítulo (pasa de verdoso a amarillento) y de sus brácteas (se tornan marrones). La madurez comercial se determina según el contenido de humedad del fruto adecuado para la cosecha mecánica (13% a 15%) y teniendo en cuenta que la base para su comercialización es de 11%. La duración de la fase floración – madurez fisiológica depende principalmente del cultivar y de la temperatura. La sequía y las enfermedades puede generar un estrés severo que acelere la pérdida de hojas, interrumpiendo el crecimiento de los granos, determinando así, una menor duración de esta fase (Trápani y López Pereira, 2004).

El período de siembra del girasol se extiende durante octubre-noviembre, variando la fecha óptima de siembra según la zona del país y el cultivar seleccionado. El rendimiento (peso de frutos por unidad de superficie) puede ser dividido en diferentes componentes. Estos componentes son: el número de capítulos por unidad de superficie, el número de frutos llenos por capítulo y el peso individual de esos frutos. (Pedraza *et al.*, 2000). Según lo explicitado por Trápani *et al.* (2003), el número de granos es el componente que explica en mayor medida las variaciones en rendimiento, las variaciones en peso de los granos tienen una mayor importancia relativa que en otras especies como trigo y maíz. Es importante

acotar que el número de granos por unidad de superficie es el principal determinante del rendimiento (Aguirrezábal y Andrade, 2002).

El número de capítulos por unidad de superficie resulta del número de plantas por unidad de superficie capaces de desarrollar una inflorescencia. Dicho componente del rendimiento, depende por lo tanto, del número de semillas sembradas y de la proporción de éstas que germinan, emergen, crecen y se desarrollan. Este componente del rendimiento se define principalmente durante la germinación y la emergencia de la planta, ya que las pérdidas posteriores de plantas o capítulos son menos frecuentes, produciéndose en casos de ataques de enfermedades, quebrado o vuelco (Pedraza *et al.*, 2000).

El rendimiento en aceite del cultivo puede ser expresado en términos de sus componentes numéricos: número de granos por unidad de superficie, peso por grano y concentración de aceite (Trápani *et al.*, 2003).

Acción de las bacterias promotoras del crecimiento rizosférico

Las bacterias promotoras del crecimiento rizosférico (PGPR) asociadas durante varios años con plantas sometidas a condiciones estresantes del medio ambiente, podrían estar mejor adaptadas y proveer un beneficio importante a la planta. Ha sido demostrado que las bacterias crecidas en sitios donde el agua es limitada o donde se suceden frecuentes períodos de sequía promueven mejor el crecimiento, que si crecieran en sitios donde el agua es abundante (Mayak *et al.*, 2004). Muchas PGPR del suelo, tales como *Azospirillum sp.*, *Azotobacter sp.*, *Pseudomonas* y *Bacillus* producen fitohormonas tales como ácido indol acético (Srinivasan *et al.*, 1996; Zakharova *et al.*, 1999; Khalid *et al.*, 2004), ácido indol butírico (Martínez-Morales *et al.*, 2003), giberelinas (Gutierrez-Mañero *et al.*, 2001), citoquininas (Dobbelaere *et al.*, 2003), octadecanoícos y compuestos con funciones similares a la de jasmonatos (JAs) (Ping y Boland 2004).

A las rizobacterias benéficas que estimulan en forma directa el crecimiento de las plantas se las conoce como Plant Growth Promoting Rizobacteria (PGPR), denominadas así por Kloepper *et al.*, (1989). Actualmente ha surgido otra denominación Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB), reconociendo además a las BIOCONTROL-PGPB como las bacterias capaces de promover el crecimiento vegetal por mecanismos indirectos propuesta por Bashan y *et al.* (2008). La introducción de bacterias benéficas puede normalizar y en algunos casos mejorar el funcionamiento de la planta bajo condiciones estresantes del medioambiente, y además preservar o incrementar el rendimiento de los cultivos (Bensalim *et al.*, 1998).

Los mecanismos benéficos PGPR resultan de la suma de efectos favorables parciales tales como aumento del crecimiento, mineralización de materia orgánica, mejoramiento de la disponibilidad de nutrientes, detoxificación y cambios benéficos en el balance hormonal de las plantas. Otro efecto remarcable de las PGPR es su habilidad como agente de control biológico contra patógenos, particularmente hongos (Kloepper *et al.*, 1992; Linderman, 1994; Edwards *et al.*, 1998). Existen diversas especies bacterianas con capacidad PGPB, siendo las más conocidas *Acetobacter sp.*, *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum* y *Pseudomonas* (Weller y Thomashow, 1994; Glick, 1995; Probanza *et al.*, 1996). A continuación, se mencionan las principales características de cada microorganismo:

1-Bacillus es una bacteria Gram-positiva; formadora de esporas y con alta tolerancia a condiciones ambientales adversas. Las especies de *Bacillus* comprenden uno de los grupos de bacterias del suelo más comunes y son aisladas frecuentemente de la rizósfera de la planta y también como microorganismos endofíticos (Liu y Sinclair, 1989; Misaghi y Donndelinger, 1990; Sturz y Christie, 1995; Kobayashi y Palumbo, 2000; Araujo y *et al.*, 2001). Debido a su capacidad de formar esporas, las cepas de *Bacillus* son fácilmente adaptables a formulaciones comerciales y a su aplicación a campo (Liu y Sinclair, 1993). El uso de biopesticidas basado en bacterias endofíticas para el control de enfermedades de plantas es considerado una alternativa ecológica promisoría en relación al uso de compuestos químicos. Las cepas de *Bacillus* tienen varias ventajas sobre otras bacterias biocontroladoras, y ellas son: (I) más fáciles de cultivar y almacenar; (II) las esporas pueden ser aplicadas como esporas o sobre las semillas como inoculantes; (III) cumplen un rol protectorio contra varios microorganismos patógenos; (IV) promueven el crecimiento de la planta.

2-Achromobacter spp. es un bacilo Gram-negativo, aerobio, no fermentativo, catalasa y oxidasa positiva. Este género fue citado por (Koch *et al.*, 1974) como fijador de nitrógeno de *vida libre*.

Las PGPR pueden afectar directa o indirectamente el crecimiento de la planta. La estimulación directa incluye aquellos mecanismos en los cuales la bacteria sintetiza compuestos que benefician al vegetal o facilita la incorporación de nutrientes desde el medioambiente (Sivan y Chet, 1992, Glick *et al.*, 1997). Dentro de estos mecanismos podemos mencionar la fijación del nitrógeno atmosférico (James, 2000), la síntesis de fitohormonas (Burdman *et al.*, 2000; Lambrecht *et al.*, 2000), la producción de sideróforos (Richardson, 2001, Wandersman y Delepelaire, 2004) y la solubilización de fósforo (Nautiyal *et al.*, 2000). La estimulación indirecta incluye una variedad de mecanismos a través de los cuales las bacterias disminuyen o previenen los efectos deletéreos o dañinos de uno o más organismos fitopatógenos, vía producción de sideróforos (Richardson, 2001; Wandersman y Delepelaire, 2004), síntesis de antibióticos (Thomashow y Weller, 1995), y

acción de enzimas líticas en la zona de la rizósfera y en la degradación de paredes celulares de fitopatógenos, como ser quitinasas, proteasas, β -1,3-glucanasas y celulasas. Las enzimas celulasas son producidas por una variedad de bacterias y hongos aeróbicos o anaeróbicos, mesófilas o termófilos; sin embargo, sólo algunos, producen enzimas celulasa extracelular capaz de hidrolizar la celulosa. Entre las bacterias que producen estas enzimas líticas, encontramos al género *Bacillus*, el cual presenta básicamente actividad endo- β -1,4-glucanasa y exo- β -1,4-glucanasa (Ljungdahl y Eriksson, 1985) y en el caso de *Bacillus pumilus* es además productor de proteasa alcalina (Feng *et al.*, 2001), lo cual lo posiciona como un microorganismo con capacidad de biocontrol de fitopatógenos en el suelo. Especies de *Bacillus spp.* producen compuestos con efecto antifungal contra los hongos patógenos de plantas (Chitarra *et al.*, 2003; Kajimura *et al.*, 1995; Souto *et al.*, 2004; Yu *et al.*, 2002); la cepa BNM112 de *Bacillus spp.* aislada de un esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* del capítulo de girasol, excreta metabolitos antifúngicos que inhiben el crecimiento del hongo (Souto *et al.*, 2004).

La acción conjunta de los mecanismos directos e indirectos resulta en un incremento del crecimiento de las plantas, a través de un incremento en la emergencia, vigor y peso de plántulas, así como un mayor desarrollo de sistemas radiculares y un incremento hasta del 30 % en la producción de cultivos de interés comercial como papa, trigo y soja (Dashti *et al.*, 1997).

De todas maneras, muchos intentos de introducir bacterias benéficas no residentes en la rizósfera de cultivos agrícolas han fracasado debido a dificultades de establecimiento y aclimatación con comunidades microbianas nativas. A partir de esta dificultad, es que nuestro grupo de trabajo aisló 29 cepas bacterianas de raíces de plantas de girasol crecidas en irrigación y sequía, las cuales fueron caracterizadas morfológicamente y posteriormente por sus características PGPR, para lo cual se evaluó la capacidad de fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos, actividad 1-aminocloropropano 1 carboxilo desaminasa (ACCd), actividad celulolítica, proteolítica e inhibición de hongos fitopatógenos (Forchetti *et al.*, 2007).

En base a la capacidad de fijar de nitrógeno, nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de la planta y limitante de la producción agrícola en grandes extensiones del país, se seleccionaron 8 cepas, denominadas SF1, SF2, SF3, SF4, SF5, SF6, SF7 y SF8 (Sunflower). Posteriormente, mediante la caracterización genotípica (16S rDNA) se diferenciaron las 8 cepas bacterianas de la siguiente manera, las cepas SF1, SF3, SF4, SF5, SF6, SF7 y SF8 presentaron una analogía del 99.9% a *Bacillus pumilus*, y la cepa SF2 a *Achromobacter xiloxosidans* (Forchetti *et al.*, 2007).

Las cepas de *Achromobacter sp.* (SF2) y *Bacillus sp.* (SF4) se eligieron por su mayor capacidad de solubilizar fosfatos, lo cual contribuye a una mayor disponibilidad de un

nutriente que es muy importante para el rendimiento del cultivo. Por otra parte, tales cepas inhibieron el crecimiento de hongos específicos de girasol, siendo mayor la inhibición del crecimiento de *Verticillium orense* que de *Sclerotinia sclerotiorum*, mientras que el efecto inhibitorio en *Alternaria* sp. no fue significativo. Esta capacidad biocontroladora, podría mejorar indirectamente el crecimiento de las plantas en condiciones ambientales normales y estresantes.

Hipótesis

Bacterias de *Achromobacter xiloxosidans* y *Bacillus pumillus* con características PGPR capaces de crecer en condiciones de escasez de agua, promoverán el crecimiento y rendimiento de plantas de girasol en condiciones controladas a campo.

Objetivo

Evaluar en condiciones de campo el efecto PGPR (rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal) sobre plantas de girasol, utilizando bacterias de *Achromobacter xiloxosidans*, cepa SF₂ y *Bacillus pumillus*, cepa SF₄, aisladas de la rizósfera del mismo cultivo a campo en condiciones de secano.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el campo experimental de la Estación Experimental del INTA Manfredi, ubicado en Ruta Nac. N° 9., km. 636, Manfredi, Córdoba, Argentina, durante las campañas agrícolas 07/08 y 08/09.

Se utilizó germoplasma comercial de girasol Paraíso 24. Los ensayos de inoculación se realizaron durante dos ciclos agrícolas consecutivos, las cepas evaluadas fueron la SF2 de *Achromobacter xiloxidans* (Ax) y la SF4 de *Bacillus pumilus* (Bp), en las campañas agrícolas 2007/2008 y 2008/2009.

La siembra de la campaña 07/08 se realizó el 29 de Diciembre del 2007 y en la campaña 08/09 la siembra se realizó el 20 de noviembre 2008 y los tratamientos evaluados fueron: 1.- T, Testigo, plantas sin inocular; 2.- TF, plantas sin inocular y con nitrógeno en forma de Urea (130 Kg./Ha) 3.- Ax, cepa SF2, plantas inoculadas con Ax, cepa SF2; 4.- Bp, cepa SF4, plantas inoculadas con Bp, cepa SF4; 5.- Azo, cepa *Azospirillum* sp, plantas inoculadas con Azo, cepa bacteriana comercial de *Azospirillum* sp; 6.- Azo + Nit, cepa *Azospirillum*, plantas inoculadas con Azo, cepa bacteriana comercial de *Azospirillum* sp. y Fertilizada con nitrógeno en forma de Urea (130 Kg./Ha); 7.- Ax + Nit, cepa SF2, plantas inoculadas con Ax, cepa SF2 y fertilizada con nitrógeno en forma de Urea (130 Kg./Ha); 8.- Bp + Nit, cepa SF4, plantas inoculadas con Bp, cepa SF4 y fertilizada con nitrógeno en forma de Urea (130 Kg./Ha).

La inoculación se realizó con el agregado de 1 ml de cultivo bacteriano crecido en medio LB (Luria-Bertani), a 28 °C/100 RPM, hasta alcanzar una densidad óptica a 564 nm de 0.75-1 con (10^8 - 10^9 ufc/ml), ello disuelto en 0.16 ml de adherente cada 100 g de semillas de girasol; o sea, 500 cc de inoculante + 80 cc de adherente protector concentrado soluble (Derivado celulósico) de Laboratorio López, por cada 50 kg de semillas.

En ambas campañas se realizaron los mismos controles de plagas y malezas. En pre-emergencia se realizó la aplicación de Flurocloridona 1.250 lts/ha con Acetoclor 1.250 lts/ha y glifosato 3.5 lts/ha para control de malezas, y cipermetrina 150 cc³/ha para control de insectos de suelo. Como post-emergente, a los 40 días de la siembra, se aplicó (70 cc³/ha) de Select y a los 60 días de la siembra se aplicó 200 cc³/ha de cipermetrina + 600 cc³/ha clorpirifos para el control de isoca medidora.

El diseño experimental se correspondió con un Alpha Lattice con 4 repeticiones al azar, y colocadas en 2 hileras de 5.10 metros. Los datos fueron analizados mediante una test ANNOVA, utilizando para ello el programa estadístico SAS (Statistical Analysis Software), versión 8.

Las cosechas se realizaron el 9 de abril del 2008 y 20 de marzo del 2009 respectivamente para las campañas agrícolas 07/08 y 08/09. La evaluación del efecto de las

PGPR, se realizó midiendo entre 3 a 5 plantas por repetición y tratamiento las siguientes variables:

ABREVIATURA	VARIABLE	ESTADIO *2
CAP	Capítulos cosechados / parcela (n°).	R9
RENSH	Rendimiento grano / ha (ajustado 11% humedad) (kg/ha.).	R9
MG	Contenido de aceite (%)	R9
PS	Peso de 1000 semillas (g).	R9
RENMGH	Rendimiento materia grasa / ha (S.M.SECA) (kg/ha.) *1	R9
PLH	Plantas / ha (n°).	R9
HUM	Humedad (%)	R7
NSC	Número de semillas por capítulo	R9

*1 Determinado con un equipo de resonancia magnética nuclear, disponible en el INTA EEA Manfredi

*2 Los estados fonológicos fueron determinados según clasificación de (Schneiter & Miller., 1981).

RESULTADOS

En el peso de mil semillas evaluado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con respecto al control (peso 73.98 g). Sin embargo, aquellas plantas inoculadas con la cepa *Bp* más Nitrógeno (*Nit + Bp*) fue superior en 2.82 g con respecto al control, mientras que con la cepa *Ax* tuvo una diferencia de 1.81 g y con la cepa *Azo* solo mostró un incremento de 1.1 g por encima del control. Porcentualmente el aumento del peso de mil semillas fue de 3.81%, 2.45% y 1.5% para las plantas inoculadas con las bacterias *Nit + Bp*, *Ax* y *Azo* respectivamente. Los demás tratamientos presentaron un peso de mil semillas por debajo del control (Fig. 6).

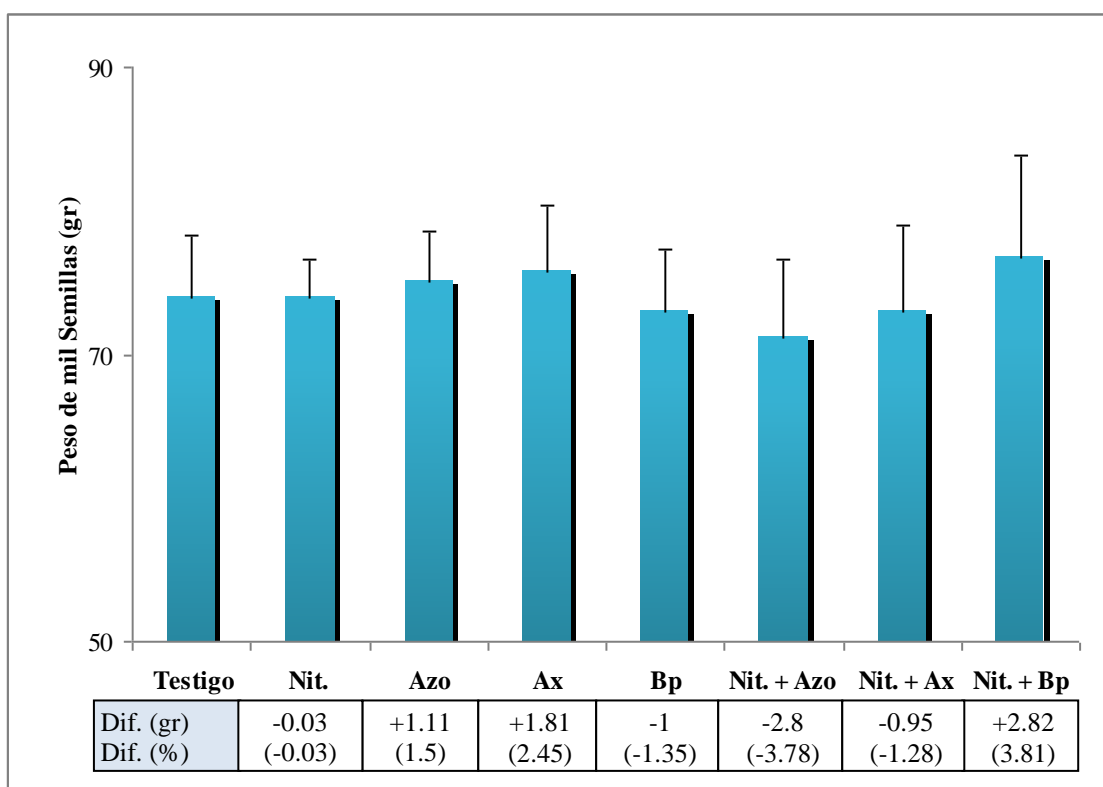


Fig. 6. Peso de mil semillas de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (*Nit*), y/o inoculadas con *Azopirillum* (*Azo*), *Bacillus pumilus* (*Bp*), *Acrhomobacter xilosoxidans* (*Ax*). Valor medio campañas agrícolas 2007/2008 y 2008/2009.

En referencia al carácter número de semillas por capítulo, si bien no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con respecto al control (Fig. 7) (573.91 semillas por capítulo), algunos tratamientos se comportaron mejor que el control, entre ellos podemos mencionar a las plantas inoculadas con las cepas *Nit* + *Azo* con un número de semillas por capítulo de 118.05 por encima del control, *Bp* con un número de semillas por capítulo de 109.25 y *Nit* + *Bp* con un número de semillas por capítulo superior en 79.86 respecto al control, en porcentaje el número de semillas por capítulo representa el 20.59%, 19.03% y 13.91% para las plantas inoculadas con las bacterias *Nit* + *Azo*, *Bp* y *Nit* + *Bp* respectivamente, mientras que los demás tratamientos muestran un peso de mil semillas menor que el control.

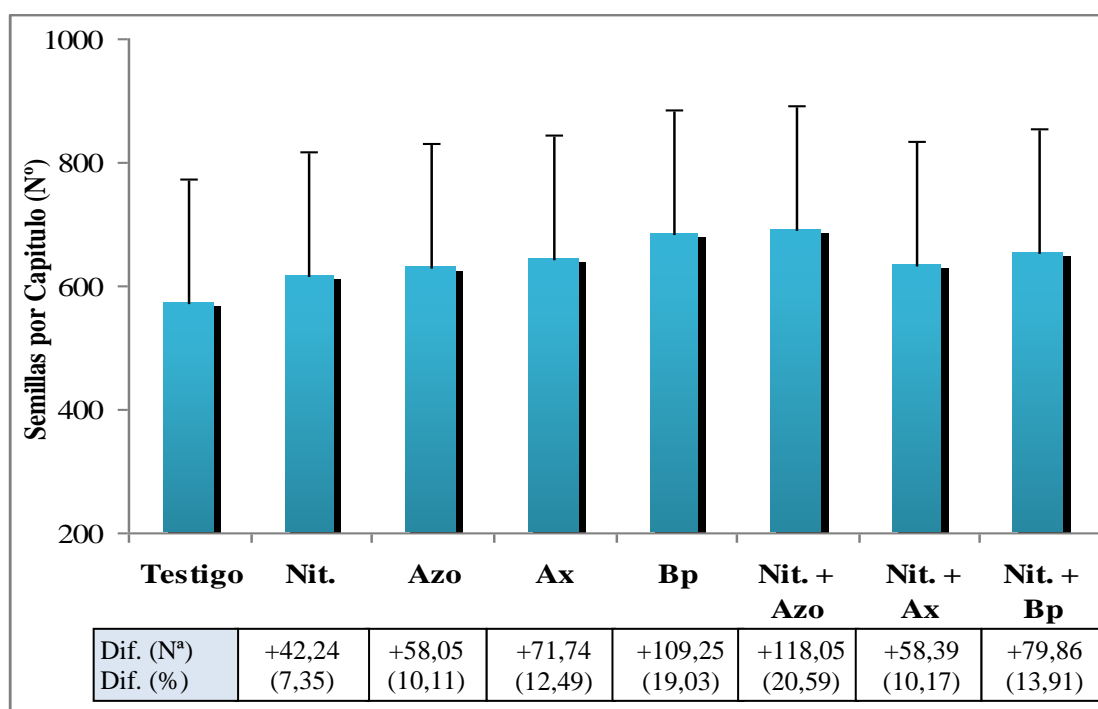


Fig. 7. Número de Semillas por Capítulo de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (*Nit*), y/o inoculadas con *Azopirillum* (*Azo*), *Bacillus pumilus* (*Bp*), *Acrhomobacter xilosoxidans* (*Ax*). Valor medio campañas agrícolas 2007/2008 y 2008/2009.

Con respecto a la humedad de los granos se observó poca variación entre los tratamientos, no presentando diferencias significativas (Fig. 8). Para determinar el rendimiento de granos y materia grasa todos los tratamientos de ajustaron a una humedad del 11%, porque si partimos con diferentes humedades los que tengan un mayor porcentaje de la misma van a expresar esa diferencia de humedad como peso de grano.

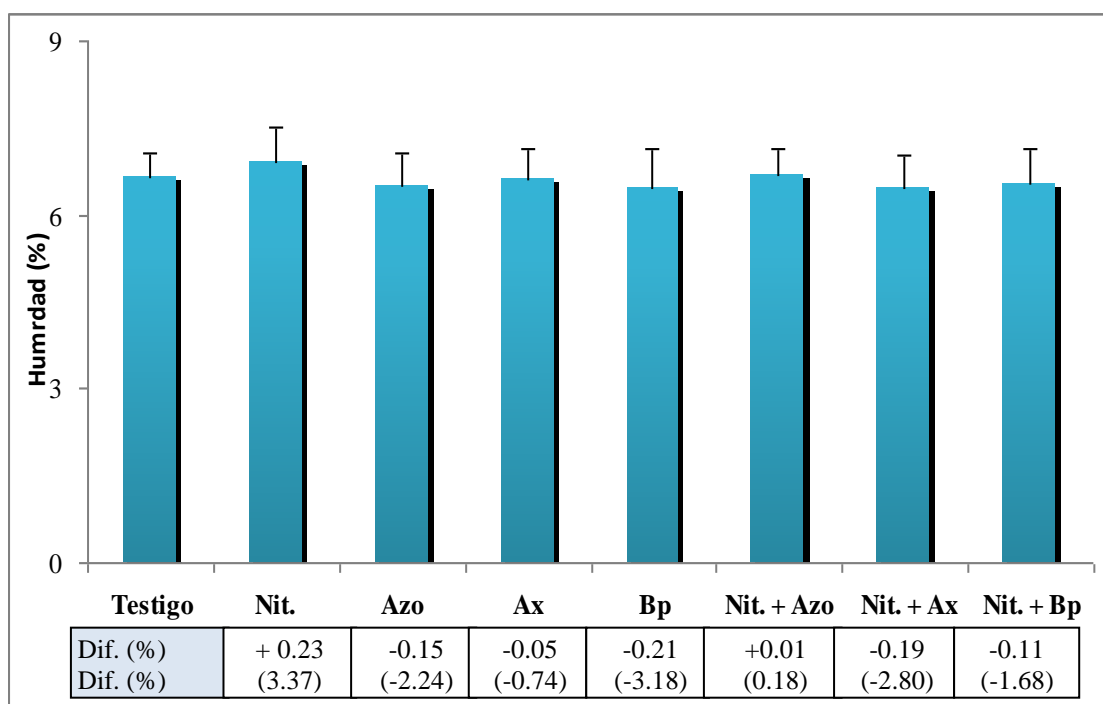


Fig. 8. % Humedad de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (*Nit*), y/o inoculadas con *Azopirillum* (*Azo*), *Bacillus pumilus* (*Bp*), *Acrhomobacter xilosoxidans* (*Ax*). Valor medio campañas agrícolas 2007/2008 y 2008/2009.

Los resultados obtenidos muestran que las plantas inoculadas con las 2 cepas bacterianas nativas de girasol, si bien no presentaron diferencias significativas con respecto al control (rindió 1864.31 Kg ha⁻¹), presentaron una mejora en el rendimiento de granos de 325.43 Kg ha⁻¹ por encima del control en las plantas inoculadas con *Bp* y de 294.78 Kg ha⁻¹ en las plantas inoculadas con *Ax*, lo cual en términos porcentuales implica un incremento del rendimiento de granos por hectárea del 17.45% y el 15.84% para las plantas inoculadas con las bacterias *Bp* y *Ax* respectivamente (Fig. 9).

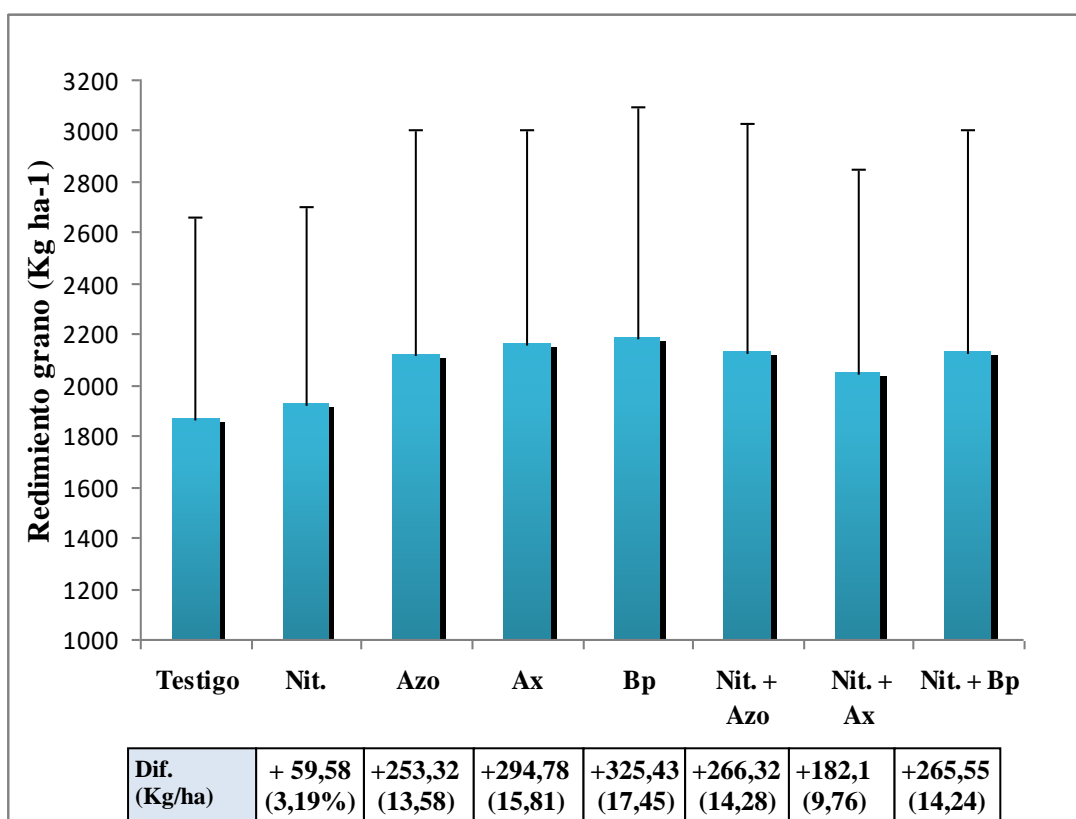


Fig. 9. Rendimiento de grano ajustado por humedad de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (*Nit*), y/o inoculadas con *Azospirillum* (*Azo*), *Bacillus pumilus* (*Bp*), *Acromobacter xilosoxidans* (*Ax*). Valor medio campañas agrícolas 2007/2008 y 2008/2009.

El porcentaje de materia grasa no presentó diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 10).

En cuanto al rendimiento de materia grasa, aunque no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos con respecto al rendimiento del control (704.66 Kg ha⁻¹), las plantas inoculadas con la cepa *Bp* presentaron una mejora en el rendimiento de 127.8 Kg ha⁻¹, siendo este parámetro similar para aquellas plantas inoculadas con la cepa *Nit + Bp* que rindió 117.89 Kg ha⁻¹ por encima del control, lo que implica un incremento del rendimiento de materia grasa por hectárea del 18.3% al 16.73% para las plantas inoculadas con las bacterias *Bp* y *Nit + Bp* respectivamente (Fig. 11).

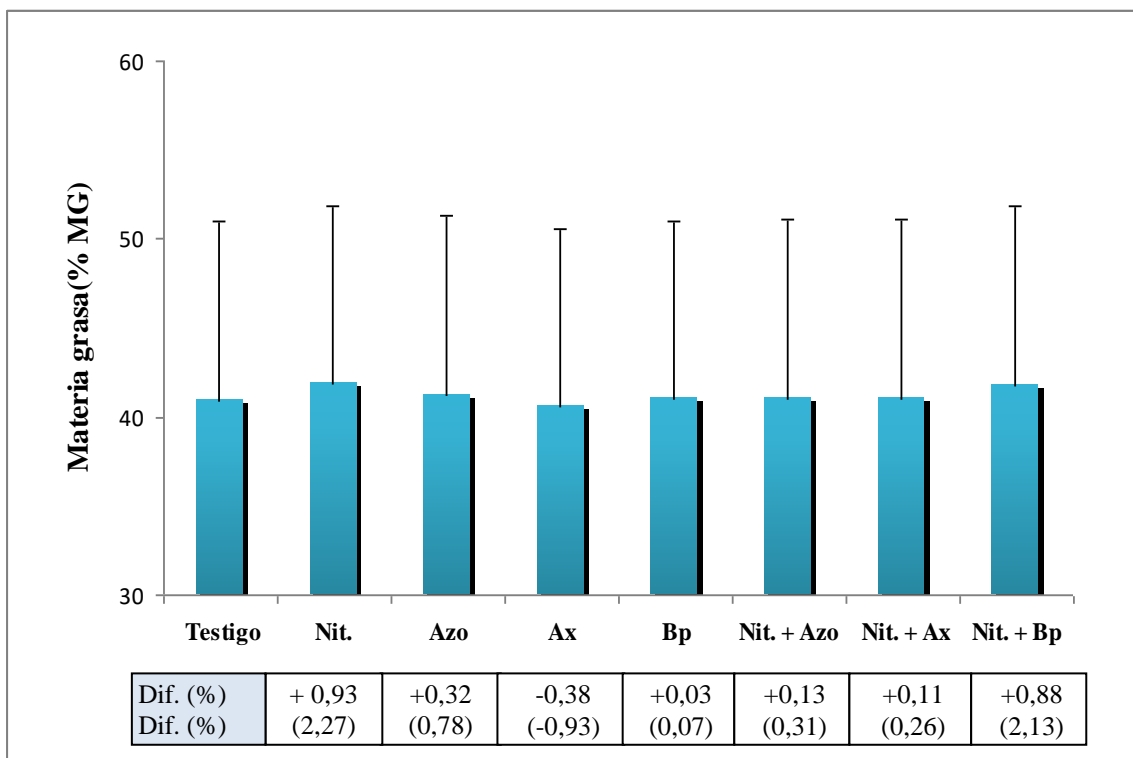


Fig. N° 10: % Materia Grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (*Nit*), y/o inoculadas con *Azopirillum* (*Azo*), *Bacillus pumilus* (*Bp*), *Acrhomobacter xilosoxidans* (*Ax*). Valor medio campañas agrícolas 2007/2008 y 2008/2009.

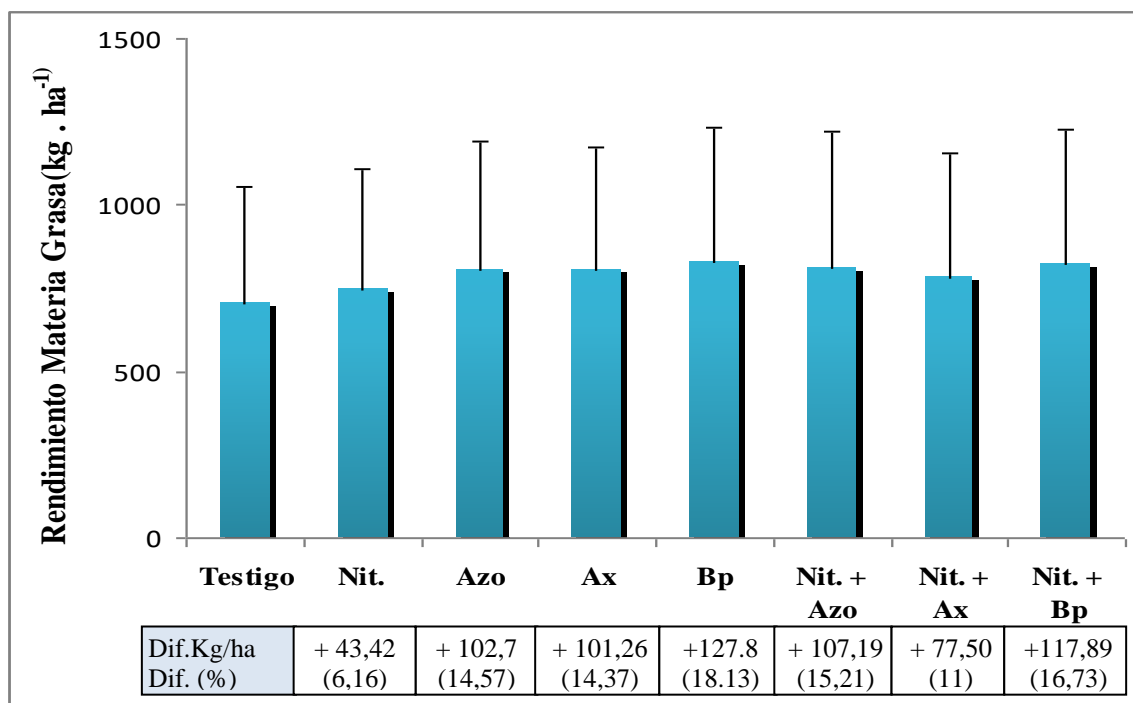


Fig. N° 11: Rendimiento materia grasa ajustado por humedad de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (*Nit*), y/o inoculadas con *Azopirillum* (*Azo*), *Bacillus pumilus* (*Bp*), *Acrhomobacter xilosoxidans* (*Ax*). Valor medio campañas agrícolas 2007/2008 y 2008/2009.

DISCUSIÓN

Tanto la inoculación con cepas nativas (*Bp* y *Ax*) como la inoculación con cepas comerciales (*Azo*) mostraron incrementos en el rendimiento en granos y aceite en los cultivos de girasol evaluados, ubicándose por encima de la fertilización química, lo que evidencia que hay una asociación benéfica por parte de estas PGPR con la especie vegetal estudiada. En referencia a las cepas nativas *Bp* y *Ax*, que fueron utilizadas en estos ensayos de campo, las mismas han mostrado características PGPR, como la capacidad que tienen para solubilizar fosfatos, producir sideróforos, por su actividad antifúngica, catalasa y oxidasa positiva, proteasa y celulasa como la producción de ácido jasmónico, ácido 12-oxo-fitodienoico y ácido abscísico (Forcheti *et al.*, 2007).

Las plantas inoculadas con las cepas nativas *Nit + Bp*, *Ax* y *Azo* (Fig. 6), aumentaron el peso de las mil semillas con respecto al control, mientras que el número de semillas por capítulo se incrementó en las plantas inoculadas con las cepas *Nit +Azo*, *Bp* y *Nit +Bp* (Fig. 7), lo cual concuerda con los resultados de Gholami *et al.* (2009) en maíz, quien demostró incrementos de peso de las semillas y número de semillas por espiga, utilizando distintos géneros de *Pseudomonas* y *Azospirillum* en su inoculación, y Yasari y Patwardhan (2007) quienes mostraron incrementos en el peso de mil semillas en canola cuando las mismas fueron inoculadas con otras PGPR como *Azotobacter* y *Azospirillum*.

A partir de lo expuesto y considerando que las variables que definen el rendimiento son el número y peso de los granos (Trápani *et al.* 2003), se observó que en los tratamientos de inoculación efectuados con la cepa *Bp* las plantas presentaron bajo Peso de Mil Semillas pero mayor cantidad de semillas por capítulo, lo cual implicó que este tratamiento presentara el mayor rendimiento en granos por ha. Por otra parte la cepa *Ax* si bien no presentó un fuerte incremento en el número de semillas por capítulo, mostró uno de los pesos por grano mas altos, quedando como la segunda cepa que mas rindió en granos por ha. (Fig. 9). Estos resultados coinciden con lo reportado por Turan Metin *et al.*, (2010), que demostraron aumentos en el rendimiento total del cultivo de trigo por la aplicación de cepas (PGPR) fijadoras de N₂ y solubilizadoras del P, utilizando distintos géneros de *Bacillus*, *Azospirillum*, *Paenibacillus* y *Raoultell*, como así también lo informado por Yasari y Patwardhan (2007) en canola, Gholami *et al.*, (2009) en maíz y Zehra Ekin (2010) en girasol, trabajando este ultimo autor con cepas de *Bacillus*.

Cabe aclarar, que si bien la cepa *Azo* tuvo un buen comportamiento en el peso de las mil semillas, fue una de las cepas que tuvo el menor número de granos por capítulo, lo cual implicó una disminución del rendimiento de granos por ha. en referencia a las otras cepas evaluadas.

El rendimiento de materia grasa por hectárea fue mayor en el tratamiento que fue inoculado con la cepa nativa *Bp*, y luego encontramos al tratamiento donde al cultivo se le agrega a parte de esta cepa un fertilizante nitrogenado (*Nit + Bp*) según se puede observar en la Fig. 11, siendo un componente importante de este rendimiento el porcentaje de materia grasa, el cual se mostró superior al control cuando se uso *Nit* y la cepa *Nit + Bp* (Fig. 10), lo cual está en concordancia con lo propuesto por Zehra Ekin (2010), que realizó su investigación con cepas de *Bacillus* y encontró aumentos del rendimiento y contenido de aceite en el cultivo de girasol.

Teniendo en cuenta que uno de los componentes que determina el rendimiento de materia grasa es el porcentaje de materia grasa (Trápani y *et al.*, 2003), se observó que la cepa *Bp* tiene menos porcentaje que *Nit + Bp* (Fig. 10), pero tiene el mayor rendimiento de granos por ha., haciendo que la misma tenga el mayor rendimiento en materia grasa por ha.

CONCLUSIÓN

- El cultivo de girasol mostró mayor rendimiento de granos por ha., cuando fueron inoculadas con cepas nativas de girasol (*Ax* y *Bp*).
- Las cepas bacterianas nativas y comercial (*Azo*) permitieron obtener un mayor rendimiento de materia grasa por ha. en girasol.
- La influencia de las inoculaciones con estas estirpes bacterianas sobre el rendimiento del cultivo supero a los de los cultivos fertilizados químicamente y en algunos casos a los inoculados con bacterias no nativas. Estos nuevos productos podrían mejorar la eficiencia del cultivo en condiciones agro-ecológicas marginales desde un punto de vista agrícola al no generar disminución del agua útil del suelo para uso de la planta y presentar además la ventaja de ser amigables con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFIA

- AGROSITIO. 2010. En: www.agrositio.com/vertex/vertex.asp?id=112749&se=1001. Consultado: 18-02-10.
- AGUIRREZABAL, L.A.N. y F.H. ANDRADE. 2002. **Ecofisiología**. En: *Manual práctico para el cultivo de girasol*. Ed. Hemisferio sur S.A. Buenos Aires, Argentina. 1ª Edición, Cap. 2. p: 39-42.
- ALBA-ORDOÑES, A. y M. LLANOS-COMPANY. 1990. **El cultivo de girasol**. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 158p.
- ARAUJO, W., W. MACCHERONI, C. AGUILAR-VILDOSA, P. BAROSO, H. SARIDAKIS y J. AZEVEDO. 2001. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissue of citrus rootstocks. **Can J Microbiol.** 47: 229-236.
- ASAGIR, 2008. En: www.asagir.org.ar/asagir2008/importancia-economica.asp. Consultado: 02-03-2010.
- BASHAN, Y., M. PUENTE, L. BASHAN y P. HERNÁNDEZ. 2008. **Environmental uses of plant growth-promoting bacteria**. En: *Plant-Microbe Interactions*. Eds. Ait Barka E. y Clément C. Cap. 4. p: 69-93.
- BENSALIM, S., J. NOWAK y S.K. ASIYEDU. 1998. A plant growth promoting rhizobacterium and temperature effects on performance of 18 clones of potato. **Am J Potato Res.** 75: 145-152.
- BURDMAN, S., E. JURKEVITCH Y Y. OKON. 2000. **Recent advances in the use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in agriculture**. En: *Microbial Interactions in Agriculture and Forestry*. Eds. Subba Rao N.S., Domergues Y.R. Ed. Science Publishers Inc. Plymouth, UK. Volumen 2 p: 229-250.
- CHIMENTI, C.A., A.J. HALL y M.S. LOPEZ. 2001. Embryo-growth rate and duration in sunflower as affected by temperature. **Field Crops Res.** 69: 81-88.

CHITARRA, G.S., P. BREEUWER, M.J.R. NOUT, A.C. VAN AELST, F.M. ROMBOUST y T. ABEE. 2003. An antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* YM 10-20 inhibits germination of *Penicillium roqueforti* conidiospore. **J Appl Microbiol.** 94: 159-166.

CONNOR, D.J. y A.J. HALL. 1997. *Sunflower Technology and Production*. Monografía de Agronomía N° 35. American Society of Agronomy, Science Society of America. 113-181 p.

DASHTI, N., F. ZHANG, R. HYNES, y D.L. SMITH. 1997. Application of plant growth promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max* (L) Merr.) increases protein and dry matter yield under short-season conditions. **Plant Soil.** 188: 33-41.

DIAZ-ZORITA, M., G.A. DUARTE Y E. PLANTE DIAZ-ZORITA. 2003. El cultivo de girasol. Ed. ASAGIR. 9p.

DOBBELAERE, S.J., J. VANDERLEYDEN y Y. OKON. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rizosphere. **Crit Rev in Plant Sci.** 22: 107-149.

EDWARDS, S.G., J.P.W. YOUNG y A.H. FITTER. 1998. Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae* an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere. **FEMS Microbiol Lett.** 166(2): 297-303

FENG Y.Y., W.B. YANG, S.L. ONG, J.Y. HU, y W.J. NG. 2001. Fermentation of starch for enhanced alkaline protease production by constructing an alkalophilic *Bacillus strain*. **Appl. Microbiol Biotechnol.** 57: 153-60.

FORCHETTI, G., O. MASCIARELLI, S. ALEMANO, D. ALVAREZ y G. ABDALA. 2007. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): isolation, characterization, production of jasmonates and abscisic acid in culture medium. **Appl Microbiol Biothech.** 76: 1145-1152.

GHOLAMI, A., S. SHAHSAVANI y S. NEZARAT. 2009. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of Maize. **WASET.** 49: 19-24.

GLICK, B.R. 1995. Enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Can. J. Microbiol.** 4: 109–117.

GLICK, B.R., C. LIU, S. GHOSH y E.B. DUMBROFF. 1997. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR 12-2. **Soil Biol Biochem.** 29: 1233-1239.

GUTIÉRREZ-MAÑERO, F.J., B. RAMOS-SOLANO, A. PROBANZA, J. MEHOUACHI, F. TADEO y M. TALON. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiol Plant.** 111: 206-211.

JAMES, E.K. 2000. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Res.** 65: 197-209.

KAJIMURA, Y., M. SUGIYAMA y M. KANEDA. 1995. Bacillopeptins, new cyclic lipopeptide antibiotics from *Bacillus subtilis* FR-2. **J of Antibiot.** 48: 1095-1103.

KHALID, A., M. ARSHAD y Z.A. ZAHIR. 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **J Appl Microbiol.** 96: 473-480.

KLOEPPER, J.W., R. LIFSHITZ y R.M. ZABLOTOWICZ. 1989. Free-living bacterial inoculation for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnol.** 7: 39-43.

KLOEPPER, J.W., S. TUZUN y J. KUK. 1992. Proposed definitions relates to induces disease resistance. **Biocontrol Sci. Technol.** 2: 349-351.

KOBAYASHI, D.Y. y J.D. PALUMBO. 2000. **Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture.** En: *Microbial endophytes*. Eds. James C., White J. Ed. Marcel Dekker Inc. NY, EE.UU. p: 199-233.

KOCH, B.L. y J. OYA. 1974. Non-symbiotic nitrogen fixation in some Hawaiian Pasture. **Soils Soil Biol biochem.** 6: 363-367.

LAMBRECHT, M., Y. OKON, A. VANDE BROEK y J. VANDERELEYDEN. 2000. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends Microbiol.** 8: 298-300.

LINDERMAN, R.G. 1994. **Role of AM fungi in biocontrol.** En: *Mycorrhizae and Plant Health*. Ed. L. Pflieger, R.G. Linderman. APS Press. Minnesota. p: 2-25.

- LIU, Z. y J. SINCLAIR. 1989. A primary study on biological control of Rhizoctonia Damping-off, root and crown decay of soybeans. **J Cell Biochem.** (Suppl) 13A: 177.
- LIU, Z. y J. SINCLAIR. 1993. Colonization of soybean roots by *Bacillus megaterium* B 153-2-2. **Soil Biol Biochem.** 25: 849-855.
- LJUNGDAHL, L.G., ERIKSSON K.E. 1985. Ecology of Microbial cellulose degradation. **Adv in Microbiol and Ecology.** 8: 237-299.
- MAGYP. 2010. EN: WWW.SIIA.GOV.AR/INDEX.PHP/SERIES-POR
TEMA/AGRICULTURA. CONSULTADO: 06-09-2010.
- MARTÍNEZ-MORALES, L., L. SOTO-URZUA, B. BACA y J. SANCHEZ-AHEDO. 2003. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microb Lett.** 228: 167-173.
- MAYAK, S., T. TIROSH y B.R. GLICK. 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. **Plant Physiol Bioch.** 42: 565-572.
- MISAGUI, I. y C. DONNDELINGER. 1990. Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants. **Phytopath.** 80: 808-811.
- NAUTIYAL, C.S., S. BHADAURIA, P. KUMAR, H. LAL, R. MONDAL y D. VERMA. 2000. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. **FEMS Microbiol Let.** 182: 291-296.
- PEDRAZA, M.V., V.R. PEREYRA, L.A.N. AGUIRREZÁBAL y A. LAURLUND. 2000. **Efectos de reducciones en el área foliar, en la densidad de plantas y en el número de capítulos.** En: *Manual de estimación de pérdidas de rendimiento en girasol*. Ed. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Argentina. p: 28-29.
- PING, L. y W. BOLAND. 2004. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. **Trends Plants Sci.** 9: 263-219.
- PROBANZA, A., J.A. LUCAS, N. ACERO y F.S. GUTIERRES-MAÑERO. 1996. The influence of native rhizobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn) growth. I. Characterization of growth promoting and nitrogen accumulation of inoculated alfalfa. **Plant and soil.** 164: 13-219.

RICHARDSON, A.E., P.A. HADOBAS y J.E. HAYES. 2001. Extracellular secretion of *Aspergillus* phytase from *Arabidopsis* roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. **Plant J.** 25: 641-649.

SCHNEITER y MILLER. 1981. Description of sunflower growth stages. **Crop Sci.** Volumen 21: 902-903.

SIVAN, A. y I. CHET. 1992. **Microbial control of plant diseases.** En: *Environmental Microbiology*. Mitchell R, Ed. Wiley-Liss, NY, EE.UU. p: 335–354.

SOUTO, G.I., O.S.CORREA, M.S. MONTECCHIA, N.L. KERBER, N.L. PUCHEU, M. BACHUR y A.F. GARCÍA. 2004. Genetic and functional characterization of a *Bacillus sp.* strain excreting surfactin and antifungal metabolites partially identified as iturin-like compounds. **Journal of Appl Microbiol.** 97: 1247-1256.

SRINIVASAN M., D.J. PETERSON y F.B. HOLL. 1996. Influence of IAA producing *Bacillus* isolates on the nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* under gnotobiotic conditions. **Can J Microbiol.** 42: 1006-1014.

STURZ, A.V. y BR. CHRISTIE. 1995. The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization. **Plant Soil.** 175: 257-263.

THOMASHOW, L.S. y D.M. WELLER. 1995. **Current concepts in the use of introduced bacteria for biological control: mechanisms and antifungal metabolites.** En: *Plant Microbe Interactions*. Eds. Stacey G. y Keen. Chapman y Hall. NY, EE.UU. Volumen 1 p: 187-235.

TRAPANI, N., M. LOPEZ PEREIRA, V.O. SADRAS y A.J. HALL. 2003. **Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en Girasol.** En: *Producción de granos*. Ed. Facultad de Agronomía, B. Aires, Argentina, p: 205-241.

TRAPANI, N. y M. LOPEZ PEREIRA. 2004. **Bases ecofisiológicas para El cultivo de Girasol**. En: *El cultivo de Girasol en Siembra Directa*. Ed. Gustavo Duarte, B. Aires, Argentina. p: 29-37.

TURAN M., M. GULLUCE, R. CAKMAKCI, T. OZTAS y F. SAHIN. 2010. The effect of PGPR strain on wheat yield and quality parameters. 19th. **World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World**. 140-143.

VILLALOVOS, F.J., V.O. SADRAS, A. SORIANO y E. FERERES. 1994. Planting density effects on dry matter partitioning and productivity of sunflower genotypes. **Field Crops Res.** 36: 1-11.

WANDERSMAN, C. y P. DELEPELAIRE. 2004. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. **Annu Rev Microbiol.** 58: 611-647.

WELLER, D.M. y L.S. THOMASHOW. 1994. **Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere**. En: *Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and Release of GMOs*. Eds. O’Gara F, Dowling D.N., Boesten B., NY, EE.UU. p: 1–18.

YASARI E. y A.M. PATWARDHAN. 2007. Effects of *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculations and chemical fertilizers on growth and productivity of Canola. **Asian J. Plant Sci.** Volumen 6 (1). p: 77-82.

YU G.Y., J.B. SINCLAIR, G.L. HARTMAN y B.L. BERTAGNOLLI. 2002. Production of iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*. **Soil Biol Biochem.** 34: 955-963.

ZAKHAROVA E., A. SCHERBAKOV, V. BRUDNIK, N. SKRIPKO, S.H. BULKHIM y V. IGNATOV. 1999. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum Brasilense*: insight from quantum chemistry. **Env J Biochem.** 259: 572-576.

ZEHRA EKIN. 2010. Performance of phosphate solubilizing bacteria for improving growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in the presence of phosphorus fertilizer. **AJB.** Volumen 9 (25): 3794-3800.