

## 1. INTRODUCCION

### 1.1. *Triticum aestivum* (trigo): generalidades

El trigo tiene sus orígenes en la antigua Mesopotamia. Las evidencias arqueológicas del cultivo de trigo provienen de Siria, Jordania, Turquía e Irak. Hace alrededor de 8 milenios, probablemente una mutación o una hibridación en el trigo silvestre, dio por resultado una planta con semillas más grandes, la cual no podría haberse diseminado con el viento. Existen hallazgos de restos carbonizados de granos de trigo almidonero (*Triticum dicoccoides*) y huellas de granos en barro cocido en Jarmo (Irak septentrional), que datan del año 6700 a.c. (Ruiz Camacho *et al.* 1981; Kent *et al.* 1983)

El trigo crece en ambientes con las siguientes características:

- Clima: temperatura mínima de 4°C y máxima de 30-33°C, siendo una temperatura óptima entre 10 y 25°C. (Infoagro, 2009)
- Humedad: requiere una humedad relativa entre 40 y 70%; desde el espigamiento hasta la cosecha es la época que tiene mayores requerimientos en este aspecto, ya que exige una humedad relativa entre el 50 y 60% y un clima seco para su maduración. (Infoagro, 2009)
- Agua: tiene bajos requerimientos de agua, ya que se puede cultivar en zonas donde caen precipitaciones entre 250 y 2800 mm anuales de agua, aunque un 75% del trigo crece entre los 375 y 800 mm. (Infoagro, 2009)
- Suelo: los mejores suelos para su crecimiento deben ser sueltos, profundos, fértiles y libres de inundaciones, y deben tener un pH entre 6,0 y 7,5; en terrenos muy ácidos es difícil lograr un adecuado crecimiento (Ruiz Camacho *et al.* 1981).

Anualmente se producen 100 Kg. de trigo por cada habitante en el mundo, casi toda su producción se destina a la alimentación humana. En la tabla 1 se representa la producción mundial de trigo desde 1996 hasta 2005 (FAO 2006).

Tabla 1: Producción mundial de trigo en millones de toneladas, período 1996 - 2005

Producción Mundial de Trigo (millones de toneladas)									
1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
585,4	613,4	593,5	587,7	586,1	590,0	574,4	561,1	629,9	628,1

Fuente: FAO 2006.

Tabla 2: Principales productores mundiales

Pais	Producción (millones de toneladas)
 China	96,3
 India	72,0
 Estados Unidos	57,1
 Rusia	47,7
 Francia	36,9
 Canadá	25,5
 Australia	24,1
 Alemania	23,6
 Pakistán	21,6
 Turquía	21,0

Fuente: FAO 2006

El trigo puede crecer en diversidad de latitudes, climas y suelos, aunque se desarrolla mejor en zonas templadas. Debido a esto, es posible encontrar cosechas de trigo en todos los continentes.

Los principales países productores de trigo en el 2005 (Figura 1) y la producción mundial de trigo (Tabla 2) se muestran a continuación:

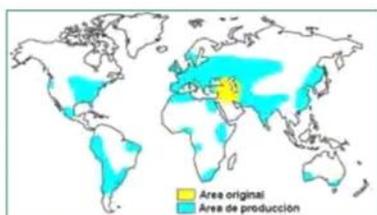


Figura 1: Países productores de trigo en 2005. La figura muestra las áreas de origen del cultivo (amarillo) y las áreas actuales de producción del mismo (celeste). Fuente: FAO 2006.

Un porcentaje de la producción total de trigo es utilizada para el consumo humano en la elaboración de pan, galletas, tortas y pastas, otro tanto es destinado a alimentación

animal y el restante se utiliza en la industria o como simiente (semilla); también se destina a la preparación de aditivos para la cerveza y otros licores (Kent *et al.* 1983).

Argentina posee aproximadamente 35.000.000 ha de tierras cultivables, de las cuales alrededor del 20 % se dedica al cultivo de trigo. La producción de este cereal se concentra en el sur de la región pampeana y en el norte, en la Pampa Ondulada. Los suelos en esta región son de texturas gruesas con contenidos de materia orgánica medios a bajos, por lo que las reservas de agua edáfica son normalmente limitantes para la obtención de cultivos de alta producción (Díaz Zorita *et al.* 1998). Por lo tanto, el rendimiento del cultivo de trigo, depende de la cantidad y disponibilidad tanto de agua como de nutrientes en el suelo para crecer y desarrollarse (Espósito *et al.* 2002).

## **1.2. Interacción benéfica microorganismo-planta**

Kloepper y Schroth, definieron en 1978 como PGPR (plant growth promoting rhizobacteria), a aquellas bacterias altamente eficientes para aumentar el crecimiento de las plantas e incrementar su tolerancia a otros microorganismos causantes de enfermedades. En años recientes se ha creado cierta controversia respecto de cuando considerar a una rizobacteria como PGPR, por lo que se han establecido algunas características que definen a este grupo. En primer lugar, que tengan una elevada densidad poblacional en la rizósfera después de su inoculación en las plantas, ya que una población que declina rápidamente tiene una baja capacidad competitiva con la microflora nativa del suelo. Después, que posean capacidad de colonización efectiva en la superficie de la raíz y, como consecuencia, puedan influir positivamente en el crecimiento de la planta. Además, que puedan controlar de manera natural y eficiente a otros microorganismos del suelo capaces de enfermar a las plantas; y por último, que no produzcan daño en el hombre. La aplicación de este tipo de rizobacterias ha dado como resultado la promoción evidente del crecimiento en plantas, observándose un incremento en la emergencia, vigor, biomasa, desarrollo en sistemas radicales e incrementos de hasta 30% en la producción de cultivos de interés comercial, tales como papa, rábano, trigo y soja, entre otros (Okon y Labandera-González, 1994; Dashti *et al.* 1997; Lucy *et al.* 2004). Actualmente, el uso de microorganismos representa sólo 1.4% (380 millones de dólares) del mercado global para el control de plagas y enfermedades (Uri, 1999).

Los ecosistemas agronómicos (agrosistemas o agro-ecosistemas) dependen directamente del uso de microorganismos benéficos, los cuales están presentes en el suelo y suelo rizosférico, mediando la sanidad e incremento de la productividad de los cultivos. Los microorganismos tienen una participación muy importante en la salud de las plantas y en la fertilidad de los suelos, ya que ellos participan como llave de muchos procesos en el

ecosistema, los cuales involucran el control biológico, ciclo de nutrientes y establecimiento de la plántula (Jeffries *et al.* 2003).

El efecto de las bacteria PGPR ha sido atribuido al incremento de la movilización de nutrientes insolubles y el subsiguiente mejoramiento de la toma de nutrientes por la planta (Lifshitz *et al.* 1987), producción de reguladores del crecimiento de la planta (Dubeikovsky *et al.* 1993), supresión de bacterias de suelo deletéreas y hongos fitopatógenos (Weller, 1998; Weller y Thomashow, 1993), supresión del establecimiento y supervivencia como resultado de la producción de antibióticos (Hebbar *et al.* 1992; Thomashow *et al.* 1990), compuestos secuestrantes de hierro tales como sideróforos (Loper y Buyer, 1991), enzimas líticas extracelulares (Fridlender *et al.* 1993), otros metabolitos secundarios como el HCN (Voisard *et al.* 1989), inducción de la resistencia sistémica inducida (ISR) (Andrade *et al.* 1998) o competencia por los sitios de infección y nutrientes (Bull *et al.* 1991). Todos estos mecanismos suponen un contacto directo entre la bacteria y la superficie o interior de tejidos de la raíz y un activo estatus de la bacteria inducida (De Weber *et al.* 1995; Höflich *et al.* 1995). La supervivencia de las bacterias PGPR inoculadas en la rizósfera de la planta es, en muchos casos, una precondition para un efecto potencial estimulador durante el periodo del crecimiento ó durante el desarrollo de la planta joven (Höflich *et al.* 1995).

Se ha demostrado que las bacterias PGPR muestran incrementos en rendimiento entre un 5–30% en diferentes cultivos, con efectos positivos reportados en maíz (Fulchieri y Frioni, 1994), garbanzo (Del Gallo y Fabbri, 1990), algodón (Backman y Turner, 1989; Greenough y Batson, 1989), lenteja (Chanway *et al.* 1989) y soja (Dashti *et al.* 1998).

En la actualidad, la respuesta positiva del trigo (*Triticum aestivum* L.) a la inoculación con bacterias benéficas de raíces (BBR), se debe a que estas bacterias aumentan la capacidad de absorción radical de la planta. Los reportes son amplios y entre estas bacterias se encuentran *Azospirillum* (Bashan y Levanony, 1990), *Azotobacter beijerinckii* (Chelius y Triplett, 2000), *Bacillus spp* (Gutiérrez-Manero *et al.* 2001), *Pseudomonas spp* (Valdivia-Urdiales *et al.* 1999), *Paenibacillus* (Chanway *et al.* 2000), *Clostridium* (Gasoni *et al.* 2001), *Herbaspirillum* (Baldani *et al.* 2000), entre otras.

El uso de cepas de *Pseudomonas* tiene un efecto promotor del crecimiento y rendimiento en distintos cultivos (García y Bach, 2003; Babana y Antoun, 2006). Grimes y Mount (1987) encontraron que la cepa de *Pseudomonas putida* M17 incrementa la nodulación de *Rhizobium* en frijoles, bajo condiciones de campo. La estimulación de la fijación simbiótica de N<sub>2</sub> y el crecimiento de la planta por PGPR puede verse afectado por factores ambientales, como la temperatura en la zona de la raíz. Bajo condiciones controladas, el efecto de PGPRs sobre la nodulación y fijación de N<sub>2</sub>, el crecimiento de la planta y las actividades fotosintéticas varían con la temperatura de la raíz (Zhang *et al.* 1997).

### 1.3. Mecanismos promotores del crecimiento vegetal

#### 1.3.1. Fijación de nitrógeno

A pesar de la abundancia del nitrógeno en la atmósfera (más del 70 por ciento), no es aprovechable por las plantas que se ven obligadas a utilizar las formas combinadas que se encuentran en el suelo en cantidad insuficiente para soportar los cultivos intensivos. Por lo que se supone en el aporte de nitrógeno a la planta, la fijación biológica del nitrógeno (FBN) presenta un gran interés. La FBN contribuye globalmente con cerca de la mitad del nitrógeno utilizado en el cultivo de las plantas. La otra mitad procede casi en su totalidad del amonio sintetizado vía Haber Bosch con un gasto, para conseguir el H<sub>2</sub> y la alta temperatura y presión requeridas, del 1 % de la energía consumida a nivel mundial (Newton, 2004).

En la actualidad la FBN cobra más valor dentro del contexto de la agricultura sostenible, ya que puede evitar el uso abusivo de fertilizantes nitrogenados con el consiguiente ahorro en el consumo de energía y la disminución de la degradación del medio. La FBN es llevada a cabo por microorganismos procarióticos en vida libre y en simbiosis, hay un gran número de especies microbianas portadoras de esta característica pertenecientes a muy diferentes grupos de bacterias (Döbereiner y Pedroza, 1987; Bai *et al.* 2002).

Algunos fijadores libres, como *Azotobacter*, requieren hasta 100 unidades de equivalentes de glucosa por unidad de nitrógeno fijado. Por ello su significación agrícola es baja. Esta significación se incrementa considerablemente en el caso de la fijación simbiótica, como *Rhizobium*-leguminosa, donde la relación disminuye a unas 12 unidades de glucosa por unidad de nitrógeno. Así, *Azotobacter* proporciona al suelo unos cientos de gramos de nitrógeno por hectárea/año y, en cambio, este valor sube con la asociación de *Rhizobium*-leguminosa, a unos cientos de kilos (González-López y Lluch, 1992). A pesar de estas diferencias, la fijación libre representa a nivel global algo menos de la mitad de las 200-250 millones de Tn de N<sub>2</sub> fijado por año; la simbiótica, aunque sea más eficiente, está limitada a unas pocas especies vegetales, de gran importancia económica y social (Leigh *et al.* 2002; Bedmar *et al.* 2006).

#### 1.3.2. Producción de sideróforos

Bajo condiciones limitadas de hierro las bacterias liberan al medio compuestos quelantes de bajo peso molecular (entre 400 a 1000 Da) denominados sideróforos, los cuales tienen una alta afinidad por el ión férrico, que es la forma predominante de dicho metal en la naturaleza. Como el ión férrico (Fe<sup>+3</sup>) es muy poco soluble, y por lo tanto no puede ser asimilado, la función de los sideróforos es unirse a él y transportarlo al interior celular, en donde se transformará a ión ferroso (Fe<sup>+2</sup>) y de esta forma se hará disponible para la bacteria,

privándose al patógeno del hierro necesario para su desarrollo (Neilands y Leong, 1986; Briat *et al.* 1992).

La bacteria que originalmente sintetiza el sideróforo posee un receptor específico para el complejo hierro-sideróforo que se encuentra en el exterior de la membrana celular. A diferencia de los fitopatógenos microbianos, las plantas, generalmente, no se ven perjudicadas por la falta de hierro causada por las PGPR, debido a que las mismas crecen a concentraciones de hierro mucho más bajas (alrededor de 1000 veces) que los microorganismos (O'Sullivan y O'Gara, 1992).

Si bien es el mecanismo de biocontrol ejercido por estas moléculas es el de mayor importancia, numerosas plantas son capaces de utilizar los complejos hierro-sideróforo provenientes de bacterias como una forma de obtener hierro desde el suelo (Vansuyt, 2007).

Diversos estudios han demostrado el rol del sideróforo pioverdina, producido por muchas especies de *Pseudomonas*, en el control de fitopatógenos como *Phyitium* spp. y *Fusarium* spp. (Loper y Buyer, 1991; Duijff *et al.* 1993). Especies del género *Pseudomonas* también producen otros sideróforos: la piocianina y su precursor, el ácido salicílico. La piocianina tiene una acción protectora en plantas de tomate contra *Phyitium* spp. y *Pseudomonas aeruginosa* (Prithiviraj *et al.* 2005). Sin embargo, los sideróforos no siempre están implicados en el control de enfermedades. La dinámica en la competencia por el hierro en la rizósfera es muy compleja; por ejemplo, algunos sideróforos solo pueden ser utilizados por la bacteria que lo produjo, mientras que otras veces puede ser utilizado por diferentes bacterias. Distintos factores ambientales también pueden estar influyendo sobre la cantidad de sideróforos producidos. Se conoce además que la pioverdina y el ácido salicílico pueden actuar como elicitores para inducir resistencia sistémica contra fitopatógenos en algunas plantas (Métraux *et al.* 1990).

### 1.3.3. Solubilización de fósforo

La concentración de fósforo soluble en el suelo es muy baja; con frecuencia se encuentra a niveles de 1 ppm o menos. Las mayores reservas de fósforo insoluble son las rocas y los depósitos de minerales primarios, como apatitas, seguidas por las formas orgánicas (inositol fosfato, fosfolípidos, ácidos nucleicos) que pueden constituir un 30-50% del fósforo total. Los suelos agrícolas también contienen una alta concentración de este mineral como consecuencia de la aplicación de fertilizantes fosfatados. Sin embargo, los fosfatos son inmovilizados rápidamente volviéndose inaccesibles para las plantas. Las células pueden tomar diferentes formas de fósforo, pero la mayor parte es absorbida como iones  $\text{HPO}_4^{-2}$  ó  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (Peix *et al.* 2001; Wild, 1988).

Diversas especies de bacterias pueden solubilizar fosfato, y de esta manera hacerlo disponible para la planta, ya sea:

- a. Solubilizando fosfato orgánico presente en el suelo por medio de enzimas fosfatasas que hidrolizan uniones fosfoésteres ó fosfoanhídridos (Chhonkar y Tarafdar, 1984)
- b. Solubilizando fosfatos inorgánicos con ácidos orgánicos, como el ácido glucónico, que resulta en una acidificación de la célula microbiana y su entorno. Como consecuencia el fosfato inorgánico ( $P_i$ ) puede ser liberado del fosfato mineral por sustitución de un protón por  $Ca^{+2}$  (Rodríguez y Fraga, 1999).

Otras bacterias presentan la capacidad de colonizar las raíces alterando la permeabilidad de las paredes de las células radicales y favoreciendo así la toma de iones, incluido el fosfato (Okon *et al.* 1998).

#### **1.3.4. Producción de fitohormonas**

Además de las plantas, muchas bacterias pueden producir sustancias tipo fitohormonas como auxinas, giberelinas y citocininas. Estos compuestos pueden actuar en la planta de forma diferente; las auxinas favorecen el desarrollo y alargamiento del sistema radical, la emergencia de raíces laterales y también aumentan la permeabilidad de las membranas celulares. Dentro de ellas se destaca el ácido indol acético (AIA), el AIA producido por microorganismos que colonizan las semillas o la superficie radical, actúa en conjunto con el AIA endógeno de la planta, estimulando la proliferación y/o elongación celular, mejorando la toma de minerales y nutrientes del hospedador, desde el suelo (Patten y Glick 2002; Suzuki *et al.* 2003). Por otra parte, las giberelinas provocan un mayor desarrollo de la parte aérea, incrementándose los procesos fisiológicos y la actividad enzimática (Hernández *et al.* 1998).

Es evidente que aumentar la densidad de los pelos radiculares de las plantas inoculadas mejora el sistema de absorción de nutrientes y en este sentido numerosas experiencias en invernáculo y a campo lo han confirmado (Glick, 1995).

#### **1.3.5. Síntesis de antibióticos**

Uno de los mecanismos más efectivos que pueden emplear las PGPR para controlar la proliferación de fitopatógenos es la síntesis de antibióticos. Varios antibióticos son producidos por especies del género *Pseudomonas* (Nielsen *et al.* 2002; Raaijmekens *et al.* 2002; De Souza *et al.* 2003ab) y esta síntesis está asociada a la supresividad de suelos (Thomashow y Weller, 1990; Raaijmekens, 1997).

### **1.3.6. Competencia en la rizósfera**

Un aspecto muy importante que hace a la competitividad de un agente biocontrolador es su capacidad de persistir y proliferar. Sin embargo, esto es muy difícil de predecir porque el comportamiento de una PGPR en el ambiente va a estar influenciada por numerosos factores: composición del suelo, temperatura, presencia de plásmidos recombinantes, microflora nativa, entre otros. Así, bacterias resistentes a metales pesados o capaces de utilizar compuestos xenobióticos, tales como herbicidas y pesticidas, o resistentes a bajas temperaturas, van a tener más ventaja comparada a otros microorganismos en aquellos suelos que presenten dichas condiciones (Glick y Bashan, 1997).

### **1.3.7. Síntesis de otras sustancias antimicrobianas**

- Enzimas
- Bacteriocinas
- Ácido cianhídrico

### **1.3.8. Inducción de la resistencia sistémica**

La resistencia sistémica, son mecanismos naturales de defensa que han desarrollado las plantas a lo largo de la evolución y que les ayudan a protegerse de los daños ocasionados por los patógenos. La definición de resistencia sistémica inducida (ISR), como el proceso de protección activa (sistémica) de una planta, el cual depende de las barreras físicas o químicas levantadas por la planta hospedera, las cuales son activadas por un agente inductor, cuando son aplicadas a una sola parte de la planta, sugerida por Kloepper *et al.* (1992), incluye inductores bióticos y abióticos, si bien los efectos fenotípicos observados en las raíces inoculadas con bacterias pueden ser similares a los obtenidos con raíces tratadas con agentes abióticos, los cambios bioquímicos y mecánicos muestran sutiles diferencias. Esto llevó a definir como ISR a la resistencia inducida por bacterias no patógenas y resistencia sistémica adquirida (SAR) a la inducida por factores abióticos o bacterias patógenas (Zehnder and Yao, 1998; Whipps, 2001).

Los cambios que se observan en las raíces de las plantas que presentan ISR pueden ser: a) fortalecimiento de la pared de las células epidérmicas y corticales, deposición de calosa lignina y compuestos fenólicos, b) incremento de enzimas como las peroxidasas, quitinasas, fenol oxidasas, c) producción de fitoalexinas, y d) aumento en la expresión de genes relacionados al estrés (Whipps, 2001).

#### 1.4. Género *Pseudomonas*

*Pseudomonas* benéficas han logrado un incremento en la productividad de los cultivos y una reducción de las poblaciones de microorganismos deletéreos bajo condiciones de campo, como así también en invernáculo (Bakker *et al.* 1991; Loper y Buyer, 1991). Por estas características el Género *Pseudomonas* ha sido ampliamente estudiado (Hessenmüller y Zeller, 1996; Duijff *et al.* 1997; Raunskov *et al.* 1999; Sastry *et al.* 2000, Vazquez *et al.* 2000).

Las bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas*, son microorganismos Gram-negativos, siempre móviles con flagelación polar. Se encuentran normalmente en el suelo, aunque pueden ser patógenos oportunistas en animales como *Pseudomonas aeruginosa* y patógenos de plantas, *Pseudomonas syringae*. Su metabolismo es respiratorio, aerobio (la mayoría usa como aceptor de electrones O<sub>2</sub>) o anaerobio (algunos usan NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Presentan una versatilidad metabólica muy grande que se traduce en su capacidad de utilizar como fuente de carbono substratos muy variados. Por otra parte, hay algunos individuos del grupo que son quimiolitótrofos usando H<sub>2</sub> o CO como donadores de electrones. El metabolismo central de azúcares en este grupo se desarrolla por la vía de Etner-Doudoroff, y disponen de un ciclo de ácidos tricarbóxicos normal (Holt *et al.* 1994).

Un amplio número de bacterias, entre ellas las *Pseudomonas*, pueden reducir NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, en ausencia de oxígeno (Gamble *et al.* 1977).

Durante los últimos 20 años, han sido numerosos los trabajos referidos a *Pseudomonas* fluorescentes que ejercen efectos beneficiosos sobre el crecimiento de las plantas, independientemente de la presencia del patógeno (Cook, 1993). De esta manera se han descrito distintas especies de *Pseudomonas* muy eficaces a la hora de controlar enfermedades radiculares producidas por hongos en el suelo (O'Sullivan y O'Gara, 1992) o en cultivo hidropónico (Gamard *et al.*, 1997), e incluso controlando otras enfermedades producidas por otras bacterias (Cronin *et al.*, 1997).

Algunas cepas de *Pseudomonas* colonizan de manera efectiva los órganos subterráneos de las plantas y promueven el crecimiento de manera consistente, reduciendo también la incidencia de enfermedades causadas, sobre todo, por un amplio rango de hongos patógenos del suelo. Está generalmente aceptado que uno de los mecanismos más importantes, por el que las *Pseudomonas* fluorescentes promueven el crecimiento vegetal, es mediante la supresión de microorganismos patógenos (Nielsen *et al.* 2002; Raaijmekens *et al.* 2002; De Souza *et al.* 2003ab). También se ha sugerido que las pseudomonas pueden manifestar sus efectos promotores del crecimiento indirectamente, estimulando la acción beneficiosa de otros microorganismos asociados a las raíces, como las micorrizas (Andrade *et al.* 1998; Berti *et al.* 2007). Cuando la estimulación del crecimiento vegetal se produce en

ausencia de otros microorganismos, ésta se ha atribuido al incremento de la disponibilidad de nutrientes minerales, como el fosfato o el nitrógeno, debido a la producción de fitohormonas estimuladoras del crecimiento vegetal o a la degradación de precursores del etileno en la raíz por parte de estas bacterias (Glick, 1995).

La inhibición del patógeno por la producción de metabolitos antimicrobianos o queladores de hierro son los principales mecanismos implicados en el biocontrol. Otros factores importantes son la degradación de factores de virulencia del patógeno, como toxinas, por parte de las pseudomonas (Toyoda *et al.* 1988), la inactivación de factores de germinación del patógeno, presentes en los exudados radiculares (Nelson, 1992) y la producción de enzimas extracelulares, como quitinasas, laminarasas y glucanasas, que pueden degradar las paredes de las células fúngicas (Fridlender *et al.* 1993).

La colonización de la raíz es un prerrequisito para el funcionamiento de cualquier mecanismo de biocontrol exhibido por *Pseudomonas*. Una colonización efectiva está ligada directamente con una competición con otros microorganismos por la ocupación de nichos y por nutrientes disponibles de exudados radiculares (Kluepfel, 1993). Para exhibir efectos supresivos sobre una enfermedad en una planta, un agente biocontrol necesita distribuirse por toda la raíz, multiplicarse y sobrevivir durante varias semanas en competición con otros microorganismos nativos. Otros factores pueden influir en la colonización de la raíz: i) las características del antagonista introducido, como las propiedades de su superficie celular, producción de sideróforos o antibióticos, pilis, flagelos o quimiotaxis por los exudados radiculares; ii) la especie/cultivar y fase del crecimiento de la planta hospedadora y iii) las características físicas y químicas del suelo, como humedad, temperatura, pH, textura del suelo y nutrientes minerales (O'Sullivan y O'Gara 1992).

Particularmente interesantes son los recientes trabajos en los que se ha puesto de manifiesto que algunas pseudomonas que están íntimamente asociadas con la raíz pueden inducir los mecanismos de resistencia sistémica contra patógenos fúngicos o bacterianos provocando la protección de toda la planta frente a la enfermedad, con la consecuente reducción en el uso de productos fitosanitarios (Maurhofer *et al.* 1994).

#### **1.4.1. *Pseudomonas Aurantiaca***

*Pseudomonas aurantiaca* SRI fue aislada desde el área de interacción entre el microorganismo y la planta de soja por el grupo de investigación, dirigido por la Dra. Rosas y el Dr. Correa, en el área de Río Cuarto (en la Universidad Nacional de Río Cuarto), Córdoba, Argentina. Tiene la capacidad de producir un pigmento naranja asociado con una fuerte capacidad inhibitoria *in Vitro* de diferentes especies fúngicas, tales como *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. (Rosas *et al.* 2001). El compuesto

antifúngico es secretado por esta bacteria cuando el medio de cultivo esta compuesto por agar triptéina soya, agar nutritivo o en medio mínimo suplementado con triptona o peptona. Con respecto a la utilización de fuentes carbonadas, el manitol y la sacarosa inducen la producción del pigmento, mientras que la glucosa actúa como represora de su síntesis (Rovera *et al.* 2000a). Los primeros estudios de caracterización química demostraron que el pigmento es de naturaleza hidrofóbica y presenta características químicas similares al 2, 4-diacetilfluoroglucinol (DAPG) (Rovera *et al.* 2000b). *P. aurantiaca* SRI produce sideróforos, HCN y solubiliza moderadamente fosfato. Además presenta la capacidad de colonizar el sistema radical de diferentes cultivos, manteniendo una población estable en el área rizosférica y en las estructuras internas de las plantas (Rosas *et al.* 2005).

### **1.5. Importancia de la inoculación**

La necesidad de productos agrícolas, de elevar al máximo la producción, de mejorar la calidad de los productos, presentan a la inoculación con PGPRs como una herramienta útil que puede complementar el sistema productivo. Si esta alternativa pudiera reemplazar, aunque sea en parte, la fertilización química, el productor y el país se verían beneficiados, no solo en términos de márgenes de producción, sino que evitarían los peligros de la contaminación de aguas por infiltración de nutrientes, como nitratos, beneficiando de esta manera la población (Flores y Ferraris, 2001). La combinación de una reducción gradual en el uso de fertilizantes químicos y pesticidas por un lado y el gran uso del potencial biológico y genético de las plantas y especies microbianas por otro lado, ofrecen la posibilidad de una ecología sustentable (Flores y Ferraris, 2001; Bashan, 1998). El uso a gran escala de estos microorganismos como biofertilizantes en cualquier sistema de producción agrícola traería grandes beneficios, puesto que son más baratos que los de origen inorgánico, tiene efectos positivos en las plantas (similares a los de un fertilizante químico) y no ejercen un impacto ecológico perjudicial en el ambiente ni en la salud humana. Adoptar este tipo de innovación tecnológica que se inclina hacia la conservación del ambiente, incrementará la productividad de los cultivos y bajará los costos de producción, contribuyendo, en suma, a una agricultura sustentable que trata de usar los recursos naturales sin comprometer a nuestras generaciones futuras (Hernández y Aguilar, 2003).

## **2. Hipótesis**

La inoculación de semillas de trigo con *Pseudomonas aurantiaca* SR1 promueve el crecimiento de las plantas.

## **3. Objetivos**

Evaluar a campo la promoción del crecimiento, en plantas de trigo, inoculadas con *Pseudomonas aurantiaca* SR1.

### **3.1. Objetivos específicos**

- Evaluar en trigo, parámetros y componentes de crecimiento, a lo largo del ciclo de cultivo.
- Comparar los resultados de promoción de crecimiento obtenidos durante este estudio, con aquellos analizados por el grupo de investigación durante la campaña 2005.
- Determinar la permanencia rizosférica de *P. aurantiaca* durante el ciclo de cultivo.

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1. Ensayo a campo

#### 4.1.1. Sitio de estudio y hospedador.

El ensayo fue llevado a cabo en el campo experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina (35° 07' S y 64° 14' O, 421 m.s.n.m), durante el año 2006. El clima de la región es templado con un régimen anual de precipitaciones de 800 mm y una temperatura media anual de 16-17 °C. El tipo de suelo es un haplustol típico, franco arenoso muy fino, cuyas principales características físico-químicas son: pH (en agua), 6.30; conductividad eléctrica (dS/m), 0,28; materia orgánica, 2.56%; N total, 0.132 %; P disponible, 19.7 ppm.

No se realizó ninguna labranza previa a la implantación del cultivo. La siembra se realizó con una sembradora de parcelas de 6 surcos perteneciente a la Universidad Nacional de Río Cuarto.

El cultivar utilizado fue: Klein Flecha.

#### 4.1.2. Microorganismos

*Pseudomonas aurantiaca* SR1, formulada como inoculante por Laboratorios Biagro S.A. (10<sup>9</sup> UFC/g de turba)

#### 4.1.3. Bacterización de las semillas

Se tomaron 40g de inoculante, 20g de adherente S2 (Laboratorios Biagro S.A), 5g de protector celular S1 (Laboratorios Biagro S.A.) y se mezclaron con 80 ml de agua. De esta mezcla se tomó una alícuota de 12g, la cual fue agregada a 1 Kg. de semillas de trigo.

#### 4.1.4. Ensayo experimental e inoculación a campo

El experimento se llevó a cabo con un diseño experimental en bloques aleatorizados de 6 tratamientos con 7 repeticiones para cada uno. Los bloques midieron 7.2 m<sup>2</sup> (1.20 m ancho, 6 m largo) separados por 1m. Se sembraron 6 hileras por bloque separadas por 0.20 m entre sí, utilizando sembradora de parcelas.

Seis tratamientos fueron establecidos para la evaluación del efecto promotor de *P. aurantiaca* SR1:

1. Semillas inoculadas con *P. aurantiaca* SR1 en suelo sin fertilizar;
2. Semillas sin inocular y fertilizado con 80 Kg ha<sup>-1</sup> de urea - 60 Kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamonico (dosis 100%);
3. Semillas inoculadas con *P. aurantiaca* SR1 y fertilizado con 80 Kg ha<sup>-1</sup> de urea - 60 Kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamonico (dosis 100%);
4. Semillas sin inocular y fertilizado con 40 Kg ha<sup>-1</sup> de urea - 30 Kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamonico (dosis 50%);
5. semillas inoculadas con *P. aurantiaca* SR1 y fertilizado con 40 Kg ha<sup>-1</sup> de urea - 30 Kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamonico (dosis 50%) y
6. control: semillas sin inocular y suelo sin fertilizar.

El cultivo contó con un sistema de riego por aspersión, de acuerdo a las necesidades hídricas del cultivo durante su ciclo.

#### **4.2. Variables-Respuestas**

Durante los estadios Feekes 1.0 (emergencia de las plántulas), 1.5 (5 hojas), 3.0 (macollaje) y 11.4 (cosecha) (Feekes International Scale – Large 1954), se analizaron parámetros de crecimiento y componentes de rendimiento. En el estadio Feekes 1.0 se evaluó el número de plantas emergidas por m<sup>2</sup>, utilizando un aro de hierro de ¼ m<sup>2</sup>. En los estadios Feekes 1.5 y 3.0 fueron evaluados los siguientes parámetros de crecimiento: largo aéreo de la planta (cm.), longitud de la raíz (cm.) (Newman, 1966), número de macollos, volumen radical (cm<sup>3</sup>) (por desplazamiento de un volumen conocido de agua), peso fresco y seco (72 h – 60°C) de la biomasa aérea y radical. Para cada parámetro de crecimiento se determinó el valor promedio de 5 plantas de cada tratamiento, por septuplicado.

Los componentes de rendimiento evaluados fueron: Kg ha<sup>-1</sup>, peso de mil granos, número de espigas por planta y número de granos por espiga. Estas determinaciones se realizaron sobre cada parcela luego de eliminar, como bordura, un metro lineal de cada cabecera y dos líneas de siembra a ambos lados de la misma.

#### **4.3. Recuentos rizosféricos de *P. aurantiaca* SR1**

Para realizar el recuento, se procedió al muestreo de 5 plantas al azar de cada tratamiento inoculado con *P. aurantiaca* SR1. Las plantas fueron lavadas con suavidad para despegar el suelo no rizosférico. Luego, empleando las raíces con suelo adherido, se determinaron las UFC/g de suelo rizosférico en medio TSA 25%, suplementado con ampicilina 100 µg mL<sup>-1</sup> y cloramphenicol 50 µg mL<sup>-1</sup>.

#### **4.4. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos fueron analizados estadísticamente a través de un análisis de la varianza (ANOVA) y comparaciones entre las medias de los tratamientos, usando el test *post hoc* LSD calculado a  $P < 0.05$ . Los procedimientos estadísticos fueron llevados a cabo utilizando el software Statgraphics Plus para Windows.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1. Parámetros de crecimiento y componentes de rendimiento.

El efecto de la inoculación de trigo con *P. aurantiaca* SR1 fue evaluado a lo largo del ciclo del cultivo, durante el año 2006. Durante el ciclo del cultivo, el mismo no presentó sintomatología asociada a damping off u otras enfermedades relacionadas.

En la etapa de emergencia, la inoculación no afectó negativamente la emergencia de las plántulas, observándose un mayor número de plantas por metro cuadrado, respecto a los tratamientos fertilizados (Gráfico 1).

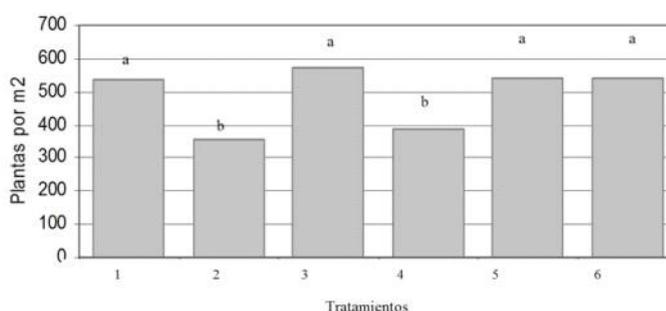


Gráfico 1: Año 2006. Feekes 1.0. Emergencia de las plántulas de trigo (plantas por m<sup>2</sup>). Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas test LSD  $p < 0.05$ . Ref.: 1. semillas inoculadas y suelo sin fertilizar; 2. suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 3. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 4. suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%); 5. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%) y 6. control: semillas sin inocular y suelo sin fertilizar.

Estos resultados se correlacionan con los obtenidos por Dileep Kumar y Dube (1992), quienes demostraron que la inoculación con la cepa RBT13 de *Pseudomonas* fluorescente, originalmente aislada de raíces de tomate, mejoró la emergencia de poroto y soja. En Brasil se reportó que, en ensayos de inoculación a campo con diferentes PGPR, cepas de *Pseudomonas fluorescens* biotipo G y *putida* biotipo B se destacaron por su efecto positivo sobre la emergencia de trigo (Da Luz, 2001).

La disminución observada en la emergencia en los tratamientos fertilizados y no inoculados (tratamiento 2: suelo fertilizado con 80 Kg ha<sup>-1</sup> de urea - 60 Kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamónico y tratamiento 4: suelo fertilizado con 40 Kg ha<sup>-1</sup> de urea - 30 Kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamónico) se puede explicar por la metodología de aplicación de los fertilizantes en este ensayo; es posible que haya existido un potencial efecto fitotóxico, por el contacto directo del fósforo y nitrógeno con las semillas (Ciampitti *et al.* 2006). Estos efectos han sido observados además en otros cultivos (Dignani *et al.* 2006). Aparentemente, los componentes del formulado

aplicado (turba, S1, S2 y *P. aurantiaca*), atenuaron esta fitotoxicidad, al evitar el contacto directo del fertilizante químico con la semilla (Gráfico 1). Esta diferencia de plantas por m<sup>2</sup> no afectó, a posteriori, el rendimiento ya que el cultivo se compensó durante el macollaje.

El largo de la parte aérea, en los estadios Feekes 1.5 y 3.0, fue mayor cuando se inoculó con *P. aurantiaca* SRI. Si bien el mayor valor promedio de la longitud aérea, durante Feekes 1.5, se observó en el tratamiento inoculado sin fertilización, cuando esta variable se analizó en Feekes 3.0 todos los tratamientos fertilizados y/o inoculados superaron, en valor promedio, al control. Cabe destacar para esta variable que, durante el periodo 1.5, los valores del tratamiento fertilizado 50% e inoculado superaron al tratamiento fertilizado 100%, y que durante Feekes 3.0 no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos al comparar estos dos tratamientos (Gráfico 2).

García -González *et al* (2004), al evaluar el largo de la hoja de trigo, observaron que los tratamientos con *Azospirillum lipoferum*, *A. beijerinckii* y *A.l - A.b* (*A. lipoferum/A. beijerinckii*) con 50% de dosis de urea, causaron un efecto similar en la respuesta de trigo con la dosis máxima de urea y sin inocular; sugiriendo un efecto estimulador de la absorción radical de urea (Yanni y Rizk, 2001).

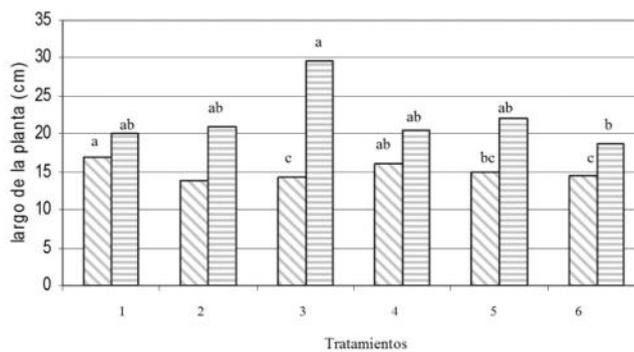


Gráfico 2: Año 2006. Feekes 1.5 y 3.0. Largo de la parte aérea de trigo (cm). Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas test LSD  $p < 0.05$ . Ref.: Estadios Feekes 1.5  y Feekes 3.0 . 1. semillas inoculadas y suelo sin fertilizar; 2. suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 3. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 4. suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%); 5. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%) y 6. testigo: semillas sin inocular y suelo sin fertilizar.

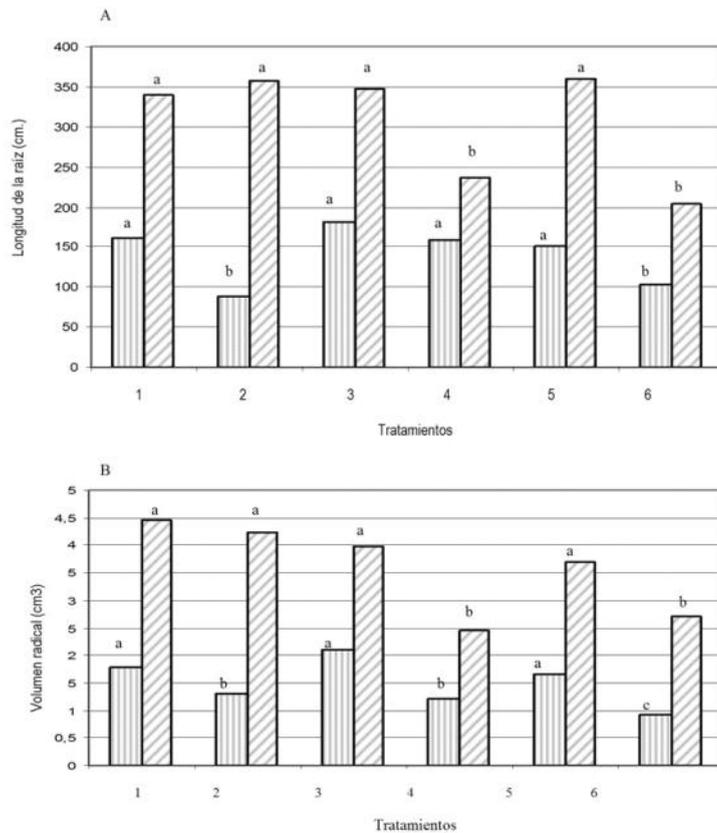


Gráfico 3: Año 2006. Feekes 1.5 y 3.0. A- Longitud de la raíz (cm). B- Volumen radical (cm<sup>3</sup>), en trigo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas test LSD  $p < 0.05$ . Ref.: Estadios Feekes 1.5 (▨) y Feekes 3.0 (▧). 1. semillas inoculadas y suelo sin fertilizar; 2. suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 3. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 4. suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%); 5. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%) y 6. control: semillas sin inocular y suelo sin fertilizar

En referencia a los parámetros de crecimiento radical (longitud y volumen) en los estadios Feekes 1.5 y 3.0, la inoculación con y sin fertilización inorgánica, tuvo en general un efecto promotor (Gráficos 3 A-B). Estos resultados se correlacionan con los obtenidos por el grupo de investigación de la cátedra de Química Biológica, durante el año 2005 y con los reportados por Riggs *et al* (2001). Se ha descrito que las bacterias benéficas de la raíz estimulan la proliferación de pelos radicales en trigo y otras plantas (Chanway *et al.* 2000) y esto provoca un aumento en el área de exploración de la raíz, lo que le permitiría una mejor captación del nitrógeno de la urea (Muthukumarasamy *et al.* 2002).

Además, se ha informado que las rizobacterias aumentan la capacidad de absorción radical, cuando se reduce la dosis del fertilizante nitrogenado aplicado a la gramínea (Tran Van *et al.* 2000; Whitmore, 2000).

Con respecto a la biomasa aérea los resultados obtenidos durante este estudio fueron variables, sin embargo todos los valores de medias obtenidos en los tratamientos inoculados y/o fertilizados se ubicaron por encima del control. Durante el desarrollo del cultivo la fertilización dosis 50% combinada con la inoculación permitió un mayor desarrollo de biomasa radical (Tabla 3). Los incrementos en el peso de la raíz, mediados por bacterias, son comúnmente informados como una respuesta a la inoculación, permitiendo un mejor acceso de la planta a los nutrientes del suelo (Kohler *et al.* 2006). La capacidad de absorción radical que promueven las rizobacterias se basa en la posible conversión de los exudados radicales en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SPCV) como: auxinas, citocininas, etc (Reis *et al.* 2000) ó bien que dichas bacterias produzcan ese tipo de sustancias (Okon and Vanderleyden, 1997). La conversión de productos de raíz en SPCV es una propiedad bioquímica de las bacterias benéficas de la raíz (Dos Reis *et al.* 2000), lo que explica el incremento en peso fresco y seco de trigo inoculado (Kurek and Jaroszk-Scisel, 2003).

Tabla 3: Año 2006. Feekes 1.5 y 3.0. Peso fresco (g) y seco (mg) aéreo y radical de trigo.

Tratamientos	Estadio Feekes 1.5				Estadio Feekes 3.0			
	Peso Fresco		Peso seco		Peso Fresco		Peso seco	
	Aéreo (g)	Radical (g)	Aéreo (mg)	Radical (mg)	Aéreo (g)	Radical (g)	Aéreo (mg)	Radical (mg)
1. Inoculado	0,97 ns	0,33 <sup>a</sup>	223,43 <sub>a</sub>	190,00 <sup>a</sup>	7,30 <sup>ab</sup>	1,71 <sup>bc</sup>	1,31 <sup>ab</sup>	536,43 <sup>a</sup>
2. Fertilizado (dosis 100%) *	1,01 ns	0,25 <sup>bcd</sup>	217,71 <sub>a</sub>	128,86 <sup>bcd</sup>	9,49 <sup>a</sup>	2,31 <sup>ab</sup>	1,51 <sup>a</sup>	498,29 <sup>ab</sup>
3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%)*	1,19 ns	0,31 <sup>ab</sup>	252,29 <sub>a</sub>	183,86 <sup>ab</sup>	7,29 <sup>ab</sup>	1,97 <sup>ab</sup>	1,31 <sup>ab</sup>	420,14 <sup>abc</sup>
4. Fertilizado (dosis 50 %) <sup>a</sup>	1,39 ns	0,16 <sup>cd</sup>	228,14 <sub>a</sub>	109,57 <sup>cd</sup>	6,01 <sup>bc</sup>	1,31 <sup>c</sup>	1,08 <sup>bc</sup>	377,00 <sup>bc</sup>
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50 %) <sup>a</sup>	1,20 ns	0,26 <sup>abc</sup>	262,14 <sub>a</sub>	156,00 <sup>c</sup>	7,84 <sup>ab</sup>	2,83 <sup>a</sup>	1,37 <sup>ab</sup>	512,57 <sup>a</sup>
6. Control <sup>Ω</sup>	0,94 ns	0,12 <sup>d</sup>	198,43 <sub>a</sub>	80,29 <sup>d</sup>	5,26 <sup>bc</sup>	1,63 <sup>bc</sup>	0,79 <sup>c</sup>	326,71 <sup>c</sup>

Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas test LSD  $p < 0.05$ . ns: diferencias no significativas. Ref.: 1. semillas inoculadas y suelo sin fertilizar; 2. \*suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 3. semillas inoculadas y \*suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 4. <sup>a</sup>suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%); 5. semillas inoculadas y <sup>a</sup> suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%) y 6. control: <sup>Ω</sup>semillas sin inocular y suelo sin fertilizar.

En el estadio Feekes 3.0 los tratamientos inoculados y/o fertilizados mostraron mayor número de macollos que el tratamiento control.

Considerando los componentes de rendimiento, los valores promedio de la variable  $\text{kg ha}^{-1}$  resultaron mayores en el tratamiento inoculado con *P. aurantiaca* y fertilizado dosis 50% ( $40 \text{ kg ha}^{-1}$  de urea -  $30 \text{ kg ha}^{-1}$  de fosfato diamónico), superando a los tratamientos inoculado y fertilizado dosis 100% ( $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de urea -  $60 \text{ kg ha}^{-1}$  de fosfato diamónico) y control ( $865 \text{ kg ha}^{-1}$  y  $636 \text{ kg ha}^{-1}$ , respectivamente) (Tabla 4). Se han reportado incrementos en el rendimiento de trigo cuando fue inoculado con bacterias PGPR, estas variaciones fueron de un 18% a 22% en Passo Fundo y de un 27% a 28% en Pato Branco, Brasil. (Da Luz, 2001). Se puede sugerir que *P. aurantiaca* SR1, provocó incrementos mayores, respecto del control, a los referidos por otros autores, los cuales utilizan inoculantes convencionales (Diaz-Zorita *et al.* 2004). García y Bach (2003) concluyeron que en cultivos de trigo inoculados en Pergamino y Chivilcoy (Argentina), los rendimientos e incrementos más estables se observaron con *Pseudomonas* spp. acompañada de una adecuada fertilización de nitrógeno y fósforo. En nuestro estudio, el efecto benéfico de la inoculación, también se reflejó en el peso de mil granos y número de espigas por planta, donde los valores obtenidos en el tratamiento inoculado y fertilizado dosis 50% superaron al control, aunque no significativamente. En el componente número de granos por espiga, los valores promedio del tratamiento inoculado y fertilizado dosis 50% superaron a todos los tratamientos evaluados. Sin embargo, cabe destacar que todos a su vez superaron al control (Tabla 4).

Tabla 4: Año 2006. Feekes 11.4. Componentes de rendimiento evaluados en trigo

Tratamientos	Rendimiento (Kg./ha)	Peso de mil granos	Número de espigas por planta	Número de granos por espiga
1. Inoculado	2249,72 <sup>ab</sup>	34,48 ns	1,30 ns	42.45 <sup>b</sup>
2. Fertilizado (dosis 100%) *	2169,40 <sup>ab</sup>	34,00 ns	1,25 ns	39.24 <sup>b</sup>
3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%) *	1776,66 <sup>b</sup>	36,40 ns	1,25 ns	41.70 <sup>b</sup>
4. Fertilizado (dosis 50 %) †	2264,91 <sup>ab</sup>	33,12 ns	1,10 ns	40.20 <sup>b</sup>
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50 %) †	2641,58 <sup>a</sup>	37,84 ns	1,45 ns	45.75 <sup>a</sup>
6. Control <sup>Ω</sup>	2005,82 <sup>b</sup>	32,64 ns	1,15 ns	32.70 <sup>c</sup>

### 5.1.1. Comparación de los componentes de rendimiento durante dos años de ensayos a campo (2005-2006)

A modo de resumen, se expresan los valores obtenidos de  $\text{kg ha}^{-1}$  (Tabla 5), peso de mil granos (Tabla 6), y número de granos por espiga (Tabla 7), a fin de comparar los resultados de la campaña 2005, obtenidos previamente por nuestro grupo de investigación y los resultados expuestos en este trabajo (año 2006). Estas comparaciones nos permiten

obtener un panorama más amplio y relativo del efecto de *P. aurantiaca* SR1, inoculada en trigo, bajo condiciones de campo.

Analizando el rendimiento de granos en  $\text{kg ha}^{-1}$  para el tratamiento inoculado con *P. aurantiaca* SR1 comparado con el control, durante el 2005 se observó un incremento a favor de la inoculación de  $1038,57 \text{ kg ha}^{-1}$  y durante el 2006 el incremento fue de  $243,90 \text{ kg ha}^{-1}$ . El valor promedio para los dos años fue de  $641 \text{ kg ha}^{-1}$  (Tabla 5). Este resultado supera a los incrementos medios obtenidos por García y Bach (2003), utilizando un inoculante comercial de *Pseudomonas* sp., el cual fue de  $334 \text{ Kg ha}^{-1}$  en la localidad de Chivilcoy y de  $273 \text{ Kg ha}^{-1}$  en la localidad de Pergamino, para tres años de ensayos.

Estos autores reportaron además, que el tratamiento inoculado con *Pseudomonas* spp. y fertilizado con dosis de  $40 \text{ kg de P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$  logró rendimientos similares al tratamiento no inoculado y fertilizado con  $80 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$ , éstos datos se correlacionan con los valores obtenidos en nuestros ensayos, donde la inoculación y fertilización con dosis 50% logró rendimientos similares a la fertilización 100%. Cuando se compararon los tratamientos inoculado y fertilizado dosis 50% versus inoculado y fertilizado dosis 100%, se observó que una disminución de la dosis de fertilizante químico logró incrementar el rendimiento de granos  $387,85 \text{ kg ha}^{-1}$ , durante el 2005 y  $911 \text{ kg ha}^{-1}$ , en el año 2006 (Tabla 5). Díaz-Zorita *et al* (2004) reportaron que el incremento promedio de  $\text{kg ha}^{-1}$  en plantas inoculadas con *A. brasilense* resultó de  $236 \text{ Kg ha}^{-1}$  respecto del control, en dos años de ensayos.

Los incrementos obtenidos durante el año 2006, se destacaron por sobre la campaña anterior, aún cuando los valores promedios no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 6)

Tanto la inoculación de trigo con *P. aurantiaca* SR1 solamente como en combinación con una fertilización al 50% de la dosis de campo, mostraron un efecto promotor en el aumento del número de granos por espiga. Durante el año 2006 éste resultado fue más notorio (Tabla 7).

El incremento promedio observado en nuestros ensayos fue de 7,5 granos por espiga a favor del tratamiento inoculado con *P. aurantiaca* SR1, cuando se comparó con el control. *Azospirillum brasilense* inoculado a campo en Argentina logró un incremento promedio en dos años de ensayo con trigo de 1,5 granos por espiga, respecto del control no inoculado (Díaz-Zorita *et al* 2004).

Tabla 5: Rendimiento en kg ha<sup>-1</sup> de trigo (Años 2005 y 2006).

TRATAMIENTOS COMPARADOS	AÑO 2005	AÑO 2006
	Incremento (kg ha <sup>-1</sup> )	Incremento (kg ha <sup>-1</sup> )
1. Inoculado con <i>P. aurantiaca</i> SR1 vs 6. control	+ 1038,57	+ 243,90
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%)	+ 387,85	+ 911,74
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 6. control	+ 507,35	+ 635,76
3. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 2. Fertilizado (dosis 100%)	+ 186,86	+ 472,18
3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%) vs 2. Fertilizado (dosis 100%)	+ 547,71	-392,74

Ref.: vs: versus. 1. semillas inoculadas y suelo sin fertilizar; 2. suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 3. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 4. suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%); 5. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%) y 6. control: semillas sin inocular y suelo sin fertilizar.

Tabla 6: Peso de mil granos de trigo (Años 2005 y 2006)

TRATAMIENTOS COMPARADOS	AÑO 2005	AÑO 2006
	Incremento (peso de mil granos (g))	Incremento (peso de mil granos (g))
1. Inoculado con <i>P. aurantiaca</i> SR1 vs 6. control	+ 1	+ 1,8
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%)	-1,5	+ 1,4
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 6. control	-1,6	+5,2
3. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 2. Fertilizado (dosis 100%)	+ 1,72	+3,8
3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%) vs 2. Fertilizado (dosis 100%)	-0,2	+2,4

Ref.: vs: versus. 1. semillas inoculadas y suelo sin fertilizar; 2. suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 3. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 4. suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%); 5. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%) y 6. testigo: semillas sin inocular y suelo sin fertilizar.

Tabla 7: Número de granos por espiga de trigo (Años 2005 y 2006).

TRATAMIENTOS COMPARADOS	AÑO 2005	AÑO 2006
	Incremento (peso de mil granos (g))	Incremento (peso de mil granos (g))
1. Inoculado con <i>P. aurantiaca</i> SR1 vs 6. control	+5,25	+9,75
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%)	-0,8	+ 4
5. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 6. control	+0,8	+ 13
3. Inoculado y fertilizado (dosis 50%) vs 2. Fertilizado (dosis 100%)	+ 1,3	+ 6,5
3. Inoculado y fertilizado (dosis 100%) vs 2. Fertilizado (dosis 100%)	+ 2,1	+ 2,5

Ref.: vs. versus. 1. semillas inoculadas y suelo sin fertilizar; 2. suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 3. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 80 Kg./ha de urea - 60 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 100%); 4. suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%); 5. semillas inoculadas y suelo fertilizado con 40 Kg./ha de urea - 30 Kg./ha de fosfato diamónico (dosis 50%) y 6. testigo: semillas sin inocular y suelo sin fertilizar.

## 5.2. Recuentos rizosféricos de *P. aurantiaca* SR1.

La dinámica poblacional de *P. aurantiaca* SR1 fue evaluada durante los dos ciclos de cultivo (Gráfico 4). El gráfico evidencia que la cepa mantuvo su población estable en el área rizosférica del cultivo, la disminución de la población bacteriana coincide con el periodo feekes 10.5.4 (vulgarmente: cuajado del grano o antesis), donde todos los fotosintetizados se concentran en la hoja bandera a fin de completar el llenado de granos (periodo comprendido entre feekes 10.5.4 a 11.3).

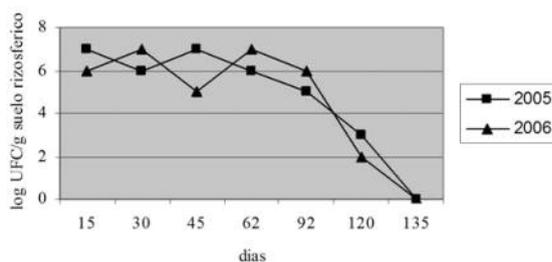


Gráfico 4: Recuentos rizosféricos de *P. aurantiaca* SR1 en trigo. Años 2005 y 2006.

## 6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo, al inocular trigo con *P. aurantiaca* SR1, fueron alentadores. Sin embargo, presentaron una gran variabilidad, en especial cuando se compararon dos años del mismo cultivo, lo cual puede asociarse a condiciones ambientales y edáficas, que son únicas para cada ciclo.

Estos resultados sugieren que la inoculación con *P. aurantiaca* SR1 tiene una influencia benéfica potencial sobre los cultivo, favoreciendo su productividad y permitiendo además, reducir la dosis de fertilización con urea.

Cabe destacar que el efecto promotor observado sobre las raíces se traduce a una mayor área exploratoria, lo cual permitiría en años o épocas de sequía lograr un mejor implante del cultivo y de esta forma poder realizar siembras con porcentajes de agua en suelo o contenidos de agua útil menores a los recomendados.

La inoculación de esta cepa en el trigo provocó aumentos notables sobre todos los parámetros de crecimiento analizados, y en especial sobre los componentes de rendimiento.

Los recuentos rizosféricos comprobaron la estabilidad poblacional de *P. aurantiaca* SR1.

Incrementar la calidad de la flora microbiana del suelo, mediante la incorporación de organismos específicos para la contribución en diversos procesos de los cultivos, es una alternativa que contribuye a la sustentabilidad de los agro-ecosistemas (Caballero-Mellado *et al.* 1992), y colabora en el gran desafío que existe en la actualidad, que es el de abastecer a la población mundial y a poblaciones futuras de alimentos sanos, naturales y libres de contaminantes, preservando las capacidades y propiedades de los suelos, conservando los recursos naturales.

Estos ensayos a campo son los primeros reportes que evidencian el efecto benéfico de *P. aurantiaca* SR1 inoculada en trigo, sugiriendo su potencial aplicación como inoculante comercial a fin de maximizar la producción de estos y otros cultivos.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Alvarez, R., Nissen, S.J., Sutter, E. 1989 Relationship between indol-3-acetic acid levels in apple (*Malus pumila* Mill) Rootstocks cultured in vitro and adventitious root formation in the presence of indol-3-butiric acid. *Plant Physiology* 89:439-443.
- Andrade, G., De Leij, F.A.A.M., Lynch, J.M. 1998. Plant mediated interactions between *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium leguminosarum* and arbuscular mycorrhizae on pea. *Letters in Applied Microbiology*. 26: 311-316.
- Andrade, F.H., Aguirrezábal, L.A.N., Rizzalli, R.H. 2000. Crecimiento y rendimiento comparados. In: Bases para el Manejo del Maíz, el Girasol y la Soja. Andrade F.H. y Sadras V.O. (eds.). Editorial Médica Panamericana. Balcarce, Argentina. 61-96.
- Avanzini, G.; Carlier, E.; Fernández Bustos, D.; Rovera, M y Rosas, S. 2005. Ensayos de promoción de crecimiento en trigo inoculado con *Pseudomonas aurantiaca*. Congreso Semana del Microbiólogo V Edición: Biotecnología. Desafíos actuales y futuros. 2 p. Versión CD-ROM. ISBN 950-665-339-9.
- Avanzini, G., Pasluosta, C., González Fiqueni, F., Girardi, V., Varaschin, C., Guiñazú, L., Moretti, E., Rosas, S. 2007. Efecto de *Pseudomonas aurantiaca* sobre el crecimiento vegetal y rendimiento en maíz (*Zea mays L.*) a campo. VI Encuentro nacional científico técnico de biología del suelo. IV Encuentro sobre fijación biológica de nitrógeno. Carmen Olmedo, Alicia Thuar y Estela Castro (compiladoras). Version CD-ROM. 11p. ISBN 978-950-665-438-2.
- Babana, H.A. and Antoun 2006. Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field-grown wheat (*Triticum aestivum L.*) in Mali. *Plant and Soil*, 287: 51-58.
- Backman P A and Turner J T Jr 1989 Plant response and disease control following seed inoculation with *Bacillus subtilis*. In Proceedings of the Beltwide Cotton Products Research Conference [Book 2]. Ed. J M Brown. . National Cotton Council of America, Memphis. 61-71

- Bai, Y., Pan, B., Charles, T.C., Smith, D.L. 2002. Co-inoculation dose and root zone temperature for plant growth promoting rhizobacteria on soybean [*Glycine max* (L.) Merr] grown in soil-less media. *Soil Biol. Biochem.* 34:1953-1957.
- Bakker, P.A.H.M., Van Peer, R., Schippers, B. 1991. Suppression of soil-borne plant pathogens by fluorescent *Pseudomonas*: mechanisms and prospects, In: Beemster, A.B.R., Bollen, M., Gerich, M., Ruissen, M.A., Schippers, B., Tempel, A. (Eds), *Biotic Interactions and Soil-Borne Diseases*. Elsevier, Amsterdam, 221-230.
- Baldani, V.L.D., Baldani, J.J., Döbereiner, J. 2000. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropediacae* spp. *Biol. Soils.* 30: 485-491.
- Bashan, Y. and de-Bashan, L.E. 2005. Bacteria. Plant Growth Promoting. In: *Encyclopedia of soils environment*. (Ed) Hiller, D., Elsevier (1): 103-115. 2200 p.
- Bashan, Y. and Levanony, H. 1990. Current status of Azospirillum inoculation technology: Azospirillum as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.*, 36: 591-608.
- Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnol. Adv.* 16: 729-770.
- Bedmar, E.J., González, J., Lluch, C., Rodelas, B. 2006. Fijación de nitrógeno: Fundamentos y aplicaciones. Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno (SEFIN), Granada.
- Berti, M., Faggioli, V., Cazorla, C., Montecchia, M., Vigna, A., Maglione, C., Correa, O. 2007. La inoculación con *Pseudomonas fluorescens* estimula la micorrización natural del cultivo de soja. VI Encuentro nacional científico técnico de biología del suelo. IV Encuentro sobre fijación biológica de nitrógeno. Carmen Olmedo, Alicia Thuar y Estela Castro (compiladoras). Version CD-ROM. 8p. ISBN 978-950-665-438-2.
- Bertrand, H., Nalin, R., Bally, R., Cleyet-Marel, J.C. 2001. Isolation and identification of the most efficient plant growth-promoting bacteria associated with canola (*Brassica napus*). *Biol Fertil Soils* 33:152-156.
- Bleiholder, H., Weber, E., Feller C., Hess M., Wicke H., Meier U. van den Boom, T., Buhr, F. L., Hack, H. 2001 *Estadios de las plantas mono-y dicotiledóneas BBCH Monografía 2.*

Edition, Elaborado por Uwe Meier Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura

- Blumer, C. and Haas, D. 2000. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch. Microbiol.* 173: 170-177.
- Bowen, G. and Rovira, A. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Sparks, D. (Ed.). *Advances in Agronomy.* 66: 1-103.
- Briat, J.F. 1992. Iron assimilation and storage in prokaryotes. *J. Gen. Microbiol.* 138: 2475-2483.
- Bric, J.M., Bostock, R.M., Silverstone, S.E. 1991. Rapid in situ assay for indolacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 535-538.
- Britto Álvarez, M.A., Gagné, S., Antoun, H. 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 194-199.
- Bull, C.T., Weller, D.M., Thomashow, L.S. 1991. Relationships between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* strain 2-79. *Phytopathology* 81: 954-959.
- Caballero-Mellado, J., Carcano-Montiel, M.G., Mascarua-Esperanza, M.A. 1992. Field inoculation of wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum brasilense* under temperate climate. *Symbiosis*, 13: 243-253.
- Chanway, C.P., Hynes, R.K., Nelson, L.M. 1989. Plant growth-promoting rhizobacteria: Effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens esculenta* Moench) and pea (*Pisum sativum* L.). *Soil Biology and Biochemistry* 21, 511-517.
- Chanway, C.P., Shishido, J., Nairn, S., Jungwirth, J., Markham, G., Xiao, G., Holl, F.B. 2000. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedling after inoculation with plant growth rhizobacteria. *For. Ecol. Manage.* 133: 81-88.

- Chelius, M.K. and Triplett, E.W. 2000. Prokaryotic nitrogen fixation: Model system for the analysis of a biological process. Horizon Scientific Press. Wymodham, UK.
- Chet, I.; Inbar, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. Appl. Biochem. Biotechnol. 48: 37-43.
- Chhonkar, P.K. and Tarafdar, J.C. 1984. Accumulation of phosphatase in soils. Indian Soc Soil Sci 32: 266-272.
- Ciampitti, I.A., Micucci, F.G, Fontanetto, H., García O. 2006. Manejo y ubicación del fertilizante junto a la semilla: Efectos Fitotóxicos. Archivo de Agronomía nº 10. INPOFOS Cono Sur, 2EEA INTA Rafaela. 8p
- Cook, R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Ann Rev Phytopathol. 31: 53–80.
- Cronin, D., Moënné-Loccoz, Y., Fenton, A., Dunne, C., Dowling, D.N., O'Gara, F. 1997. Ecological interaction of a biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain producing 2,4-diacetylphloroglucinol with the soft rot potato pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. FEMS Microbiology Ecology 23(2): 95.
- Cunfer and Ueng, 1999. Taxonomy and Identification of Septoria and Stagonospora species on small-grain cereals. Annu. Rev. Phytopathol. 37:267-284.
- Da Luz, W.C. 2001 Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. Fitopatol. bras. 26(3): 597-600.
- Dashti, N., Zhang, F., Hynes R., Smith, D.L. 1997. Application of plant growth-promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) increases protein and dry matter yield under short-season conditions. Plant and Soil 188, 33.
- Dashti, N., Zhang, F., Hynes, R., Smith, D.L. 1998 Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] under short season conditions. Plant Soil 200:205–213.

- De Weber, L.A., Van Der Bjj, A.J., Dekkers, L.C., Simons, M., Wilffelman, G., Lugtemberg, B.J. 1995. Colonization of rhizosphere of crop plants by plant beneficial *Pseudomonas*. FEMS Microb. Ecol. 17: 221-228.
- Del Gallo, M. and Fabbri, P. 1990. Inoculation of *Azospirillum brasilense* Cd on chickpea (*Cicer arietinum*). Symbiosis 9: 283-287.
- De Souza, J.T., De Boer, M., De Waard, P., Van Beek, T.A., Raaijmakers, J.M. 2003a. Biochemical, genetic and zoospiricidal propieties of cyclic lipopeptides surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. Applied Env. Microbiol. 69: 7161-7172.
- De Souza, J.T., Weller, D.M., Raaijmakers, J.M. 2003b. Frecuency, diversity and activity of 2,4 diacetylfluoroglucinol-producing fluorescents *Pseudomonas* spp. in dutch take-all decline soils. Phytopathology 93:54-64.
- Díaz Zorita, M. Pepi, M., Grosso, G. 1998. Estudio de las precipitaciones en el oeste bonaerense. EEA INTA Gral. Villegas. Publicación técnica 23: 15.
- Díaz-Zorita, M., Baliña R.M., Fernández-Canigia, M.V. y Peticari, A. 2004. Producción de cultivos de trigo inoculados con bacterias promotoras del crecimiento vegetal. En: A Todo Trigo. Mar del Plata, BA. Argentina. Federación de Centros y Entidades Gremiales de Acopiadores de Cereales, Argentina 205-209.
- Dignani, D., Gerster, G., Salvagiotti, F., Castellarín, J., Ferro D., Boldrini M. 2006. Fitotoxicidad de los fertilizantes fosfatados en soja. Efecto de la fuente, dosis y forma de aplicación. En: Para mejorar la producción, INTA EEA Oliveros, 33: 66-70.
- Dileep Kumar, B.S. and Dube, H.C., 1992. Seed bacterization with a fluorescent *Pseudomonas* for enhanced plant growth, yield and disease control. Soil Biol. Biochem. 24: 539-542.
- Dobbelaere S., Croonenborghs A., Thys A., Ptacek D., Vanderleyden J., Dutto P., Labandera-Gonzalez C., Caballero- Mellado, Aguirre J.F., Kapulnik Y., Brener S., Burdman S., Kadouri D., Sarig S. and Okon Y. 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. Aust J. Plant Physiol. 28: 871-879.

- Döbereiner, J. and Pedroza, F. 1987. Nitrogen-fixing bacteria in non leguminous crop plants. Sci. Tech. Publishers/Springer Verlag, pp. 1-155. Madison, Wis. USA.
- Dos Reis Jr, F.B., Reis, V.M., Urquiaga, S., Döbereiner, J. 2000. Influence of nitrogen fertilization on the population of diazotrophic bacteria *Herbaspirillum* spp. and *Acetobacter diazotrophics* in sugar cane (*Saccharum* spp.). Plant Soil 219: 153:159
- Dubeikovsky, A.N., Mordukhova, E.A., Kochetkov, V.V., Polikarpova, F.Y and Boronin, A.M., 1993. Growth promotion of blackcurrant softwood cuttings by recombinant strain *Pseudomonas fluorescens* BSP53a synthesizing and increased amount of indol-3-acetic acid. Soil Biology Biochemistry 25: 1277-1281.
- Duijff, B.J.; Meijer, J.W.; Bakker P.; Schippers, B. 1993. Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in the suppression of *Fusarium* wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. Netherlands Journal of Plant Pathology. 99: 277-289.
- Duijff, B.J., Gianinazzi-Pearson, V. Lemanceau, P. 1997. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by Biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. New Phytol. 135: 325-334.
- Egli, D.B., and Zhen-Wen, Y. 1991. Crop growth rate and seeds per unit area in soybean. Crop Sci. 31:439-442.
- Emidi, P., Rovera, M., Diaz, M.C., Andrés, J.A., Rosas, S., Correa, N. 2003. "*Pseudomonas aurantiaca*: Biocontroladora endófito en soja y trigo" En: Libro de la IV Reunión Científico-Técnica de Biología de Suelos. IV Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno. Tema 2: Microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR). (Eds: Ada Albanesi, Analía Anriquez, Silvia Luna, Carlos Kunst, Roxana Ledesma) ISBN 097-99083-6-8.
- Espósito G., Gesumaria, J., Castillo, C., Balboa, R., Ansal W. 2002. Respuesta del cultivo de trigo bajo siembra directa a la fertilización nitrogenada y fosfatada. Centro Agrícola. Revista del Ministerio de Educación Superior de la República de Cuba. 2 (1): 64:70.
- FAO, 2006. Todas las estadísticas de producción mundial se basan en los datos oficiales de la FAO (Food and agriculture organization of the United Nations).

Feekes. Feekes International Scale – Large 1954

Fher, W.R. and Caviness, C.E.. 1977. Stages of soybean development. SR-80, Iowa Agric. Exp. St, Ames IA, 11 p.

Flores, M. and Ferraris, O., INTA, 2001. Fertilización biológica. Experiencias en Trigo. p. 17.

Fridlender, M., Inbar, J., Chet, I., 1993. Biological control of soil borne plant pathogens by  $\beta$ <sup>1</sup>,3-glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. Soil Biology Biochemistry, 25, pp 1211-1221.

Frioni, L. 1999. Procesos microbianos. Tomo I y II. Ed. de la Fundación de la Universidad Nacional de Río Cuarto Córdoba. ISBN 950-665-109-4. Cap. 15

Fulchieri, M. and Frioni, L. 1994 *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays*): effect on yield in a field experiment in central Argentina. Soil Biol. Biochem. 26: 921–923.

Fuqua, C., Winans, S.C., Greenberg, E.P. 1996. Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxL family of quorum-sensing transcriptional regulators. Ann. Rev. Microbiol. 50: 727-751.

Gallagher, L. and Manoil, C. 2001. *Pseudomonas aeruginosa* PAOI kills *Caenorhabditis elegans* by cyanide poisoning. J. Bacteriol. 183: 6207-6214.

Gamard P, Sauriol F, Benhamou N, Bélanger RR, Paulitz T.C. 1997. Novel butyrolactones with antifungal activity produced by *Pseudomonas aureofaciens* strain 63-28. J. Antibiot (Tokyo). 50 (9):742-9.

Gamble, T.N., Betlach, M.R., Tiedje, J.M. 1997. Numerical dominant denitrifying bacteria from World soils. Appl. Environ. Microbiol. 33 (4): 926-939.

García, R and Bach, T. 2003. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sobre el rendimiento del trigo. Informe técnico 324, INTA EEA Pergamino. 19 p.

- García-González, M.M, Fariás-Rodríguez, R., Peña-Cabriales, J.J., Sánchez-Yáñez, J.M. 2004. Inoculación del Trigo var. Pavón con *Azospirillum lipoferum* y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Lat.* 23: 65-72
- Gasoni, L., Cozzi, J. Kobayashi, K. Yossen, V., Zumelu, G., Babbitt, S., Kahn, N. 2001. Yield response of lettuce and potato to bacterial and fungal inoculants under field conditions in Córdoba (Argentina). *J. Plant Dis. Protection* 108: 530-535.
- Germida J.J. and Walley F.L. 1996. Plant growth-promoting rhizobacteria alter rooting patterns and arbuscular mycorrhizal fungi colonization of field-grown spring wheat. *Biol. Fertil. Soils* 23: 113–120.
- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. Journal Microbiol.* 41: 109<sup>1</sup>17.
- Glick, B.R. and Bashan, Y. 1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology advances.* 15: 353-378.
- González-López, J. and Lluch, C. 1992. Interacción planta-microorganismo: metabolismo del nitrógeno. Ed. Rueda SL. Madrid.
- Greenough, D.R. and Batson, W.E. 1989. Potential for *Bacillus subtilis* as a bioprotectant of cotton seedlings in soil infested with *Rhizoctonia solani*. *Phytopathol.* 79: 373.
- Grimes, H.D. and Mount, M.S. 1987. Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. *Soil Biol. Biochem.* 16: 27–30.
- Guiñazú, L., Pastor, N., Bergesse, J., Andrés, J., Rosas, S. 2007. Evaluación de la promoción del crecimiento de alfalfa (*Medicago Sativa*) por bacterias solubilizadoras de Fe y P. VI Encuentro nacional científico técnico de biología del suelo. IV Encuentro sobre fijación biológica de nitrógeno. Carmen Olmedo, Alicia Thuar y Estela Castro (compiladoras). Version CD-ROM. 13p. ISBN 978-950-665-438-2.
- Gutiérrez-Manero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouchi, J., Tadeo, F.R. Talon, M. 2001. The plant –growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol. Plant* 111: 206-211.

- Hancock, R.E.W.; Chapple, D.S. 1999. Peptide antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 1317-1323
- Hebbar, K.P., Atkinson, D.; Tucker, W.; Dart, P.J. 1992. Suppression of *Fusarium moliniforme* by maize root-associated *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biol. Biochem.* 24 (10):1009-1020.
- Heilmann C., Schweitzer, O., Gerke, C., Vanittanakom, N., Mack, D., and Gotz, F. 1996. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Mol. Microbiol.* 20, 1083-1091.
- Hernández Montiel L.G. and Escalona Aguilar M.A., 2003. Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR. *La Ciencia y el hombre. Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana.* Vol. XVI, núm. 1.
- Hernández, Y. 1998. La fijación biológica del nitrógeno. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 32: 233-245.
- Hessenmüller, A. and Zeller, W., 1996. Biologische Bekämpfung von bodenbürtigen *Phytophthora*-Arten an Erdbeere durch bakterielle Antagonisten. I. Antagonistische Wirkung und Kolonisierung der Rhizoplane. *Pfl.krank. Pfl.schutz* 103: 602-609.
- Höfllich, G., Wiehe, W., Kuhn, G. 1994. Plant growth stimulation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. *Experientia* 50: 597-905.
- Höfllich, G., Wiehe, W., Hecht-Buchholz, C. H. 1995. Rhizosphere colonization of different growth promoting *Pseudomonas* and *Rhizobium* bacteria. *Microb. Res.* 150: 139-147.
- Holt, J.G, Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. (Editors). 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology.* 9<sup>th</sup> ed.
- Infoagro 2009. El cultivo de Trigo, Parte 1°. En: <http://www.infoagro.com/herbaceos/cereales/trigo.htm>

- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J.M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*, 37: 1-16.
- Kent, N.L. 1983. *Technology of Cereals*, 3ª edición, Pergamon Press (3): 27-48.
- Klein D.A., Salzwedel J.L. and Dazzo F.B. 1990. Microbial colonization of plant roots. In: Nakas J.P. and Hagedorn C. (ed.), *Biotechnology of Plant-Microbe Interactions*. McGraw-Hill, New York, USA, 189-225.
- Kloepper, J. and Schroth, M. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes, Fourth International Conference on Plant Pathogen Bacteria, Angers, France, 2: 879-882.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, K. and Schroth, M.N. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas Sci Anim Plant Sci*. 60-64.
- Kloepper, J., Tuzun, S. and Kúc, J. 1992. Proposed definitions relates to induces disease resistance. *Biocontrol Science and Technology*, 2: 347-349.
- Kluepfel, D.A. 1993. The behaviour and tracking of bacteria in the rizosphere. *Annual Review of Phytopathology* 1, 441-472.
- Kohler, J., Caravaca, F., Carrasco, L., Roldán, A. 2006. Contribution of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* to aggregate stabilitation and promotion of biological fertility in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. *Soil use and Management*. *Soil Use and Management*. 22(3):298-304.
- Kremer, R.J. and Souissi, T. 2001. Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Curr. Microbiol*. 43: 182-186.
- Kurek, E. and Jaroszuk-Scisel, J. 2003. Growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. *Biol. Control* 26: 48-56.
- Large EC (1954) Growth stages in cereals. Illustration of the Feekes scale. *Plant Pathol* 3(4):128-125.

- Leigh, G. J. 2002. Nitrogen fixation at the millennium. London, RU. Elsevier Science.
- Lifshitz, R. Kloepper, J.W., Kozlowsky, M., Simonson, C., Carlson, J., Tipping, E.M., Zaleska, I., 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. Canadian Journal Microbiology 33, pp. 390-395.
- Lodeiro, A.R., López Garcia, S.L, Mongiardini, E., Quelas, J.I., Peticari, A.. 2003. Los Rizobios y la Inoculación de las Leguminosas para la Fijación Simbiótica de Nitrógeno. En: Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina. Ada Albanesi, Analía Anriquez, Silvia Luna, Carlos Kunst, Roxana Ledesma (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. pp. 159-193.
- Loh, J., Pierson, E.A., Pierson III, L.S., Stacey, G., Chattarjee, A. 2002. Quorum sensing plant-associated bacteria. Current Opinion in Plant Biology 5:285-290.
- Loper, J.E. and Buyer, J.S. 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. Molecular Plant-Microbe Interaction. 4: 5-13.
- Lucy, M., Reed E., Glick, B.R. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek 86: 1-25, 2004.
- Maurhofer, M., Keel, C., Haas, D. DeFago, G. 1994. Pyoluteorin production by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO is involved in the suppression of *Pythium* damping-off of cress but not of cucumber. European Journal of Plant Pathology 100: 221-232 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Mavrodi, O.V., Mavrodi, D.V. Park, A.A., Weller, D.M., Thomashow, L.S. 2006. The role of dsbA in coinoculation of the wheat rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* Q8r1-96. Microbiology, 152: 863-872.
- Métraux, J-P.; Signer, H.; Ryals, J.; Ward, E.; Wyss-Benz, M.; Gaudin, J.; Raschdorf, K.; Schmid, E.; Blum, W.; Inverardi, B. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. Science. 250: 1004-1006.
- Mishustin E.N. and Naumova A.N. 1962. Bacterial fertilizers, their effectiveness and mode of action. Mikrobiologiya 31: 543-545.

- Muthukumarasamy, R., Revathi, G., Seshadri, S., Lakshminarasihan, C. 2002. *Glucobnacetobacter dizatrophicus* a promising diazotrophic endophyte in tropics. Current Sci. 83: 137-145.
- Neilands, J.B. and Leong, S.A. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. Annu. Rev. Plant Physiol. 37: 187-208.
- Nelson. 1992. Biological control of plant diseases, progress and challenges for the future (Ed. E.C. Tjamos, G.C. Papavizas y R.J. Cook). Plenum Press, New York 353-357.
- Newman, E., 1966. A method of estimating the total length of root in a sample. Journal of Applied Ecology 2: 139-145.
- Newton, E. N. 2004. Nitrogen Fixation: Origins, Application and Research Progress. In: Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology and the Environment. Eds: Werner D. and Newton, W.E.) Springer.
- Nielsen, T.H., Sorensen, D., Tobiasen, C., Andersen, J.B., Christephersen, C., Givskov, M., Sorensen, J. 2002. Antibiotic and biosurfactant proprieties of cyclic lipopeptides produced by *Pseudomonas* spp. from sugar beet rhizosphere. Appl. Environ. Microbiol. 68:3416-3423.
- Nishijima, F., Evans, W.R., Vesper S.J. 1988. Enhanced nodulation of soybean by *Bradyrhizobium* in the presence of *Pseudomonas fluorescens*. Plant Soil 111: 149-150.
- O'Sullivan, D.J. and O'Gara, F. 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiol. Rev. 56: 662-676.
- Okon, Y. and Labandera-González, C. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. Soil. Biol. Biochem. 26: 1591-1601.
- Okon Y. and Vanderleyden J. 1997. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. ASM News 63: 366-370.

- Okon, Y., Fallik, E., Sarig, S. 1998. Plant growth promoting effects of *Azospirillum*. En: *Nitrogen fixation: Hundred years after*. (H. Botha; F. J. de Bruijn; W.E. Newton, Eds.). Gustav Fischer, Stuttgart. 741-746.
- Pasluosta, C., Andrés, J., Rovera, M., Guiñazú, L., Carlier, E., Rosas, S. 2005. Promotion of Alfalfa Growth by *Pseudomonas aurantiaca* in coinoculation with *Sinorhizobium meliloti*. *Biocell*. ISSN 0327-9547 (print), ISSN 1667-5746 (electronic) 29 (2): 52.
- Pasluosta, C., Andrés, J., Rovera, M., Rosas, S. 2007a. Influencia del soporte sobre el crecimiento de Alfalfa coinoculada con *Pseudomonas aurantiaca* Y *Sinorhizobium meliloti*. VI Encuentro nacional científico técnico de biología del suelo. IV Encuentro sobre fijación biológica de nitrógeno. Carmen Olmedo, Alicia Thuar y Estela Castro (compiladoras). Version CD-ROM. 6p. ISBN 978-950-665-438-2.
- Pasluosta, C., Avanzini, G., González Fiqueni F., Varaschin, C., Moretti, E., Rosas S. 2007b. Respuesta de girasol (*Helianthus agnus*) a la inoculación con *Pseudomonas aurantiaca* en ensayo a campo. VI Encuentro nacional científico técnico de biología del suelo. IV Encuentro sobre fijación biológica de nitrógeno. Carmen Olmedo, Alicia Thuar y Estela Castro (compiladoras). Version CD-ROM. 6p. ISBN 978-950-665-438-2.
- Patten CL, Glick BR (2002) Role of *Pseudomonas putida* indolacetic acid in development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol* 68: 3795-3801.
- Peix, A., Rivas-Boycero A.A., Mateos, P.F., Rodríguez-Barrueco, C., Martínez-Molina, E., Velazquez, E. 2001. Growth promotion of chickpea and barley by phosphate solubilizing strain of *Mezorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem.* 33: 103<sup>-1</sup>10.
- Pilet, P.E. and Saugy, M. 1987. Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. A critical re-examination. *Plant Physiology* 83: 33-38.
- Pierson, L.S., Wood, D., Pierson, E.A. 1998. Homoserine lactone-mediated gene regulation in plant associated bacteria. *Ann. Rev. Phytopathology.* 36:207-225.
- Prithiviraj, B., Bais, H., Weir, T., Suresh, B., Najarro, E., Dayakar, B., Schweizer, H., Vivanco, J. 2005. Down regulation of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by

- salicylic acid attenuates its virulence on *Arabidopsis thaliana* and *Caenorhabditis elegans*. *Infect Immun* 73 (9): 5319-28.
- Plazinski J. and Barry, G. R. 1985. Influence of *Azospirillum* Strains on the Nodulation of Clovers by Rhizobium Strains. *Appl Environ Microbiol.* 49(4): 984-989.
- Polonenko D.R., Scher F.M., Kloepper J.W., Singleton C.A., Laliberte M., and Zaleska I. 1987. Effects of root colonizing bacteria on nodulation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*. *Can. J. Microbiol.* 33: 498-503.
- Powell, J.F., Vargas, J.M., Nair, M.G., Detweiler, A.R., Chandra, A. 2000. Management of dollar spot on creeping bentgrass with metabolites of *Pseudomonas aureofaciens* (TX<sup>-1</sup>). *Plant Disease.* 84: 19-24.
- Raaijmakers, J.M., Weller, D.M., Thomashow, L.S. 1997. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 881-887.
- Raaijmakers, J.M., Bonsall, R F., Weller, D.M. 1999. Effect of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of 2,4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology.* 89: 470-475.
- Raaijmakers, J.M., Vlami, M., De Souza, J. 2002. Antibiotic production by bacterial Biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek.* 81: 537-547.
- Ramette, A. Frapolli, M, Défago, G, Moënne-Loccoz, Y. 2003. Phylogeny of HCN Synthase-Encoding *hcnBC* Genes in Biocontrol Fluorescent *Pseudomonas* and Its Relationship with Host Plant Species and HCN Synthesis Ability. *Molecular Plant-Microbe Interactions.* 16: 525-535.
- Raunskov, S., Nybroe, O., Jakobsen I. 1999. Influence of an arbuscular mycorrhizal fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hyphosphere soil. *New. Phytol.* 142: 113-122.
- Reis, V.M., Baldani, J.I., Baldani, V.L.D., Döbereiner, J. 2000. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. *Crit. Rev. Plant Soil* 19: 227-247.

- Riggs, P.J., Chelius, M.K., Iñiguez, A.L., Kaepler, S.M., Triplett, E.W. 2001. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 829-836.
- Rodríguez, H. and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances.* 17: 319-339.
- Rosas, S. and Schroder, E. 1992. Informe UNESCO. Short time fellowship in Biotechnology.
- Rosas, S., Altamirano F., Schroder, E., Correa, N. 2001. In vitro biocontrol activity of *Pseudomonas aurantiaca*. *Phyton. Int. J. Exp. Bot.* 203-209.
- Rosas, S.B., Rovera, M., Andrés, J.A., Pastor, N.A., Guñazú, L.B., Carlier, E., Avanzini, G., Correa, N.S. 2005. Characterization of *Pseudomonas aurantiaca* as biocontrol and PGPR agent. Endophytic properties. In: *Plant Microbe Interactions: Endophytes and Biocontrol Agents*. Editors: Seppo Sorvari and Otto Toldi. pp. 91-99.
- Rovera, M., Cabrera, S., Rosas, S., Correa N. 2000 a. Characterization of antifungal agent produced by *Pseudomonas aurantiaca* for the use as biocontrol inoculant. In: Pedrosa FO, Hungria M, Yates MG, Newton WE (eds) *Nitrogen Fixation: From Molecules to crop productivity*. Kluwer Academic Publishers: pp 602.
- Rovera, M.; Correa, M.; Reta, M. Andres, J.; Rosas, S.; Correa, N. 2000 b. Chemical identification of antifungal metabolites produced by *Pseudomonas aurantiaca*. In: *Proceedings of the 5<sup>th</sup> International PGPR Workshop*. Web Page: <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/rovera.pdf>.
- Ruiz Camacho, R. 1981. Cultivo del Trigo y la Cebada. *Temas de Orientación Agropecuaria*, Bogotá. 9<sup>-12</sup>.
- SAGyP. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Argentina. 2007. <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>.
- Sastry, M.S.R., Sharma, A.K., Johri, B.N. 2000. Effect of an AM fungal consortium and *Pseudomonas* on the growth and nutrient uptake of Eucalyptus hybrid. *Micorrhyza* 10: 55-61.

- Scharen, A.L., 1999. "Biology of the Septoria/Stagonospora Pathogens: An Overview" In: "Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research" CIMMYT, Mexico M. van Ginkel, A. McNab, and J. Krupinsky, editors
- Shroyer P.J., Mikesell E.M. and Paulsen M.G. 1995. Sping Freeze Injury to Kansas Wheat. Agr. Exp. Station and Coop. Extension Service. KSU, Manhattan.
- Sindhu S. S., Gupta, S. K., Dadarwal, K. R. 1999. Antagonistic effect of *Pseudomonas* spp. on pathogenic fungi and enhancement of growth of green gram (*Vigna radiata*). Biol. Fertil. Soils 29: 62–68.
- Singh, C.S. and Subba Rao, N.S. 1979. Associative effect of *Azospirillum brasilense* with *Rhizobium japonicum* on nodulation and yield of soybean (*Glycine max*). Plant Soil 53: 387–392.
- Susuki S, He Y, Oyaizu H (2003) Indole-3-acetic acid production in *Pseudomonas fluorescens* HP72 and its association with supression of creeping bentgrass brown patch. Curr Microbiol 47: 138-43.
- Thomashow, L.S. and Weller, D.M. 1988. Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *tritice*. J. Bacterol. 170 (8): 3499-3508.
- Thomashow, L.S., Weller, D.M., Bonsall, R.F., Pierson, L.S. III. 1990. Production of the Antibiotic Phenazine<sup>1</sup>-Carboxylic Acid by Fluorescent *Pseudomonas* Species in the Rhizosphere of Wheat. Appl Environ Microbiol. 56(4): 908-912.
- Tilak, K.V., Ranganayaki, N, Manoharachari, C. 2006. Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by piogenpea (*Cajanus cajan*). Eur. J. Soil Sci. 57: 67-71.
- Toyoda, H., Hashimoto, H., Utsumi, R., Kobayashi, H., Ouchi, S. 1988. Detoxification of fusaric acid by a fusaric acid-resistant mutant of *Pseudomonas solanacearum* and its application to biological control of Fusarium wilt of tomato. Phytopathology 78:1307<sup>1</sup>311.

- Tran Van, V., Berge, O., Ngoke, J., Balandreu, J., Heulin, T. 2000. Repeated beneficial effect of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid soils of Vietnam. *Plant Soil* 218: 273:284.
- Uri, N. D. 1999. Pesticide Policy Influence on Biopesticide Technologies. In: *Methods in Biotechnology Vol 5. Biopesticides: Use and Delivery*. Eds: Hall, R.F. and Menn, J.J. Humana Press, Totowa, New Jersey.
- Valdivia-Urdiales, B.; Fernández-Brondo, J.M.; Sánchez-Yáñez, J.M. 1999. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas putida* y *Glomus sp* sobre trigo. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.*, 41: 214-217
- Vansuyt, G., Robin, A., Briat, J-F, Curic, C., Lemanceau, P. 2007. Iron Acquisition from Fe-Pyoverdine by *Arabidopsis thaliana* In: *Molecular Plant – Microbe interactions*. Editor-in-Chief: Jonathan Walton Published by APS Press - International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions.
- Vázquez, M.M., César, S., Azcón, R., Barea, J.M. 2000. Interactions between arbuscular micorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Appl. Soil Biol.* 15: 261-272
- Villegas, J. and Fortin, J.A. 2001. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing  $\text{NH}_4^+$  as nitrogen source. *Canadian Journal of Botany* 79: 865-870.
- Voisard, C., Keel, C., Hass, D., Defago, G., 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO Journal*. 8, pp. 351-358.
- Weller, D.M. and Thomashow, L.S. 1993. Advances in rhizobacteria for biocontrol. *Curr. Opinion Biotechnology* 4: 306-311.
- Weller, D.M., 1998. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review Phytopathology* 26: 379-407.

- Whipps, J.M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 2: 487-511.
- Withmore A.P. 2000. The biological management of soil fertility project. *Neth. J. Agric. Sci.* 48: 115-122.
- Wild, A. (Ed) 1988. *Russell's Soil conditions and Plant Growth*, 11<sup>th</sup> ed. Logman, Harlow (Chapter 21).
- Woltz, S. S. 1978. Nonparasitic plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol.* 16:403-430.
- Yanni, Y.G., Rizk, R.Y. 2001. Root colonization by inoculated plant growth- promoting rhizobacteria. *Biocontrol Sci. Tech* 11: 557-574.
- Zehnder, G. and Yao, C. 1998. Resistencia Inducida por microbios: una estrategia novedosa para control en hortalizas de enfermedades transmitidas por insectos. [www.zehnderetal/resistenciainducidapormicrobios.htm](http://www.zehnderetal/resistenciainducidapormicrobios.htm).
- Zhang F, Dashti N, Hynes R K and Smith D L 1997 Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max* L. Merr.) growth and physiology at suboptimal root zone temperatures. *Ann. Bot.* 79: 243-249.
- Zhang, Z. and Pierson III, L.S. 2001. A second quorum-sensing system regulates cell surface properties but not Phenazine antibiotic production in *Pseudomonas aerofasciens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 4305-4315.