

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

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



**Desarrollo de un formulado a base de reguladores del
crecimiento vegetal (PGRs) de aplicación sobre semillas
(priming) para optimizar el rendimiento de leguminosas**

Alumno: Avaca, Mario Agustín

DNI: 34.410.330

Directora: Dra. Mariana Andrea Reginato

Codirector: MSc. Oscar Masciarelli

Codirectora: Dra. Alicia Thuar

Río Cuarto - Córdoba
Abril 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final: Desarrollo de un formulado a base de reguladores del crecimiento vegetal (PGRs) de aplicación sobre semillas (priming) para optimizar el rendimiento de leguminosas

Autor: Avaca, Mario Agustín

DNI: 34.410.330

Directora: Dra. Mariana Andrea Reginato

Codirector: MSc. Oscar Masciarelli

Codirectora: Dra. Alicia Thuar

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias del Jurado Evaluador:

Reginato Mariana _____

Bruno Carla _____

Malpassi Rosana _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Aprobado por Secretaría Académica: ____/____/____.

Secretaría Académica

INDICE

RESUMEN.....	VI
SUMMARY	VII
I. INTRODUCCIÓN	1
1. Las plantas y su entorno.....	1
2. Estrés hídrico	2
3. Estrés ocasionado por suelos ácidos	3
4. Las fitohormonas.....	4
4.1. Auxinas	4
4.2. Giberelinas	6
4.3. Citocininas	6
4.4. Ácido salicílico	8
4.5. Brasinoesteroides	9
5. Efectos de la aplicación exógena de distintas fitohormonas	10
6. El cultivo de soja. Origen, características e importancia	11
7. El cultivo de garbanzo. Origen, características e importancia	13
HIPÓTESIS.....	16
OBJETIVO GENERAL.....	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
1. Material vegetal.....	17
2. Preparación de las soluciones madres de las diferentes fitohormonas.....	17
3. Determinación de la energía y el poder germinativo	17
4. Preparación de las soluciones para los <i>mix</i> hormonales.....	18
5. Crecimiento de plántulas en condiciones control y de estrés.....	19
6. Análisis estadístico.....	20
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
1. Evaluación de energía germinativa y poder germinativo en soja.....	22
2. Evaluación del poder germinativo en garbanzo	24
3. Evaluación de la energía germinativa y el poder germinativo en soja con la aplicación del <i>mix</i> hormonal	26
4. Evaluación del poder germinativo en garbanzo con la aplicación del <i>mix</i> hormonal	29
5. Análisis de crecimiento temprano en soja.....	31
6. Análisis del crecimiento temprano para garbanzo	33
7. Crecimiento de plántulas en condiciones control y de estrés.....	35
7. Medición del contenido de clorofila	44

IV. CONCLUSIONES	46
V. BIBLIOGRAFIA.....	47

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Molécula de ácido indolacético (IAA), forma predominante en las plantas	5
Fig. 2. Estructura de dos formas activas de giberelinas, GA ₁ Y GA ₃	6
Fig. 3. Zeatina, una citocinina natural	7
Fig. 4. Molécula de ácido salicílico	8
Fig. 5. Molécula de brasinólido	9
Fig. 6. Fotografías del ensayo en cámara de crecimiento	20
Fig. 7. EG en soja con aplicación de las distintas fitohormonas	23
Fig. 8. PG en soja con aplicación de las distintas fitohormonas	24
Fig. 9. PG de garbanzo con aplicación de las distintas fitohormonas	26
Fig. 10. EG en soja con aplicación del <i>mix</i> hormonal	27
Fig. 11. PG en soja con aplicación del <i>mix</i> hormonal	27
Fig. 12. Fotografías de la germinación de soja con distintos tratamientos de fitohormonas y con el tratamiento <i>mix</i> hormonal	28
Fig. 13. PG de garbanzo con aplicación del <i>mix</i> hormonal	29
Fig. 14. Fotografías de germinación de garbanzo con distintos tratamientos de fitohormonas y con el tratamiento <i>mix</i> hormonal	30
Fig. 15. PF parte aérea soja con aplicación de las distintas fitohormonas	32
Fig. 16. PF de raíces para soja con aplicación de las distintas fitohormonas	33
Fig. 17. PF aéreo garbanzo con aplicación de las distintas fitohormonas	34
Fig. 18. PF de raíces de garbanzo con aplicación de las distintas fitohormonas	35
Fig. 19. Altura total en plántulas de soja	36
Fig. 20. Altura total en plántulas de garbanzo	37
Fig. 21. Longitud radical en plántulas de soja	37
Fig. 22. Longitud radical en plántulas de garbanzo	38
Fig. 23. PF parte aérea en plántulas de soja	38
Fig. 24. PF parte aérea en plántulas de garbanzo	39
Fig. 25. PF radical en plántulas de soja	39
Fig. 26. PF radical en plántulas de garbanzo	40
Fig. 27. PS parte aérea en plántulas de soja	41
Fig. 28. PS parte aérea en plántulas de garbanzo	41
Fig. 29. PS radical en plántulas de soja	42
Fig. 30. PS radical en plántulas de garbanzo	42
Fig. 31. Volumen radical en plántulas de soja	43
Fig. 32. Volumen radical en plántulas de garbanzo	43
Fig. 33. Contenido de clorofila en plántulas de soja	44

RESUMEN

Bajo condiciones ambientales estresantes la germinación de semillas y el desarrollo de plántulas pueden sufrir una fuerte inhibición que podría relacionarse con una disminución en los niveles endógenos de fitohormonas. Una importante estrategia para evitarlo es la aplicación exógena de fitohormonas en semillas previo a la siembra, la cual puede ayudar a plantas que no tienen la habilidad de mantener niveles óptimos de estos reguladores, sobre todo en situaciones de estrés, a aliviar los efectos adversos del mismo mejorando la germinación, crecimiento, desarrollo y calidad de la semilla. En este trabajo se analizó si una formulación a base de fitohormonas aplicada sobre semillas de soja y garbanzo tiene un efecto benéfico sobre la germinación y el establecimiento de plántulas. La metodología incluyó ensayos en laboratorio (cámara de crecimiento con condiciones controladas), persiguiendo los siguientes objetivos: evaluar distintas dosis de auxinas, citocininas, giberelinas, ácido salicílico y epibrasinólido (fitoreguladores) individualmente sobre la energía germinativa (EG) y el poder germinativo (PG), combinar las dosis más efectivas de cada una en una fórmula única evaluando nuevamente EG y PG, peso fresco aéreo-radical, peso seco aéreo-radical, volumen radical y pigmentos fotosintéticos de las plántulas en condiciones de riego normal, estrés hídrico y pH ácido, y finalmente evaluar dicha fórmula combinada con un protector bacteriano y un inoculante sobre los parámetros de crecimiento mencionados anteriormente. Los ensayos realizados en el estadio de germinación y crecimiento temprano permitieron seleccionar una combinación hormonal, en los que se observó una mejora en la germinación (EG y PG), fundamentalmente en semillas de garbanzo con una alta carga fúngica intrínseca. En plántula, en ambas especies la aplicación de los tratamientos mejoró algunos parámetros del crecimiento en situaciones de estrés, resaltando la importancia del efecto del *mix* hormonal cuando las condiciones de cultivo no son las óptimas.

Palabras claves: fitohormonas, *mix*, estrés, germinación, plántulas.

SUMMARY

Under stressful environmental conditions seed germination and seedling development can suffer from a strong inhibition that could be related to a decrease in the endogenous levels of phytohormones. An important strategy to avoid this is exogenous application of phytohormones in seeds prior to sowing, which can help plants that do not have the ability to maintain optimum levels of these regulators, especially in stress situations, to alleviate the adverse effects and improving the germination, growth, development and quality of the seed. In this work, it was analyzed if a formulation based on phytohormones applied to soybean and chickpea seeds has a beneficial effect on germination and establishment of seedlings. The methodology included laboratory tests (growth chamber with controlled conditions), pursuing the following objectives: to evaluate different doses of auxins, cytokinins, gibberellins, salicylic acid and epibrasinolide (phytoregulators) individually on the germinative energy (EG) and germinative power (PG), to combine the most effective doses of each hormone in a unique formula by re-evaluating EG and PG, fresh shoot and radical weight, shoot and radical dry weight, root volume and photosynthetic pigments of the seedlings under normal irrigation conditions, stress water and acidic pH, and finally to evaluate the formula combined with a bacterial protector and an inoculant on the growth parameters mentioned above. The tests carried out in the stage of germination and early growth allowed to select a hormonal combination, for both species in which an improvement in the germination was observed (EG and PG), fundamentally in seeds of chickpea with a high intrinsic fungal load. In seedlings, of both species the application of hormonal treatment improved some growth parameters in stress situations, highlighting the importance of the hormonal *mix* effect when culture conditions are not optimal.

Key words: phytohormones, *mix*, stress, germination, seedlings.

I. INTRODUCCIÓN

1. Las plantas y su entorno

Hace unos 12.000 años, la especie humana comenzó a producir sus alimentos a través de la agricultura, lo cual significó uno de los pasos más grandes en la historia de la humanidad. En ese momento comenzó a crecer la población en asociación con la mayor oferta de alimentos. Al comienzo de la era cristiana, el número de habitantes en el planeta rondaba los 200 millones y desde entonces la población siguió creciendo: en 1950 se estimaba que la población mundial era de 2.600 millones de personas, en octubre de 2011 de 7.000 millones de personas y a mediados del 2015 de 7.300 millones de personas. Está previsto que la población mundial aumente más de 1.000 millones de personas en los próximos 15 años por lo que se alcanzarían los 8.500 millones en 2030, 9.700 millones en 2050 y 11.200 millones en 2100 (Naciones Unidas, 1995).

¿Cuánto habría que aumentar la producción agrícola en cada región para que en el año 2050 se mantenga la producción energética por habitante actual y para que se alcance a través de la agricultura la mínima energía requerida por habitante para una dieta apropiada? Para el mundo en su conjunto se necesita casi duplicar la producción agrícola (Andrade, 1998). De tenerse en cuenta la posible mejora en la calidad de la dieta en aquellas regiones en las que el poder adquisitivo de la población está aumentando, no se requeriría duplicar sino triplicar la producción agrícola en los próximos 50 años (Avery, 1997).

Con el crecimiento de la población humana la demanda por los cultivos de cereales y oleaginosos aumentó, llevándolos a ocupar la mayor parte de la superficie sembrada en las áreas más productivas del mundo. Existe un gran potencial para aumentar la producción agrícola mundial (alrededor de 15 veces), por lo que sería posible satisfacer los requerimientos de alimento de la población mundial en el futuro (Andrade y Sadras, 2000). Más allá de esto, en la actualidad observamos un incremento de las zonas áridas y de la incidencia de los periodos de sequía asociados al cambio climático, junto a una creciente población mundial, lo que supone un impacto negativo sobre la disponibilidad de los recursos. Estos hechos enfatizan la necesidad de desarrollar estrategias para adoptar la agricultura al cambiante panorama medioambiental y contribuir a la mitigación del cambio climático. Por lo tanto, y en vista de que las opciones para expandir la frontera agrícola son limitadas, la mayor parte de los alimentos producidos tendrán que proceder del aumento del rendimiento. Claro está que para alcanzar este objetivo manteniendo a la vez la biodiversidad y cuidando los recursos y el ambiente, es imperioso que el proceso de pérdida y deterioro de

las tierras productivas se detenga, por lo que surge la necesidad de: i) aplicar tecnologías más acordes con la preservación de los recursos e ii) investigar y desarrollar nuevas estrategias de conservación de suelos (Andrade y Sadras, 2000). Por eso es importante la elección de las prácticas más apropiadas para una producción alta, eficiente y sustentable.

En numerosas ocasiones el entorno de las plantas dista enormemente de ser el ideal, provocándose estrés y como consecuencia, llevándolas al límite de sus recursos para poder sobrevivir. Frecuentemente las plantas están sometidas a uno o varios factores ambientales adversos, entre los cuales se encuentran los factores bióticos y abióticos. Ambos afectan tanto al crecimiento, como la supervivencia y la productividad de las plantas, constituyendo la principal causa de pérdida en los cultivos y siendo los principales responsables de las brechas entre rendimientos reales y potenciales (Apel y Hirt, 2004).

Es por esto que los mejoradores se han dedicado y lo hacen continuamente a elaborar estrategias de mejoramiento y, en este contexto, el fitomejoramiento será cada vez más importante para asegurar la adaptación de los cultivos a condiciones medioambientales más rigurosas. Al ser, desde el punto de vista fisiológico, los estadios de germinación y crecimiento de plántulas las etapas más críticas en el establecimiento de una especie bajo condiciones naturales en estos ambientes, las opciones de intensificación de la producción agrícola por medio de nuevos desarrollos tecnológicos que favorezcan la uniformidad en la germinación, la implantación y el crecimiento temprano de las plántulas, está dirigida a maximizar la producción sostenible de cultivos y también a obtener una mejor y más eficaz respuesta a los distintos factores ambientales (Leidwein, 2011).

2. Estrés hídrico

Entre los factores abióticos, el estrés por déficit hídrico es considerado uno de los más relevantes, tanto desde una perspectiva ecológica como agronómica. Se ha calculado que un tercio de la superficie que potencialmente se podría cultivar en nuestro planeta recibe un aporte de agua insuficiente para el desarrollo vegetal, mientras que en el resto la falta de agua reduce los rendimientos agrícolas en mayor o menor medida.

En los sistemas naturales, un déficit de agua puede ser el resultado de bajas precipitaciones, baja capacidad de retención de agua del suelo, una demanda evaporativa atmosférica excesiva, temperaturas extremas frías o calientes, excesiva salinidad, baja presión de vapor atmosférica o una combinación de estos factores (Nilsen y Orcutt, 1996).

El déficit de agua afecta rápidamente procesos que van desde la fotosíntesis hasta la respiración, causa deshidratación que se asocia con degradación de las membranas celulares y de las organelas, desnaturalización de las proteínas, disminución crítica en la síntesis de

proteínas e incluso modificaciones en el ADN que originan mutaciones (Hsiao *et al.*, 1976; Pugnaire *et al.*, 1994).

Las plantas presentan dos principales mecanismos de respuesta frente al déficit hídrico: la evitación o escape y la tolerancia (Touchete *et al.*, 2007). La evitación del estrés incluye el uso de ciclos de crecimiento muy rápidos o madurez temprana, permitiendo aprovechar los rápidos periodos de disponibilidad de agua y evitando los periodos de sequía, ya que normalmente estas plantas carecen de verdaderos mecanismos para tolerar la deficiencia de agua. Por su parte, la tolerancia al déficit hídrico incluye todas las estrategias que permiten el crecimiento y/o la supervivencia durante un evento de sequía más o menos largo (Tilman, 1988; Witowski y Lamont, 1991).

3. Estrés ocasionado por suelos ácidos

El pH del suelo es considerado como una de las principales variables en los suelos, ya que controla muchos procesos químicos que en éste tienen lugar. Afecta específicamente la disponibilidad de los nutrientes de las plantas, mediante el control de las formas químicas de los nutrientes. El rango de pH óptimo para la mayoría de las plantas oscila entre 5,5 y 7, sin embargo muchas plantas se han adaptado para crecer a valores de pH fuera de este rango (Wikipedia, 2018).

Existen varios procesos en el suelo que promueven la reducción del pH. Todos estos procesos ocurren naturalmente dependiendo del tipo de suelo, del tipo de cultivo y de las condiciones de manejo. Entre éstos se encuentran: 1) la remoción de nutrientes, 2) la utilización de fertilizantes nitrogenados y 3) la presencia del catión aluminio intercambiable (Al^{3+}) en la solución del suelo (Barber, 1984).

Los suelos ácidos son deficientes en bases de intercambio y contienen altas concentraciones de sustancias fitotóxicas de aluminio, hierro y manganeso (Rice y Herman, 2012) y, a su vez, cuando la acidificación es pronunciada, se desencadenan procesos irreversibles como la desnaturalización de los filosilicatos (Zapata Hernández, 2004), la cual conduce a una mayor acidificación y además produce toxicidad, ya que se libera aluminio desde las estructuras cristalinas a la solución del suelo. La gran importancia de la acidez del suelo radica en que puede reflejar la presencia de compuestos tóxicos como el manganeso y aluminio para las raíces de las plantas y, sobre todo, en que regula la solubilidad y la disponibilidad de los nutrientes minerales, así como la capacidad del suelo para almacenarlos (Ansorena Miner, 1995).

4. Las fitohormonas

Las fitohormonas son reguladores del crecimiento sintetizados por las plantas que transmiten señales (químicas, luz, entre otras) que son percibidas por receptores químicos con función reguladora (homeostasis) modulando una respuesta determinada. Son compuestos orgánicos, naturales o sintéticos, que modifican o inhiben en cierta cantidad el crecimiento o desarrollo de la planta y se las llama reguladores del crecimiento (PGRs), cuando son sintetizados químicamente (Barcelló Coll *et al.*, 2007).

Se producen en una región de la planta y normalmente se trasladan o no a otra región, donde participan en la regulación de las respuestas de crecimiento y desarrollo, actuando a muy baja concentración. En general, todas las partes de la planta en activo crecimiento son centros de producción hormonal. El grupo de fitohormonas incluye ácido abscísico (ABA), ácido indol-3-acético (AIA o auxina), citocininas, ácido giberélico (GA), etileno, ácido jasmónico (JA), ácido salicílico (SA) y brasinoesteroides (BRs). Colectivamente estos compuestos regulan cada aspecto de la vida de la planta, desde el patrón de información durante el desarrollo hasta las respuestas a estrés biótico o abiótico. Los índices de crecimiento y la diferenciación de células en diversas partes de la planta se coordinan en respuesta a los diferentes factores ambientales. La planta recibe y responde a las entradas y “señales” ambientales que son comunicadas por las distintas fitohormonas para ajustar el crecimiento y el desarrollo al ambiente (Barcelló Coll *et al.*, 2007).

4.1. Auxinas

De acuerdo a las vías biosintéticas de las auxinas han sido identificadas una vía independiente de triptófano (Trp) y cuatro vías Trp dependientes: la ruta de indol-3-acetamida (IAM), la vía del indol-3-acetaldoxima (IAOx), la vía de la triptamina (TAM) y la ruta del ácido indol-3-pirúvico (IPA) (Woodward y Bartel, 2005). Sin embargo, las vías de la TAM y el IPA se han sugerido como relevantes para el desarrollo de la planta.

Aunque las auxinas se encuentran en todos los tejidos de la planta, una mayor concentración ocurre en las regiones que están en crecimiento activo. La síntesis de IAA ocurre principalmente en meristemas apicales, en el *cambium*, en tallos, en frutos y semillas en desarrollo y en hojas jóvenes, aunque también se puede sintetizar en hojas adultas (Jordán y Casaretto, 2006).

La forma predominante en las plantas es el ácido indolacético (IAA) (Fig. 1), y la mayor parte del AIA se encuentra en forma de conjugados, a través de la unión covalente

con otras moléculas, ejemplo aminoácidos, glucosa y proteínas, lo que les permite conservar su estructura, pero muchas veces las priva de actividad biológica (Salisbury y Ross, 1994).

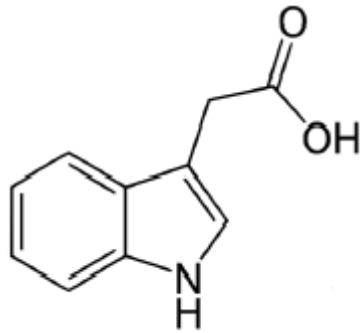


Figura 1. Molécula de ácido indolacético (IAA), forma predominante en las plantas.

Respecto a su transporte en la planta se desplaza desde su lugar de biosíntesis hasta otras partes de la planta donde ejerce su acción, aunque también puede ejercer una acción local en las mismas células donde se produce su biosíntesis. Recorre distancias cortas entre células próximas por difusión y llega a los diferentes órganos a través de los tejidos vasculares (xilema y floema), aunque también puede ser transportada por células no vasculares, como las células del *cambium* y células parcialmente diferenciadas asociadas al floema, mediante un proceso diferente que se denomina transporte polar. En el tallo la dirección de este último transporte se produce desde el ápice hacia la base (transporte basípeto) y en la raíz la dirección es acrópeta (desde la base hacia el ápice) (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Las auxinas influyen de manera decisiva en procesos como la división celular del *cambium*, la diferenciación vascular, la formación de raíces adventicias, la dominancia apical, y también en muchas angiospermas estimulan la partenocarpia de los frutos (Salisbury y Ross, 1994). Provocan el alargamiento de las hojas, incrementando la actividad fotosintética y activando la traslocación de carbohidratos durante su síntesis (Ritenour *et al.*, 1996; Awan *et al.*, 1999). Favorecen el crecimiento porque modifican la extensibilidad celular al producir factores que ablandan la pared, uno de estos factores podría ser la acidificación del espacio apoplástico (Azcón-Bieto y Talón, 2000). Esta hormona es necesaria también para un adecuado desarrollo de flores y tiene un efecto general negativo sobre la abscisión de los órganos, retardando especialmente la caída de hojas, flores y frutos jóvenes (Pfluger y Zambryski, 2004).

4.2. Giberelinas

Fueron descubiertas por azar por fitopatólogos japoneses que estudiaban la enfermedad del arroz “bakanoe” o “subida de las plantas” causada por el hongo *Gibberella fujikuroi*. En 1955 se aisló, a partir del filtrado segregado por el hongo, el ácido giberélico. En esta familia solamente la GA₁ muestra actividad biológica. La biosíntesis de GAs (Fig. 2), se inicia en el proplastidio y finaliza en el citoplasma (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

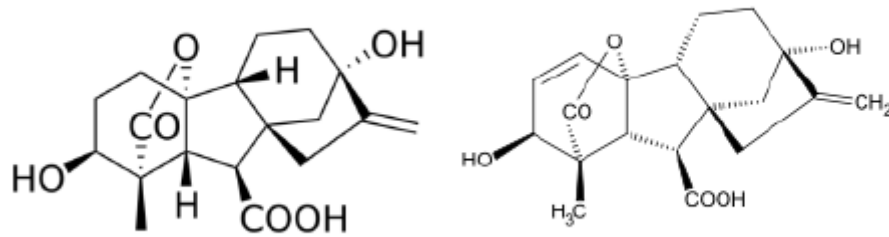


Figura 2. Estructura de dos formas activas de giberelinas, GA₁ Y GA₃.

Las GAs son fitohormonas nativas en las plantas que afectan, regulan o modulan un amplio abanico de respuestas del crecimiento. El efecto más notable de las GAs es inducir el crecimiento en altura (estimulan fuertemente la división y elongación celular en la porción sub-apical de los tallos y también en el meristema intercalar). En el caso de plantas enanas, éstas sintetizan sólo pequeñas cantidades de GA₁ (Jordán y Casaretto, 2006).

Las GAs promueven el desarrollo súbito de inflorescencias y la floración en muchas plantas, particularmente en aquellas de día largo (PDL). En asociación con fitocromos, cumplen un papel en la inducción de la floración (Yu *et al.*, 2004), estimulan el crecimiento del tallo, el cuajado y desarrollo de los frutos e inducen la partenocarpia o la liberación de enzimas hidrolíticas (Crozier, 1983).

La aplicación de GA₄ y GA₇ estimula el desarrollo de manzanos y, en algunos casos como en cítricos, es posible demorar la senescencia para poder así mantener los frutos más tiempo en el árbol o, si están cosechados, extender el periodo de su comercialización (García Martínez y Hedden, 1997).

4.3. Citocininas

El descubrimiento de las citocininas se logró en 1956 (Fig. 3), cuando un grupo de fisiólogos aisló la quinetina a partir del ADN de esperma de arenque sometido al autoclave

(Azcón-Bieto y Talón, 2000). Las citocininas están presentes en los ARNt, lo que hace que sean sintetizadas a partir de la hidrólisis de dichos ARN, considerando a esta síntesis como la ruta principal de formación de citocininas libres existentes en las plantas. Más allá de esto, las plantas poseen sistemas enzimáticos capaces de sintetizar *de novo* estos compuestos (McGaw y Burch, 1995).

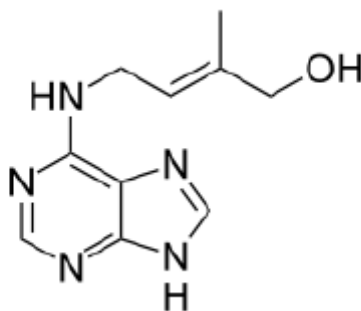


Figura 3. Zeatina, una citocinina natural.

Las citocininas se sintetizan en cualquier tejido vegetal: tallos, raíces, hojas, flores, frutos o semillas, aunque es en las raíces donde se producen las mayores cantidades de estas hormonas. Durante la fase reproductora aparecen otros centros de producción como el endosperma durante el desarrollo de las semillas, o el eje embrionario cuando se inicia la germinación de las semillas. Una vez sintetizadas pueden ser distribuidas a otras partes de la planta a través del xilema, floema o ambos (McGaw y Burch, 1995). Las citocininas se encuentran tanto en el apoplasto como en el simplasto, de manera que se asume la existencia de transportadores específicos a este nivel (Kakimoto, 2003). Regularmente, hay mayor producción de citocininas en sitios y momentos en los que haya iniciado un proceso de diferenciación celular y/o una intensa división celular.

Regulan varios aspectos del crecimiento vegetal, incluyendo la división celular, la proliferación de yemas axilares (ruptura de dominancia apical), el desarrollo de cloroplastos (con formación de granas) en oscuridad reemplazando parcialmente la demanda de luz, la movilización de nutrientes, el retraso de la senescencia de las hojas provocando que las hojas permanezcan más tiempo verdes y funcionales por mayor contenido de clorofila, la diferenciación vascular, el desarrollo fotomorfogénico, la producción de antocianinas y la floración (Davies, 2004).

Las citocininas, al causar una dominancia apical reducida o anulada con brotación y crecimiento de yemas axilares, originan brotes adventicios en porciones de las hojas, venas y

peciolos intactos (Howell *et al.*, 2003). Son las hormonas claves para inducir la formación *de novo* de brotes en diversos explantes *in vitro* (hojas, raíces, medula, cotiledones).

Otra expresión de la acción de citocininas *in vitro* es la obtención de individuos haploides derivados de micrósporas (polen) con función reproductiva, las cuales en presencia de niveles adecuados de citocininas y auxinas, se organizan alternativamente originando un embrión gametofítico conducente a la formación de individuos con la mitad de la dotación cromosomal. Este fenómeno se denomina androgénesis y deriva en la formación de plantas genéticamente idénticas al genotipo del polen del cual proceden (plantas hijas del polen), las cuales son de invaluable utilidad en programas de mejoramiento genético (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

4.4. Ácido salicílico

Recibe su nombre del *Salix*, la denominación latina del sauce del cual fue aislado por primera vez. Un extracto activo de la corteza, llamada salicina, fue aislado y nombrado por el químico alemán Johann Buchner en 1828. Raffaele Piria, un químico italiano, fue capaz en 1838 de convertir la sustancia en un azúcar y en un segundo componente que por oxidación se convirtió en ácido salicílico (SA) (Fig. 4). Este también se aisló a partir de la hierba *Filipendula ulmaria* por investigadores alemanes en 1839 (Jeffreys, 2005).

Este producto sirve como materia prima para la obtención del ácido acetilsalicílico, comercialmente conocido como aspirina, la cual tiene un extenso uso clínico y forma parte de un amplio grupo de compuestos sintetizados en plantas denominados fenólicos, los cuales poseen en su estructura química un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático.

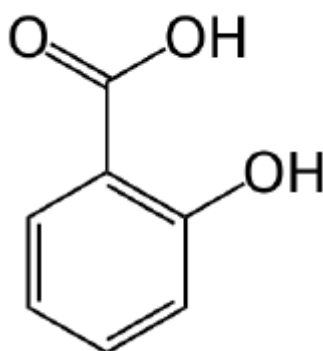


Figura 4. Molécula de ácido salicílico.

Los compuestos fenólicos participan en muchas funciones metabólicas en plantas, como son la síntesis de lignina, actividad alelopática y, en algunos casos, en la biosíntesis de

compuestos relacionados a la defensa como las fitoalexinas. El SA participa en procesos como el crecimiento celular, la respiración, el cierre de estomas, la expresión de genes asociados a senescencia y de forma esencial en la termogénesis (Métraux y Raskin, 1993).

Su concentración se eleva cuando las células, órganos o plantas completas son sometidas a la acción de alguna clase de estrés sea este biótico o abiótico. En esas situaciones, el ácido salicílico participa en forma importante en la cascada de señalización que da lugar a las respuestas de adaptación en ambientes extremos, a la expresión de los sistemas de control del daño oxidativo, así como a la inducción de la resistencia sistémica adquirida en el caso de patogénesis (Alonso-Yáñez, 2004).

4.5. Brasinoesteroides

Son un grupo de polihidroxi-esteroides que se sintetizan en muy bajas cantidades. Se han identificado más de 60 compuestos dentro de este grupo y el brasinólido es el más activo y el primero que se aisló a partir de granos de polen de nabo *Brassica napus* en 1979 (Fig. 5). Se han aislado de semillas, frutos, tallos, hojas, y brotes florales y los niveles de estos son especialmente altos en el polen (Coll *et al.*, 1983).

Los brasinoesteroides (BRs) son moléculas polihidroxiladas de estructura esteroideal que actúan como potentes reguladores del crecimiento vegetal, provocando el aumento del rendimiento de las cosechas y confiriendo resistencia a las plantas contra factores medioambientales adversos. Estas hormonas tienen efectos pleiotrópicos como son: estimulación del alargamiento celular y de la desdiferenciación de protoplastos, regeneración de la pared celular e incremento de la biomasa y del rendimiento (Sasse, 1997).

En términos generales se puede afirmar que los brasinoesteroides se encuentran en mayores cantidades en tejidos jóvenes y que en ellos pueden expresar efectos más notables, en comparación con tejido adulto (Román *et al.*, 2001).

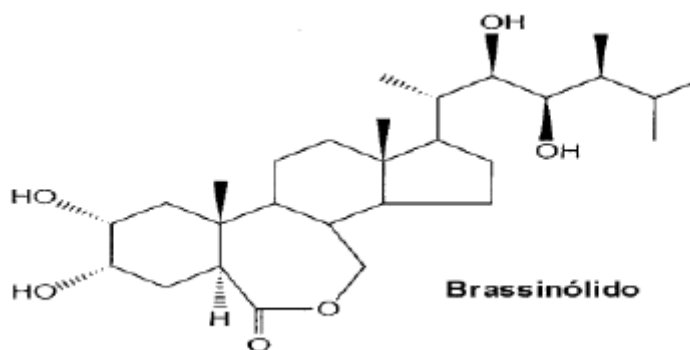


Figura 5. Molécula de brasinólido.

Los efectos fisiológicos de los BRs son crecimiento por elongación de epicótilos, hipocótilos y pedúnculos en dicotiledóneas, mientras que en monocotiledóneas se expresa en coleoptilos y mesocótilos. Otros efectos de crecimiento relacionados corresponden a la reorientación transversal de microtúbulos, producción de metabolitos secundarios, crecimiento del tubo polínico e inclinación y enrollamiento de las hojas. Básicamente, en ausencia de IAA, los BRs pueden inducir crecimiento por división celular y elongación vinculando también el mecanismo de extrusión de protones, aunque se postulan mecanismos de activación diferentes a los atribuidos a auxinas y citocininas (Gaudinova *et al.*, 1995). Además, disminuyen los efectos del estrés causados por la falta de nutrientes y por exceso de metales pesados, también incrementan la resistencia a herbicidas y a agentes patógenos (Clouse y Sasse, 1998).

5. Efectos de la aplicación exógena de distintas fitohormonas

En la actualidad existe una tendencia mundial hacia una agricultura sostenible minimizando el uso de productos químicos (fertilizantes y agroquímicos) que desequilibran el medio ambiente, además de causar directamente daños en la salud animal y humana (Febles *et al.*, 2001). Según Pomares *et al.* (2008) son muchos los productos naturales usados que han potenciado el manejo ecológico de los agroecosistemas, entre los que se citan los bioplaguicidas, los biofertilizantes y los bioestimulantes. Cuando estos se aplican a diferentes cultivos son capaces de aumentar los rendimientos, mejorar la resistencia al frío, reducir los daños por la aplicación de productos fitotóxicos y mejorar la tolerancia a la salinidad y sequía (Nuñez, 1998).

Otras estrategias utilizadas para afrontar y superar estas dificultades incluyen diversas prácticas de inoculación con microorganismos benéficos (hongos y bacterias) (Solans *et al.*, 2011; Cassán *et al.*, 2012). En este sentido, en el laboratorio de Fisiología Vegetal dirigido por la Dra. Virginia Luna (UNRC) se han obtenido resultados muy interesantes realizando inoculaciones con bacterias promotoras del crecimiento vegetal, que mediante la síntesis de fitohormonas han estimulado significativamente el crecimiento de las plantas (Boiero *et al.*, 2007; Perrig *et al.*, 2007).

Una importante estrategia para incrementar el rendimiento de los cultivos bajo distintas condiciones de estrés es la revitalización de las semillas. El establecimiento de las plántulas es mejorado por el “*priming*” de las semillas en muchas especies. El “*priming*” es definido como pre-tratamiento de las semillas en soluciones que permiten su imbibición para mejorar la primera etapa de la germinación (Heydecker *et al.*, 1973). Las fitohormonas pueden ser aplicadas como un spray foliar, a través de las raíces o como pre-tratamiento de

las semillas. El *priming* de las semillas con diferentes fitohormonas (ácido salicílico (SA), auxinas (IAA, IBA, NAA), giberelinas (GA), kinetina, ácido abscísico (ABA), poliaminas (PAs), etileno, brasinolida (BR) se denomina “Hormo-priming” (Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2014).

Por lo tanto, una propuesta alternativa es la aplicación de fitohormonas o “hormo-priming” en las semillas en el momento previo a la germinación, con el objeto de aportar “refuerzos” al joven embrión que reinicia su crecimiento. De esta manera, se podría estimular la uniformidad en la germinación, la energía y poder germinativo, la formación de raíces, una mayor incorporación de nutrientes, logrando el establecimiento de plantas saludables y eficientes capaces de expresar la potencialidad de su fondo genético y que, a su vez, puedan mostrar una respuesta más rápida y positiva a los cambios ambientales (Santner *et al.*, 2009; Javid *et al.*, 2011).

Por otra parte, el desarrollo de las plantas está gobernado por procesos fisiológicos y metabólicos que dependen en gran medida de la disponibilidad de nutrientes. La aplicación de fitohormonas podría a su vez ayudar o complementar el aporte de la inoculación biológica que, generalmente, está acompañada de protectores a base de concentrados de carbohidratos. En este sentido, se ha comprobado que suplementos exógenos de glucosa sobre plántulas en estadio de post-germinación tienen un efecto estimulante sobre el crecimiento de la raíz y el tallo. Es probable que este efecto sea consecuencia de la interrelación entre los azúcares y las vías de señalización de GAs y citocininas, además de su conocida función trófica. En particular, alteraciones en la disponibilidad de azúcares solubles intervienen en la regulación de diversos procesos y muchos de estos procesos son también regulados por las fitohormonas. Cinco de los ejemplos más interesantes y de mejor conocimiento de los procesos regulados a través de las interacciones o *cross-talk* entre los azúcares y las fitohormonas son la embriogénesis, la germinación de las semillas, el desarrollo temprano de las plántulas, la tuberización y la regulación de la α -amilasa (Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2014).

6. El cultivo de soja. Origen, características e importancia

La especie cultivada *Glycine max*, según la opinión de muchos taxonomistas, puede haberse desarrollado a partir de *Glycine ussuriensis*, una planta trepadora anual del norte de China, Corea, Taiwán y Japón. En el año 1765 se introdujo desde China y, vía Londres, en el continente americano, en Georgia, Estados Unidos. Los primeros cultivos de soja en la Argentina se hicieron en 1862, pero en aquellos años no encontraron eco en los productores agrícolas. En 1925 el entonces ministro de Agricultura, Tomás Le Bretón, introdujo nuevas

semillas desde Europa y trató de difundir su cultivo, conocido en esa época entre los agrónomos del Ministerio como “arveja peluda” o “soja hispida” (Ridner, 2006).

Respecto a su taxonomía pertenece al Reino Plantae, Subreino Tracheobionta, Filo Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Subclase Rósidas, Orden Fabales, Familia Fabáceas, Subfamilia Papilionóideas, Tribu Phaseoleas, Subtribu Glycinninas, Género *Glycine*, Especie *Glycine max* (Bianco *et al.*, 2006).

Si bien existen diversidades morfológicas, la soja es en general una planta de porte erguido que en su madurez alcanza una altura de 90 a 120 cm y desarrolla entre 19 y 24 nudos. En el nudo inferior se insertan los cotiledones, el nudo siguiente da lugar al par de hojas unifolioladas y opuestas, y todos los nudos posteriores producen hojas trifolioladas, una por nudo, y distribuidas en forma alterna a lo largo del tallo. Hay cuatro tipos de hojas de soja: los cotiledones, las hojas primarias unifoliadas, las hojas trifolioladas y los prófilos. Estos últimos son hojas simples, muy pequeñas, que se presentan de a pares en la base de cada rama lateral y en la parte inferior del pedicelo de cada flor. Los folíolos son oblongos a ovalados, o lanceolados, y presentan bordes enteros siendo el terminal más grande, y los ya maduros varían en tamaño de 4 a 20 cm de longitud y de 3 a 10 cm de ancho (Geoffrey Norman, 1983).

La semilla de soja generalmente es oval y consiste en un embrión enmarcado por la cubierta seminal, y con muy poco tejido endospermico. La cicatriz de la semilla (hilo) es fácilmente visible sobre la cara externa de la cubierta seminal, el cual tiene forma oval y se manifiesta cuando la semilla sale del ovario.

Posee una raíz pivotante muy ramificada, que penetra hasta una profundidad de 150 cm, pero cuya porción principal se encuentra en los 60 cm superiores. Se desarrollan raíces secundarias de 4-5 cm del ápice de la raíz y continúan desarrollándose en forma acrópeta a medida que la raíz primaria continúa creciendo. Las raíces terciarias y las de órdenes mayores se forman a partir de las raíces secundarias, que se mantienen durante toda la vida del sistema radical (Geoffrey Norman, 1983). En las raíces de soja pueden formarse nódulos después que bacterias penetran en los pelos radicales y se deben a *Bradyrhizobium*. La iniciación y desarrollo de los nódulos es un proceso continuo a medida que crece y se desarrolla la raíz, por lo tanto, en una planta de soja madura puede haber nódulos de todas las clases (Egli y Leggett, 1973).

El tallo maduro es, en gran medida, tejido medular (células parenquimáticas grandes) y a veces es bastante leñoso en la porción inferior del tallo. El crecimiento del mismo y el hábito de floración de la soja son de dos tipos: determinado e indeterminado. En el tallo, hojas, sépalos y legumbres de la mayoría de los cultivares de soja se encuentra una

pubescencia debida a pelos epidérmicos o tricomas. Existen líneas glabras, pero no se las usa como variedades comerciales (Geoffrey Norman, 1983).

Las flores se ubican en las axilas de las hojas, son pequeñas de color blanco-amarillento o azul-violáceo, se desarrollan progresivamente a lo largo del tallo principal a partir del primer nudo que florece y hacia afuera, hacia los extremos de las ramas laterales. Se encuentran agrupadas en racimos axilares en conjuntos de 2 a 35 flores. Dada la estructura de las partes florales, la soja se autofecunda casi por completo. Su fruto es una legumbre de entre 3 y 8 cm de longitud, péndula, pluriseminada, hirsuta, pilosa, que crece solitaria o en grupo de 3 o 5 vainas. Los frutos maduros pueden contener 1-5 semillas, siendo 2-3 lo más común. El color de éstos puede ser amarillo claro, amarillo grisáceo, castaño negro (Egli y Leggett, 1973).

La soja es cultivada comercialmente en especial por su producción de aceite y proteína. La industria alimentaria incorpora cada vez más productos derivados de la soja como aditivos a productos alimentarios manufacturados. En algunos casos, esos suplementos se incorporan para aumentar el contenido de proteína o aceite, pero es más frecuente emplearlos para modificar la estructura física, la estabilidad o la textura. La harina de soja, tanto completa como desengrasada, se incluye en algunos productos de la industria panadera. Los concentrados de proteína de soja en varias formas se incorporan en algunos productos cárneos para aumentar su volumen, pero también se lo hace en una forma texturada que simula la carne (Geoffrey Norman, 1983).

7. El cultivo de garbanzo. Origen, características e importancia

La especie *Cicer arietinum* se habría originado, mediante un proceso evolutivo, de *Cicer reticulatum*, especie considerada como el ancestro silvestre (Berger *et al.*, 2003). Se considera que el centro de origen del garbanzo se ubica en la región del Creciente Fértil, más precisamente en el sureste de Turquía, donde podría haber comenzado el proceso de domesticación. La región del Creciente Fértil abarca parte o el total de los actuales territorios de Jordania, Israel, Líbano, Siria, Turquía, Irán, Irak, Egipto y de la franja de Gaza y Cisjordania. Se considera al garbanzo como una de las especies “pioneras o fundadoras” de la agricultura, la legumbre que primero se domesticó y que más se ha extendido (Abbo *et al.*, 2003).

En el primer viaje de Colón en 1492, el garbanzo debió ser la primera especie introducida y cultivada por los españoles en nuestro continente. En Argentina es introducido con la corriente colonizadora proveniente del Perú, y complementariamente con la posible participación de la proveniente de Chile (Payró, 2007).

Respecto a su taxonomía pertenece al Reino Plantae, Division Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Orden Fabales, Familia Fabáceas, Subfamilia Papilionoideas, Tribu Ciceréas, Género Cicer, Especie *Cicer arietinum* (Van der Maesen, 1972).

Se trata de una planta herbácea, anual de invierno, de crecimiento indeterminado, de tallo principal redondeado, de reproducción por autogamia, diploide con un número cromosómico de $2n=2x=16$, de aproximadamente 70 cm de altura con ramas que nacen próximas al suelo, presentando tres ejes: uno principal y dos ramificaciones primarias. Cada una de esas ramificaciones primarias origina ramas laterales secundarias cuyo número oscila entre 4-6 que le dan el aspecto umbeliforme. La disposición foliar es alterna y se pueden reconocer tres tipos principales de hojas: pinnadas (con foliolos), bipinnadas (con foliolulos) y simples o de lámina entera lobulada. Dentro de las pinnadas se pueden diferenciar paripinnadas e imparipinnadas (más frecuentes). Los foliolos poseen borde dentado y las hojas exhiben estípulas de tamaño variado en la base foliar y abundantes tricomas glandulares y simples en ambas caras, que se asocian con adaptaciones de la especie a ambientes áridos (Biderbost *et al.*, 1974). Presenta inflorescencias racimosas uni o bifloras, flores blancas o violetas, pedunculadas, perfectas, diclamídeas, heteroclamídeas y cleistógamas. Su fruto es seco, dehiscente, denominado botánicamente legumbre y comúnmente vaina, de forma ovoide a oblonga, turgente, relativamente grande.

Con respecto al sistema radical es de tipo alorrizo, con una raíz principal que adquiere gran desarrollo y que profundiza hasta 2 m. Presenta numerosas raíces laterales, donde la mayor proporción se ubica en los primeros 60 cm de profundidad (Carreras y Biderbost, 1984).

El tamaño de las semillas oscila entre los 8 y 11 mm de largo x 6-8 mm de ancho x 7-9 mm de espesor, posee un tegumento seminal muy fino, presentan superficialmente hendiduras longitudinales, son asimétricas, redondo cuadrangulares, triangulares u ovals, con el lóbulo radical prominente que les da aspecto de “picudas” (Abbo *et al.*, 2003).

La ventana de siembra va desde el 20 de abril hasta el 20 de junio, pero en Córdoba la fecha en que se obtuvieron los mejores resultados fue la segunda quincena de mayo y la primera semana de junio. En cuanto a las variedades, se pueden mencionar cinco: Sauco, Chañarito, Norteño, Mexicano y Blanco Español, de las cuales las dos primeras son las más difundidas en nuestro país hasta el momento (Carreras *et al.*, 2016).

Parte del nitrógeno que necesita lo cubre a través de la fijación simbiótica, por lo que la inoculación es una técnica más que importante. Con respecto a la fertilización, es uno de los cultivos que menos nutrientes exporta del suelo para alcanzar producciones promedio regionales y, por ende, provocaría menos degradación química del suelo, es por esto que el garbanzo se convierte en una muy interesante alternativa en las rotaciones agrícolas. Se está

utilizando como alternativa del trigo en la rotación con soja y se presenta como una excelente alternativa invernal para las áreas agrícolas de la Argentina. Las principales provincias productoras son Salta, Córdoba, Tucumán, Catamarca y Jujuy. En el año 2010 se sembraron en la Argentina unas 41000 has aproximadamente (Carreras *et al.*, 2016).

HIPÓTESIS

El pretratamiento de semillas con una fórmula a base de un “*pool*” de fitohormonas (*mix*) para aplicación exógena sobre semillas tiene un efecto benéfico sobre la germinación y el establecimiento de las plántulas y, por ende, mejoraría el rendimiento de los cultivos soja y garbanzo.

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una formulación a base de reguladores del crecimiento vegetal (fitohormonas) suplementada con micronutrientes, de aplicación sobre semillas para cultivos de soja y garbanzo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a)** Evaluar distintas dosis de los fitorreguladores (auxinas, citocininas, GA₃, SA y epibrasinólido) individualmente sobre la germinación.
- b)** Seleccionar las dosis más efectivas de cada una de las fitohormonas (resultantes de los ensayos anteriores) y combinarlas en una fórmula única que permita evaluar nuevamente la germinación.
- c)** Ensayar la fórmula única (*mix*) obtenida en cámara de crecimiento y evaluar parámetros de crecimiento temprano [peso fresco (PF) aéreo y radical, peso seco (PS) aéreo y radical y volumen radical], y pigmentos fotosintéticos en plántulas de soja y garbanzo en condiciones control y en condiciones de estrés hídrico y por pH (pH = 5).
- d)** Evaluar la fórmula resultante sobre los parámetros de crecimiento (mencionados en c), con el agregado de un protector bacteriano.
- e)** Evaluar la fórmula resultante sobre los parámetros de crecimiento, con el agregado de un protector bacteriano más un inoculante (fórmula + protector + inoculante).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material vegetal

Se utilizaron semillas de soja (*Glycine max*) de alto grado de pureza y un valor cultural adecuado, de variedad Intacta DM 3815 IPRO STS de la Compañía Don Mario Semillas.

Con respecto al garbanzo (*Cicer arietinum*), se utilizó una variedad de alto grado de pureza de la Compañía Semillera Oscar Pemán y Asociados. Todas las semillas utilizadas en los ensayos fueron provistas por la Empresa Rizobacter S.A.

2. Preparación de las soluciones madres de las diferentes fitohormonas

Se prepararon soluciones de concentración 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} molar (M) de cada una de las siguientes fitohormonas partiendo de los estándares puros: ácido giberélico (GA₃), ácido indol-3-acético (AIA), citocininas [6-BAP (6-benzil-aminopurina)], ácido salicílico (SA) y un brasinoesteroide (epibrasinólido), para luego realizar los *mix* hormonales. Se establecieron las siguientes concentraciones para cada una de las fitohormonas como se indica a continuación:

Control: agua destilada

AIA (ácido indol-3-acético): 10^{-4} y 10^{-6} M

6-BAP (6N-bencilaminopurina): 10^{-6} y 10^{-8} M

GA₃ (ácido giberélico): 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} M

SA (ácido salicílico): 10^{-6} y 10^{-8} M

Brs (Epibrasinólido): 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} M

3. Determinación de la energía y el poder germinativo

Los ensayos de Energía Germinativa (EG) y de Poder Germinativo (PG) se realizaron en el transcurso del año 2018. Para establecer las concentraciones fisiológicamente activas para cada una de las fitohormonas, se evaluó de forma independiente el efecto de cada una de ellas sobre la germinación, analizando la EG y el PG. Se consideró como concentración fisiológicamente activa aquella que provocó una promoción de los parámetros de crecimiento estudiados para cada especie. Para ello, se estableció la dosificación sobre semillas naturales, utilizando una alícuota de 1 l. 1000 kg de

semillas⁻¹. Estas dosificaciones corresponden a 50 cc. 50 kg semilla⁻¹. A partir de estas relaciones se aplicó 150 µl de la solución de cada compuesto por separado cada 200 g de semilla en bolsas plásticas con posterior agitación.

Luego de la aplicación de la solución de fitohormonas, 100 semillas fueron colocadas en bandejas plásticas de 30 x 20 x 5 cm (largo x ancho x profundidad) con doble capa de papel absorbente como soporte, embebido con el doble de volumen del peso del papel en agua destilada (pH = 6). Las bandejas se cubrieron con bolsas de polietileno transparentes, generando una cámara de aire en su interior (para preservar la humedad introducida en el sistema) y fueron ubicadas en cámara de crecimiento con condiciones controladas de humedad, temperatura y ciclo de alternancia luz/oscuridad [16 h de luz a 28° C/ 8 h oscuridad a 20° C, humedad relativa (HR) 60%].

Se evaluó la cantidad de semillas germinadas en dos tiempos de acuerdo a las especificaciones de la Asociación Internacional de Ensayos de Semillas (ISTA) para cada una de las especies (ISTA, 2006). La primera lectura determina el valor de Energía Germinativa (5 días para soja), para lo cual las semillas germinadas fueron contabilizadas y devueltas a la cámara para su posterior evaluación. Se consideraron germinadas a todas aquellas que presentaron una emisión de radícula mayor a 0,5 cm. El valor fue expresado como un porcentaje tomando como 100% la cantidad de semillas colocadas al inicio del ensayo. En el caso de garbanzo se determina sólo el poder germinativo a los 9 días según normas ISTA. La segunda lectura corresponde al valor de Poder Germinativo (8 días para soja y 9 días para garbanzo), considerando germinadas a todas aquellas semillas que reflejen fenotípicamente las características propias de la especie. El valor es expresado como un porcentaje, tomando como valor máximo la cantidad de semillas colocadas en la bandeja al inicio del ensayo. Adicionalmente a la determinación de la EG y PG, se determinó el peso fresco de la parte aérea y radical de las plántulas de cada especie. Este dato puede brindar información adicional sobre el efecto de la aplicación de fitohormonas en el crecimiento temprano.

Una vez seleccionadas las dosis más efectivas de cada una de las fitohormonas (resultantes de las pruebas realizadas con las distintas dosis en los ensayos anteriores), se combinaron en una fórmula única y fue evaluado nuevamente la EG y el PG en soja y garbanzo, como se detalló anteriormente.

4. Preparación de las soluciones para los *mix* hormonales

Esta etapa consistió en unir las soluciones de las concentraciones de fitohormonas que produjeron un efecto sobre la EG y el PG de los cultivos y aparición temprana de

órganos (radícula y vástago principal). En este sentido, se procedió a realizar una mezcla de ácido salicílico (SA) 10^{-8} , ácido giberélico (GA_3) 10^{-5} , ácido indol-3-acético (AIA) 10^{-6} , citocininas [6-BAP (6N-benzil-aminopurina)] 10^{-6} y epibrasinólido 10^{-7} .

5. Crecimiento de plántulas en condiciones control y de estrés

Se evaluó el crecimiento de las plántulas en condiciones de riego normal y en condiciones de estrés hídrico y estrés por pH (pH = 5) con la aplicación de la mezcla de las soluciones de fitohormonas que produjeron un efecto sobre la EG y el PG de los cultivos y aparición temprana de radícula y vástago principal, más el agregado de un protector bacteriano y un inoculante.

Se preparó el *mix* hormonal tomando 1,5 ml de cada una de las fitohormonas (6-BAP, AIA, Epibrasinólido, GA_3 y SA) para formar el preparado. Una vez ya listo el preparado, previa agitación para homogeneizar la mezcla, se extrajo del mismo 1,2 ml para luego inocular las semillas de soja y garbanzo.

Para probar el efecto de la fórmula seleccionada en el crecimiento temprano se desarrollaron experimentos en cuatro réplicas que consistían en vasos de 500 cm³ con 5 semillas/pote, conteniendo una mezcla de perlita/vermiculita (1:1) en cámara de crecimiento Conviron (Fig. 6), con condiciones controladas de humedad, temperatura y ciclo de alternancia luz/oscuridad (16 hs luz a 28° C/8 hs oscuridad a 20° C, HR 60%). Los vasos fueron colocados en respectivas bandejas por tratamiento e irrigados desde un comienzo con agua destilada para, que una vez desarrolladas las plántulas, recién ahí exponerlas a las distintas condiciones establecidas, por lo que a los 12 días de la siembra cuando ya se encontraban las plántulas completamente desarrolladas, se regaron los tratamientos con soluciones de Hoagland al 50% hasta culminar el ciclo del cultivo, que finalizó al determinar el fin del estadio de plántula (en soja en V3, cuando la tercera hoja trifoliada está totalmente desarrollada, y en garbanzo cuando el tallo principal, dos ramas primarias y una rama secundaria están completamente desplegados).

A



B



Figura 6. Fotografías del ensayo en cámara de crecimiento. A. Soja. B. Garbanzo.

Para la condición de estrés hídrico se regó con 100 ml de Hoagland 50% cada 3 días, mientras que los controles se mantuvieron con un régimen de riego de 200 ml de Hoagland 50% cada 3 días. Para el tratamiento de estrés por pH, se llevó la solución de Hoagland a pH = 5 con el agregado de ácido acético para generar la condición de acidez (6 gotas en los 200 ml). A los 27 días después de siembra se procedió a cosechar las plántulas evaluando los siguientes parámetros de crecimiento: crecimiento temprano (altura de la planta, longitud radical, peso fresco y peso seco aéreo y radical, volumen radical) y contenido de clorofila. El PS fue obtenido luego de 48 horas de secado del material en estufa a 70°C.

Para el cálculo del volumen radical se cortó la parte aérea de las plántulas al ras del suelo y con cuidado se extrajo la raíz, la cual se lavó con agua destilada y se midió volumen radical (VR) mediante el volumen de agua desplazada en una probeta de 100 ml (Wu *et al.*, 2005).

El contenido de clorofilas totales fue medido en la segunda hoja trifoliolada mediante la utilización de un clorofilómetro (Hansatech CL-O1, Hansatech Instruments Ltd).

6. Análisis estadístico

Como las unidades experimentales sujetas a los distintos tratamientos fueron seleccionadas al azar, el diseño adecuado para realizar el análisis de los datos es un arreglo factorial sobre un diseño de bloques completamente al azar. Para realizar el análisis de los datos se utilizó el software estadístico InfoStat Versión Estudiantil (Di Rienzo *et al.*, 2018). Primero se verificaron los supuestos necesarios para el análisis paramétrico (Normalidad y

Homogeneidad de Varianzas). En los casos en que se verificaron estos supuestos se realizó un ANOVA y test *a posteriori* de Tukey, y en los casos que no se verificaron se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Evaluación de energía germinativa y poder germinativo en soja

Está bien documentado el efecto de las fitohormonas cuando son aplicadas sobre diversidad de cultivos, sólo que en general ha sido evaluada la incidencia de la aplicación de una sola hormona o, en algunos casos, la de un *mix* o complejo hormonal basado en la combinación AIA, GA₃ y Citocininas. Estas moléculas biológicamente activas pueden afectar directamente el crecimiento de las plantas, o bien indirectamente pueden mejorar el ambiente del suelo, incrementando de esta manera el rendimiento (Walker *et al.*, 2003).

En este estudio, los ensayos realizados en el estadio de germinación en soja mostraron mayormente diferencias significativas en la energía germinativa y en el poder germinativo cuando se aplicaron los distintos tratamientos hormonales comparados con el control. El lote de semillas de soja control presentó una energía y poder germinativo que superó el 80%, mientras que con la aplicación de cada una de las fitohormonas se alcanzaron porcentajes mayores en dichos parámetros.

La aplicación de AIA en semillas de soja provocó efectos benéficos significativos en la energía germinativa (Fig. 7) y en el poder germinativo (Fig. 8), fundamentalmente a una concentración de 10⁻⁶ M. Al igual que en dicha experimentación, Amador-Alferez *et al.* (2013) demostraron que la adición de AIA influye en promover el inicio de la germinación de semillas de *Ferocactus histrix* y *Ferocactus latispinus*. Esto es confirmado por Bandurski *et al.* (1993), quienes expresan que el AIA estimula la germinación de semillas y la formación de raíces.

En el ensayo llevado a cabo en el laboratorio, la aplicación de las distintas dosis de giberelinas produjeron un efecto benéfico sobre la germinación de semillas de soja, mejorando tanto la energía germinativa (Fig. 7) como el poder germinativo (Fig. 8). Más allá de esto cabe destacar que la concentración de 10⁻⁵ M fue la dosis aplicada que provocó las diferencias más significativas en ambos parámetros del crecimiento comparado al tratamiento control. Esto coincide con lo que afirma Vazquez Badillo (2011), quien a través de un estudio demostró que el tratamiento de semillas de *Lactuca sativa* L. con giberelinas muestra un 10% más de germinación en relación al testigo, lo que confirma que al tener mayor porcentaje de germinación con estos tratamientos se puede obtener mayor incremento en la plúmula. McSteen y Zhao (2008) expresan también que la aplicación exógena de giberelinas tiene una gran influencia en la germinación de semillas.

Por otro lado, en semillas de soja, las citocininas también provocaron un aumento en la tasa germinativa siendo la menor dosis utilizada (10⁻⁶ M) la que produjo el incremento

más significativo en la energía germinativa (Fig. 7) y en el poder germinativo (Fig. 8). En relación a esto, Kakimoto (2003) explica que la dormancia de semillas está relacionada con los niveles endógenos de citocininas, estableciéndose que aumentan su contenido al final del proceso y que estimulan la germinación.

En este trabajo la aplicación exógena de SA a una concentración de 10^{-8} M en semillas de soja provocó un incremento de la germinación, tanto de la energía (Fig. 7) como del poder germinativo (Fig. 8). En coincidencia a este resultado está documentado que el SA cumple un rol muy importante en el incremento de la germinación de semillas de *A. thaliana* (Rajjou *et al.*, 2006).

Otra hormona que resultó seleccionada en este estudio por sus efectos benéficos en soja fue el epibrasinólido, cuya aplicación a una concentración de 10^{-7} M resultó positiva para la germinación, provocando un aumento en la energía germinativa (Fig. 7) y en el poder germinativo (Fig. 8). Las diferencias más significativas comparadas al control se observaron en la energía germinativa. Sasse y Hudson (1995), demostraron que, al igual que en este trabajo, la 24-epibrasinólida fue capaz de estimular la germinación de semillas de *Eucalyptus camaldulensis*.

La energía y el poder germinativo fueron mejorados con todas las variantes hormonales en las distintas dosis de fitohormonas utilizadas. Se observó que algunos de los tratamientos hormonales mejoraron significativamente dichos parámetros comparados al control, particularmente SA 10^{-8} , GA₃ 10^{-5} , AIA 10^{-6} , BAP 10^{-6} y Epi 10^{-7} (Figs. 7 y 8, respectivamente). También se produjo una emergencia de radícula y vástago más temprana.

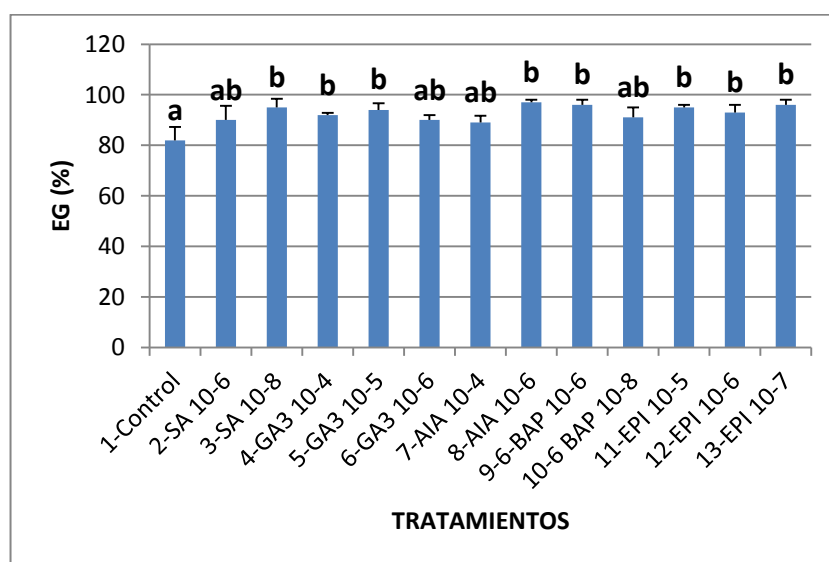


Figura 7. Energía germinativa (EG) en soja con aplicación de las distintas fitohormonas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.

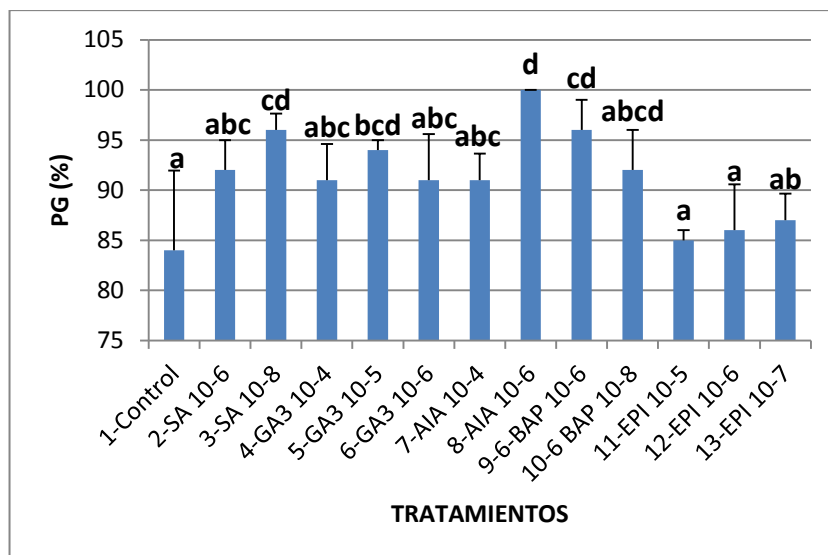


Figura 8. Poder germinativo (PG) en soja con aplicación de las distintas fitohormonas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

2. Evaluación del poder germinativo en garbanzo

El deterioro en semillas se manifiesta en la reducción de su capacidad germinativa e incremento de plántulas débiles o de bajo vigor (comúnmente consideradas anormales), características que son evidentes durante el establecimiento de las plántulas en el campo (Veselova y Veselovsky, 2003). Para contrarrestar los efectos negativos del proceso degenerativo en semillas, se han empleado diversos tratamientos en distintas especies, como el tratamiento químico antes de la siembra con reguladores de crecimiento para mejorar la capacidad germinativa y el vigor de las plántulas (Butola y Badola, 2004).

En el cultivo de garbanzo se presentaron inconvenientes ya que hubo un desarrollo importante de hongos. Las semillas presentaron intrínsecamente una alta carga de esporas, que alteraron o modificaron el poder germinativo. El primer ensayo realizado tuvo una germinación prácticamente nula debido a la presencia masiva de hongos en las semillas. Por este motivo, posteriormente se llevó a cabo un segundo ensayo pero con la aplicación de un fungicida. De esta manera se pudieron analizar los resultados, aunque no se pudo erradicar por completo la carga fúngica de las semillas.

Al igual que en soja el seguimiento diario de la germinación sirvió para observar la velocidad de germinación y/o aparición de órganos (radícula y vástago) y cuantificar el crecimiento, y con ello determinar las concentraciones de hormonas que resultaron beneficiosas en esta etapa.

En los ensayos realizados en el laboratorio se observó que las distintas fitohormonas respondieron mejorando el poder germinativo de este cultivo. La aplicación del

pretratamiento de AIA, fundamentalmente a una concentración de 10^{-6} M causa un efecto positivo en el poder germinativo en semillas de garbanzo (Fig. 9). En algunos estudios realizados por Fu y Harberd (2003) se ha demostrado que las auxinas por sí solas no son importantes para la germinación de semillas, pero su interacción y cruce con las giberelinas y el etileno puede influenciar los procesos de germinación de semillas y el establecimiento.

En semillas de garbanzo tratadas con GA_3 el poder germinativo fue incrementado significativamente cuando se utilizó dicha hormona a una concentración de 10^{-5} M (Fig. 9). En coincidencia con este resultado, Nascimento (2000) expresa que las giberelinas estimulan la germinación de semillas y superan la latencia en varias especies, como por ejemplo promover la germinación de semillas de alfalfa. También en otro estudio, para el caso de semillas de *Passiflora quadrangularis* no se observó rompimiento de la testa, por lo tanto, se expresa una latencia combinada entre mecánica y fisiológica, en la cual con la aplicación exógena de GA_3 se contribuyó a una mayor germinación (Carranza *et al.*, 2016).

En el cultivo de garbanzo con la aplicación de 6-BAP en dosis 10^{-6} M se lograron los efectos positivos más significativos en el poder germinativo (Fig. 9). Al igual que en semillas de papaya, Bautista-Calles *et al.* (2008) señalan que el tratamiento con 6-BAP incrementa la velocidad y la tasa de germinación. La hormona 6-BAP promueve la división celular, el desarrollo y la germinación, por ello ha sido utilizada en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, para interrumpir la latencia y promover la germinación de semillas (McGaw y Burch, 1995).

En este estudio el pre-tratamiento de semillas de garbanzo con SA mejoró el poder germinativo, siendo la concentración de 10^{-8} M la que produjo los efectos y las diferencias más significativas respecto al tratamiento testigo (Fig. 9). Esto coincide con lo expresado por Hayat *et al.* (2007), quienes afirman que el SA afecta la germinación de las semillas y hay numerosos reportes del rol como promotor de la germinación en distintas especies.

La aplicación de epibrasinólido a una concentración de 10^{-7} M resultó positiva para la germinación provocando los aumentos más significativos en el poder germinativo (Fig. 9). Sasse (1997) logró los mismos resultados en sus ensayos afirmando que el pre-tratamiento con brasinólida incrementa significativamente distintos parámetros de la germinación en especies como *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*.

Se observó que algunos de los tratamientos hormonales mejoraron significativamente el poder germinativo sobre el control, sobre todo SA 10^{-8} , GA_3 10^{-5} , AIA 10^{-6} , BAP 10^{-6} y Epi 10^{-7} (Fig. 9). El gráfico muestra que, en general, el poder germinativo fue mejorado con la utilización de las concentraciones más altas de cada hormona. También las semillas presentaron una emergencia de radícula y vástago principal más temprana.

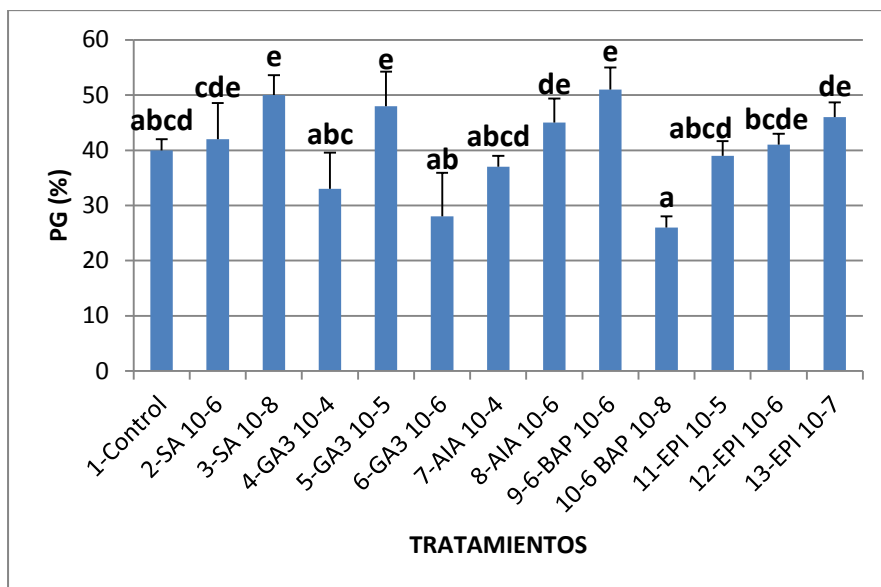


Figura 9. Poder germinativo (PG) de garbanzo con aplicación de las distintas fitohormonas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.

3. Evaluación de la energía germinativa y el poder germinativo en soja con la aplicación del *mix* hormonal

El desarrollo agronómico no se detiene y ya se debe incorporar el uso de un nuevo concepto, el de los bioestimulantes. En el mercado se encuentran diversos productos que contienen distintas hormonas en muy pequeñas cantidades, aminoácidos promotores de fitohormonas, nutrientes minerales y vitaminas, también en muy pequeñas cantidades, formulados en base a extractos de vegetales terrestres, de algas o de semillas, o de combinaciones de esas materias primas que en ocasiones son utilizadas en combinación con un regulador del crecimiento (compuesto de síntesis industrial obtenido de otros organismos) que son usados en agricultura para lograr un mejor desarrollo de los vegetales (Barceló Coll *et al.*, 2007).

El efecto de la interacción entre las distintas fitohormonas utilizadas se vio reflejado en semillas de soja, ya que la energía y el poder germinativo fueron mejorados con la aplicación del *mix* hormonal respecto al control. La energía germinativa aumentó de 82% a 95% (Fig. 10), mientras que el poder germinativo aumentó de 84% a 96% (Fig. 11). En este caso, también se observó que la emergencia de la radícula y del vástago principal se produjo antes en las semillas inoculadas que en las no inoculadas, lo que permitiría lograr un crecimiento y un establecimiento anticipado en las plántulas tratadas.

Esto confirma lo expresado por Barceló Coll *et al.* (2007), quienes afirman que las hormonas vegetales no tienen efectos específicos de modo que una misma fitohormona actúa

sobre muchos procesos, de la misma forma que sobre un proceso específico pueden actuar varias hormonas, sobreponiéndose los efectos de las mismas, por lo que la regulación que ejercen debe comprenderse desde la perspectiva de una interacción entre los distintos grupos.

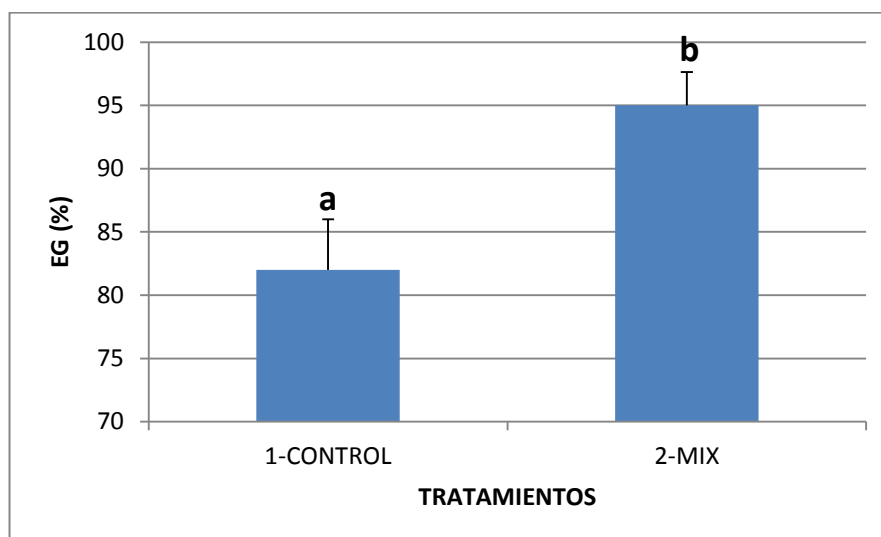


Figura 10. Energía germinativa (EG) en soja con aplicación del *mix* hormonal. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.

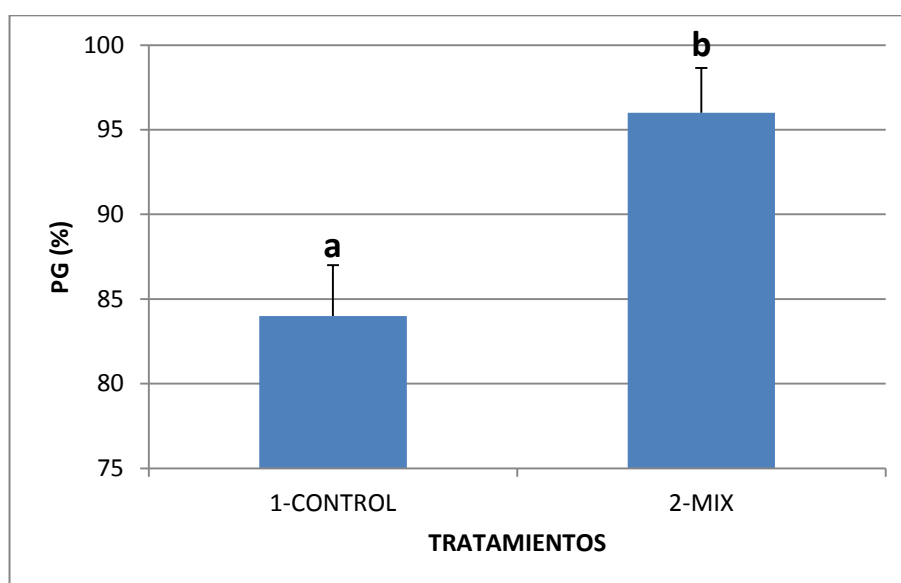


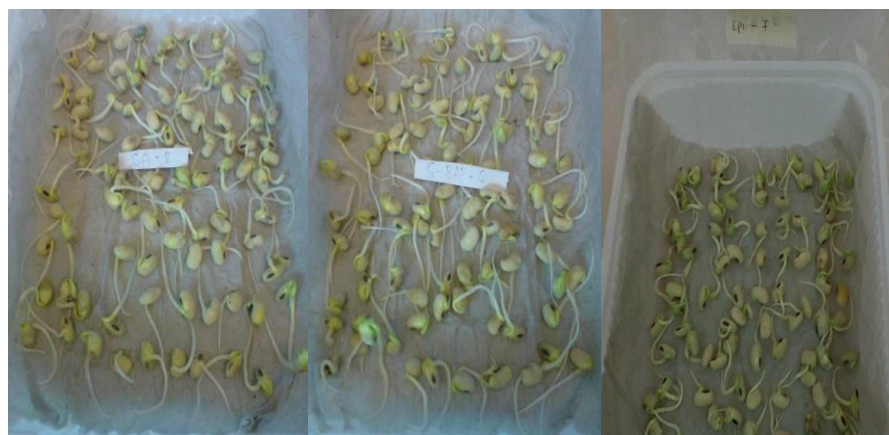
Figura 11. Poder germinativo (PG) en soja con aplicación del *mix* hormonal. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.



Control

AIA 10^{-6}

GA₃ 10^{-5}



SA 10^{-8}

6-BAP 10^{-6}

Brs 10^{-7}



mix hormonal

Figura 12. Fotografías de la germinación de soja con distintos tratamientos de fitohormonas y con el tratamiento *mix hormonal*.

4. Evaluación del poder germinativo en garbanzo con la aplicación del *mix* hormonal

En garbanzo la aplicación del *mix* hormonal no produjo la respuesta esperada de la interacción entre fitohormonas, ya que si bien el poder germinativo fue levemente mejorado no se produjeron diferencias significativas entre las semillas inoculadas y las no inoculadas (Fig. 13). Esto pudo deberse a que las semillas de garbanzo poseían una elevada carga fúngica, que si bien fue disminuida con la aplicación de un fungicida, posiblemente afectó la germinación de las mismas. En dicha experiencia ocurrió todo lo contrario a lo expresado por Kaur *et al.* (1998), quienes en sus ensayos observaron el efecto de dos hormonas actuando en conjunto afirmando que la kinetina en combinación con GA₃ mejora significativamente la germinación y el crecimiento de las plántulas de garbanzo.

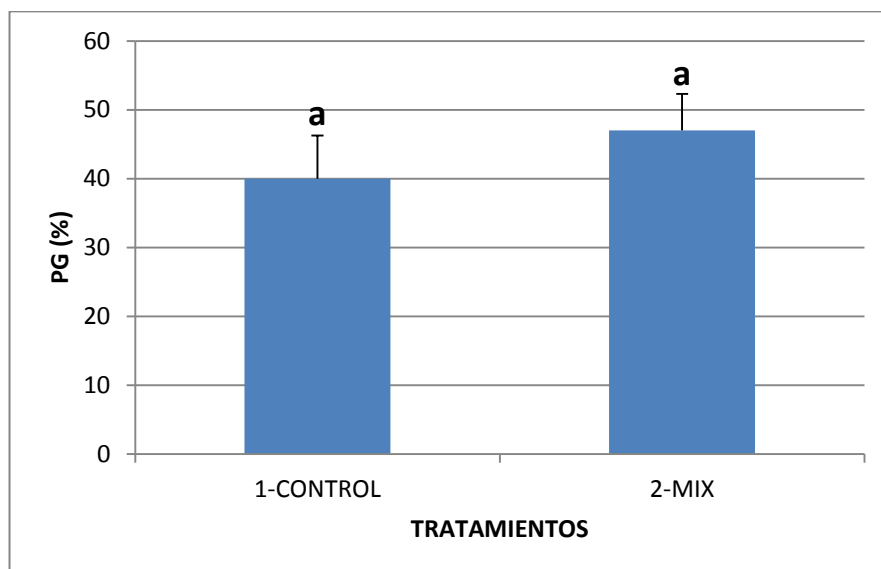


Figura 13. Poder germinativo (PG) de garbanzo con aplicación del *mix* hormonal. Letras iguales indican que las diferencias no son significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.

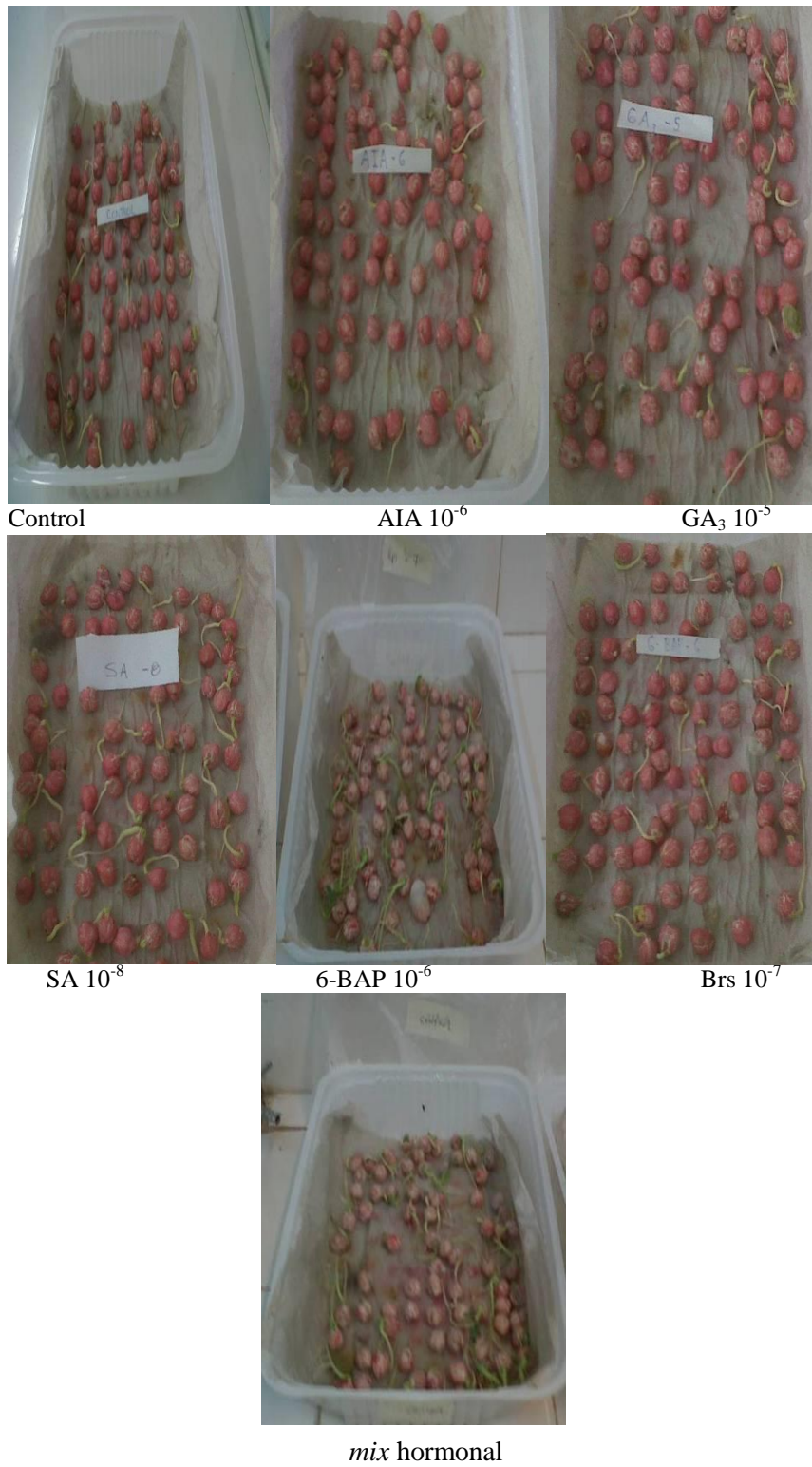


Figura 14. Fotografías de germinación de garbanzo con distintos tratamientos de fitohormonas y con el tratamiento *mix* hormonal.

5. Análisis de crecimiento temprano en soja

Las hormonas vegetales ejercen efectos de largo alcance sobre el crecimiento de la planta y sus efectos dependen del momento de aplicación (en este estudio sobre semillas), y de su duración (Hill, 1984). Asimismo, la sensibilidad de los tejidos vegetales juega un rol importante a la aplicación de las PGRs (reguladores del crecimiento de plantas) (Trevawas, 1981).

Es importante resaltar que no se han encontrado trabajos en los cuales se evaluara el efecto individual de distintas fitohormonas sobre los parámetros del crecimiento peso fresco aéreo y peso fresco radical en determinadas especies que sirvan como punto de comparación al análisis llevado a cabo en este trabajo, tanto en soja como en garbanzo. Igualmente en algunos casos, en ambos cultivos, se detallará información del efecto de las fitohormonas sobre otras variables del crecimiento como son el desarrollo radicular, la altura de las plántulas, el rápido establecimiento de las mismas, entre otras, brindada por distintos autores como resultado de sus ensayos, que se relacionan con dichos parámetros ya que pueden influir sobre los mismos.

En este trabajo, la aplicación de AIA a una concentración de 10^{-6} M mostró en plántulas de soja los efectos benéficos más significativos en el peso fresco aéreo (Fig. 15) y radical (Fig. 16). Algunos autores como Jordán y Casaretto (2006) afirman que las auxinas intervienen en la elongación de tallos y coleoptilos, regulación del crecimiento radicular, formación de raíces adventicias y promoción de la dominancia apical. Jenik y Barton (2005) determinaron que uno de los ensayos que caracteriza el efecto de auxinas en el desarrollo, es la regulación del crecimiento radicular, el cual es definido desde el desarrollo embrionario. Por otro lado, se ha encontrado que las auxinas presentes en la punta de la radícula de las semillas durante y después de la germinación, estimulan un rápido crecimiento de las plántulas (Hentrich *et al.*, 2013).

La aplicación de giberelinas en semillas de soja provocó un mayor fresco aéreo y radical de las plántulas de dicho cultivo (Figs. 15 y 16, respectivamente), fundamentalmente mediante la aplicación de la hormona en dosis 10^{-5} M. En plántulas de *Arabidopsis* la aplicación exógena de GA₃ fue capaz de revertir el efecto inhibitorio de distintos tipos de estrés, como salinidad (150 mm NaCl), estrés oxidativo (tratamiento con paraquat) y altas temperaturas (50°C) en la germinación y también en el establecimiento de las plántulas (Deubel *et al.*, 2008).

Con respecto a las citocininas aplicadas sobre semillas de soja, las mismas provocaron un leve aumento en el peso fresco aéreo mediante la utilización de dicha

hormona a una concentración de 10^{-6} M (Fig. 15). El peso fresco radical no presentó diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las dosis utilizadas (Fig. 16).

En este estudio, el pre-tratamiento de semillas de soja con SA mejoró el crecimiento de plántulas, registrándose aumentos en el peso fresco aéreo (Fig. 15) y en el peso fresco radical (Fig. 16) de las plántulas cuando las semillas fueron embebidas en altas concentraciones de SA (10^{-8} M). Por lo tanto, las aplicaciones con SA pueden promover el crecimiento y el rendimiento (Ashraf y Foolad, 2005).

También se produjo un aumento del peso fresco aéreo en plántulas de soja tratando la semilla con epibrasinólido a una concentración de 10^{-7} M (Fig. 15). El peso fresco radical no fue mejorado con ninguna de las dosis utilizadas (Fig. 16). Hernández *et al.* (1999) evidenciaron la acción positiva sobre el crecimiento de las plantas de papa cultivadas *in vitro* de los epibrasinólidos a una dosis de 1 mg.l^{-1} , ya que estos aceleraron la altura de las plantas y la emisión de raíces, lo cual demuestra además la acción rápida cuando se emplean *in vitro*.

El peso fresco aéreo y el peso fresco radical no fueron mejorados con todas las variantes hormonales. Los tratamientos hormonales que mejoraron ambos parámetros sobre el control, fueron particularmente SA 10^{-8} , GA₃ 10^{-5} , AIA 10^{-6} , BAP 10^{-6} y Epi 10^{-7} , algunos sin presentar diferencias significativas (Figs. 15 y 16, respectivamente).

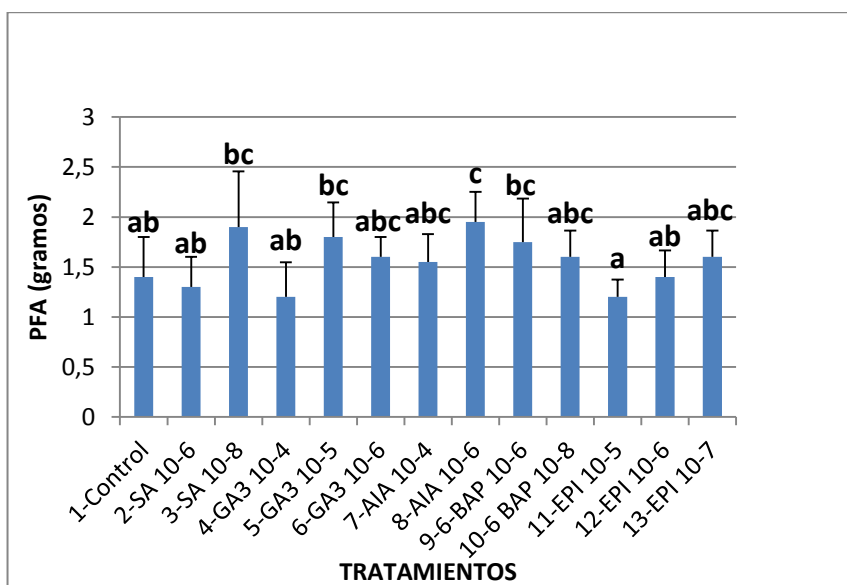


Figura 15. Peso fresco de parte aérea (PFA) de soja con aplicación de las distintas fitohormonas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

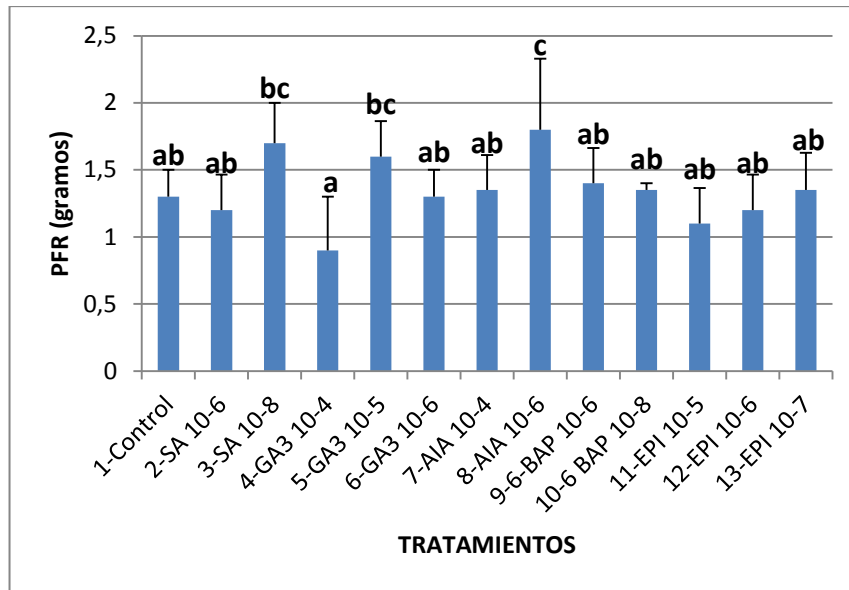


Figura 16. Peso fresco de raíces (PFR) en soja con aplicación de las distintas fitohormonas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.

6. Análisis del crecimiento temprano para garbanzo

Generalmente, el tratamiento con algunas fitohormonas tales como auxinas, giberelinas, citocininas, y SA conducen a la regulación del metabolismo vegetal y consecuentemente de la performance de la planta, con incrementos en el crecimiento y en la producción (Hernández, 1997).

En este estudio con la aplicación de AIA a una concentración de 10^{-6} M sobre semillas de garbanzo se obtuvieron los efectos benéficos más significativos en el peso fresco aéreo (Fig. 17) y radical (Fig. 18) de plántulas de dicho cultivo. Si bien no está documentado específicamente el efecto que producen sobre el peso fresco aéreo y radical en algún tipo de especie en particular, Barket *et al.* (2007) demostraron que el ácido indol-butírico (AIB) y el ácido indol-3-acético (AIA) se utilizan para la germinación *in vitro* de semillas y crecimiento de plántulas de garbanzo.

En semillas de garbanzo previamente inoculadas con GAs se observó un leve incremento del peso fresco aéreo utilizando una dosis de 10^{-5} M (Fig. 17). En el peso fresco radical no se presentaron diferencias estadísticamente significativas comparadas con el control en ninguna de las dosis de GAs utilizadas (Fig. 18).

La utilización de citoquininas a la semilla en dosis 10^{-6} M generó un leve incremento del peso fresco aéreo en garbanzo (Fig. 17), mientras que en el peso fresco radical no se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al control (Fig. 18). Khan y Ungar (1997) expresaron que las citoquininas son hormonas de crecimiento que regulan un

amplio rango de comportamientos en las plantas incluyendo la germinación de las semillas y el desarrollo inicial de plántulas.

Por otro lado, en este ensayo el pre-tratamiento de semillas de garbanzo con SA a una concentración 10^{-8} M mejoró el crecimiento de plántulas, provocando un leve aumento en el peso fresco, tanto aéreo como radical (Figs. 17 y 18, respectivamente). Alonso-Yáñez (2004) indicó que el tratamiento de semillas con SA mejora la emergencia de las plántulas e incrementa la materia seca de las plantas.

La hormona epibrasinólido resultó seleccionada en este estudio por sus efectos benéficos en garbanzo, ya que su aplicación a una concentración de 10^{-7} M produjo un leve incremento en el peso fresco aéreo (Fig. 17), no así en el peso fresco radical el cual no fue aumentado con ninguna de las dosis utilizadas (Fig. 18).

Aquí también se observó que las variantes hormonales que mejoraron ambos parámetros sobre el control fueron particularmente SA 10^{-8} , GA₃ 10^{-5} , AIA 10^{-6} , BAP 10^{-6} y Epi 10^{-7} , algunas sin presentar diferencias significativas (Figuras 17 y 18, respectivamente).

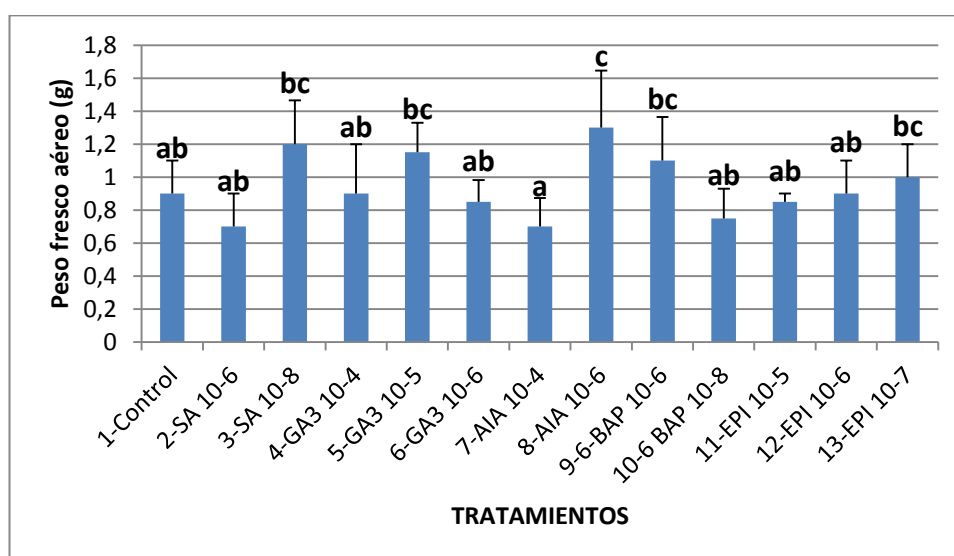


Figura 17. Peso fresco aéreo de garbanzo con aplicación de las distintas fitohormonas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

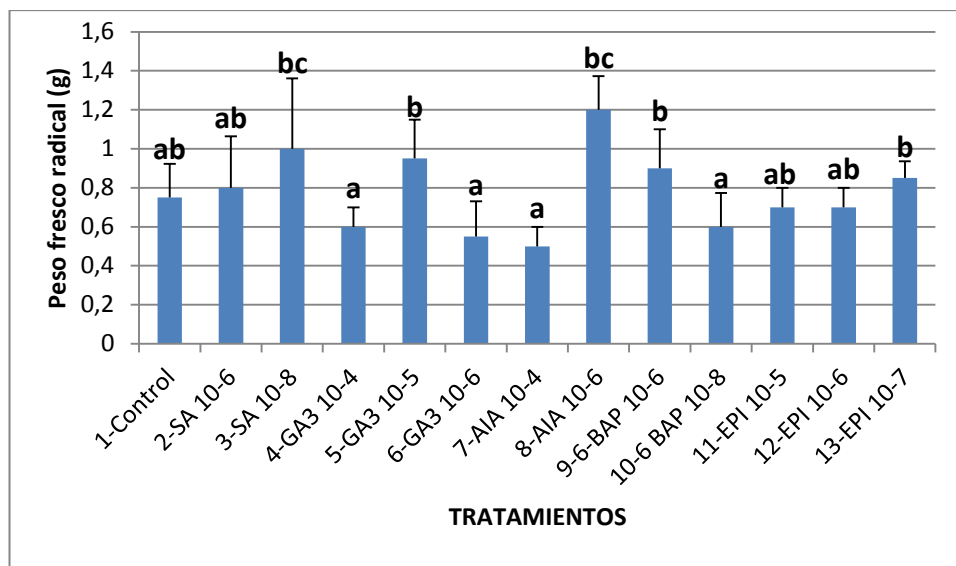


Figura 18. Peso fresco de raíces de garbanzo con aplicación de las distintas fitohormonas. Letras iguales diferentes indican que las diferencias son significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.

Por lo tanto, esta primera etapa de estudio permitió establecer las concentraciones de las distintas fitohormonas que resultaron más efectivas sobre la mejora en la germinación y el crecimiento temprano para posterior mezcla de las mismas y aplicación sobre estos cultivos. Se estableció una combinación hormonal para uso y aplicación en leguminosas compuesta de las siguientes hormonas con sus respectivas concentraciones: AIA 10^{-6} , SA 10^{-8} , GA₃ 10^{-5} , 6-BAP 10^{-6} y Brs 10^{-7} M.

7. Crecimiento de plántulas en condiciones control y de estrés

Las plantas frecuentemente están sometidas a uno o varios factores ambientales adversos. En este estudio se evaluó el crecimiento de las plántulas de soja y garbanzo en condiciones de riego normal y en condiciones de estrés hídrico y estrés por pH (pH = 5) con la aplicación de la mezcla de las soluciones de fitohormonas que produjeron un efecto sobre la energía germinativa, el poder germinativo y el crecimiento temprano de dichos cultivos, y la aplicación de la misma más el agregado de un protector bacteriano y un inoculante. Los tres tratamientos aplicados (*mix* hormonal, *mix* hormonal + protector bacteriano, *mix* hormonal + protector bacteriano + inoculante) fueron comparados con un tratamiento control de plántulas de soja y garbanzo también sometidas a las mismas condiciones. No se logró hallar la información precisa y necesaria, relacionada a la influencia que puede llegar a tener la aplicación de una mezcla de fitohormonas (*mix* hormonal) sobre las semillas de determinadas especies cuando las mismas se encuentran en condiciones de estrés. Asimismo, según los resultados de este estudio, se considera que el pre-tratamiento de semillas con

concentraciones óptimas de hormonas puede promover efectivamente el establecimiento de la plántula, su crecimiento y desarrollo y la producción en variadas condiciones ambientales.

En este trabajo los tres tratamientos aplicados (*mix* hormonal, *mix* hormonal + protector y *mix* hormonal + protector + inoculante) en soja tuvieron un efecto positivo sobre la altura de la planta provocando un incremento significativo sobre sus respectivos controles. En la condición de riego normal es en la que se alcanzó la máxima altura de la planta (Fig. 19).

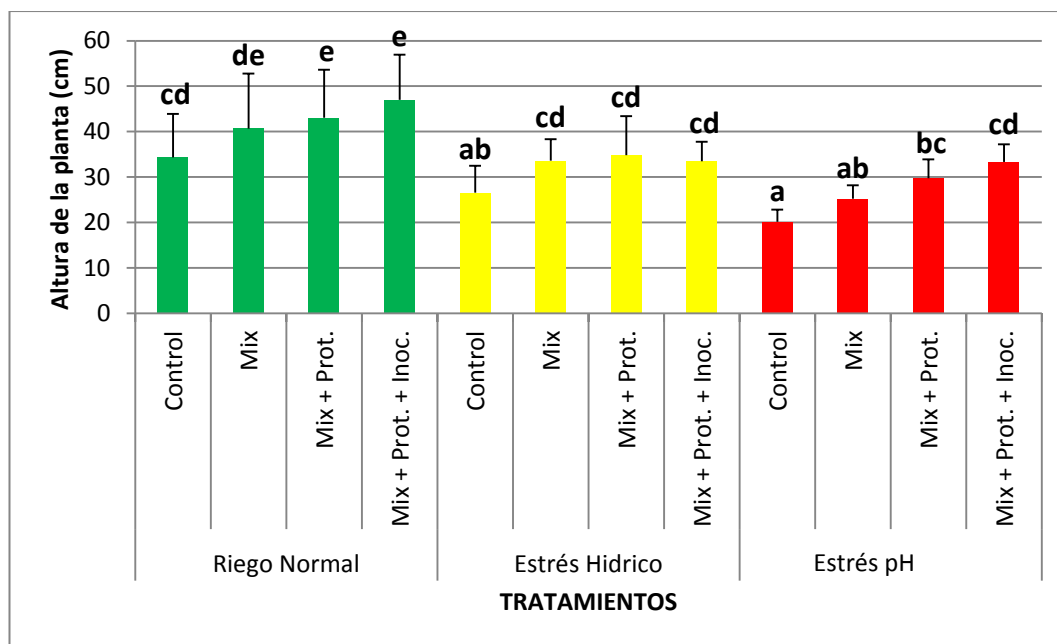


Figura 19. Altura total en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

En las plántulas de garbanzo hubo diferencias significativas en los tratamientos analizados. Los tratamientos *mix* y *mix* + protector en condiciones de riego normal y estrés por pH tuvieron un efecto positivo sobre dicha variable. En condiciones de estrés hídrico los distintos tratamientos no produjeron un efecto benéfico (Fig. 20).

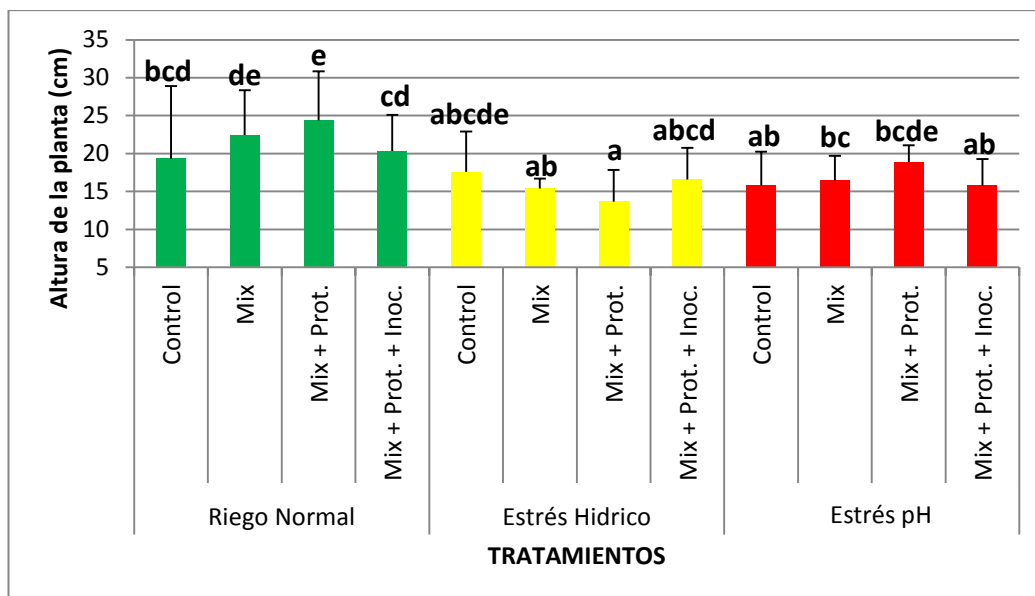


Figura 20. Altura total en plántulas de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

En el cultivo de soja los tratamientos aplicados produjeron un efecto positivo en las condiciones de estrés hídrico y estrés por pH sobre la longitud radical. Se observó un aumento significativo sobre todo en los tratamientos *mix + protector* y *mix + protector + inoculante* respecto a los controles (Fig. 21). En garbanzo no se encontraron diferencias significativas en los tratamientos para cada condición en particular, pero sí entre ellas. Las plántulas sometidas a la condición de riego normal presentaron las mayores longitudes radicales (Fig. 22).

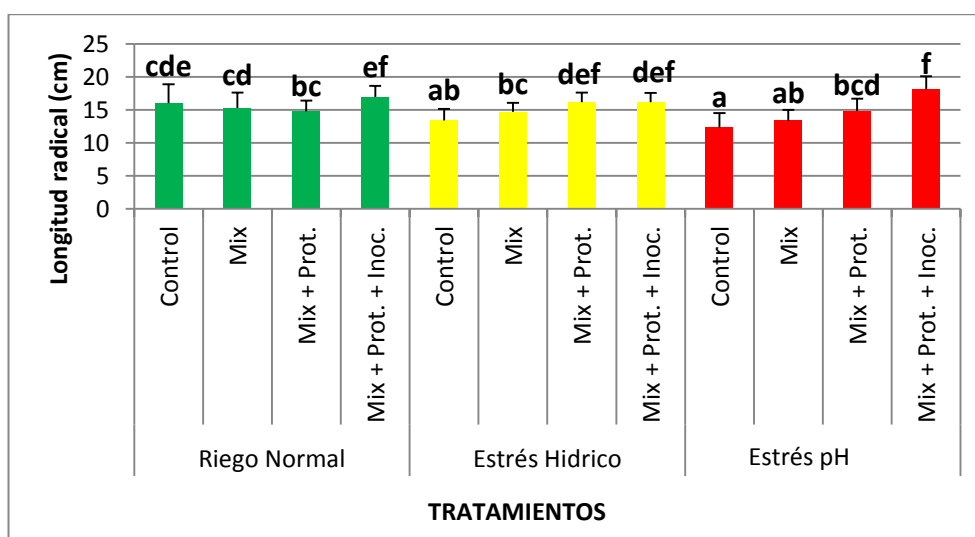


Figura 21. Longitud radical en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

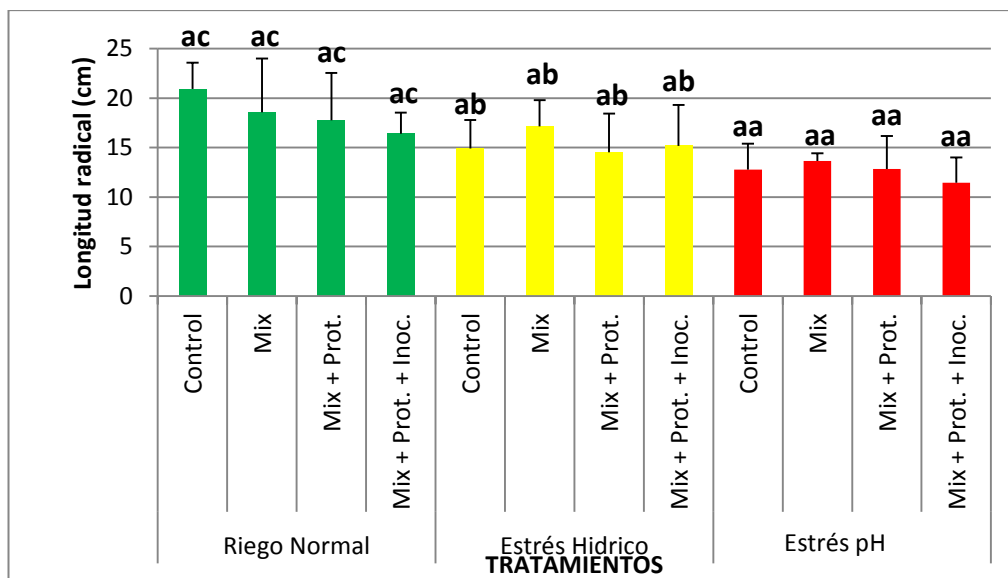


Figura 22. Longitud radical en plántulas de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Tukey.

Para la variable peso fresco aéreo analizada, en ambos cultivos se encontraron diferencias significativas. En soja, algunos de los tratamientos aplicados provocaron un efecto positivo bajo las condiciones de riego normal y estrés hídrico respecto a sus controles (Fig. 23). Por otra parte, en garbanzo el único tratamiento que produjo un leve efecto positivo fue el *mix* + protector bajo la condición de estrés por pH, comparado con su respectivo control. En las restantes plántulas analizadas la aplicación de los diferentes tratamientos no produjo un aumento en este parámetro (Fig. 24). Las plántulas de ambos cultivos sometidas a la condición de riego normal fueron las que presentaron los mayores pesos frescos aéreos.

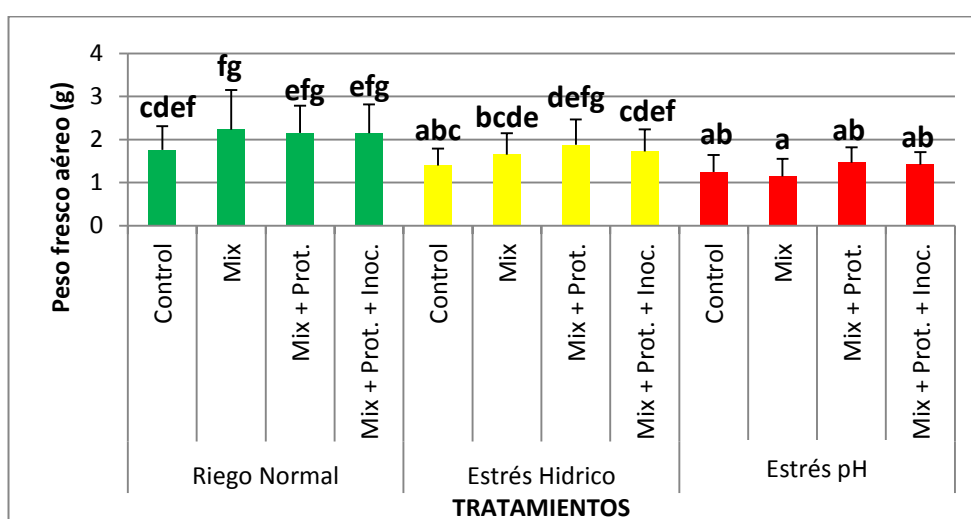


Figura 23. Peso fresco parte aérea en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

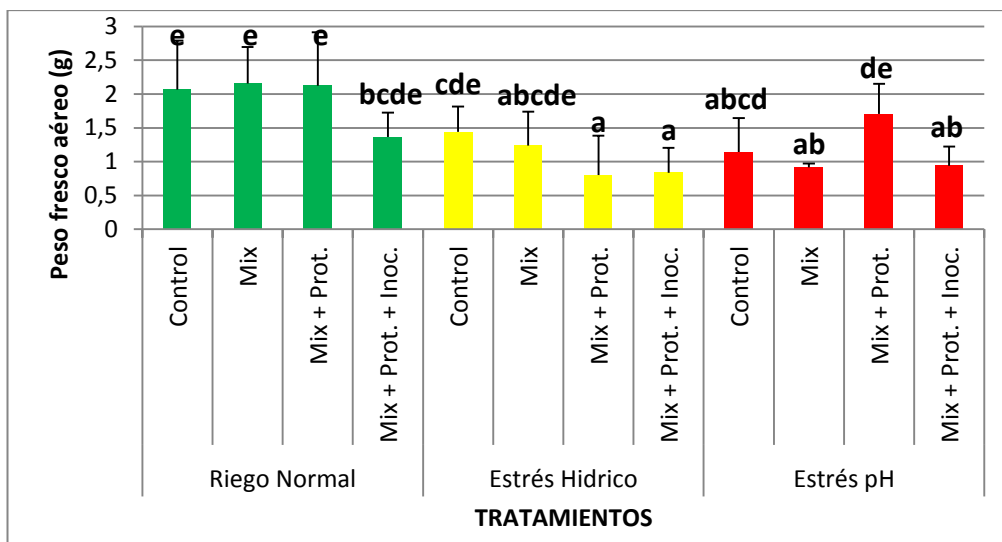


Figura 24. Peso fresco parte aérea en plántulas de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

El peso fresco radical fue levemente incrementado en soja con la aplicación de los distintos tratamientos bajo la condición de estrés hídrico y más notoriamente bajo la condición de estrés por pH comparados a los controles (Fig. 25), mientras que en garbanzo el tratamiento *mix + protector* tuvo la misma respuesta sobre este parámetro en situación de estrés por pH (Fig. 26). En soja las plántulas bajo estrés por pH y en garbanzo las plántulas bajo riego normal presentaron el mayor peso fresco radical, comparadas con el resto de las plántulas sometidas a las demás condiciones.

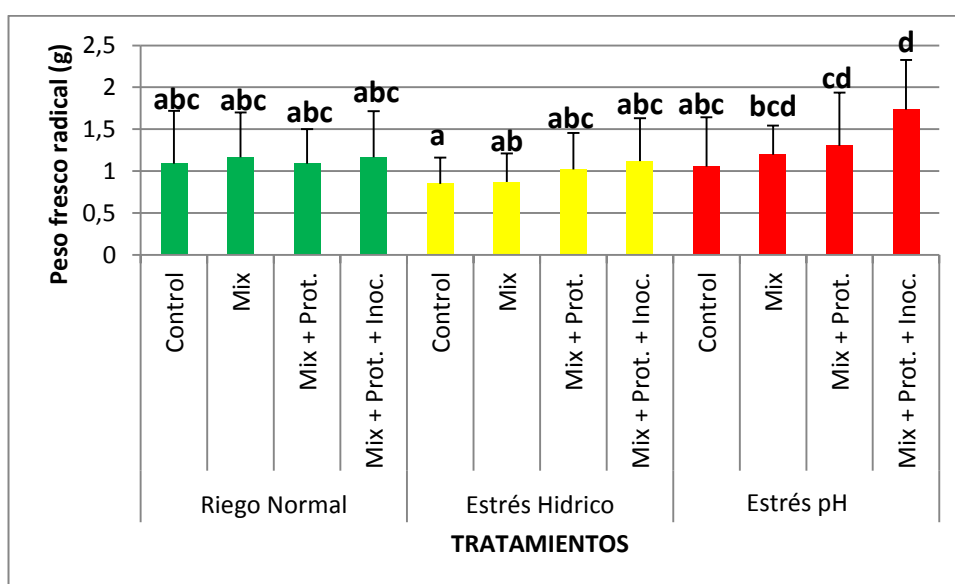


Figura 25. Peso fresco radical en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

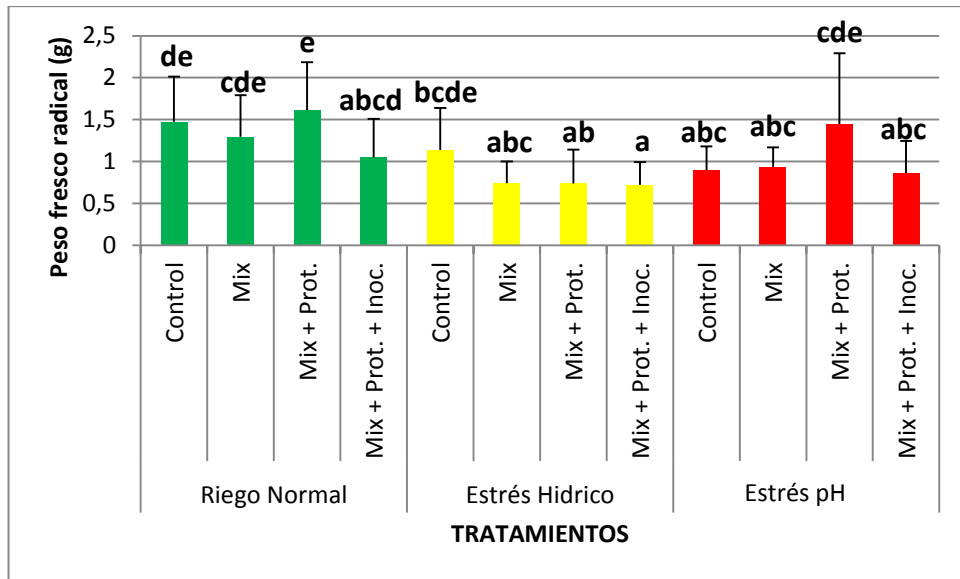


Figura 26. Peso fresco radical en plántulas de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

En soja el peso seco aéreo tuvo una mejoría en las tres situaciones analizadas. Las plántulas que crecieron bajo la condición de riego normal sometidas a los distintos tratamientos presentaron el mayor peso seco aéreo comparado con las plántulas sometidas a las restantes condiciones (Fig. 27). En garbanzo el único tratamiento que produjo un efecto positivo notorio sobre dicho parámetro fue el *mix + protector* aplicado bajo la condición de estrés por pH comparado con su respectivo control. El resto de los tratamientos sobre las distintas condiciones en las cuales fueron sometidas las plántulas no presentaron efectos positivos evidentes. Las plántulas sometidas a la condición de riego normal fueron las que presentaron el mayor peso seco aéreo (Fig. 28).

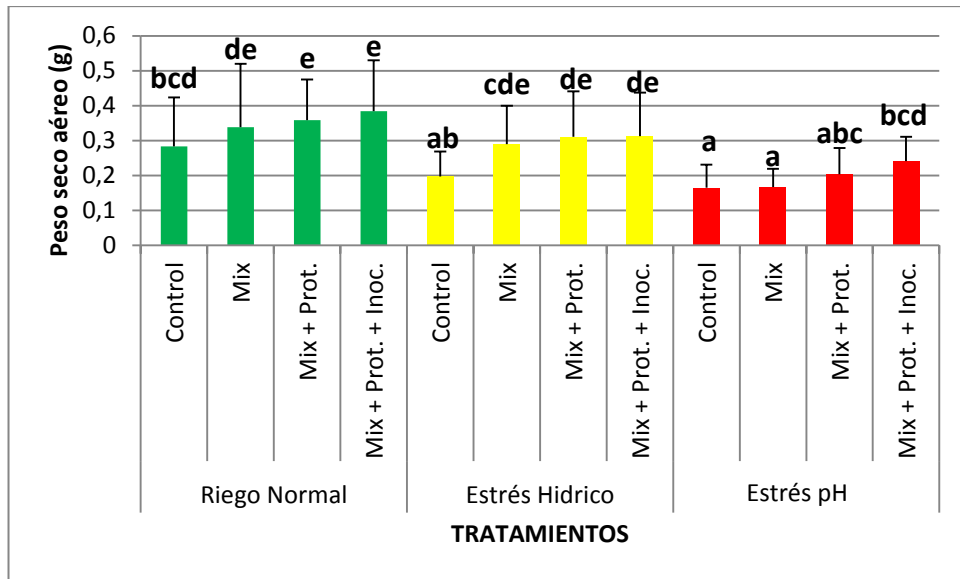


Figura 27. Peso seco parte aérea en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

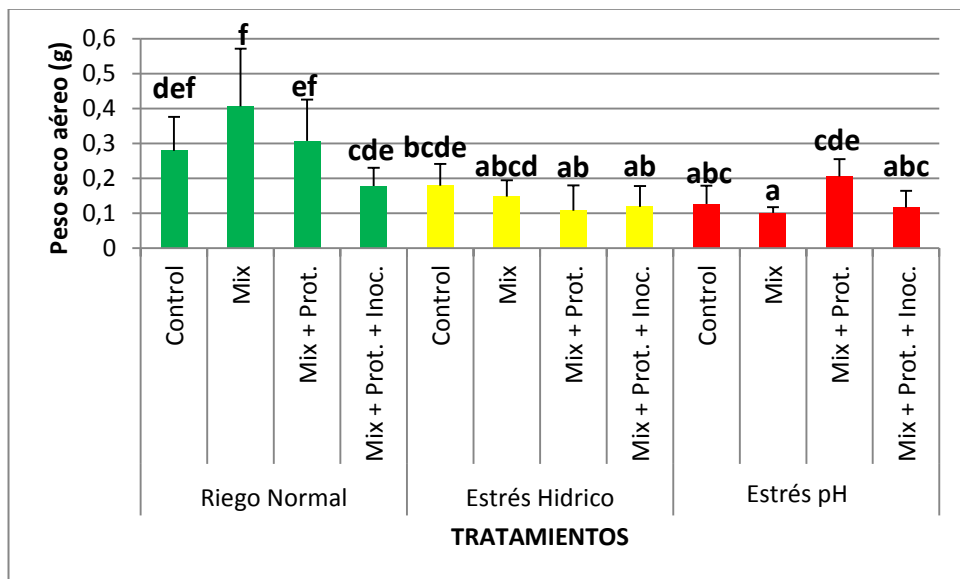


Figura 28. Peso seco parte aérea en plántulas de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

En la Fig. 29 se puede observar que el peso seco radical fue levemente mejorado en plántulas de soja con la aplicación de los distintos tratamientos en situaciones de riego normal y de estrés, tanto por déficit hídrico como por pH, mientras que en las plántulas de garbanzo el *mix* de hormonas + el protector bacteriano produjo un ligero aumento en el peso seco radical en la condición de estrés por pH en relación a su control (Fig. 30). En soja las plántulas bajo estrés hídrico y en garbanzo las plántulas bajo riego normal presentaron el

mayor peso seco radical, comparadas con el resto de las plántulas sometidas a las demás condiciones.

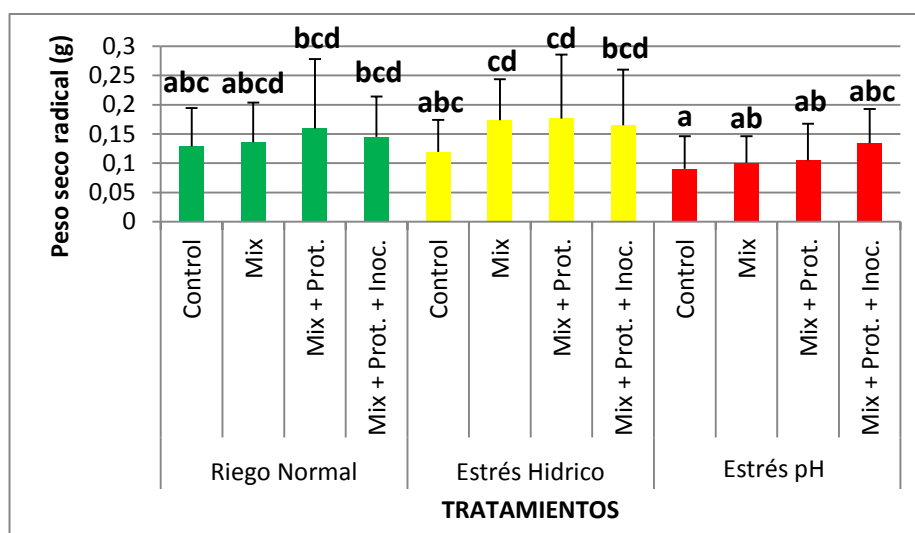


Figura 29. Peso seco radical en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

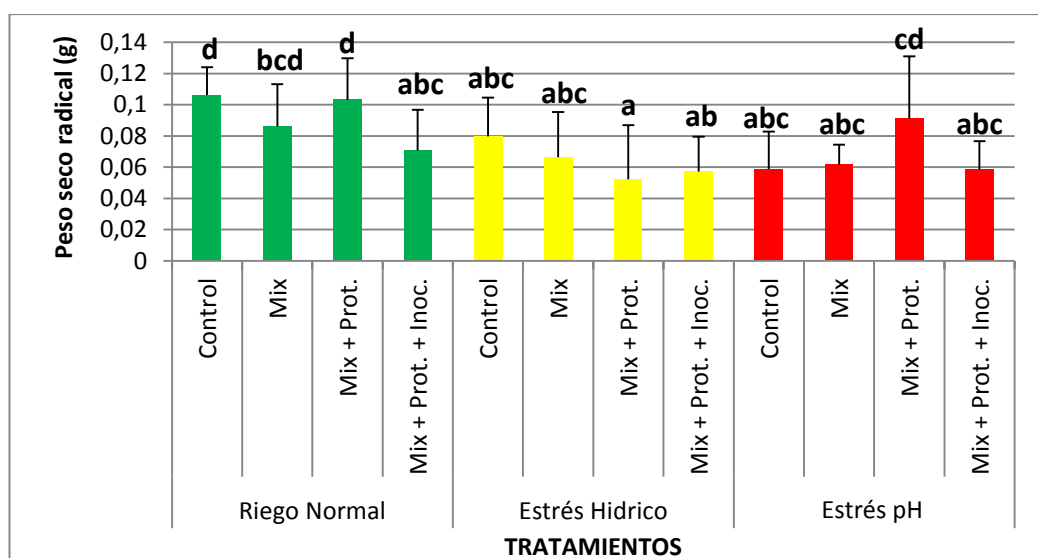


Figura 30. Peso seco radical en plántulas de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

El volumen radical presentó un ligero incremento en las plántulas de soja inoculadas con los distintos tratamientos en situaciones de estrés hídrico y estrés por pH, siendo el tratamiento *mix + protector + inoculante* el que provocó el aumento más significativo (Fig. 31), mientras que en garbanzo no hubo efecto de los distintos tratamientos en ninguna de las situaciones estudiadas, solo se observó un leve aumento de este parámetro en las plántulas

sometidas a estrés por pH e inoculadas con el *mix* hormonal + el protector bacteriano respecto al control (Fig. 32). En soja las plántulas bajo estrés por pH y en garbanzo las plántulas bajo riego normal presentaron el mayor volumen radical, comparadas con el resto de las plántulas sometidas a las demás condiciones.

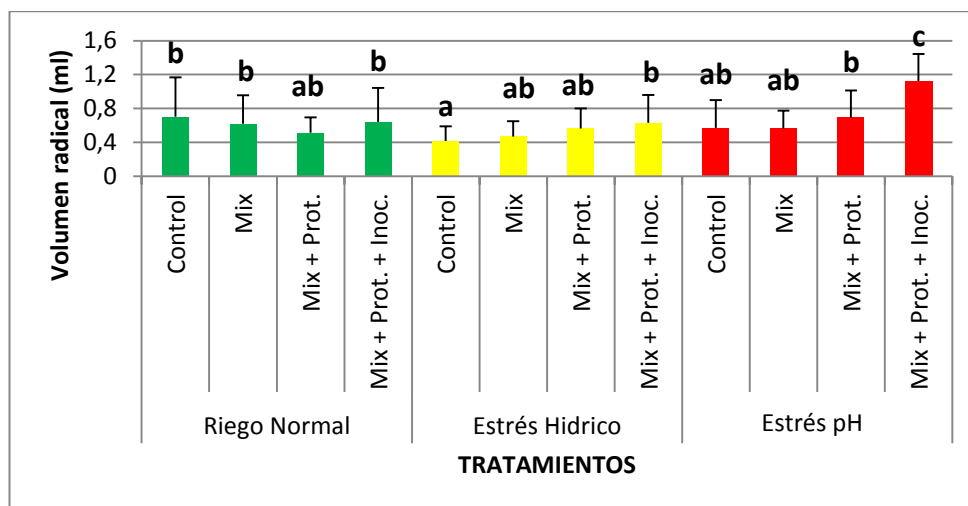


Figura 31. Volumen radical en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

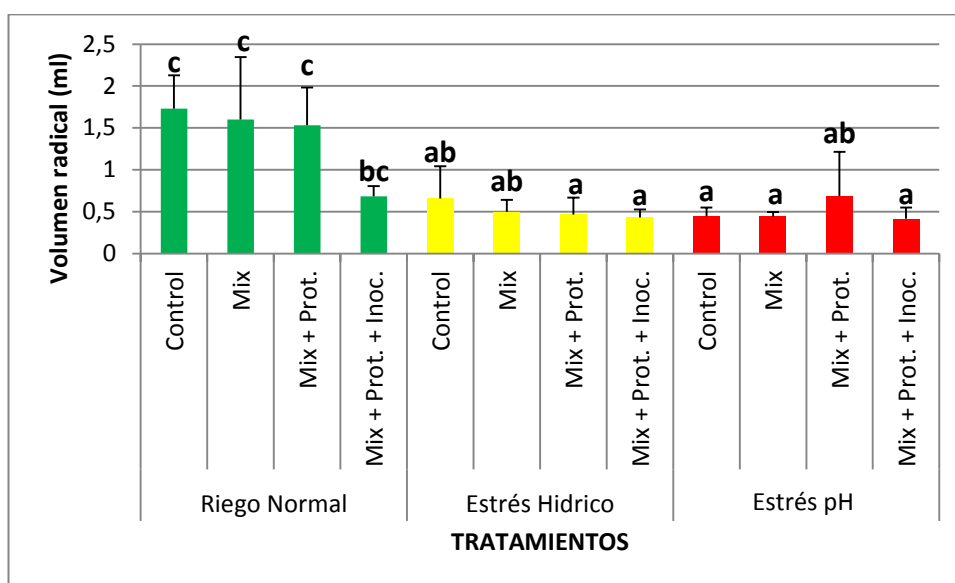


Figura 32. Volumen radical en plántulas de garbanzo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

7. Medición del contenido de clorofila

Este parámetro sólo pudo medirse en las plántulas de soja, dado que las hojas de las plántulas de garbanzo no permitieron realizar la medición por una cuestión morfológica, ya que la lámina de la hoja resultó demasiado pequeña para poder ubicar el sensor del equipo. En la situación de riego normal no se observó un aumento significativo en dicha variable con la aplicación de los distintos tratamientos respecto a su control, en situación de estrés por pH los tratamientos provocaron un leve aumento sobre dicha variable respecto al control y, bajo la condición de estrés hídrico, la aplicación del *mix* hormonal produjo un aumento significativo en el contenido de clorofila (Fig. 33). Más allá de esto, las hojas de las plántulas en situación de riego normal presentaron el mayor contenido de clorofila comparadas con el resto de las plántulas sometidas a las demás condiciones.

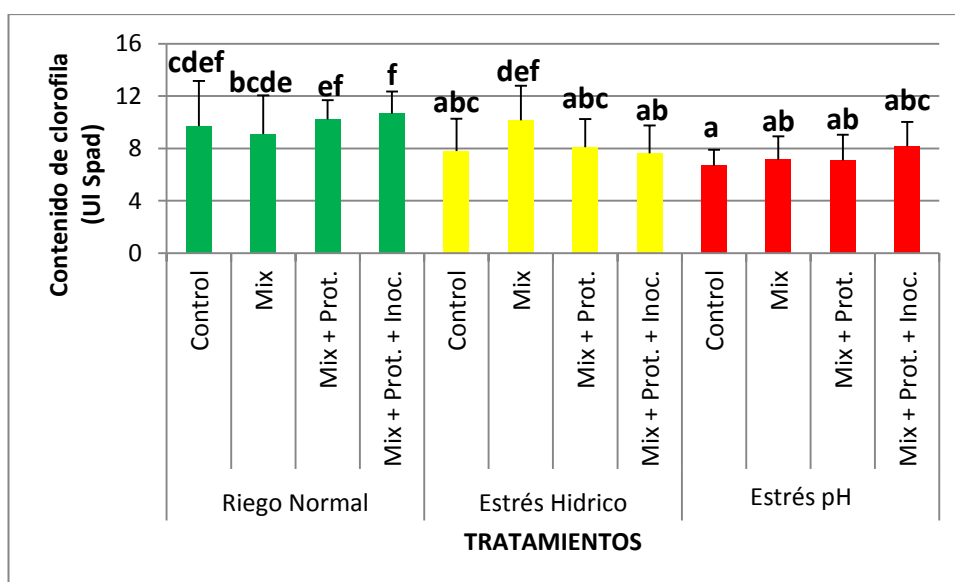


Figura 33. Contenido de clorofila en plántulas de soja. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Test de Kruskal Wallis.

En síntesis, en plántulas de soja se observó una mejora en la mayoría de los parámetros del crecimiento evaluados mediante la aplicación de estos tratamientos, como en la altura de la planta (Fig. 19) y en el peso seco aéreo y radical (Figs. 27 y 29, respectivamente) en situaciones de riego normal y estrés, tanto por déficit hídrico como por acidez, comparado con sus respectivos controles. En las variables longitud radical (Fig. 21), peso fresco radical (Fig. 25) y volumen radical (Fig. 31), los tratamientos tuvieron un efecto benéfico, fundamentalmente bajo las condiciones de estrés hídrico y por pH. Sobre el peso fresco aéreo, los tratamientos provocaron efectos levemente positivos en las situaciones de

riego normal y estrés hídrico (Fig. 23). El contenido de clorofila no mejoró significativamente con la aplicación de los distintos tratamientos (Fig. 33). Bajo las condiciones de estrés hídrico y estrés por pH se observa un leve resultado positivo de los tratamientos sobre dicha variable respecto a los controles. El tratamiento *mix* hormonal tuvo un resultado significativamente positivo en la situación de estrés hídrico respecto al control. Cabe aclarar que mayormente los tratamientos en los que se observaron los efectos positivos más significativos fueron el del *mix* hormonal + el protector bacteriano y el del *mix* hormonal + el protector + el inoculante, en cualquiera de las tres condiciones a las cuales fueron expuestas las plántulas de soja.

Por otro lado, no todos los tratamientos aplicados sobre las plántulas de garbanzo tuvieron efectos positivos significativos. La altura de la planta fue mejorada por los distintos tratamientos en condiciones de riego normal y estrés por pH respecto al control (Fig. 20). El tratamiento *mix* hormonal + protector mejoró el peso fresco aéreo (Fig. 24), el peso seco aéreo (Fig. 28), el peso fresco radical (Fig. 26), el peso seco radical (Fig. 30) y el volumen radical (Fig. 32) bajo la condición estrés por pH. La variable longitud radical no fue mejorada por ninguno de los tratamientos aplicados bajo ninguna condición en particular (Fig. 22). El tratamiento que más contribuyó a lograr efectos benéficos en las plántulas de garbanzo fue el tratamiento *mix* hormonal + protector bacteriano bajo la condición de estrés por pH.

IV. CONCLUSIONES

- Los ensayos realizados en el estadio de germinación y crecimiento temprano en soja y garbanzo, permitieron seleccionar una combinación hormonal según los tratamientos en los que se observó una mejora en la energía germinativa y el poder germinativo, como así también en la respuesta a la germinación en semillas de garbanzo con una alta carga fúngica intrínseca. La mezcla de fitohormonas resultante aplicada sobre semillas de soja mejoró significativamente la energía y el poder germinativo. Contrario a esto, en semillas de garbanzo el uso de dicha mezcla no mejoró el poder germinativo de este cultivo.
- La aplicación del *mix* hormonal provocó mejoras en algunos de los parámetros de crecimiento evaluados en plántulas de soja y garbanzo en condiciones de déficit hídrico y de acidez, resaltando la importancia de la aplicación del *mix* hormonal en situaciones de estrés.

V. BIBLIOGRAFIA

ABBO, S.; D. SHTIEMBERG; S. LEV-YADUN y A. GOPHER. 2003. The chickpea, summer cropping, and a new model for pulse domestication in the ancient near east. *Q. Rev. Biol.* 78: 435-448.

ALONSO-YÁÑEZ, L. 2004. Efecto de la aplicación de señalizadores del estrés en el contenido de vitamina C y minerales en tomate [*Lycopersicon esculentum* (L.) Mill.]. Tesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro división de Agronomía. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

ALONSO-RAMÍREZ, A.; D. RODRÍGUEZ; D. REYES; J. JIMÉNEZ; G. NICOLÁS; M. LÓPEZ-CLIMENT; A. GÓMEZ-CADENAS y C. NICOLÁS. 2009. Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiol.* 150: 1335–1344.

AMADOR-ALFEREZ K. A.; J. DIAZ-GONZALEZ; S. LOZA-CORNEJO y E. Y. BIVIAN-CASTRO. 2013. Efecto de diferentes reguladores del crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* species (Cactaceae). 115p.

ANDRADE, F. H. 1998. Es posible satisfacer la creciente demanda de alimentos de la humanidad. *Interciencia* 23: 266-274.

ANDRADE, F. H. y V. O. SADRAS. 2000. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. 1^{era} ed. Ed. Médica Panamericana S.A, Balcarce, Argentina. 445p.

ANSORENA MINER, J. 1995. Fertilidad del suelo: Acidez y complejo de cambio. El suelo en la agricultura y el medio ambiente II. Ed. Mundi Prensa Libros S.A. 481p.

APEL, K. y H.HIRT. 2004. Reactive oxygen species. Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biol.* 35: 373-399.

ASHRAF, M. y M.R. FOOLAD. 2005. Pre-sowing seed treatment: a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Adv agron.* 88: 223-271.

EVERY, D. 1997. Saving the planet with higher Argentine farm yields. Actas 5to Congreso Nacional de Asociación Argentina de Siembra Directa. Mar del Plata, Argentina. p: 41-54.

AWAN, I. U., M. S. BALOCH, N. S. SADOZAI y M. Z. SULEMANI. 1999. Stimulatory effect of GA3 and IAA on ripening process, kernel development and quality of rice. *Pak. J. Biol. Sci.* 2: 410-412.

AZCON-BIETO, J. y M. TALON. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal, 1ra ed., ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, España. 522p.

BANDURSKI, R. S.; J. P. SLOVI y J. D. COHEN. 1993. "Auxinas". Fisiología y bioquímica vegetal, ed. Interamericana, McGraw-Hill. p: 285-300.

BARBER, S. 1984. Liming materials and practices. In Soil Acidity and Liming, Wisconsin, ASA. p: 171-209.

BARCELO COLL, J.; G. NICOLAS RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. 2007. Fisiología vegetal. Ed. Pirámide, Madrid, España. 566p.

BARKET, A.; I. RANI; S. HAYAT y A. AHMAD. 2007. Effect of 4-Cl-indole-3-acetic acid on the seed germination of *Cicer arietum* exposed to cadmium. *Acta Bot. Croat.* 66: 57-65.

BAUTISTA-CALLES, F.; G. CARRILLI-CASTAÑEDA y A. VILLEGAS-MONTER. 2008. Recuperación de la alta capacidad de germinación de la semilla de papaya mediante la tecnología de precondicionamiento y bio reguladores. *Agrocn.* 42: 817-826.

BERGER, J. D.; S. ABBO y N. C. TURNER. 2003. Ecogeography of annual wild *Cicer* species: the poor state of the world collection. *Crop Sci.* 43: 1076-1090.

BIANCO, C. A.; T. A. KRAUS y C. O. NUÑEZ. 2006. IN: Botánica Agrícola. 2da. Ed. Actualizada ISBN, UNRC, Rio Cuarto, Córdoba, Argentina. 498p.

BIDERBOST, E.; A. RODRIGUEZ.; R. DEROMEDIS y R. LASSO. 1974. Desarrollo floral y técnica de cruzamiento en garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Rev Ind. Agríc. Tucumán* 2: 1-9.

BOIERO, L.; D. PERRIG; O. MASCIARELLI; C. PENNA; F. CASSÁN y V. LUNA. 2007. Plant growth promoting mechanisms characterization in three *Bradyrhizobium japonicum* strains used for soybean (*Glycine max* L.) commercial inoculants development. *Applied Microbiol. Biotechnol.* 74: 874-880.

BUTOLA, J. S. y H. K. BADOLA. 2004. Effect of pre-sowing treatment on seed germination and seedling vigour in *Angelica glauca*, a threatened medicinal herb. *Crop Sci.* 87: 796-799.

CARRANZA, C.; G. CASTELANOS; D. DEAZA y D. MIRANDA. 2016. Efecto de la aplicación de reguladores de crecimiento sobre la germinación de semillas de badea (*Passiflora quadrangularis* L.) en condiciones de invernadero. *Rev. Colomb. Cienc. Hortíc.* 2: 284-291.

CARRERAS, J. y E. BIDERBOST. 1984. Descripción de mutantes espontáneas en Garbanzo (*Cicer arietinum* L.): “Hoja simple” y “menor número de folíolos, flores dobles, estructuralmente anormales y estériles”. *Hort. Argentina* 3: 23-37.

CARRERAS, J.; V. MAZZUFERI y M. KARLIN. 2016. IN: El cultivo de garbanzo en Argentina, 1ra ed., Córdoba, Argentina. 567p.

CASSÁN, F.; D. PERRIG; V. SGROY y V. LUNA. 2012. Basic and technological aspects of phytohormone production by microorganisms: *Azospirillum* sp. as a model of plant growth promoting rhizobacteria. En: *Plant growth and Health Promoting Bacteria: Plant Nutrient Management* (D. K. Maheshwari, ed) SPRINGER Vol. III.

CLOUSE, S.D. y J. M. SASSE. 1998. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 49: 427-451.

COLL J. B.; G. N. RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. 1983. Fisiología Vegetal, 2da ed., ed. Pirámide, S. A, Madrid, España. 823p.

CROZIER, A. 1983. *The biochemistry and physiology of gibberellins*, Vol. I y II, Praeger Publishers, Nueva York, USA.

DAVIES, P.J. 2004. *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action*. Kluwer Academic Press, The Netherlands.

DEUBEL, A., L. WITTENMAYER y W. MERBACH. 2008: Einfluss von phytohormonen und P-Versorgung auf Wachstum und Wurzelabscheidungen von Mais. In: Merbach, W., Deubel, A., Augustin, J. (eds.), Ökophysiologische Interaktionen in der durchwurzelten Bodenschicht. Grauer, Beuren, Stuttgart, 69-76.

DI RIENZO, J. A.; F. CASANOVES; M. G. BALZARINI; L. GONZALEZ; M. TABLADA y C. W. ROBLEDO. 2018. Infostat, versión 2018. In: Grupo Infostat, F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

EGLI, D. B. y L. E. LEGGETT. 1973. Seed biology and the yield of grain crops. CAB International, UK. 178p.

FEBLES, J. M.; F. M. FUNES GARCÍA; E. TRETO y A. COMPANIONI. 2001. Transformando el campo cubano. Avances de la agricultura sostenible. ACTAF. Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales. p: 165- 190.

FU, X. y N. P. HARBERD. 2003. Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response. *Nature* 13(421):740-743.

GARCÍA-MARTÍNEZ J.L. y P. HEDDEN. 1997. Gibberellins and fruit development. En: Phytochemistry of fruit and vegetables. Tomás-Barberán , F. A. y R. J. Robins Eds, Clarendon Press, Oxford, UK. p: 263-285.

GAUDINOVA, A.; H. SUSSENBKOVA; M. VOJTECHOVA; M. KAMINEK; J. EDER y L. HOHOUT. 1995. Different effects of two brassinosteroids on growth, auxin and cytokinin content in tobacco callus tissue. *Plant. Growth Regul.*17: 121-126.

GEOFFREY NORMAN, A. 1983. IN: Fisiología, mejoramiento, cultivo y utilización de la Soja. Ed. Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires, Argentina. 247p.

HAYAT, S.; B. ALI y A. AHMAD. 2007. Salicylic acid: Biosynthesis, metabolism and physiological role in plants p. 1-11. Salicylic acid a plant hormone. Springer. Dordrecht, The Netherlands. 401p.

HERNÁNDEZ, P. 1997. Morphogenesis in sunflower as affected by exogenous application of plant growth regulators. *Agriscientia.*13: 3-11.

HERNANDEZ, M. M.; O. MORE y M. NUÑEZ. 1999. Empleo de análogos de brasinoesteroides en el cultivo *in vitro* de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cult. Trop.* 20: 41-44.

HENTRICH, M.; C. BOETTCHER y P. DUCHTING. 2013. The jasmonic acid signaling pathway is linked to auxin homeostasis through the modulation of YUCCA8 and YUCCA9 gene expression. *Plant J.* 74: 626-637.

HEYDECKER, W.; J. HIGGINS y R. L. GULLIVER. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246: 42-44.

HILL, T. A. 1984. Hormonas reguladoras del crecimiento vegetal, Ed. Omega, Barcelona, España. 77p.

HOWELL, S. H.; S. LALL y P. CHE. 2003. Cytokinins and shoot development. *Crop Sci.* 8: 453- 459.

HSIAO, T.C.; E. YOUNG; E. FERERES y D. W. HENDERSON. 1976. Water stress, growth and osmotic adjustment. In: Philosophical Transactions of the Royal Society London. Series B, *Biol. Sci.* 273: 479-500.

ISTA. 2006. International rules for seed testing. *The International Seed Testing Association*, Bassersdorf, CH-Switzerland.

JAVID, D.; A. SOROOSHADEH; F. MORADI; M. SANAVY y I. ALLAHDADE. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Crop Sci.* 5: 726-734.

JEFFREYS, D. 2005. Aspirin: the remarkable story of a wonder drug, ed. Intervencion Cultural, New York, USA. 360p.

JENIK, P. D. y M. K. BARTON. 2005. Surge and destroy: the role of auxin in plant embryogenesis. *Development.* 132: 3577-3585.

JORDÁN, M. y J. CASARETTO. 2006. En: Fisiología Vegetal, Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile, 512p.

KAKIMOTO, T. 2003. Perception and signal transduction of cytokinins. *Ann Rev Plant Biol.*54: 605-207.

KAUR, S.; A. K. GUPTA y N. KAUR. 1998. Gibberellic acids and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chick pea. *Plant Growth Regul.* 25: 29-33.

KHAN, M.A. e I.A. UNGAR. 1997. Alleviation of seed dormancy in the desert forb *Zygophyllum simplex* L. from Pakistan. *Ann. Bot.* 80: 395-400.

LEIDWEIN, A. 2011. La seguridad alimentaria, el cambio climático y los derechos de propiedad intelectual. Conferencia Internacional organizada por la OMPI. Ginebra, Suiza. p: 2-4.

MCGAW, B. A. y L. R. BURCH. 1995. Cytokinin biosynthesis and metabolism. In: *Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Metabolism*, ed. Fedun, Nueva York, USA.

MCSTEEN, P. y Y. ZHAO. 2008 *Plant Hormones and Signaling: Common Themes and New Developments. Developmental Cell.* 14: 467-473.

MÉTRAUX, J. P. y I. RASKIN. 1993. Role of phenolics in plant disease resistance. En: *Biotechnology in Plant Disease Control*, Wiley-Liss Inc., New York, NY, USA. Cap.11. p: 191-209.

NACIONES UNIDAS. 1995. A world population prospects. The 1994 Revision. Department for Economic and Social Information and Policy Analysis. Population Division. ST/ESA/SER.A/145.

NASCIMENTO, W. M. 2000. Envolvimento do etileno na germinação de sementes. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 12: 163-174.

NILSEN, E.T. y D.M. ORCUTT. 1996. *Physiology of plants under stress. Abiotic factors.* John Wiley and Sons, New York, NY, Estados Unidos.

NUÑEZ, M. 1998. Efecto de tratamientos con brasinoesteroides sobre las relaciones hídricas y el crecimiento de plantas de tomate bajo estrés hídrico. Actas del 4º Simposium Hispano-Portugues. Relaciones hídricas en las plantas, Murcia, España. p: 206-209.

PARK, S.; N. H CHENG; J. K. PITTMAN; K. S YOO; J. PARK; R. H. SMITH y K. HIRSCHI. 2005. Increased calcium levels and prolonged shelf life in tomatoes expressing *Arabidopsis* H⁺/Ca⁺⁺ transporters. *Plant Physiol.* 39: 1194-1216.

PAYRO, R. P. 2007. Historia del Río de la Plata. La aventura colonial española en el Río de la Plata: Conquista, colonización, emprendimientos. Del descubrimiento hasta la Revolución de mayo de 1810, ed. Argenta, Vol. I. 283p.

PERRIG, D.; L. BOIERO; O. MASCIARELLI; C. PENNA; O. RUIZ; F. CASSÁN y V. LUNA. 2007. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Applied Microbiol. Biotechnol.* 75: 1143-1150.

PFLUGER. J. y P. ZAMBRYSKI. 2004. The role of SEUSS in auxin response and floral organ patterning. *Development* 131: 4697-4707.

PIRASTEH-ANOSHEH, H.; G. RANJBAR; Y. EMAM y M. ASHRAF. 2014. Salicylic-acid-induced recovery ability in salt-stressed *Hordeum vulgare* plants. *Turk. J. Bot.* 38: 112-121.

POMARES, F.; C. BAIXAULI; J. M. AGUILAR y M. RIBÒ. 2008. Respuesta de una rotación de hortalizas ecológicas y de producción integrada a diferentes modalidades de gestión de los restos de cultivo. *Agrícola Vergel.* p: 25-30.

PUGNAIRE, F.I.; L. SERRANO ENDOLZ y J. PARDOS. 1994. In: Pessaraki, M. (ed). University of Arizona, Tucson, Arizona, USA. Constraints by stress on plant growth. p: 247-259.

RAJJOU, L.; M. BELGHAZI; R. HUGUET; C. ROBIN; A. MOREAU; C. JOB y D. JOB. 2006. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on *Arabidopsis* seed germination and establishment of early defense mechanisms. *Plant Physiol.* 141: 910-23.

RICE, K.C. y J.S. HERMAN. 2012. Acidification of Earth: An assessment across mechanisms and scales. *Applied geochemistry* 27: 1-14.

RIDNER, E. 2006. Soja, propiedades nutricionales y su impacto en la salud. 1ra. Ed. Buenos Aires, Argentina. 99p.

RITENOUR, M.A.; E. G. SUTTER; D. M. WILLIAM y M. E. SALTVEIT. 1996. IAA content and auxiliary bud development in relation to russet spotting in harvested Iceberg lettuce. *J. A. Soci. Hort. Sci.* 121: 543-547.

ROMÁN, M.; M. ALONSO; C. GONZÁLEZ; X. XIQUÉS y I. SÁNCHEZ. 2001. Estudios citogenéticos y genético-bioquímico en cultivares de plátano fruta (*Musa* spp), Cuba: Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales, Facultad de Biología, Universidad de la Habana.

SALISBURY, F. B. y C. W. ROSS. 1994. IN: Fisiología Vegetal, Grupo Editorial Iberoamericana, Ciudad de México, México. 1338p.

SANTNER, A.; A. CALDERON-VILLALOBOS y M. ESTELLE. 2009. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chem. Biol.* 5: 5-9.

SASSE, J. M. 1997. Recent progress in brassinosteroid research. *Physiol. Plantarum.* 100: 696-701.

SASSE, J. M. y I. HUDSON. 1995 Effect of 24-epibrassinolide on germination of seeds of *Eucalyptus camaldulensis* in saline conditions. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amer.* 22: 136-141.

SOLANS, M.; G. VOBIS; F. CASSÁN; V. LUNA y L. WALL. 2011. Production of phytohormones by root-associated saprophytic actinomycetes isolated from the actinorhizal plant *Ochetophila trinervis*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27: 2195-2202.

TILMAN, D. 1988. Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities. Monographs in population biology 26. Princeton University Press, Princeton, NJ. 360p.

TOUCHETTE, B. W.; L. R. LIANNACONE y G. E. TURNER. 2007. Drought tolerance versus drought avoidance: A comparison of plant-water relations in herbaceous wetland plants subjected to water withdrawal and repletion. *Cap.27*. p: 656.

TREVAWAS, A. 1981. How do plant growth substances work? *Plant Cell Env.*4: 203-228.

VAN DER MAESEN, L. J. G. 1972. *Cicer L.*, a monograph of the genus, with special reference to the chickpea (*Cicer arietinum* El cultivo de garbanzo en Argentina 37 L.), its ecology and distribution. Mendeligen Landbouwhoge school Wageningen, Holanda. 341p.

VARDHINI, B.V. y S.S R. RAO. 2003. Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of Sorghum. *Plant Growth Regul.* 41: 25-31.

VAZQUEZ BADILLO, M. E. 2011. Reguladores de crecimiento para estimular la germinación en semilla de lechuga y su efecto en el almacenamiento. Tesis de Maestría en Tecnología de Semillas. UAAAN. Saltillo. 87 p.

VESELOVA, T. V. y D. V. A. VESELOVSKY. 2003. Investigation of atypical germination changes during accelerated ageing of pea seeds. *Seed Sci. Tech.* 31: 517-530.

WALKER, T. S.; H. P. BAIS; E. GROTEWOLD y J. M. VIVANCO. 2003. Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiol.*13: 44–51.

WITKOWSKI E.; T. F. y B. B. LAMONT. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Ecologia* 88: 486-493.

WIKIPEDIA, 2018. pH del suelo. En: www.es.m.wikipedia.org/wiki/PH_del_suelo
Consultado: 20-07-2018.

WOODWARD, A. W. y B. BARTEL. 2005. Auxin: Regulation, action, and interaction. *Ann. Bot. Oxford.* 5: 707-735.

WU, Y.; B. R. JEONG; S. C. FRY y J. S. BOYER. 2005. Change in XET activities, cell wall extensibility and hypocotyl elongation of soybean seedlings at low water potential. p: 593-601.

YU, H.; T. ITO; Y. ZHAO; J. PENG; P. KUMAR y E.M. MEYEROWITZ. 2004. Floral homeotic genes are targets of gibberellin signaling in flower development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101: 7827-7832.

ZAPATA HERNÁNDEZ, R.D. 2004. Química de la acidez del suelo. Ed. Dunken, Medellín, Colombia.

ZHANG, L.; A. OHTA; M. TAKAGI y R. IMAI. 2000. Expression of plant group 2 and group 3 lea genes in *Saccharomyces cerevisiae* revealed functional divergence among lea proteins. *J Biochem*. 127 (4): 611-616.