



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

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

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

GADEA, Francisco Daniel
DNI: 32.900.904

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

Río Cuarto – Córdoba
Octubre / 2013

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍOCUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

**EVALUACIÓN DEL EFECTO *Achromobacter xylosoxidans* y *Bacillus pumilus* EN
CULTIVO DE GIRASOL (*Helianthus annus L.*) EN LA LOCALIDAD DE
MANFREDI**

Autor: Gadea, Francisco Daniel
DNI: 30.900.904

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

Aprobado y corregido de acuerdo a las sugerencias del jurado evaluador

Fecha de presentación: _____

Aprobado por la Secretaría Académica: _____

Secretario Académico

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermana por su gran apoyo y contención a lo largo de toda esta etapa.

A mis tíos, primos y abuelos por estar siempre pendientes de cada paso en mi carrera.

A mis amigos y compañeros, con los que compartí momentos inolvidables.

Al director, co-director e integrantes del Laboratorio de Fisiología Vegetal por su gran compromiso y responsabilidad para con este trabajo.

Gracias a todos.

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
INTRODUCCION	1
Importancia económica del girasol	1
Características del girasol	5
Efecto de los inoculantes	8
Hipótesis	10
Objetivo	10
MATERIALES Y METODOS	10
RESULTADOS	13
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	27
BIBLIOGRAFIA	28

INDICE DE GRAFICOS Y TABLAS

	Pág.
Fig. 1. Superficie implantada de girasol total anual del país. 1969 – 2012.	2
Fig. 2. Rendimiento girasol total anual del país.1969 – 2012.	2
Fig. 3. Producción de girasol total anual del país. 1969 - 2012.	3
Fig. 4. Superficie cosechada de girasol total anual del país 1969 - 2012.	3
Fig. 5. Principales áreas de cultivo de girasol en Argentina.	4
Fig. 6. Datos de análisis de suelo de la localidad de Manfredi. Campaña 11-12	11
Tabla 1. Parámetros a evaluar y su estado fenológico.	12
Fig.7A.Peso de mil semillas de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2).	13
Fig.7B. Diferencia de peso de mil semillas expresada en gramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.	13
Fig. 8A. Numero de capítulos de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.	14
Fig. 8B. Diferencia de número de capítulos expresada en número y porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.	14

Fig. 9A. Semillas por capítulos de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.	15
Fig. 9B. Diferencia de semillas por capítulo expresada en número y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.	15
Fig.10A. Rendimiento en grano de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.	16
Fig. 10B. Diferencia de rendimiento en granos de girasol, expresada en kilogramos y porcentaje referente al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.	16
Fig. 11A. Porcentaje de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.	17
Fig. 11B. Diferencia en contenido de materia grasa expresado en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.	17
Fig. 12A. Rendimiento de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4) <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.	18
Fig. 12B. Diferencia en rendimiento de materia grasa expresada en kilogramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.	18
Fig. 13A. Peso de mil semillas de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.	19

Fig. 13B. Diferencia de peso de mil semillas expresada en kilogramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.	19
Fig. 14A. Numero de semillas por capitulo de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.	20
Fig. 14B. Diferencia en semillas por capítulo expresada en número y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.	20
Fig. 15A. Numero de capítulos de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012	21
Fig.15B. Diferencia de número de capítulos expresada en número y porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.	21
Fig.16A. Rendimiento en grano de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.	22
Fig.16B. Diferencia de rendimiento en granos de girasol, expresada en kilogramos y porcentaje referente al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.	22
Fig.17A. Porcentaje de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con <i>Azospirillum</i> (Azo), <i>Bacillus pumilus</i> (SF3; SF4), <i>Acrhomobacter xylosoxidans</i> (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.	23
Fig.17B. Diferencia en el contenido de materia grasa expresado en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.	23

Fig.18A. Rendimiento de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF),y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3;SF4), *Acrhomobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012 24

Fig.18B. Diferencia en rendimiento de materia grasa expresada en kilogramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012. 24

Resumen

El girasol (*Helianthus annuus L.*) es una importante oleaginosa en materia económica para nuestro país; el mismo, a consecuencia del avance de la soja fue desplazado a zonas agrícolas marginales. A partir de ello, nuestro grupo de trabajo aisló de raíces de plantas de girasol cultivadas a campo, las bacterias *Achromobacter xylosoxidans* (cepa SF2) y *Bacillus pumilus* (cepas SF3 y SF4), las cuales presentaron capacidad de promover el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés hídrico *in vitro*, actividad ACC-deaminasa y producción de hormonas vegetales entre otras características. El objetivo propuesto fue evaluar el efecto de las cepas a campo, con o sin fertilización química, sobre el rendimiento del cultivo en la localidad de Manfredi durante los ciclos agrícolas 2010/2011 y 2011/2012. Los tratamientos fueron: **T**, Testigo, plantas sin inocular; **TF**, plantas sin inocular y con fertilización química; **SF2**, plantas inoculadas con cepa bacteriana SF2; **SF4**, plantas inoculadas con cepa bacteriana SF4; **AZO**, plantas inoculadas con cepa bacteriana comercial de *Azospirillum* spp; **AZOF**, plantas inoculadas con cepa bacteriana comercial de *Azospirillum* spp. y fertilización química; **SF2F**, plantas inoculadas con cepa bacteriana SF2 y fertilización química; **SF4F**, plantas inoculadas con cepa bacteriana SF4 y fertilización química. En la campaña 2010/2011, el mayor rendimiento de granos y materia grasa fue obtenido por *Bacillus pumillus* cepa SF3 cuando fue agregado nitrógeno, mientras que en la campaña 2011/2012, el mayor rendimiento de granos y materia grasa fue obtenido por *Achromobacter xylosoxidans* cepa SF2 cuando fue agregado nitrógeno. Estos nuevos productos podrían mejorar la eficiencia del cultivo en condiciones agro-ecológicas marginales desde un punto de vista agrícola, al no generar disminución de agua útil en el suelo para uso de la planta y presentar la ventaja de ser amigable con el ambiente.

Summary

The sunflower (*Helianthus annuus* L.) is an important oilcrop in economic business for our country, the same, as a result of the advance of soya was displaced to marginal agricultural areas. From this, our working group isolated from roots of sunflower plants grown in the field, the bacteria *Achromobacter xylosoxidans* (strain SF2) and *Bacillus pumilus* (strain SF3 and SF4), which had the ability to promote plant growth in water stress conditions in vitro, ACC deaminase activity and production of plant hormones and other features. The proposed objective was to evaluate the effect of two field strains with or without chemical fertilization on crop yield in the town of Bulnes for two growing seasons 2010/2011 and 2011/2012. The treatments were: **T**, Witness, uninoculated plants, **TF**, uninoculated plants and with chemical fertilization, **SF2**, inoculated plants with bacterial strain SF2, **SF4**, inoculated plants with bacterial strain SF4, **AZO**, inoculated plants with commercial bacterial strain of *Azospirillum sp*; **AZOF**, inoculated plants with commercial bacterial strain *Azospirillum sp.* and chemical fertilization, **SF2F**, inoculated plants with bacterial strain SF2 and chemical fertilization; **SF4F**, inoculated plants with bacterial strain SF4 and chemical fertilization.

In the campaign 2010/2011, the largest grain yield and fat was obtained by *Bacillus pumillus* strain SF3 when nitrogen was added, with a crop that showed a high performance grain yield in reference to the national average. While in the campaign 2011/2012, the largest grain yield and fat was obtained by *Achromobacter xylosoxidans* strain SF2 when nitrogen was added, with a crop that showed a high performance grain yield also close to the national average.

These new products could improve the efficiency of sunflower crop in marginal agro-ecological conditions from an agricultural point of view, since the use full water does not generate decrease in the soil for plant usage and present the advantage of being friendly to the environment.

INTRODUCCIÓN

Importancia económica del girasol. Su impacto a nivel mundial

El girasol pertenece a la familia *Asteraceae* y su nombre científico es *Helianthus annuus*. En griego *helios*, significa sol y *anthos* flor. El nombre de la especie (*annuus*) alude a la característica de anualidad del ciclo vegetativo - reproductivo de la planta (Alba-Ordónes y Llanos-Company, 1990).

El girasol tiene una antigüedad aproximada de 5.000 años y su evolución se produjo en América, más precisamente, en el norte de México y en el centro-sur de EEUU. En la segunda mitad del S XVI, la planta fue llevada a Europa en donde atrajo, no sólo por sus consideraciones botánicas sino por sus enormes flores amarillas. Pedro “El Grande”, colaboró en su difusión fomentando la creación del primer gran polo productor de girasol del mundo. En la segunda mitad del S XIX, comenzaron en Rusia diversas experiencias para obtener madurez en menor tiempo y más aceite en las semillas. A fines del S. XIX, el girasol llegó a la Argentina en el equipaje de los inmigrantes que arribaron al puerto de Buenos Aires, dispuestos a colonizar la pampa.

A mediados de la década del '30, destacados técnicos argentinos comenzaron la tarea fitogenética, logrando variedades con mayor contenido y rinde aceiteros que las disponibles entonces. En 1950, la exportación de 103.000 t. de aceite, marcó un hito clave. Desde hacía tres años, en Manfredi (Pcia. de Córdoba) se trabajaba cruzando el girasol con especies silvestres emparentadas, a fin de lograr resistencia a enfermedades. En 1970, se logran en Argentina, variedades con 40% de aceite.

En la última década del siglo pasado, debido a los altos precios internacionales, el crecimiento del complejo oleaginoso global encontró en el girasol argentino su mejor ejemplo. En la campaña 1994/95, se sembraron algo más de tres millones de has., nivel que se sostuvo y aún trepó casi un 20% para la '97/98, antes del inédito registro de 4.2000.000 t. del ciclo siguiente, que permitió obtener una producción superior a siete millones de toneladas. De este modo, Argentina se convirtió en el primer exportador mundial de aceite de girasol, desarrollando una de las más competitivas industrias procesadoras de aceite.

En el S XXI, se inicia la llamada “centuria de la soja” que producirá un importante impacto en las perspectivas del cultivo de girasol. Pese a ello, en la campaña 2007/2008, nuestro país vendió 1,45 millones de t.(41,4% del total) de aceite. Junto a sus otros dos competidores Ucrania, el 33,4%, y la Federación Rusa, el 12%, sumaron el 87% de la oferta. Algo similar ocurrió en las ventas de harina de girasol. Con 1,33 millones de toneladas, nuestro país aportó el 37,7% al mercado mundial. Ucrania, con el 33,5% y la Federación Rusa, con el 18%, fueron nuestros principales competidores (ASAGIR, 2008).

En la campaña 10/11, la superficie implantada fue de 1.756.925 hectáreas (has), (Fig. 1), mientras que en la campaña 11/12 se implantaron 1.556.945 has. Tal disminución implicó que en este último ciclo sólo se cosechara en una superficie de 1.851.220 has (Fig. 2), manteniendo una leve tendencia de aumento del área implantada luego de la mas baja de los últimos años ocurrida en la campaña 09/10.

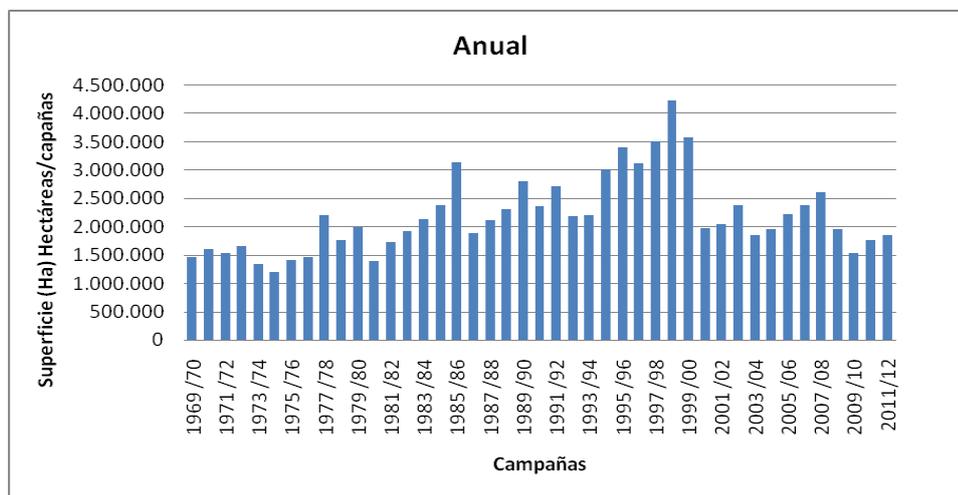


Fig. 1: Superficie implantada de girasol total anual del país 1969 – 2012
Fuente: (Minagri, 2012).

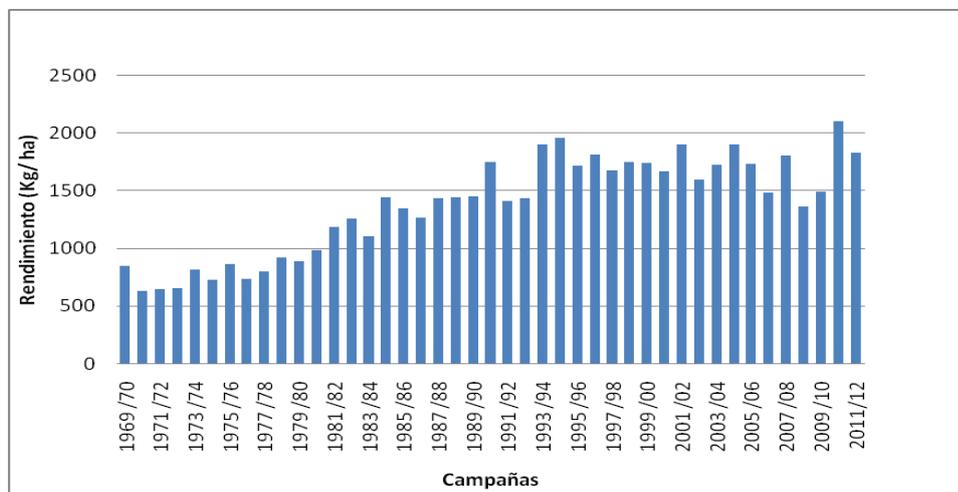


Fig. 2: Rendimiento girasol total anual del país. 1969 – 2012
Fuente: (Minagri 2012)

La campaña 2011/12 concluyó con un rinde de 20 qq/ha, levemente inferior al del año anterior. Se perdieron algo más de 64.000 has, es decir, un 3,4% de las 1,86 millones sembradas. Pese a la sequía, que afectó al desarrollo del cultivo pero no a la siembra (que estaba concluida a fines de octubre, cuando iniciaba el déficit hídrico), los rindes fueron buenos en prácticamente todas las regiones de mayor relevancia.

En el Sudeste de Buenos Aires (29,9% del área) se obtuvieron 23,5 qq/ha. La segunda zona en importancia (Sudoeste de Buenos Aires - Sur de La Pampa), que representa el 24,9% del área, logró 17 qq/ha, siendo la única con rindes menores que lo esperado.

Otras tres regiones significativas tuvieron rindes aceptablemente buenos: a) en el Norte de La Pampa y Oeste de Buenos Aires, 9,9% de representatividad, se lograron 20,5 qq; b) en Chaco, con 14,4% del área, 17,5 qq o sea algo más que lo normal y c) en el Centro-Norte de Santa Fe, con 9,4% de representatividad, 20 qq.

Finalmente y en un sentido global, la producción nacional alcanzó los 3,6 millones de toneladas. (Bolsa de Cereales, 2012)

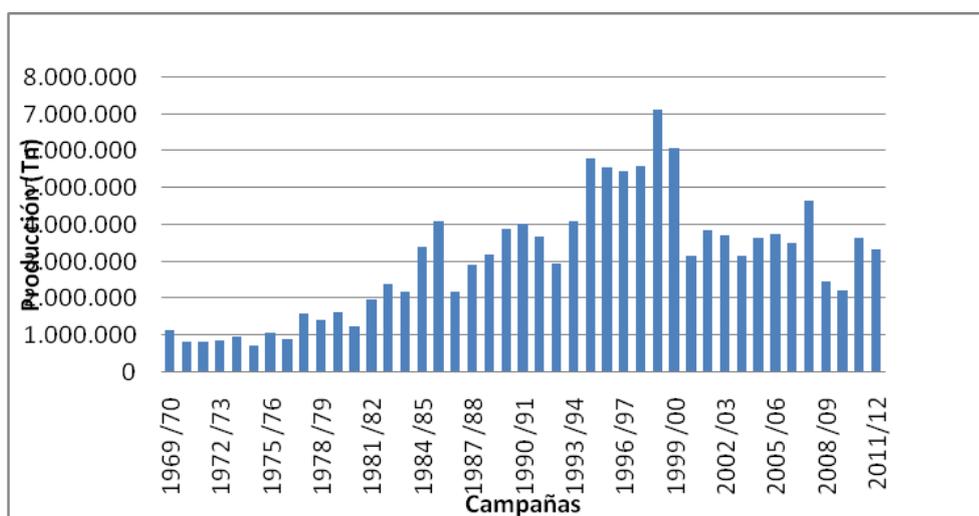


Fig. 3: Producción de girasol total anual del país. 1969 – 2012
Fuente: (Minagri 2012)

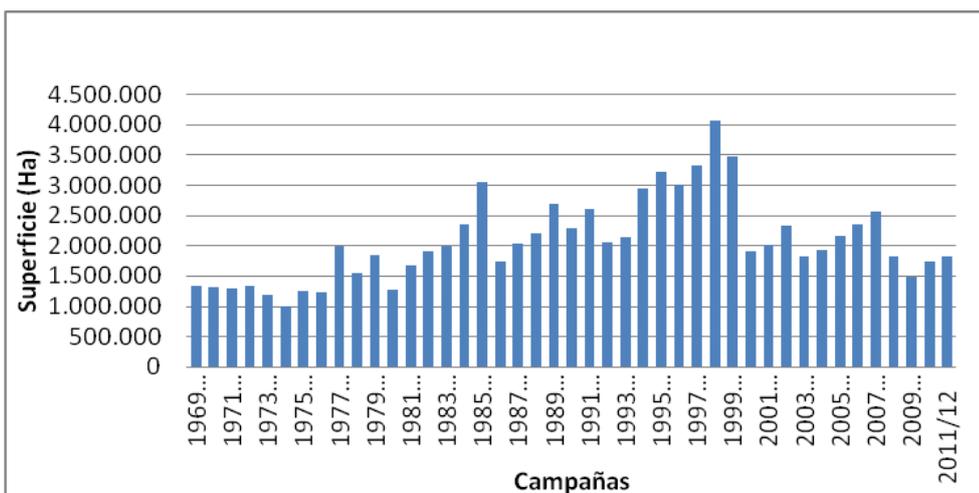


Fig. 4: Superficie cosechada de girasol total anual del país. 1969 – 2012
Fuente: (Minagri 2012)

Pese a las variaciones en sus niveles de producción, el área potencial del cultivo es significativa. Se extiende desde Chaco, en el norte, hasta el sur de la región pampeana (Fig. 5 mapa), siendo el segundo cultivo oleaginoso en importancia a escala nacional. Se lo utiliza principalmente para la producción de aceite y en menor medida para confitería, alimentación de aves y como ornamental (Díaz-Zorita *et al.*, 2003).

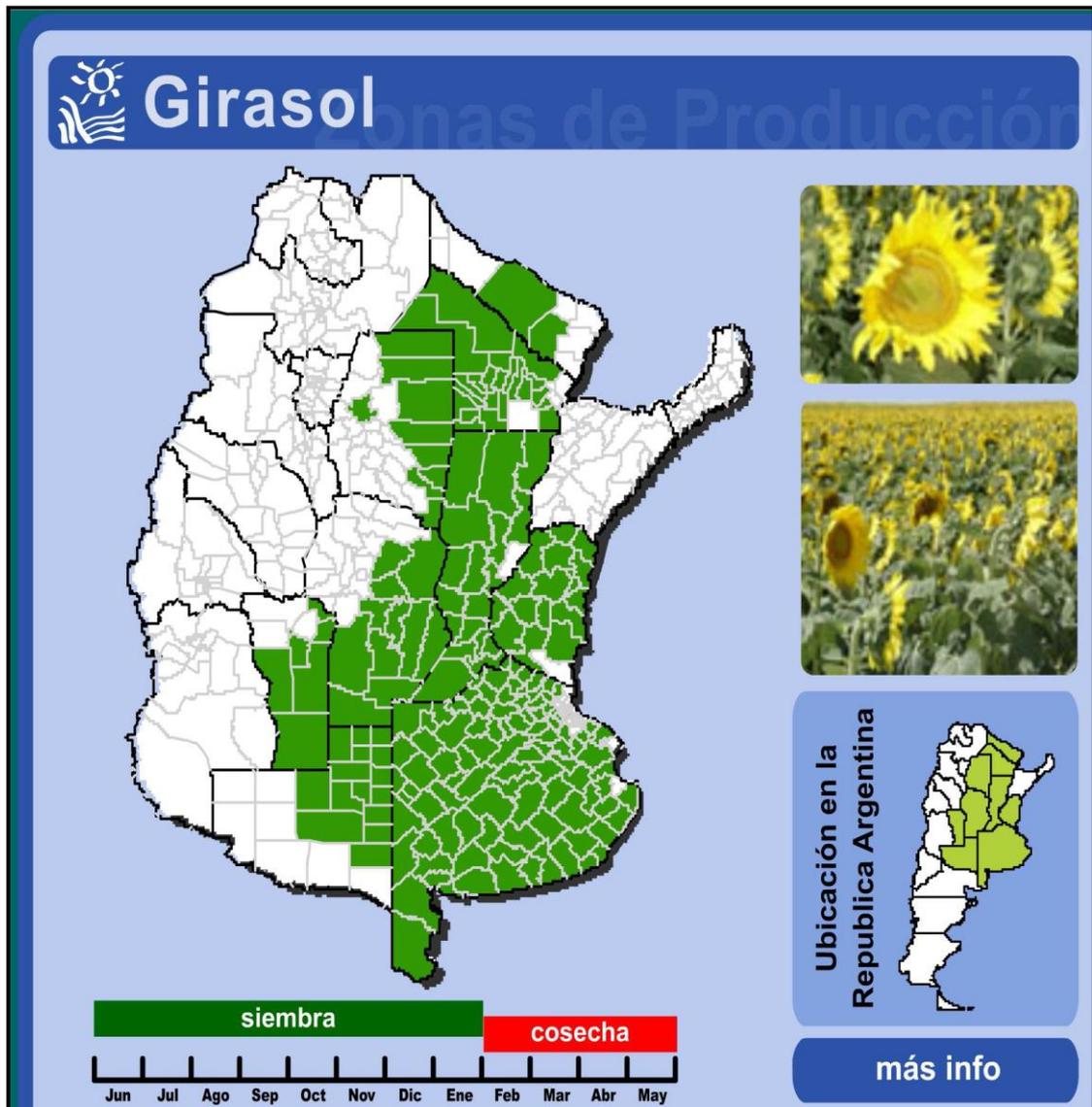


Fig. 5. Principales áreas de cultivo de girasol en Argentina. Fuente: (Minagri, 2012)

Características del girasol

El girasol es un cultivo que manifiesta un alto grado de plasticidad, tanto en sus aspectos vegetativos (tamaño de las hojas) como en los reproductivos (número de flores que darán lugar a los granos), haciendo que pueda adaptarse a un amplio rango de ambientes. Como consecuencia de esta elevada plasticidad, la distribución del girasol en Argentina es muy amplia, abarcando zonas en las que las ofertas de recursos y la incidencia de adversidades, son muy variadas.

Desde el punto de vista botánico, la planta tiene características especiales. El tallo es el órgano de sostén de las hojas y capítulos. En los cultivares que se siembran en Argentina, durante la etapa de floración puede medir de 1 a 3 mts. de altura y su diámetro varía entre 1 a 5 cm., dependiendo de las condiciones del cultivo.

El sistema radical se encuentra constituido por un eje central y un conjunto de raíces laterales secundarias y terciarias. Bajo condiciones favorables, la raíz principal puede alcanzar profundidades mayores a los 2 mts.; sus ramificaciones (raíces secundarias y terciarias) son numerosas en cercanía al cuello de la planta, disminuyendo su densidad drásticamente a 15 cm del mismo. La raíz es el primer órgano que atraviesa las cubiertas de la semilla en germinación.

Luego de la emergencia del cultivo, cuando los cotiledones se despliegan y quedan por encima de la superficie del suelo, comienza la emisión de hojas verdaderas. Las seis y ocho primeras hojas, nacen en pares y las restantes, en forma alternada (Pedraza *et al.*, 2000).

En la hoja se encuentran los tejidos adaptados donde se realiza la mayor parte de la fotosíntesis. Sus hojas son fototrópicas, propiedad que le permite incrementar la captación de los rayos solares y posibilitar el proceso de fotosíntesis (Putman *et al.*, 1990).

Las flores se reúnen en una inflorescencia. Comúnmente se la llama cabeza o torta, pero botánicamente se la denomina *capítulo*. La semilla de girasol – *cipsela* - es un fruto seco, diseminado y con pericarpio separado de la verdadera semilla o pepita. Esta es la que contiene la mayor parte de materia grasa o aceite (Aguirrezábal *et al.*, 2001).

Durante el crecimiento y desarrollo de la planta, se pueden distinguir diversos cambios fisiológicos y morfológicos que se corresponden con estados relevantes del cultivo. Es decir, su desarrollo supone una progresiva sucesión de cambios fisiológicos y morfológicos que van dando lugar a los distintos estados de la planta. De esta manera, se identifican condiciones fenológicas que constituyen hitos de separación entre las diferentes fases de desarrollo.

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

- A. **SIEMBRA – EMERGENCIA**: es la fase de establecimiento del cultivo en la que tienen lugar la imbibición de las semillas, la emergencia de la radícula, el crecimiento de la plántula y la emergencia de la misma. La temperatura es el factor más importante en el control de la germinación de semillas no dormidas, en suelos no compactados y con adecuada provisión hídrica. La temperatura óptima para la germinación es cercana a los 26°C, con temperaturas máximas de 40°C y mínimas en el rango de entre 3°C y 6°C (Connor y Hall, 1997). En situaciones sin limitaciones hídricas se puede predecir la fecha de emergencia de las plántulas de girasol, conociendo la profundidad de siembra y la temperatura (Villalobos *et al.*, 1994). El agua afecta la emergencia a través de múltiples vías. Directamente, actúa sobre la imbibición de la semilla y sobre el crecimiento posterior de la plántula; indirectamente, condicionando la temperatura y la presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa del suelo. Semillas y plántulas toleran en menor medida el estrés si se las compara con la planta adulta; por lo tanto, la posibilidad de que las semillas puedan convertirse en una planta joven está fuertemente reducida por diferentes tipos de estrés ambientales.
- B. **EMERGENCIA-INICIACIÓN FLORAL**: esta fase comienza con la emergencia de la plántula y finaliza cuando el ápice del vástago, productor de primordios foliares, cambia su forma y actividad, pasando a diferenciar la inflorescencia y sus flores. Durante esta fase, se define la capacidad potencial del cultivo en producir área foliar, pues queda fijado el número de hojas por planta. En paralelo, comienza el proceso de establecimiento del canopeo del cultivo, asociado a la expansión de las hojas emergidas. La duración de la fase emergencia - iniciación floral, depende principalmente del cultivar, la temperatura y el fotoperíodo. La duración de este período será generalmente menor con temperatura, radiación alta y días largos (Trápani y López Pereira, 2004).
- C. **INICIACIÓN FLORAL – FLORACIÓN**: la fase comienza con la aparición de los primeros primordios florales en el ápice y finaliza con el comienzo de la antesis de las flores de la periferia de la inflorescencia. Durante el primer tercio de esta fase se diferencian los primordios florales. Una vez finalizada la diferenciación floral y hasta la antesis, las flores crecen y adquieren funcionalidad: los estigmas adquieren receptividad y el polen viabilidad. La duración de la fase iniciación floral – floración depende principalmente del cultivar, la temperatura y el fotoperíodo. La temperatura tiene efectos sobre la duración del período de diferenciación de flores y sobre la tasa de diferenciación de las mismas: a mayor temperatura, la tasa aumenta, pero se acorta el tiempo durante el cual se diferencian las flores. El rango de temperaturas

apropiado para obtener el mayor número de flores que llegarán a dar granos, se extiende entre los 20 y los 30°C (Chimenti *et al.*, 2001).

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

Desde el punto de vista agronómico, el período de siembra del girasol se extiende durante octubre-noviembre, variando la fecha óptima de siembra según la zona del país y el cultivar seleccionado. El rendimiento (peso de frutos por unidad de superficie) puede ser dividido en diferentes componentes. Estos componentes son: el número de capítulos por unidad de superficie, el número de frutos llenos por capítulo y el peso individual de esos frutos. (Pedraza *et al.*, 2000). Según lo explicitado por Trápani *et al.*, (2003), el número de granos es el componente que explica en mayor medida las variaciones en rendimiento; las variaciones en peso de los granos tienen una mayor importancia relativa que en otras especies como trigo y maíz. Es importante acotar que el número de granos por unidad de superficie es el principal determinante del rendimiento (Aguirrezábal y Andrade, 2002).

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

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

Efecto de los inoculantes

Los resultados obtenidos por Forchetti *et al.*, (2007), sobre el comportamiento benéfico para la planta de microorganismos de las especies *Achromobacter xylosoxidans* y *Bacillus pumillus* con actividad como rizobacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPR) cuando se evaluó “*in vitro*” la germinación y el crecimiento temprano de plántulas de girasol en condiciones de estrés hídrico, fueron el punto de partida para continuar con esta línea de investigación.

La opción de usar esta tecnología a nivel productivo, es viable a partir de los problemas de establecimiento de cultivos de girasol generados por el desplazamiento de los mismos a áreas marginales, por el elevado costo de los fertilizantes y debido a los ciclos secos que se pronostican continuarán en gran parte de la Argentina.

En cuanto a estudios microbiológicos, diversas bacterias han sido encontradas en la rizósfera de cultivos y en el suelo, constatándose que en muchos casos su presencia favorece el establecimiento, crecimiento y productividad de los cultivos. Sin embargo, es importante considerar que numerosos intentos por introducir bacterias benéficas en la rizósfera de los cultivos agrícolas, han fracasado por no tener en cuenta las dificultades que enfrenta una bacteria no residente y por lo tanto no aclimatada a la comunidad microbiana del cultivo. Por ello, una estrategia para superar tales problemas es aislar las bacterias de la zona radicular del cultivo mismo.

La incorporación de bacterias benéficas puede mejorar la evolución del cultivo en ambientes sujetos a estrés ambiental, manteniendo o, en algunos casos, mejorando los rendimientos (Bensalim *et al.*, 1998; Nowak *et al.*, 1999). Algunas bacterias son abundantes en sitios donde el agua es limitada u ocurren frecuentes períodos de sequía y permiten mejorar el crecimiento de las plantas (Mayak *et al.*, 2004).

Las bacterias pueden mejorar la producción de los cultivos, debido a su rápida colonización y producción de sustancias promotoras del crecimiento, previniendo el establecimiento de patógenos en la rizósfera a través de antibiosis y producción de sideróforos o secreción de enzimas hidrolíticas. Girasol es una especie poco explorada en este aspecto; aunque un aislamiento con capacidad de promoción de crecimiento entre 88 rizobacterias aisladas de la rizósfera de girasol, fue informado por Hanada y Romeiro (1998).

Cuando algunas PGPR establecen asociaciones con las raíces de las plantas, ellas promueven el crecimiento y la planta alcanza mayor altura, crece más vigorosa y saludable, y es más productiva que en ausencia de estos microorganismos. Los mecanismos benéficos PGPR resultan de la suma de efectos favorables parciales tales como aumento del crecimiento, inducción de resistencia a plagas, mineralización de materia orgánica,

mejoramiento de la disponibilidad de nutrientes, detoxificación y cambios benéficos en el balance hormonal de las plantas.

Las PGPR asociadas durante varios años con plantas sometidas a condiciones estresantes del medio ambiente, podrían estar mejor adaptadas y proveer un beneficio importante a la planta. Ha sido demostrado que las bacterias crecidas en sitios donde el agua es limitante, promueven mejor el crecimiento de las plantas (Mayak *et al.*, 2004).

Muchas PGPR del suelo, tales como *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*, producen fitohormonas tales como ácido indol acético (Srinivasan *et al.*, 1996; Zakharova *et al.*, 1999; Khalid *et al.*, 2004), ácido indol butírico (Martínez-Morales *et al.*, 2003), giberelinas (Gutierrez-Mañero *et al.*, 2001), citoquininas (Dobbelaere *et al.*, 2003), octadecanoicos y compuestos con funciones similares a la de Jasmonatos (JAs) (Ping y Boland, 2004).

Se cuenta con 29 cepas bacterianas aisladas de raíces de plantas de girasol crecidas en irrigación y sequía, las cuales fueron caracterizadas morfológicamente y posteriormente por sus características PGPR, para lo cual se evaluó capacidad de fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos, actividad 1-aminocloropropano 1 carboxilo desaminasa (ACCd), actividad celulolítica, proteolítica, producción de fitohormonas e inhibición de hongos fitopatógenos (Forchetti *et al.*, 2007 y 2010).

En base a la capacidad de fijar de nitrógeno, nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de la planta y limitante de la producción agrícola en grandes extensiones del país, se seleccionaron ocho cepas, denominadas SF1, SF2, SF3, SF4, SF5, SF6, SF7 y SF8 (Sunflower).

Posteriormente, mediante la caracterización genotípica (16S rDNA) se diferenciaron las ocho cepas bacterianas de la siguiente manera: la cepas SF1, SF3, SF4, SF5, SF6, SF7 y SF8 presentaron una analogía del 99.9% a *Bacillus pumillus* y la cepa SF2 a *Achromobacter xilosoxidans* (Forchetti *et al.*, 2007).

Las cepas de *Achromobacter* sp. (SF2) y *Bacillus* sp. (SF4) se eligieron por su mayor capacidad de solubilizar fosfatos, lo cual contribuye a una mayor disponibilidad de un nutriente que es muy importante para el rendimiento del cultivo. Por otra parte, tales cepas inhibieron el crecimiento de hongos patógenos de girasol, siendo mayor la inhibición del crecimiento de *Verticillium orense* que de *Sclerotinia sclerotiorum*, mientras que el efecto inhibitorio en *Alternaria* sp., no fue significativo (Forchetti *et al.*, 2010). Esta capacidad biocontroladora, podría mejorar indirectamente el crecimiento de las plantas en condiciones ambientales normales y estresantes.

Hipótesis

Bacterias de *Bacillus pumilus* y *Achromobacter xylosoxidans* con características PGPR capaces de crecer en condiciones de escasez de agua, promueven el crecimiento y mejoran el rendimiento de plantas de girasol en condiciones de campo.

Objetivo General

Evaluar el efecto de la inoculación con cepas de *Bacillus pumillus* y *Achromobacter xylosoxidans*, sobre el rendimiento de girasol en condiciones de campo.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en el campo experimental de la Estación Experimental del INTA Manfredi, ubicado en Ruta Nac. N° 9., km. 636, Manfredi, Córdoba, Argentina, durante las campañas agrícolas 10/11 y 11/12. La zona presenta un relieve de lomas casi planas, muy extendidas, con una escasa pendiente regional que no supera el 0,5% desarrollada sobre loess pampeano, material friable, no consolidado, con alto contenido de la fracción limo en su textura y un importante porcentaje de Carbonato de calcio.

Se utilizó germoplasma comercial de girasol Paraíso 24 caracterizado por ser de ciclo intermedio, con muy buen comportamiento a *Sclerotinia* de capítulo, resistente a Dowey Mildew a raza 770 y a *Verticilium*. Es un tipo de híbrido negro, de cruzamiento simple, con baja susceptibilidad al vuelco y con un 52% de aceite en grano.

Los ensayos de inoculación se realizaron durante dos ciclos agrícolas consecutivos. Las cepas utilizadas fueron SF2 de *Achromobacter xylosoxidans* y SF3 y SF4 de *Bacillus pumillus*.

La siembra de la campaña 10/11 se realizó el 24 de noviembre del 2010 y en la campaña 11/12 la siembra se realizó el 30 de noviembre 2011.

El suelo pertenece a la serie Oncativo. El perfil que representa el modal de la serie Oncativo, fue descripto 6,4 Km al sud-oeste de la ciudad del mismo nombre, como Haplustol éntico. Serie carta de suelos de la República Argentina hoja 3361-32(Oncativo). Córdoba. 1987.

Desarrollado sobre sedimentos eólicos, de textura franco limosa, cuya secuencia de horizontes es A1, A/C, Ck. Es un suelo profundo, bien drenado; está en condiciones naturales moderadamente estructurado y posee muy buena capacidad de almacenaje de agua.

Hasta 200cm de profundidad, el agua capaz de almacenar es de 570mm; mientras que el agua útil o disponible para los cultivos es de 305mm.

Se realizaron los análisis de suelo de la campaña 11/12 por un laboratorio privado, siendo la caracterización físico-química del mismo la que se muestra a continuación:

Variables	Densidad	pH	CE	P	Mo	N-NO3	S-SO4
Magnitudes físicas		(1:1)	(ds/m)	(ppm)	(%)	(ppm)	(ppm)
Profundidad (cm)							
0-20	1,38	6,07	0,06	8,87	1,71	13,80	9,57
	0,02	0,14	0,03	2,28	0,06	1,01	1,48
20-40	1,41	6,46	0,06	5,57	1,03	9,13	5,90
	0,02	0,19	0,01	1,58	0,16	0,87	0,98
40-60	1,42	6,73	0,08	3,77	0,64	6,03	4,53
	0,02	0,14	0,03	1,15	0,21	0,86	0,68

Fig 6. Datos de análisis de suelo de la localidad de Manfredi campaña 11/12. Variables medidas: Densidad, pH en agua 1:1(potenciométrico). CE: conductividad eléctrica: total de solidos disueltos, extracto de saturación. P: fosforo extractable con Bray P1 (Bray &Kurts, 1945). MO: materia orgánica por el procedimiento de Walkley y Black (Nelson y Sommers 1982). N-NO3: nitrógeno de nitratos extraído con sulfato de cobre y determinación potenciométrica por iones específicos, con electrodos ORION (Li&Smith, 1984 Orion Research Inc, 1990). S-SO4: Azufre de sulfato extraído con fosfato de calcio (Islam and Bhuiyan, 1988).

El diseño experimental se correspondió con un Alpha Lattice con 4 repeticiones al azar, colocadas en 2 hileras de 5.10 metros. Los tratamientos fueron: **T**, Testigo, plantas sin inocular; **TF**, plantas sin inocular y con fertilización química; **SF2**, plantas inoculadas con cepa bacteriana **SF2**; **SF4**, plantas inoculadas con cepa bacteriana **SF4**; **AZO**, plantas inoculadas con cepa bacteriana comercial de *Azospirillum* sp; **AZOF**, plantas inoculadas con cepa bacteriana comercial de *Azospirillum* sp. y fertilización química; **SF2F**, plantas inoculadas con cepa bacteriana SF2 y fertilización química; **SF4F**, plantas inoculadas con cepa bacteriana SF4 y fertilización química.

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

otra parte, se aplicaron herbicidas según historia del lote e insecticidas según plagas existentes o que pudieran aparecer en el lote.

Los análisis de estadísticos se efectuaron a través de un ANNOVA, utilizando el programa estadístico SAS (Statistical Analysis Software). (Versión 8)

Las cosechas se realizaron el 31 de marzo del 2011 y 5 de abril del 2012 respectivamente para las campañas agrícolas 10/11 y 11/12. Siendo las precipitaciones registradas en la campaña 10/11 de 435mm y para la campaña 11/12 de 421,5 mm. (INTA, 2013).

La evaluación del efecto de las PGPR, se realizó midiendo entre 3 a 5 plantas por repetición y tratamiento las siguientes variables:

ABREVIATURA	VARIABLE	ESTADIO * ²
CAP	Capítulos cosechados / parcela (n°).	R9
RENSH	Rendimiento grano / ha (ajustado 11% humedad) (kg/ha.).	R9
MG	Contenido de materia grasa (%)	R9
PS	Peso de 1000 semillas (g.).	R9
RENMGH	Rendimiento materia grasa / ha (S.M.SECA) (kg/ha.) * ¹	R9
RENSA	Rendimiento grano / ha (ajustado base 42% MG) (kg/ha.).	R9
HUM	Humedad (%)	R9
NSC	Numero de semillas / capitulo (n°).	R9

Tabla.1: Parámetros a evaluar y su estadio fenológico.

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

*² *Los estados fenológicos son determinados según clasificación de Schneiter & Miller, (Schneiter y Miller, 1981).*

RESULTADOS - CAMPAÑA 10/11

Las variables analizadas fueron:

- **Peso de mil semillas.** Si bien no presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo sin fertilizar ni inocular (T) (Fig. 7A), cuyo peso de mil semillas fue 67,5 gr., se observa que aquellas plantas que recibieron fertilización nitrogenada (tratamiento TF) como las que fueron fertilizadas e inoculadas con cepas *Azospirillum* (tratamiento Nit- Azo), obtuvieron un peso de semillas 2,5 gr superior al testigo (T) equivalente a 3,7 % más (Fig. 7B), mientras que las plantas tratadas con cepas de *Bacillus pumillus* (tratamientos Nit-SF3, Nit-SF4, SF4) presentaron pesos de mil similares al testigo (T), a excepción del tratamiento SF3 cuyo valor fue 3,7 % menor que el testigo(T) (Fig. 7B). Por ultimo, las plantas tratadas con cepas de *Achromobacter xylosoxidans* expresaron el peso de mil semillas más bajo (62,5 gr) 7,4% por debajo del testigo (T) (Fig. 7B).

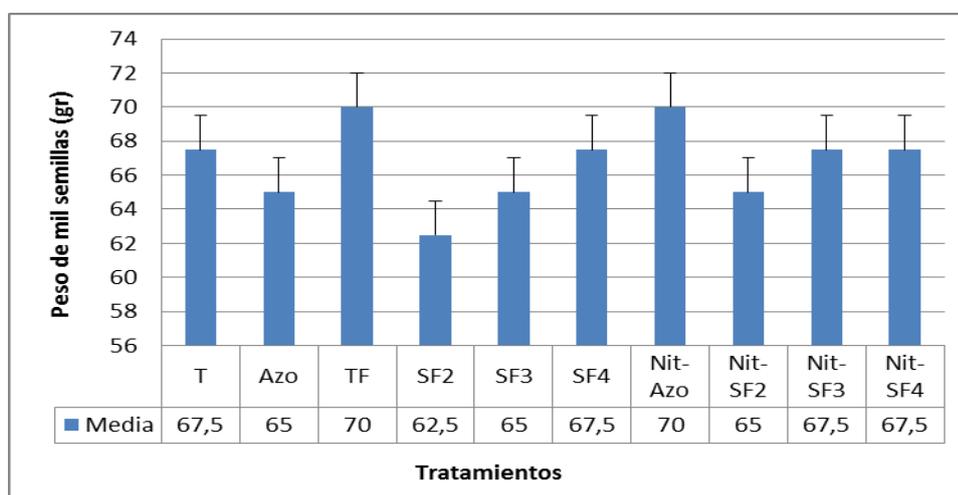


Fig. 7A: Peso de mil semillas de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.



Fig. 7B: Diferencia de peso de mil semillas expresada en gramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.

- **Número de capítulos (por parcela).** Si bien no se advierten diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo (T) (Fig. 8A), se observa que aquellas plantas fertilizadas con 128 Kg de N (tratamiento TF) evidenciaron una mayor respuesta frente a esta variable, dado que su valor en porcentaje fue 3,2% mayor que el testigo (T) (Fig. 8B). Los demás tratamientos expresaron un valor inferior al control, quedando aquellas plantas tratadas con cepas de *Azospirillum* y fertilizadas (tratamiento Nit-Azo) un 14,51% por debajo del control (Fig. 8B), lo que evidencia una muy baja respuesta de esta variable.

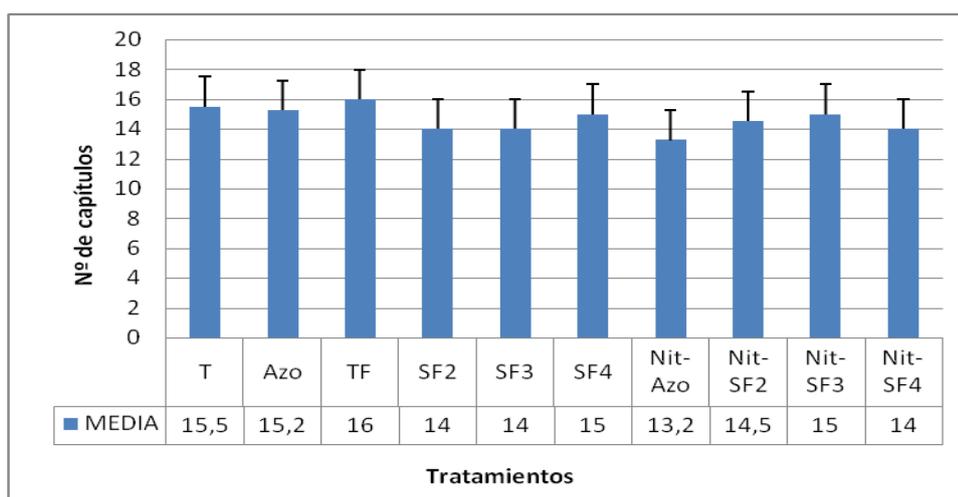


Fig. 8A: Numero de capítulos de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.

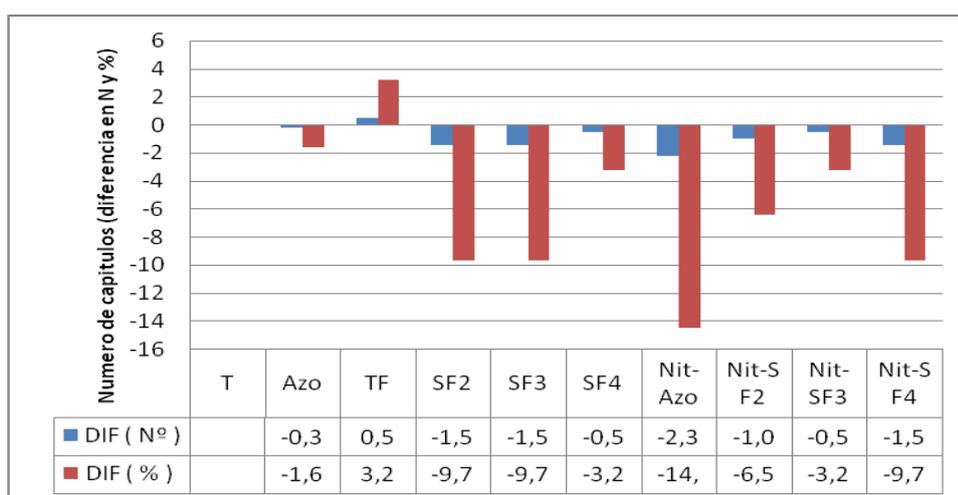


Fig. 8B: Diferencia de número de capítulos expresada en número y porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.

- **Número de semillas por capítulo.** Si bien no presentan diferencias significativas (Fig. 9A), se observa que las plantas inoculadas con *Azospirillum* y fertilizadas con nitrógeno (tratamiento Nit-Azo) las que alcanzaron el máximo valor 1439,1 semillas por capítulos, lo que equivale a un 29,63 % más que el testigo (T) (Fig. 9B). Por otra parte, aquellas plantas que sólo fueron fertilizadas (tratamiento TF), expresaron el menor número de semillas por capítulo (1077,9) lo que representa una disminución del 2,9 % con respecto al testigo (N) (Fig. 9B).

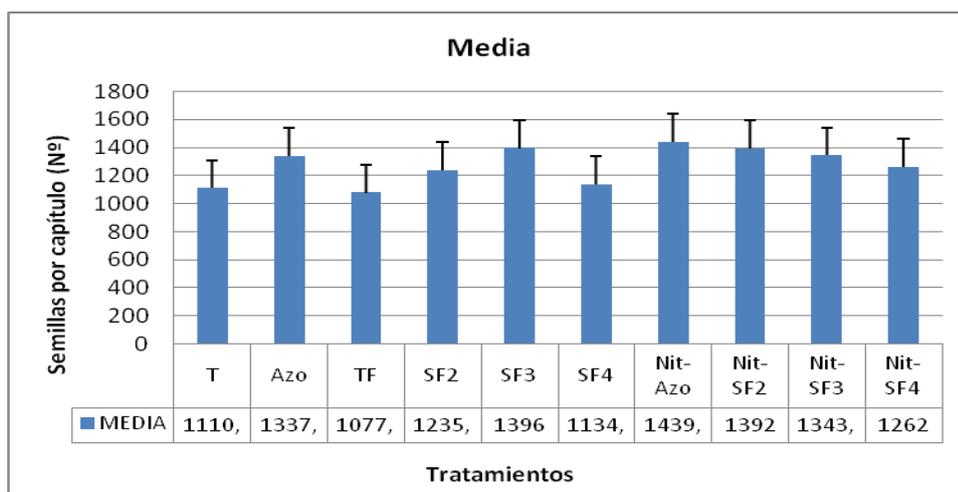


Fig. 9A: Semillas por capítulos de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.

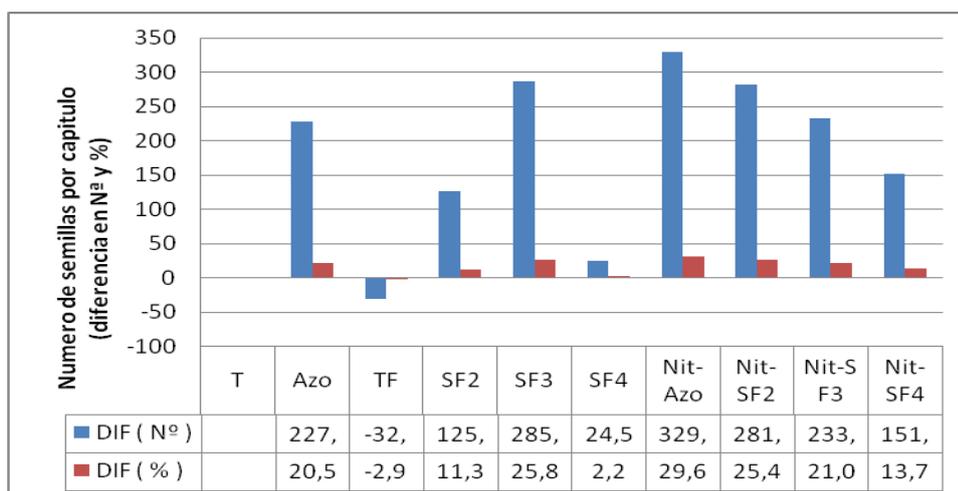


Fig. 9B: Diferencia de semillas por capítulo expresada en número y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.

- **Rendimiento en grano.** Si bien no muestran diferencias significativas (Fig. 10A), se observa que aquellas plantas que fueron tratadas con *Azospirillum*, independientemente de si fueron o no fertilizadas, superaron en rendimiento del testigo T (3291,6 Kg), siendo el tratamiento Nit-SF3 el de mayor potencial con un rendimiento de 3813,4 Kg/ha, el cual corresponde a un 15,85% más que el testigo (T) (Fig. 10B). Asimismo, todas aquellas plantas que sólo fueron inoculadas (tratamientos SF2, SF3, SF4) registraron rendimientos inferiores, los que expresados en porcentaje, fueron 9,7% - 3,7% y 0,53%, respectivamente (Fig. 10B). Sin embargo, aquellas plantas que sólo se fertilizaron con nitrógeno superaron al testigo (T) en rendimiento en un 13,14% (Fig. 10B), mientras que las que sólo fueron inoculadas con *Azospirillum* (tratamiento Azo) tuvieron un rendimiento superior al testigo en 2,91 % (Fig. 10B).

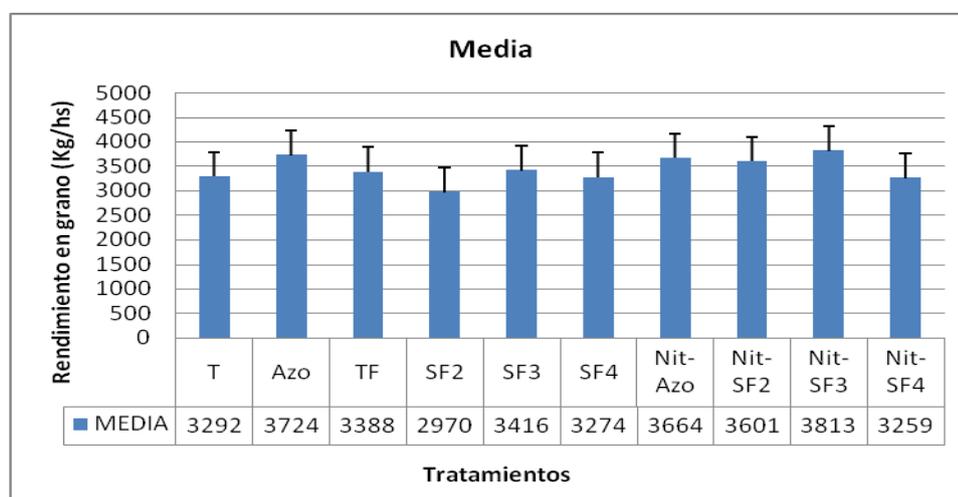


Fig. 10A: Rendimiento en grano de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Acrhomobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.

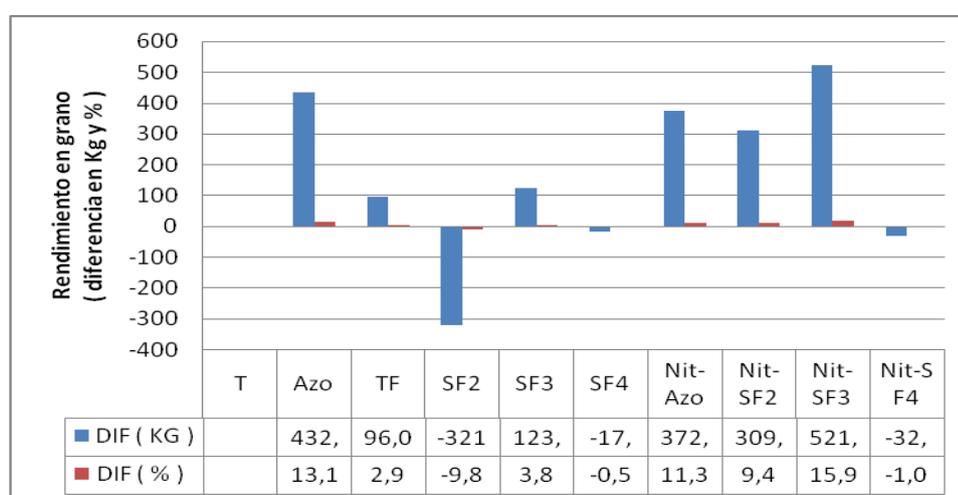


Fig. 10B: Diferencia de rendimiento en granos de girasol, expresada en kilogramos y porcentaje referente al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.

- **Materia Grasa.** Si bien no presentan diferencias significativas (Fig. 11A), se observa que aquellas plantas que fueron inoculadas con *Acrhomobacter xylosoxidans* fueron las de mayor respuesta frente a esta variable, superando en 1,8% al testigo (T) (Fig. 11B). Por otra parte los tratamientos Azo, SF4 y Nit-SF3 también tuvieron una respuesta positiva frente a esta variable superando al testigo (T) en 1,4%, 0,4%, y 0,8% respectivamente (Fig. 11B). Por último los tratamientos TF, SF3, Nit-Azo, Nit-SF2 y Nit_SF4 se comportaron por debajo del testigo (T) siendo sus valores -1,6%, -0,5%, -1,4%, -0,1% y -1,4% respectivamente (Fig. 11B).

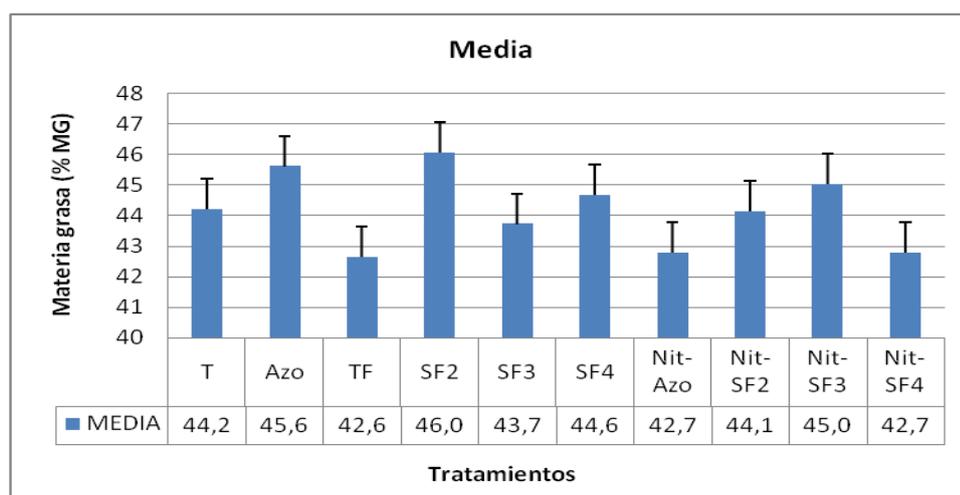


Fig. 11A: Porcentaje de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Acrhomobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.

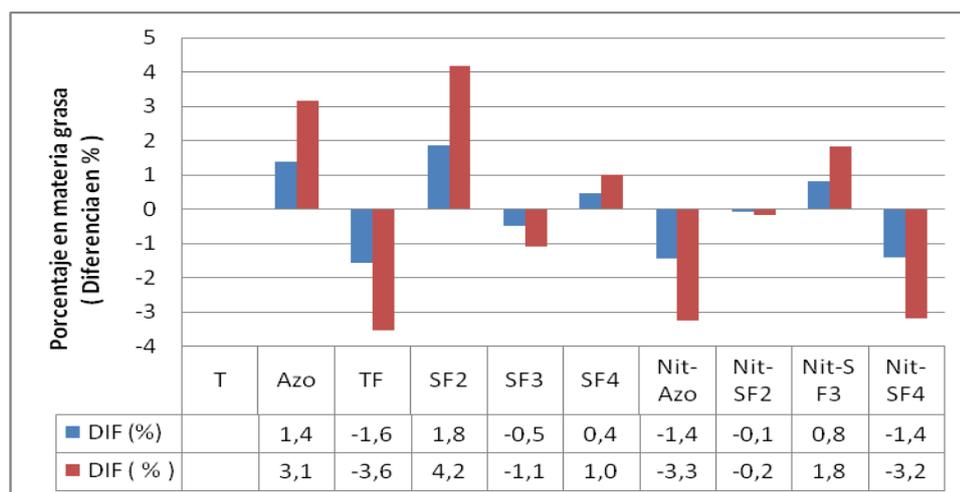


Fig. 11B: Diferencia en contenido de materia grasa expresado en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.

- **Rendimiento de materia grasa.** Si bien no se detectan diferencias significativas (Fig. 12A), se observa que la mayoría de los tratamientos respondieron en forma positiva en relación al testigo T (1312,7 Kg/ha) a excepción de los tratamientos TF, SF2 y Nit-SF4 cuyos valores estuvieron 2,77 Kg/ha, 86,33 Kg/ha y 57,95Kg/ha por debajo del mismo, respectivamente. Además, el tratamiento Nit-SF3 cuyas plantas fueron fertilizadas e inoculadas con cepas de *Bacillus pumillus* fue el que obtuvo mejor respuesta para esta variable con respecto al testigo (T), con un rendimiento de materia grasa de 1544,1 Kg/ha lo que implica un incremento de 17,62 % (Fig. 12B).

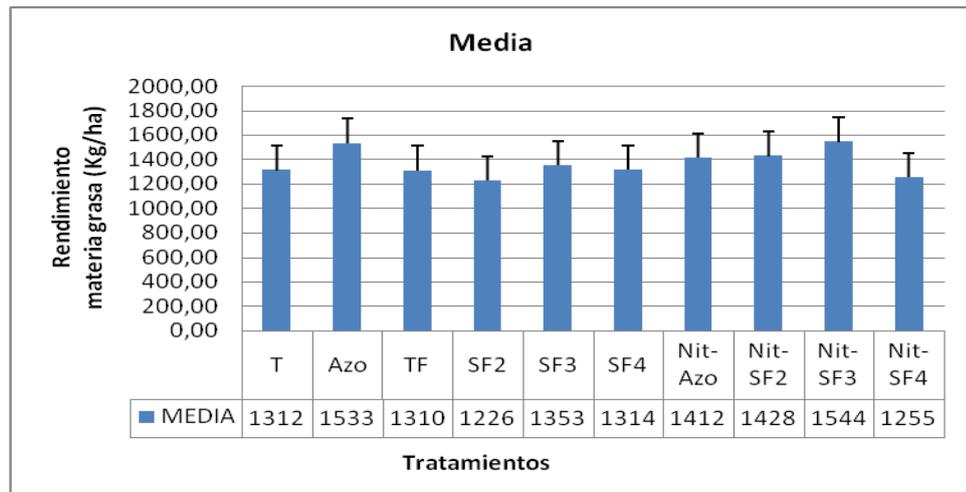


Fig. 12A: Rendimiento de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumillus* (SF3; SF4), *Acrhomobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2010/2011.

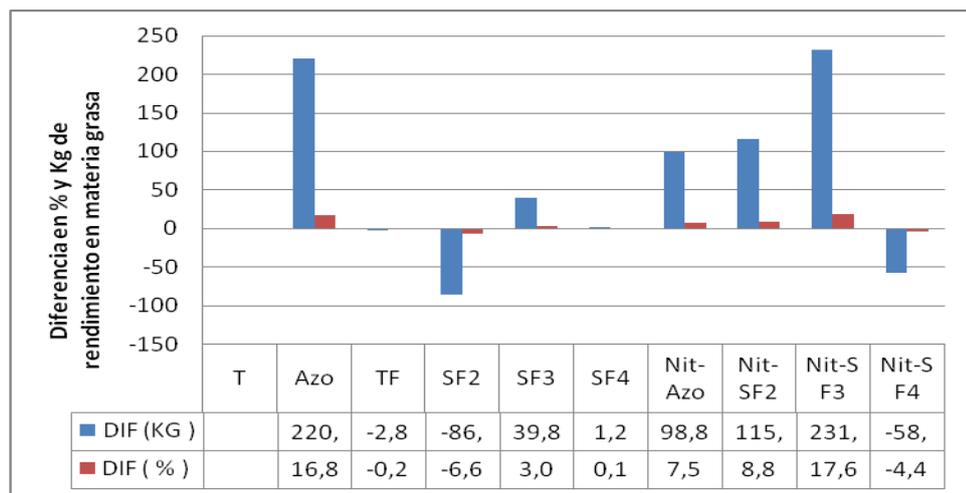


Fig. 12B: Diferencia en rendimiento de materia grasa expresada en kilogramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2010/2011.

RESULTADOS - CAMPAÑA 11/12

- **Peso de mil semillas.** Si bien no muestran diferencias significativas (Fig. 13A), se observa que aquellas plantas tratadas con la cepa de *Azospirillum* y fertilizada (tratamiento Nit-Azo) fueron las que obtuvieron el valor más alto frente a esta variable (61,3 Gr) lo que porcentualmente equivale al 2,16% por encima del testigo (T) (Fig. 13 B). Otro tratamiento que obtuvo una respuesta positiva, fue el Nit_SF2 (plantas inoculadas con cepas de *Achromobacter xylosoxidans* y fertilizadas) cuyo valor se ubicó en 0,7% sobre el testigo sin nitrógeno y sin inocular (N) (Fig. 13B). Por último, los demás tratamientos arrojaron una respuesta negativa, quedando por debajo del control.

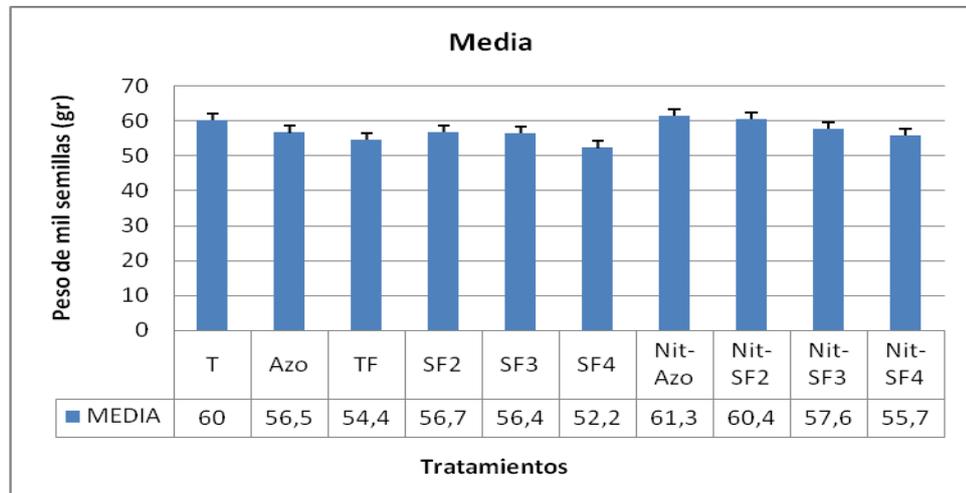


Fig. 13A: Peso de mil semillas de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.

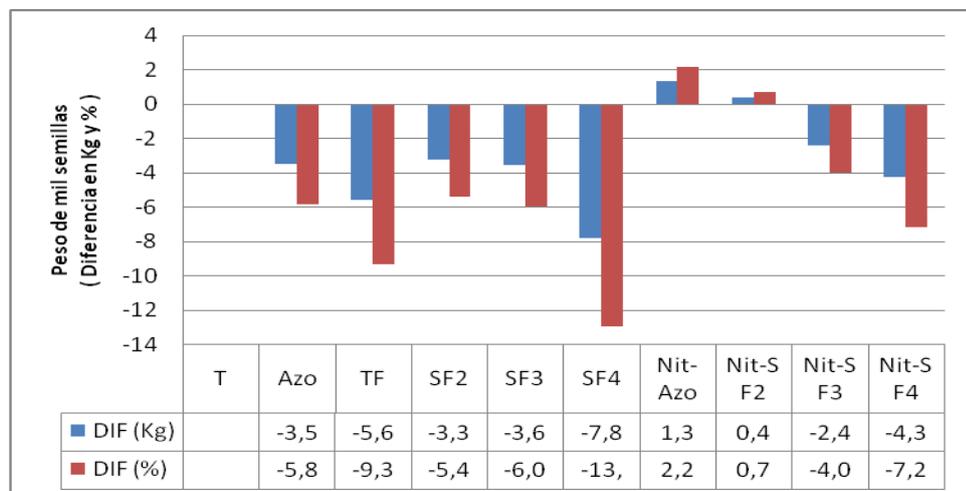


Fig. 13B: Diferencia de peso de mil semillas expresada en kilogramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.

- **Número de semillas por capítulo.** Si bien no presentan diferencias significativas (Fig. 14A), se observa que sólo el tratamiento Azo (cuyas plantas fueron inoculadas con cepas de *Azospirillum*) se comportó por debajo del testigo (T), en un 3,5% (Fig. 14B). Los demás tratamientos tuvieron un resultado superior al testigo (T) (817,48 semillas por capítulo) siendo el SF2 (plantas inoculadas con *Achromobacter xylosoxidans*) el que obtuvo la mayor respuesta, con 949,5 semillas por capítulo, lo cual representa un 16,1% por encima del testigo (Fig. 14B). Cabe destacar que los tratamientos Nit-Azo, Nit-SF2, Nit-SF3, fueron de los que en mayor proporción estuvieron por encima del testigo (N) (10,04 %, 13,51% y 13,51%, respectivamente) (Fig. 14B).

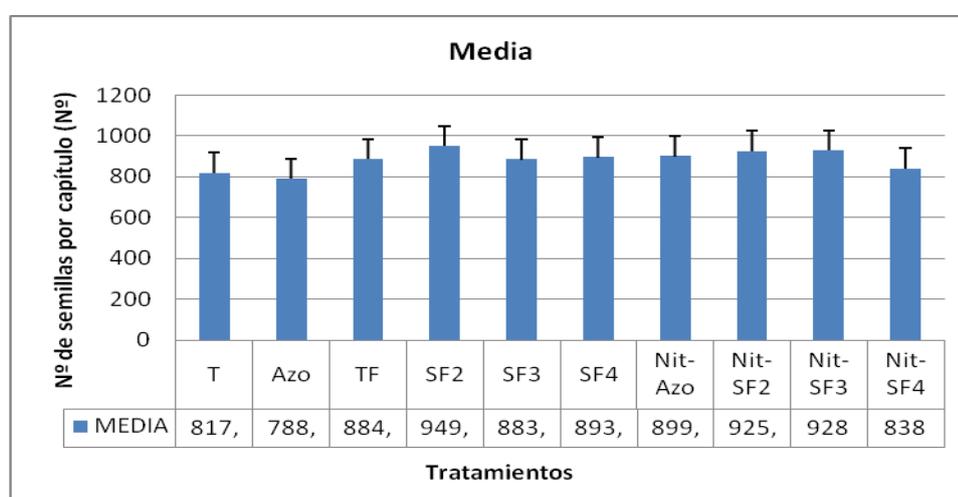


Fig. 14A: Numero de semillas por capítulo de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.

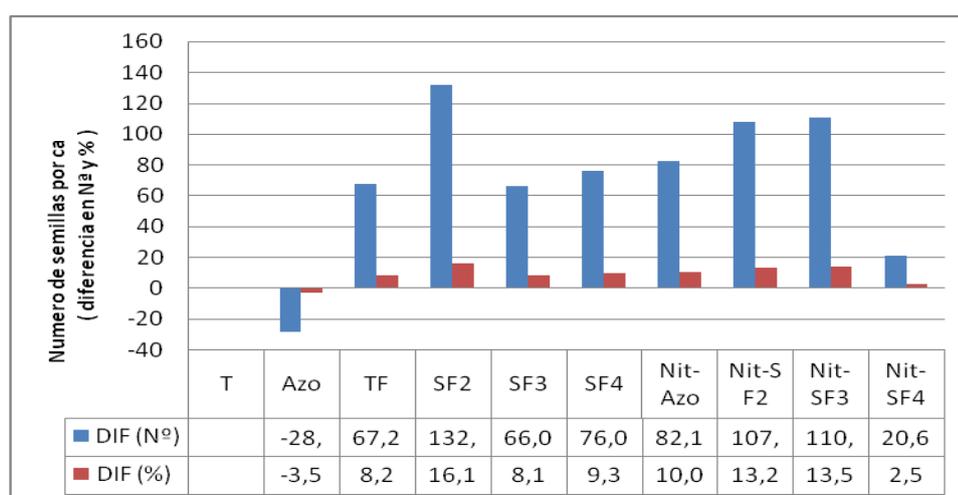


Fig. 14B: Diferencia en semillas por capítulo expresada en número y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.

- **Número de capítulos (por parcela).** Si bien no se detectan diferencias significativas (Fig. 15A), se observa que los tratamientos TF y Nit-SF4 tuvieron mejor respuesta para esta variable en relación al testigo (T); sus plantas, para el primer caso, fueron fertilizadas con 128 Kg. de N y, para el segundo, fertilizadas e inoculadas con *Bacillus pumillus*. Asimismo, los tratamientos Nit-SF3 y SF4 fueron los de menor respuesta, ya que estuvieron 10% por debajo del testigo (T) (Fig. 15B). También arrojaron resultados similares, los tratamientos SF2 y SF3. Finalmente, se puede mencionar que los tratamientos Nit, Nit-Azo y Nit-SF2 no tuvieron diferencias con respecto al testigo (T), es decir, su número de capítulos resultó igual al mismo (15 capítulos)

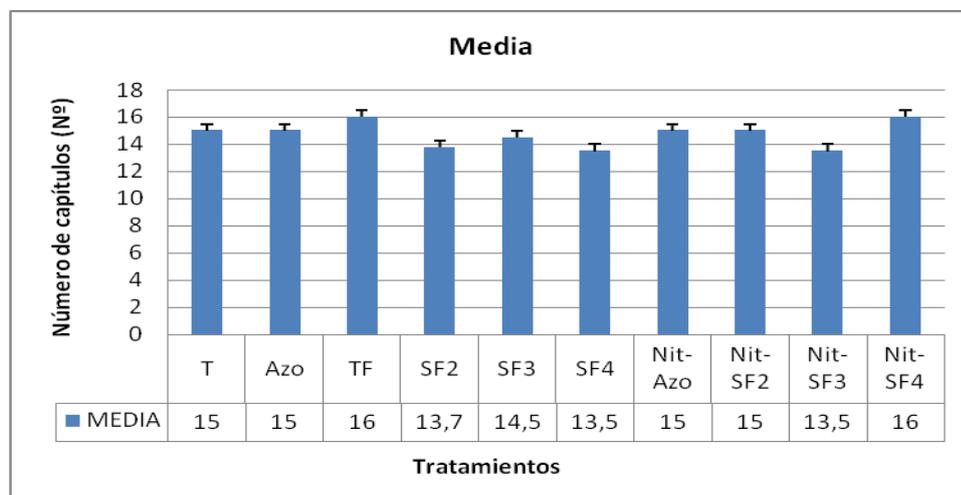


Fig. 15A: Numero de capítulos de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Acrhomobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.

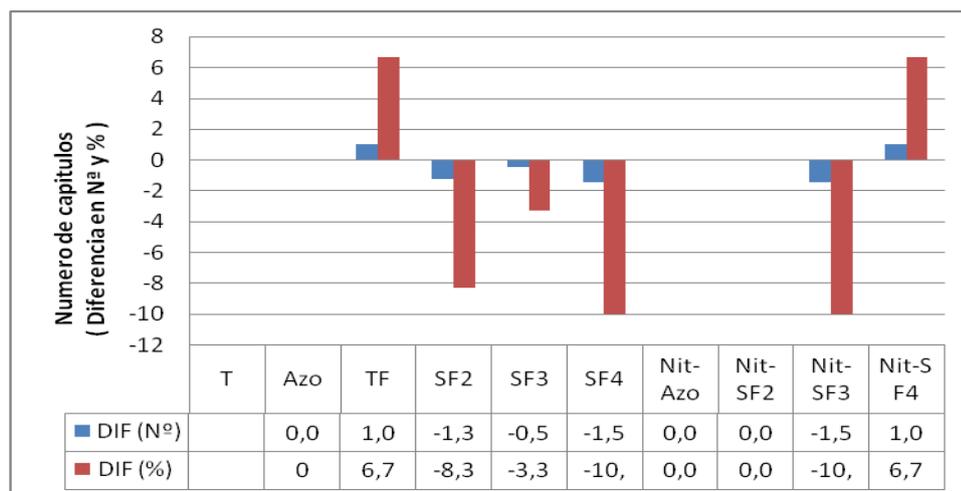


Fig. 15B: Diferencia de número de capítulos expresada en número y porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.

- **Rendimiento en grano.** Si bien no se advierten diferencias significativas (Fig. 16A), se observa que las plantas tratadas con cepas de *Azospirillum* y *Achromobacter xylosoxidans*, ambas fertilizadas, (tratamientos Nit-Azo y Nit-SF2) fueron las que mejor respondieron ante la variable rendimiento, siendo sus valores 2109,3 Kg/ha y 2164,8 Kg/ha, respectivamente. Por otra parte, los que tuvieron una respuesta negativa frente a dicha variable fueron los tratamientos Nit (-9,89 Kg/ha) y SF4 (-67,9 Kg/ha), que representados en porcentajes, mostraron una reducción del 0,60 % y 3,9% en referencia al testigo (T) (Fig. 16B). Finalmente, los demás tratamientos (TF, SF2, SF3, Nit-SF3, Nit-SF4) resultaron con valores por encima del control.

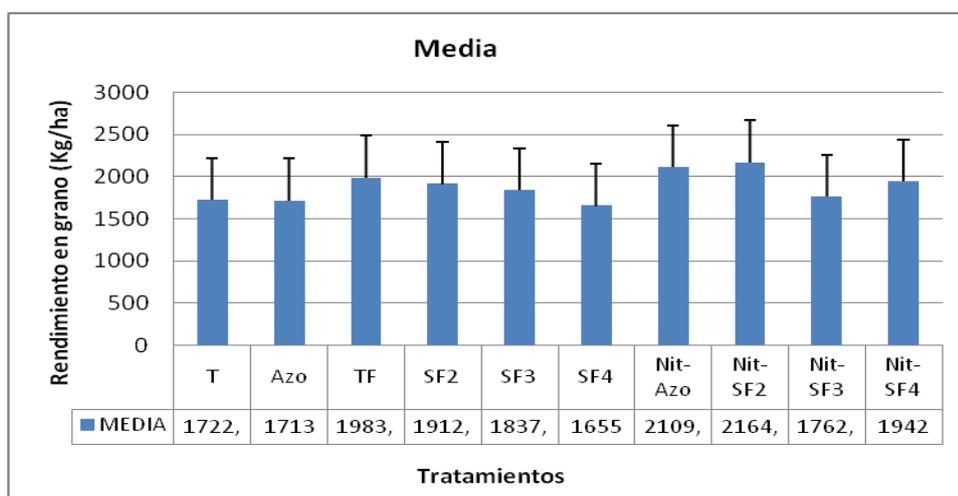


Fig. 16A: Rendimiento en grano de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.

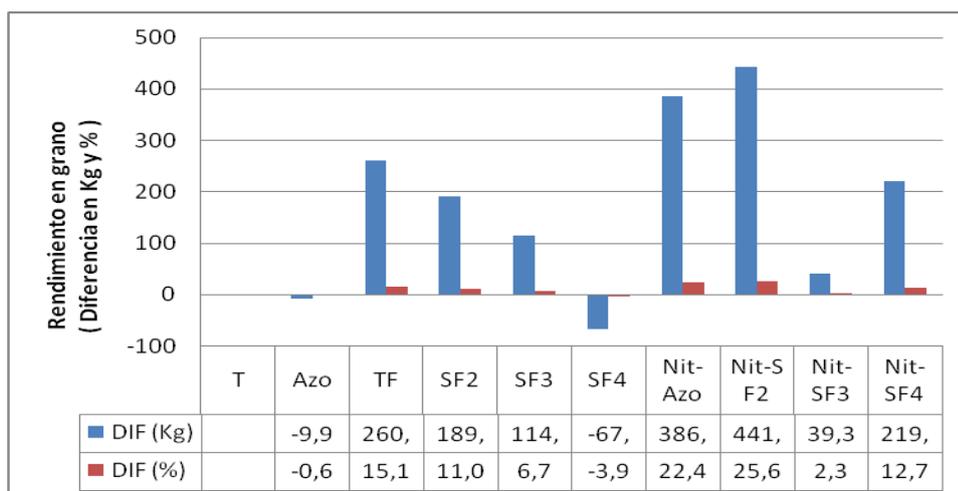


Fig. 16B: Diferencia de rendimiento en granos de girasol, expresada en kilogramos y porcentaje referente al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.

- **Materia grasa.** Si bien no presentan diferencias significativas (Fig. 17A), se observa que el tratamiento SF3 cuyas plantas fueron inoculadas con *Bacillus pumilus* tuvo la mayor respuesta frente a esta variable, la que se ubicó en un 3% por encima del testigo (T) (Fig. 17B). Sin embargo, no fue el único que obtuvo este nivel de respuesta; también en los tratamientos TF, SF4, Nit-SF2 y Nit-SF4 los valores estuvieron 0,14%, 1,25%, 1,25% y 2,05% respectivamente, por encima del control (Fig. 17B). Al mismo tiempo, hubo tratamientos por debajo del testigo (T), tal es el caso de Azo, SF2, Nit-Azo y Nit-SF3, lo que expresado en porcentaje representan el -4,07%, -0,19%, -1,03% y -2,68%, respectivamente (Fig. 17B).

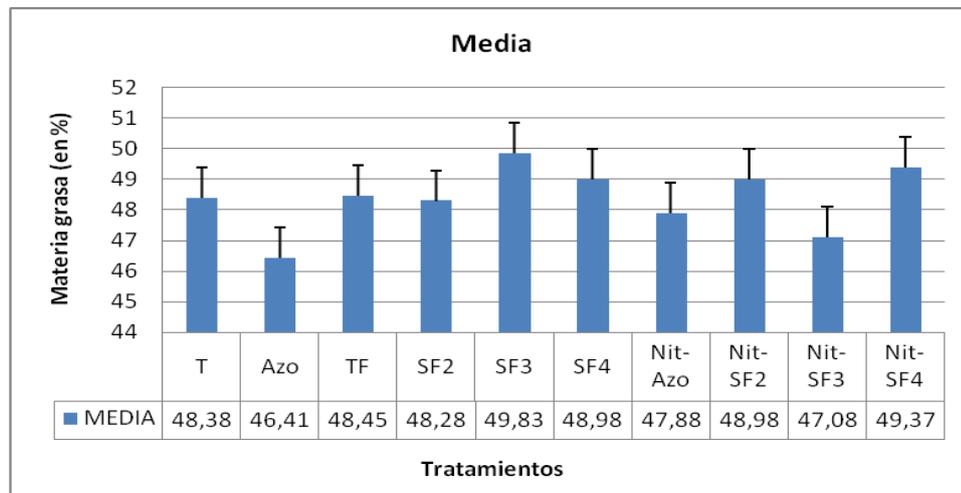


Fig. 17A: Porcentaje de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylosoxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.

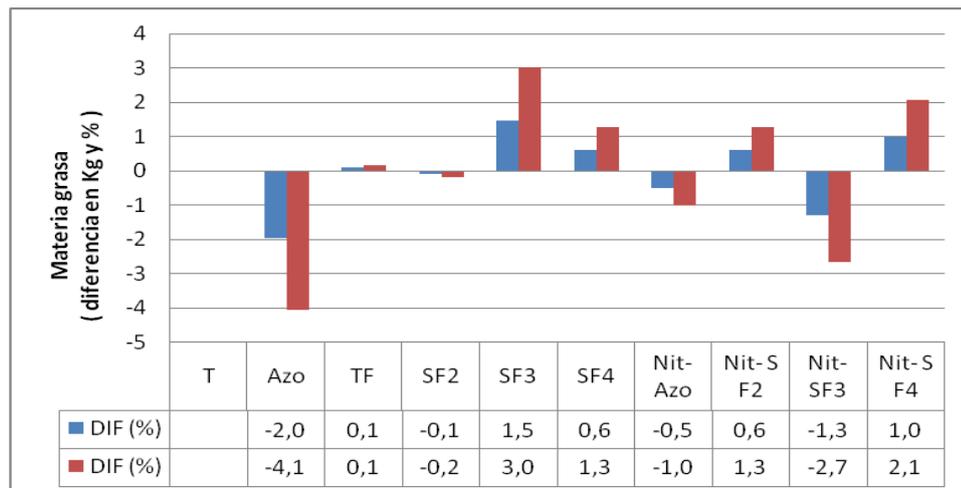


Fig. 17B: Diferencia en el contenido de materia grasa expresado en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.

- **Rendimiento de materia grasa.** Si bien no presentan diferencias estadísticamente significativas (Fig. 18A), los datos obtenidos revelan que aquellas plantas que fueron fertilizadas e inoculadas con cepas de *Achromobacter xylooxidans* fueron las de mejor respuesta, debido a que estuvieron un 27,2% (Fig. 18B) o, más precisamente, 204,3 Kg, por encima del testigo (T). Asimismo, los tratamientos Az y SF4 arrojaron resultados negativos en relación al testigo (T), los que en porcentajes fueron -4,46% y -5,45%, respectivamente (Fig. 18B).

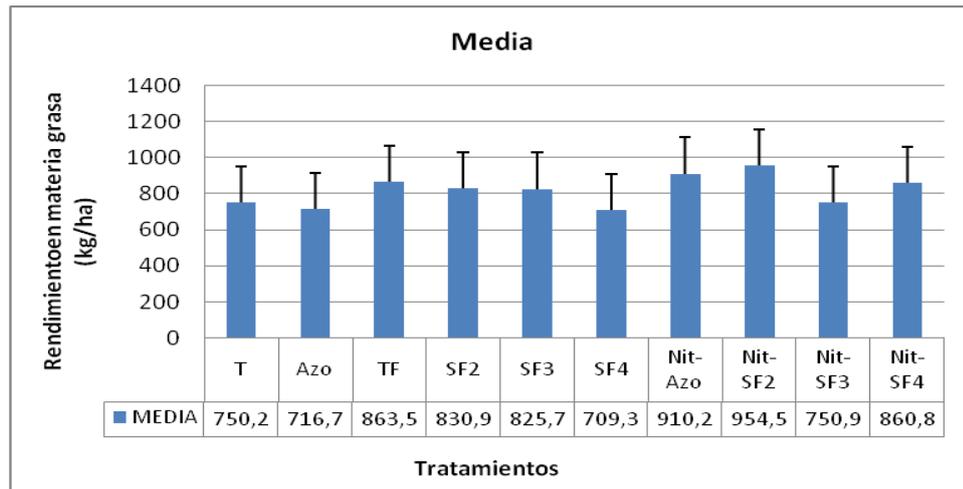


Fig. 18A: Rendimiento de materia grasa de plantas de girasol tratadas con fertilizante nitrogenado (TF), y/o inoculadas con *Azospirillum* (Azo), *Bacillus pumilus* (SF3; SF4), *Achromobacter xylooxidans* (SF2). Valor medio campaña agrícola 2011/2012.

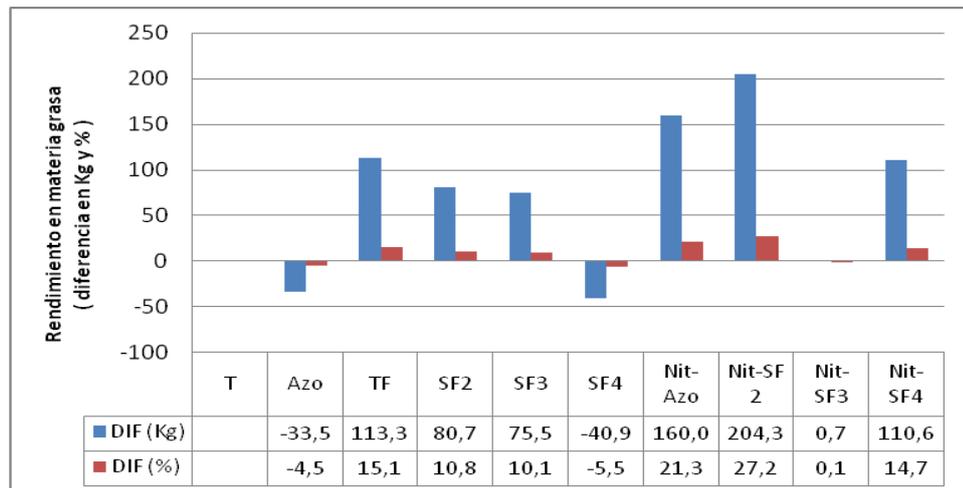


Fig. 18B: Diferencia en rendimiento de materia grasa expresada en kilogramos y en porcentaje en referencia al testigo. Campaña agrícola 2011/2012.

DISCUSIÓN

Considerando que las variables que definen el rendimiento son el número de capítulos, número y peso de los granos (Trápani *et al.*, 2003), se observó que en la campaña 10/11, si bien no se detectaron diferencias significativas, aquellas plantas fertilizadas e inoculadas con cepas de *Bacillus pumilus* (tratamiento Nit-SF3) mostraron el mayor rendimiento (3813 Kg/ha); esto debido al producto de los valores de sus componentes en relación a los componentes del rendimiento, dado que el mayor valor de número de capítulos y peso de mil semillas, fue para el tratamiento TF (plantas fertilizadas) superando al testigo en un 3.2% y 3.7% respectivamente para ambas variables; no así para el número de semillas por capítulo, que es compensado por el alto valor (285,9 semillas por capítulo) frente a esta variable del tratamiento SF3 (cepa de *Bacillus pumilus*) posicionándose un 25.8% por encima del testigo. Estos resultados coinciden con lo reportado por Metin *et al.*, (2010), que demostraron aumentos en el rendimiento total del cultivo de trigo por la aplicación de cepas (PGPR) fijadoras de N₂ y solubilizadoras del P, utilizando distintos géneros de *Bacillus*, *Azospirillum*, *Paenibacillus* y *Raoultell*, como así también lo informado por Yasari y Patwardhan (2007) en canola, por Gholami *et al.*, (2009) en maíz y por Zehra (2010) en girasol, trabajando este último autor con cepas de *Bacillus*.

Por otra parte el mayor rendimiento en materia grasa para esta campaña se dio en el tratamiento Nit-SF3 (plantas fertilizadas e inoculadas con *Bacillus pumilus*) debido a su mayor rendimiento por hectárea, lo que alcanza a compensar su bajo valor en porcentaje de materia grasa. Esto concuerda con lo propuesto por Zehra (2010), que realizó su investigación con cepas de *Bacillus* y encontró aumentos del rendimiento y contenido de aceite en el cultivo de girasol.

Para el caso de la campaña 11/12, si bien no se observaron diferencias significativas, aquellas plantas que fueron fertilizadas e inoculadas con cepas de *Achromobacter xylosoxidans* (tratamiento Nit-SF2) mostraron el mayor rendimiento (2164,8 Kg/ha), lo que se explica por el alto valor en el número de semillas por capítulos y por la buena respuesta de este tratamiento frente a la variable peso de mil semillas, superando al testigo en un 13,2% y en un 0,7%, respectivamente; ambos compensando la nula respuesta de este tratamiento frente a la variable número de capítulos.

Teniendo en cuenta que uno de los componentes que determina el rendimiento de materia grasa es el porcentaje de la misma (Trápani *et al.*, 2003), se observó que dicho porcentaje en la cepa *Achromobacter xylosoxidans* es menor que *Bacillus pumilus*, pero tiene mayor rendimiento de granos por hectárea, haciendo que la misma tenga el mayor rendimiento de materia grasa por hectárea.

Tanto *Bacillus pumilus* como *Acrhomobacter xylooxidans* mostraron comportamientos PGPR en concordancia con lo indicado por Weller y Thomashow (1994).

El máximo rendimiento se dio en la campaña 10/11 con 3813 Kg/ha en relación a los 2164,8 Kg/ha de la campaña 11/12. No se debió tanto a la diferencia en las precipitaciones totales de las campañas 10/11 y 11/12, que fue de 435 mm en la primera de ellas y de 421 en la siguiente, sino en la distribución de las mismas; y esto dado que en la campaña 10/11, el 37% de las precipitaciones ocurrieron en los meses de mayor demanda atmosférica (enero y febrero), lo que evitó la ocurrencia de cualquier tipo de stress hídrico que pudiera afectar el rendimiento final del cultivo.

CONCLUSIONES

- En la campaña 2010/1011, el mayor rendimiento de granos y materia grasa fue obtenido por *Bacillus pumillus* cepa SF3 cuando fue agregado nitrógeno, con un cultivo que mostro alto rendimiento de granos en referencia a la media nacional.
- En la campaña 2011/2012, el mayor rendimiento de granos y materia grasa fue obtenido por *Achromobacter xylooxidans* cepa SF2 cuando fue agregado nitrógeno, con un cultivo que mostro un rendimiento de granos cercano a la media nacional.

Estos resultados abren la posibilidad de analizar qué ocurriría con la co-inoculación de las cepas SF2 y SF3, a los fines de tener estabilidad en la respuesta en diferentes situaciones hídricas del suelo.

BIBLIOGRAFÍA

AGUIRREZÁBAL, L.A.N., G.A. ORIOLI, L.F. FERNÁNDEZ, V.R. PEREYRA y J.P. MIRAVE .2001. **Girasol**. En: *Aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento*. Ed. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce – Facultad de Ciencias Agrarias Universidad nacional de Mar del Plata. Argentina. p: 16-30

AGUIRREZÁBAL, L.A.N. y F.H. ANDRADE.2002. **Ecofisiología**. En: *Manual práctico para el cultivo de girasol*. Ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina.1ª Edición, Cap. 2. 39-42.

ALBA-ORDOÑES, A. y M. LLANOS-COMPANY 1990. **El cultivo de girasol**. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 158p.

ASAGIR, 2008. En: www.asagir.org.ar/asagir_2008/importancia-economica.asp. Consultado: 02-03-2010.

BENSALIM, S. J.NOWAK y S.K. ASEIDU. 1998. A plant growth promoting rhizobacterium and temperature affects on performance of 18 clones of potato. **American potato journal**. 75: 145-152.

BRAY, RH & KURTZ, LT 1945, DETERMINATION OF TOTAL, ORGANIC, AND AVAILABLE FORMS OF PHOSPHORUS IN SOILS, *SOIL SCIENCE* 59: 39-45.

BOLSA DE CEREALES. 2012. www.bolcereales.com.ar. Tema: Producción Nacional 2011/2012. Consultado: 12/08/2012.

CARTA DE SUELOS DE LA REPÚBLICA ARGENTINA.1987. Oncativo. Córdoba.p:3361-62.

CHIMENTI, C.A., A.J. HALL y M.S. LOPEZ 2001. Embryo-growth rate and duration in sunflower as affected by temperature. **Field Crops Res.** 69: 81-88.

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

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

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

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

FORCHETTI,G., O.MASCIARELLI, S.ALEMANO, D. ALVAREZ y G. ABDALA.2010. Native bacteria from sunflower under water deficit stress. **Curr Microbiol**. 61:485-493.

GHOLAMI, A., A. SHAHSAVANI y S. NEZARAT.2009. The effects of plantgrowth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. **Waset**. 49: 19-24.

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

HANADA, R.E. y R.S. ROMEIRO 1998. Seleccion preliminar de rizobacterias como promotoras de crecimiento e como industria de resistencia sistémica a *Xanthomonas campestris* em girasol. **Fitopatología Brasileira**.23:209.

INTA(gob.ar/documentos/información-meteorológica-mensual-de-la-e.e.a.-Manfredi.11-03-2013).

ISLAM MM, BHUIYAN NI (1988) EVALUATION OF VARIOUS EXTRACTANTS FOR AVAILABLE SULPHUR IN WETLAND RICE SOILS OF BANGLADESH. INDIAN J AGRIC SCI 58 :603–606

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

- LI, KA SMITH. 1984. The rapid determination of nitrate at low concentrations in soil extracts: Comparison of ion-selective electrode with continuous-flow analysis. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 15:12, 1437-1451.
- MARTÍNEZ-MORALES, L., L. SOTO-URZUA, B. BACA y J. SANCHEZ-AHEDO 2003. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microb Lett.** 228: 167-173.
- MAYAK, S., T. TIROSH y B.R. GLICK 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. **Plant Physiol Bioch.** 42: 565-572.
- METIN, T., G. MEDINE, C. RAMAZAN, O. TASKIN y S. FIKRETTIN. 2010. The effect of PGPR strain on wheat yield and quality parameters. **XIX World Congress of Soil Science Soil Solutions for a Changing World:** 140-143
- MINAGRI 2012. www.minagri.gob.ar Tema.: Agricultura. Consultado:10-09-2012.
- NOWAK,J., S.BENSALIM, C.D. SMITH, C. DUMBAR, S.K. ASIEDU, A. MADANI, G. LAZAROVITS, A.V. STURZ, B.CHRISTIE y S.TURGEON.1999. Behaviour of plant material issued from in vitro bacterization. **Potato Research.** 42: 505-519
- PEDRAZA, M.V., V.R. PEREYRA, L.A.N. AGUIRREZÁBAL y A. LAURLUND 2000. **Efectos de reducciones en el área foliar, en la densidad de plantas y en el número de capítulos.** En: *Manual de estimación de pérdidas de rendimiento en girasol.* Ed. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Argentina. p: 28-29.
- PING, L. y W. BOLAND 2004. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. **Trends Plants Sci.** 9: 263-219.
- PUTNAM, D.H., E.S.OPLINGER, D.R.HICKS, B.R.DURGAN, D.M.NOETZEL, R.A.MERONUCK, J.D. DOLL YE.E. SCHULTE 1990. Sunflower Alternative field Crops Manual. En www.hort.purdue.edu/newcrop. Consultado: 17/08/2012.
- SCHNEITER y MILLER. 1981. Description of sunflower growth stages. **Crop Sci.** Volumen 21: 902-903.

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

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

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

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

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

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

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

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