



Universidad Nacional
del Nordeste



Facultad de Ciencias Agrarias

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

Facultad de Ciencias Agrarias

Maestría en Producción Vegetal

***Rhizobium tropici* COMO PROMOTOR DEL
CRECIMIENTO EN PLANTAS DE ZAPALLO
TETSUKABUTO (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*)
EN EL DESARROLLO DE PRÁCTICAS AGRÍCOLAS
SOSTENIBLES.**

Ing. Agr. Musante, Emmanuel Alejandro

Directora: Ing. Agr. (Mgter.) Burgos, Ángela Ma.

Co-directora: Ing. Agr. (MGA) Iglesias, María Cándida

Corrientes - Argentina

2020

Dedicado a mis padres, mis hermanos, mi mujer y mi hijo que me apoyaron en todo y que me permitió llegar hasta el final.

Agradecimientos

En lo Institucional, quiero expresar mi agradecimiento al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) por brindarme el tiempo y la oportunidad de capacitarme.

A la Directora de tesis, Ma. Ángela Burgos, quién brindó incondicionalmente su experiencia y conocimientos para la ejecución y redacción de la tesis.

A mi Co- Director de tesis, la Ing. Agr. Maria C. Iglesias, quien sin importar el día y horario me brindó todo su apoyo, y me abrió las puertas a la cátedra de Microbiología Agrícola.

A mis compañeros de trabajo Jorge, Marcelo, Mario, Guillermo, Rudy, Rosy, Patricia, Walter, quienes estuvieron brindándome su apoyo y conocimientos.

De modo muy especial a Walter Nemeth, Lorena Suarez, Luis Gándara, Emmanuel Nemeth, Giovanni Musante, Sara Moreno, Alejandro Pascarella, Hector Ramírez, Flavio Domínguez, Marcela Cossoli, Amalia Romero, Griselda Bóveda, Nicolás Moreno, Hector Ramírez, por su tiempo y dedicación.

A mis amigos, por el aliento y el empuje de cada momento personal y profesional.

Al hermoso grupo de amigos de la 4ta corte de maestría, gracias por el apoyo, respeto y ser partícipes de cada momento contruidos entre todos.

INDICE

RESUMEN:.....	VII
ABSTRACT:	VIII
CAPÍTULO I.....	1
DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICAS DELZAPALLO TETSUKABUTO (<i>Cucurbita maxima x Cucurbita moschata</i>) ESTADISTICA DE PRODUCCION MUNDIAL, NACIONAL Y REGIONAL.	1
Introducción:.....	2
El cultivo de zapallo tetsukabuto. Usos y costumbres. Producción en el contexto mundial, nacional y regional.....	3
CAPÍTULO II.....	6
APLICACIÓN DE PGPR <i>Rhizobium tropici</i> EN EL CULTIVO DE ZAPALLO TETSUKABUTO BAJO CONDICIONES SEMI-CONTROLADAS	6
Hipótesis:.....	7
Objetivo general:.....	7
Objetivos específicos:	7
Materiales y métodos:.....	8
Discusión	13
Conclusiones:	14
CAPÍTULO III.....	15
APLICACIÓN DE PGPR <i>Rhizobium tropici</i> EN EL CULTIVO DE ZAPALLO TETSUKABUTO EN CONDICIONES DE CAMPO.	15
Introducción:	16
Hipótesis:.....	17
Objetivo general:.....	17
Objetivo específico:	17
Materiales y métodos:.....	17
Resultados y discusión:	23
Conclusiones:	28
CAPÍTULO IV	29
FENOLOGÍA DEL ZAPALLO TETSUKABUTO CULTIVADO EN CORRIENTES. ...	29
Introducción:	30
Hipótesis:.....	31
Objetivo General:.....	31
Objetivos Específicos:.....	31
Materiales y métodos:.....	31
Resultados y Discusión:.....	32
CAPÍTULO V	35
CONCLUSIONES GENERALES	35

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1: Poder germinativo (%), peso fresco y seco de plántulas (g) de zapallo Tetsukabuto con dos dosis de inoculación con <i>Rhizobium tropici</i> , 10 DDS (días después de la siembra).....	9
Tabla 2: Biomasa seca (g) de parte aérea y raíz, volumen de raíces (cm ³) y área foliar (cm ²) a 30 DDS medidas en el año 2014	11
Tabla 3: Biomasa seca (g) de parte aérea y raíz, volumen de raíces (cm ³) y área foliar (cm ²) a 30 DDS medidas en el año 2015.....	11
Tabla 4: Análisis químico del suelo del sitio de experimentación a campo.....	20
Tabla 5: Biomasa fresca hoja (BFH), biomasa seca hoja (BSH), biomasa fresca tallo (BFT), biomasa seca tallo (BST), biomasa fresca total (BFTotal), biomasa seca total (BSTotal), a los 105 DDS, índice de cosecha (IC), área foliar (AF), de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), con inoculación con <i>Rhizobium tropici</i> y sin fertilizar (T2), fertilizado con fosfato diamónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2014..	23
Tabla 6: Biomasa Fresca de Frutos (BFF) y Biomasa Seca de Frutos (BSF) expresados en (g pl ⁻¹), Materia Seca de Frutos en % (MS%), Número de frutos por planta (NFPP) y rendimiento (kg pl ⁻¹) a los 105 DDS, de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), con inoculación con <i>Rhizobium tropici</i> (T2), con fertilización con fosfato diamónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2014.....	24
Tabla 7: Diámetro de fruto y espesor de pulpa de frutos de zapallo Tetsukabuto expresados en cm y cultivados sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculado con <i>Rhizobium tropici</i> (T2), fertilizado con fosfato di amónico (T3) en Corrientes a los 105 DDS durante la campaña 2014.....	24
Tabla 8: Biomasa fresca hoja (BFH), biomasa seca hoja (BSH), biomasa fresca tallo (BFT), biomasa seca tallo (BST), biomasa fresca total (BFTotal), biomasa seca total (BSTotal), a los 105 DDS, índice de cosecha (IC), área foliar (AF), de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculada con <i>Rhizobium tropici</i> (T2), fertilizada con fosfato di amónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2015.....	26
Tabla 9: Biomasa fresca de frutos (BFF) y biomasa seca de frutos (BSF), materia seca de frutos, número de frutos por planta (NFPP) y rendimiento a los 105 DDS, de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculación	

con <i>Rhizobium tropici</i> (T2), fertilizado con fosfato diamónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2015.....	26
Tabla 10: Diámetro ecuatorial de fruto y espesor de pulpa de frutos de zapallo Tetsukabuto y cultivados sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculación con <i>Rhizobium tropici</i> (T2), fertilizado con fosfato di amónico (T3) en Corrientes a los 105 DDS durante la campaña 2015.....	27
Tabla 11: Valores medios de las variables evaluadas de biomasa fresca de hoja (BFH), biomasa seca de hoja (BSH), biomasa fresca de tallo (BFT), biomasa seca de tallo (BST), Biomasa Fresca Total (BFTotal), Biomasa Seca Total (BSTotal), Biomasa Fresca de fruto (BFF), biomasa seca de frutos (BSF), diámetro ecuatorial de fruto (DEF), espesor de pula de fruto (EPF), numero de fruto por planta (NFPP), indice de cosecha (IC), area foliar (AF) obtenidos para las en condiciones de campo en los años 2014 y 2015 en cada tratamiento.	27
Tabla 12: Fenología de cultivos de zapallo Tetsukabuto expresado en Grados días (°D) y días expresados en días después de la siembra (DDS). Año 2014 y 2015	32
Figura 1: Ensayo preliminar de dosificación con <i>Rhizobium tropici</i> para determinar el poder germinativo de zapallo Tetsukabuto con dos dosis diferentes y un testigo.....	8
Figura 2: Siembra de raíces en caja de Petri en medio EMA.	10
Figura 3: Raíces de zapallo Tetsukabuto sin inocular y sin fertilizar, tratamiento testigo (T1), sembradas en medio de cultivo EMA. (Macetas 1;5;7, años 2015).....	12
Figura 4: Raíces de zapallo Tetsukabuto inoculadas con <i>Rhizobium tropici</i> y sin fertilizar (T2), sembradas en medio de cultivo EMA. (macetas 14;15;17, año 2015).....	12
Figura 5: Raíces de zapallo Tetsukabuto sin inocular con fertilización (T3), sembradas en medio de cultivo EMA. (año 2014)	13
Figura 6: Sitio de experimentación a campo. Campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias UNNE, Corrientes	18
Figura 7: Precipitaciones mensuales registradas entre los meses febrero a julio del año 2014 y 2015 en el sitio de experimentación a campo.	19
Figura 8: Temperaturas (T ° C) medias mensuales registradas en los meses de febrero a julio, del año 2014 y 2015 en el sitio de experimentación a campo.....	19
Figura 9: Esquema de la medición del parámetro ancho máximo de hoja (AMH) para estimar Área Foliar de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas a campo.....	22

RESUMEN:

Motivados por los bajos rendimientos locales del zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima x Cucurbita moschata*) y en la búsqueda de un sistema productivo sustentable que los revierta, surgió el objetivo de evaluar la respuesta del mismo inoculando las semillas con el PGPR (rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal) *Rhizobium tropici*. El experimento se realizó en un suelo arenoso del noroeste de la Provincia de Corrientes durante dos campañas consecutivas de los años 2014 y 2015. Las variables evaluadas en condiciones de experimentación semi-controladas fueron: Volumen de Raíces (VR), Biomasa Seca de Raíces (BSR), Biomasa Seca de Parte aérea (BSPA), Área foliar (AF) y colonización de raíces. Las variables evaluadas en los experimentos en condiciones de producción reales fueron asociadas a la economía del Carbono: Biomasa Fresca Hoja (BFH), Biomasa Seca Hoja (BSH), Biomasa Fresca Tallo (BFT), Biomasa Seca Tallo (BST), Biomasa Fresca Total (BFTotal), Biomasa Seca Total (BSTotal), Biomasa Fresca de Fruto (BFF), Biomasa Seca de Fruto (BSF), Índice de Cosecha (IC), Número de Frutos Por Planta (NFPP), Diámetro Ecuatorial de Fruto (DEF), Espesor de Pulpa de Frutos (EPF) y Área Foliar (AF). El presente constituye el primer trabajo en el cual se evaluó *Rhizobium tropici* como PGPR en zapallo Tetsukabuto y se determinó que en condiciones semi-controladas, su aplicación no incrementa significativamente el crecimiento de las plantas durante el plazo acotado de evaluación de 30 días después de la siembra (DDS). En las condiciones de campo, si bien *Rhizobium tropici* fue capaz de promover una mayor AF, no se incrementó la biomasa seca total, pero pudo aumentar el peso y tamaño individual de los frutos, en detrimento de su número. Otro objetivo del trabajo fue establecer una escala fenológica del zapallo Tetsukabuto que respondió adecuadamente al modelo basado en el tiempo térmico a partir de una Temperatura base (Tb) de 10°C.

Palabras claves: zapallo Tetsukabuto. *Rhizobium tropici*. Fenología.

ABSTRACT:

Motivated by the low local yields of the Tetsukabuto squash (*Cucurbita maximum* x *Cucurbita moschata*) and in the search for a sustainable productive product that increases it, arose the objective of evaluating the response of Tetsukabuto squash by inoculating its seeds with the PGPR *Rhizobium tropici*. The experiment took place on a sandy soil from northeast of Corrientes province during two consecutive campaigns of year 2014 and 2015. The variables evaluated in the experimental conditions were: Root Volume (VR), Root Dry Biomass (RDB), Seedling Dry Biomass (DAB), leaf area (LA) and root colonization. The variables evaluated in the experiments under the conditions of real production were associated with carbon economy: Leaf Fresh Biomass (FBL), Dry Leaf Biomass (DLB), Stem Fresh Biomass (SFB), Stem Dry Biomass (SDB), Total Fresh Biomass (TotalFB), Total Dry Biomass (TotalDB), Fresh Fruit Biomass (FFB), Dry Fruit Biomass (DFB) Number of Fruits per Plant (NFPP), Equatorial Fruit Diameter (EDF), Fruit Pulp Thickness (FPT) and Foliar Area (FA). This report is the first work in which *Rhizobium tropici* was evaluated as PGPR in Tetsukabuto squash, and it was determined that under semi-controlled conditions, its application does not significantly increase the growth of the plants during the evaluation period of the 30-days after sowing (DAS). Under field conditions, although *Rhizobium tropici* was able to promote greater foliar area, the total dry biomass has not increased, but the weight and the individual size of the fruits has, at the expense of its number. Another objective of the work was to establish a phenological scale of the Tetsukabuto squash that responded appropriately to the model based on thermal time set aside from an ambient temperature of 10 ° C.

Key words: Tetsukabuto squash. *Rhizobium tropici*. Phenology.

CAPÍTULO I

**DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICAS
DELZAPALLO TETSUKABUTO (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*)
ESTADISTICA DE PRODUCCION MUNDIAL, NACIONAL Y REGIONAL.**

Introducción:

El zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*), comúnmente denominado zapallo japonés; recibe ese nombre porque es un híbrido que fue precisamente creado en Japón. Dicho zapallo es producto del cruzamiento entre *Cucurbita maxima* (zapallo) y *Cucurbita moschata* (calabaza, anquito).

El híbrido Tetsukabuto es uno de los más populares difundidos en la producción mundial (Zaccari, 2002). En Brasil se lo llama cabocha, también se lo conoce como zapallo supremo, zapallo brasileiro o zapallo piedra, dada la dureza de la cáscara que le confiere un período largo de conservación en poscosecha (Pletsch, 2008). Así también, en Uruguay es conocido como zapallo kabutia, en donde se pudo determinar su buena conservación poscosecha, que en condiciones controladas (12 °C y 80 % HR) en un periodo de cuatro meses, logra hasta un 93% de calidad comercial, con una pérdida de peso de no más del 5% de los frutos (Zaccari, et al. 2015).

Raíz

El sistema radicular es abundante, presenta una raíz pivotante y si las condiciones climáticas y edáficas lo permiten, la raíz principal puede alcanzar hasta 1,5 metros de profundidad, mientras que las raíces secundarias pueden llegar hasta los 60 cm (Zaccari, 2002).

Tallo

La planta del zapallo Tetsukabuto se caracteriza por formar tres a cinco tallos rastreros conocidas como guías principales y a partir de ellas aparecen las ramificaciones, tanto el largo de las principales como de estas últimas dependen de la fertilidad del suelo y disponibilidad de agua a lo largo de su ciclo. En condiciones favorables pueden alcanzar entre siete y nueve metros de longitud como promedio, teniendo la capacidad de emitir raíces en sus nudos, actuando como fijadoras de las guías y también absorbiendo agua y nutrientes (Pletsch, 2008). El crecimiento de los tallos es muy vigoroso y con una tasa de crecimiento tan elevada que difícilmente pueda ser igualada por otras especies de plantas herbáceas y anuales, habiéndose citado hasta 5 cm día⁻¹ (Zaccari, 2002).

Hoja

Las láminas de las hojas son redondeadas y presentan en la cara superior manchas grisáceas semejantes a las del zapallo calabaza. Se unen al tallo mediante un pecíolo hueco y pubescente y miden en promedio entre 20 y 30 cm de largo (Pletsch, 2008).

Flor

Todas las especies de *Cucurbita* son diclino monoicas, apareciendo generalmente las flores masculinas anticipadamente a las femeninas, con flores amarillas, grandes y visibles, y, por lo general, aisladas en las axilas de las hojas. La corola es acampanada con cinco lóbulos, que, junto con los cinco lóbulos basales del cáliz, forman el perianto (Della Gaspera et al., 2013). Las flores masculinas aparecen generalmente en una proporción mayor a las femeninas, (14 a 24 masculinas: 1 femenina). A la vez, de las flores femeninas, sólo llegan a cuajar y ser cosechadas como frutos 20 a 50% de ellas.

Por su parte, los híbridos de zapallos como el Tetsukabuto producen polen infértil, por lo tanto, deben incorporarse plantas polinizadoras de al menos una de las especies progenitoras en el cultivo de estos híbridos. Estos híbridos presentan generalmente menor número de flores masculinas que las especies parentales, y se desarrollan más

tempranamente las flores femeninas.

En las cucurbitáceas, la temperatura óptima de crecimiento vegetativo está en torno a los 20-25°C (Zaccari, 2002). Se considera que el zapallo Tetsukabuto presenta una temperatura base de 10 °C. Teniendo en cuenta que la duración de una fase fenológica depende de la temperatura (Andrade & Sadras, 2002) dato de sumo interés citado por Zaccari (2002), es que cuando las temperaturas se encuentran próximas al mínimo biológico (8-10°C), las plantas tienden a la “feminización”, mientras que a temperaturas mayores a 30°C tienden a la “masculinización” (Zaccari, 2002).

Fruto

El fruto es esférico, con carpelos (tajadas) poco profundos. La cáscara del fruto maduro es de color verde oscuro y muy dura, de allí también el nombre de “zapallo cascara de hierro”, (Pletsch, 2008).

Los frutos de zapallo por su patrón respiratorio son del tipo no climatérico. La tasa respiratoria es más alta en las etapas iniciales de crecimiento. Luego del cuajado, durante la maduración y posteriormente a la cosecha, la tasa respiratoria va disminuyendo. Los cambios durante el crecimiento del fruto están acompañados de un incremento de la firmeza de la cáscara (40 a 95 kg cm²), concentración de almidón (que luego va degradándose en azúcares más simples como sacarosa, fructosa y glucosa), aumenta el contenido de carotenoides en la pulpa, se intensifica el color de la cáscara de la zona de apoyo del fruto y se desarrollan y maduran las semillas (Zaccari, 2002). La madurez del fruto se caracteriza por la pérdida de brillo, por la aparición de pequeñas manchas de color naranja en forma de salpicado, por la formación de una capa cerosa blanquecina, por la senescencia de los tejidos del pedúnculo y fundamentalmente por la dureza que adquiere la cáscara (Pletsch, 2008).

Semilla

La semilla es de gran tamaño, chata, ovada, con una de sus extremidades terminada en punta, y un peso individual aproximado de 50 a 150 mg. El gran tamaño está asociado a una gran reserva cotiledonal que favorece la germinación y el establecimiento de las plántulas. Las semillas maduras no contienen endospermas funcionales. El embrión llena por completo la cubierta de la semilla y las reservas se almacenan en los cotiledones en forma de lípidos, en pequeños cuerpos esféricos denominados esferosomas, y de proteínas, en orgánulos de proteínas. En el fruto, los componentes predominantes del mesocarpio son carbohidratos, mientras que en las semillas predominan lípidos y proteínas, que aportan hasta el 80-85% del peso seco (PS) del embrión (Della Gaspera et al., 2013).

El cultivo de zapallo tetsukabuto. Usos y costumbres. Producción en el contexto mundial, nacional y regional.

Los zapallos tienen sus orígenes en zonas tropicales y subtropicales. Pertenecen a la familia de las Cucurbitáceas, género *Cucurbita* del cual se han registrado 27 especies. Numerosos autores concuerdan, que las especies de la familia Cucurbitácea son de gran importancia económica a nivel mundial. El género *Cucurbita* ha formado parte de todas las culturas indígenas del Nuevo Mundo desde el sur de Canadá, hasta Argentina y Chile (Nee, 1990).

La flor y el fruto de *Cucurbita maxima* se consumen como verdura; el fruto se conserva, en condiciones adecuadas de luz, temperatura y humedad, hasta seis meses en buenas condiciones. Es rico en betacaroteno y glucosa.

El fruto contiene numerosas semillas, las cuales presentan pulpa blanca comestible. Con ellas se elaboran las tradicionales pepitas (o semillas como en algunas partes de México se les conoce, "pipas" en España), secando las semillas al sol, y tostándolas en un comal, con sal, sin que se quemen. Es muy común encontrarlas en puestos de la calle envueltas en bolsas de papel celofán. A estas semillas o pipas se las conoce como pipas de calabaza y se les otorgan propiedades curativas y preventivas en el ámbito de la medicina natural.

La calabaza forma parte de los rituales del Día de Muertos de varios países de América. En Colombia, como en otros países su nombre es diferente de acuerdo a la forma: a la más grande (que es la asociada con el Halloween), se le denomina ahuyama, mientras a las pequeñas se les llama calabaza o vitoria, si es alargada, color verde oscuro y rayas se le llama calabacín (indistintamente también recibe este nombre el fruto de la planta de calabacín (*Cucurbita pepo*). En las regiones de Nariño y Cauca se le da el nombre de zapallo debido a la influencia de los Andes sudamericanos (principalmente de Ecuador). Por su parte, en Venezuela se le llama simplemente auyama.

Según datos provistos por el portal El Territorio (2013), Argentina se ubica entre los 10 principales países productores, ya que se estima un volumen de producción de entre 420.000 y 450.000 toneladas en una superficie que supera las 25.000 hectáreas.

En Argentina se cultivan alrededor de 32.500 hectáreas con diversas especies de cucurbitáceas, de las cuales 22.000 corresponden a calabazas con una producción estimativa de 385.200 toneladas anuales. Las otras 10.500 hectáreas corresponden al tipo zucchini y redondo de tronco (zapallito), obteniendo en promedio 263.500 toneladas por año (Larrazabal, 2011).

Las provincias de Santiago del Estero, Salta, Formosa, Mendoza, San Juan, Chaco, Buenos Aires y Santa Fe son algunas de las más productivas y mejor posicionadas en este cultivo.

Mientras que en Brasil los rendimientos promedios rondan en los 22.000 kg ha⁻¹, en Argentina hay provincias como las de Formosa o Chaco donde los rendimientos alcanzan a 25.000 kg ha⁻¹ y en Corrientes ronda entre 3.000- 12.000 kg ha⁻¹. Si bien las condiciones ambientales son propicias, los suelos de Corrientes no presentan las mismas condiciones de fertilidad que en otras regiones (Pletsch, 2008).

A pesar de su enorme potencial productivo, de ser una especie con destacable plasticidad ambiental y de su tolerancia a factores adversos, tanto como su flexibilidad en cuanto al momento de cosecha; el zapallo Tetsukabuto en la región NEA no ha logrado su máxima expresión en rendimiento como en otras partes del país.

El rendimiento de los cultivos, en definitiva, se define a través de procesos de crecimiento y desarrollo, que se encuentran bajo control genético y están modulados por factores ambientales, a los que se agregan las prácticas culturales (Alves, 2002).

En este sentido una de las prácticas de manejo más difundidas en otras especies tan diversas como tomate, trigo o maíz es el uso de PGPR que han suscitado la idea de su potencial aplicación en el zapallo Tetsukabuto como opción de revertir la brecha de rendimiento antes mencionadas. A través de la revisión bibliográfica exhaustiva, no se encontraron antecedentes sobre la inoculación en el cultivo de zapallo Tetsukabuto, como tampoco sobre la interacción entre las bacterias del género *Rhizobium*, como promotor

de crecimiento y desarrollo de este cultivo. Si bien existen antecedentes de algunos rizobios con no leguminosas cuyo resultado es la formación de nódulos y la capacidad de

fijar nitrógeno atmosférico. *Rhizobium* puede formar nódulos y fijar nitrógeno atmosférico con *Trema* (*Trema micrantha*), un árbol que crece en regiones tropicales y subtropicales (Atlas & Bartha, 2002). Las Bacterias que promueven el crecimiento de plantas directamente (fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, quelación de hierro y producción de fitohormona) o indirectamente (supresión de organismos patógenos de plantas, inducción de resistencia en plantas hospedadoras contra patógenos de plantas y estrés abiótico) se denominan rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR) (Gopalakrishnan et al, 2015)

En este contexto de producción, la presente tesis se planteó sobre la base de la importancia económica y el potencial del cultivo de zapallo Tetsukabuto en la Provincia de Corrientes. El objetivo de esta investigación es poder modelizar el comportamiento de este híbrido frente a la aplicación de PGPR (*Rhizobium tropici*) como práctica de manejo innovadora en un esquema de producción sustentable a fin de elevar los rendimientos finales estudiando variables ecofisiológicas tales como: el área foliar y la economía del carbono en base a la partición de fotoasimilados e índice de cosecha. Se consideró a *Rhizobium tropici* por su tolerancia a suelos ácidos y suelos arenosos, y las posibilidades de soportar estrés de hídricos en periodos de altas temperaturas que otras especies de rizobios y están más adaptadas a las condiciones de suelos tropicales (Soares, 2006).

Haciendo mención a su fenología para completar un ciclo de crecimiento, la planta de zapallo pasa por 2 fases fisiológicas principales y bien definidas una etapa de crecimiento inicial vegetativo (45-50 días) y luego de la aparición de las flores se superponen crecimiento vegetativo y reproductivo completando su ciclo entre 90 a 110 días (Zaccari, 2002). La bibliografía revisada hace una descripción de las 9 fases fisiológicas principales en términos de tiempo cronológico (siembra, emergencia, 2 hojas verdaderas, elongación de guías >50cm., flores abierta, flores fecundadas, frutos maduros, cosecha).

Numerosos estudios dan cuenta que la duración de las fases fenológicas que experimentan los vegetales depende de la temperatura; que la T_b (temperatura base) y el tiempo térmico requerido para cumplir una fase puede variar entre cultivares (Sadras et al., 2002). A pesar de ello, hasta el momento, no se han publicado investigaciones de la fenología del zapallo Tetsukabuto en términos de grados día acumulados para el cumplimiento de las fases y menos aún para las condiciones productivas de la zona NEA. Esta tesis planteó estudiar y caracterizar las fases fenológicas del zapallo Tetsukabuto que permitan conocer cómo crecen y cuándo se determinan los componentes del rendimiento (número de frutos por unidad de superficie y peso de estos) en términos de grados día acumulados.

CAPÍTULO II

APLICACIÓN DE PGPR *Rhizobium tropici* EN EL CULTIVO DE ZAPALLO TETSUKABUTO BAJO CONDICIONES SEMI-CONTROLADAS

Introducción:

Los PGPR de vida libre se han mostrado prometedores como biofertilizantes. Muchos estudios y revisiones han informado sobre la promoción del crecimiento de las plantas, incremento del rendimiento, solubilización de P (fósforo) o K (potasio), absorción de N (nitrógeno) y algunos otros elementos a través de la inoculación con PGPR. Además, los estudios han demostrado que la inoculación con PGPR mejora el crecimiento de la raíz, lo que lleva a un área de superficie de exploración amplia y mayor cantidad de pelos radiculares (Singh, 2013).

La colonización radical es el primer paso esencial en la interacción de las bacterias benéficas con las plantas (Fabra *et al.*, 2007). Para actuar como PGPR con especies no leguminosas, los “rizobios” deben ser capaces de colonizar y sobrevivir en la rizósfera de estas plantas. Así mismo se ha demostrado la acción favorable de *Rhizobium* sobre el rendimiento y los componentes de este en especies tan disímiles como arroz, trigo, maíz, tomate, nabo y espárrago. Específicamente en trigo influyó favorablemente en el desarrollo general de la planta en términos de peso seco aéreo, longitud de tallos e incrementó hasta en 25% el rendimiento en grano respecto de plantas no inoculadas en suelos químicamente pobres de Cuba, si bien se han reportado diferencias sustanciales entre la respuesta en invernadero y a campo (Santillana *et al.*; 2005, Fabra *et al.*, 2007). Asimismo, Santillana *et al.*, 2005; comprobaron incrementos notables de materia seca total (64-70%) y su partición en aérea (56%) y de raíces (159%) en plantas de tomate inoculadas respecto de testigos no tratados.

La PGPR que colonizan la superficie o la parte interna de las raíces desempeña importantes funciones beneficiosas que influyen directa o indirectamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Glick *et al.*, 1999; Gerhardt *et al.*, 2009).

Existen muy pocos datos en cuanto al uso de microorganismos de la rizósfera en cultivos de cucurbitáceas. En una revisión de la literatura, enfocada en los efectos de los hongos micorrízicos arbusculares (AMF) y las rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) en la calidad de los cultivos, Bona *et al.* (2016) menciona el efecto de diferentes AMF en la calidad de los frutos del pepino común (*Cucumis sativus*). Por otro lado, Islam *et al.* (2016) trabajaron en la identificación y caracterización de PGPR nativo a la rizósfera de *C. sativus* en Bangladesh, y en la evaluación de su habilidad para suprimir *Phytophthora crown rot* y como promotores del crecimiento. No se han encontrado otros trabajos realizados en cucurbitáceas.

Hipótesis:

La aplicación del PGPR *Rhizobium tropici* como biofertilizante, promueve el crecimiento de plántulas de zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima x Cucurbita moschata*) bajo condiciones semi-controladas.

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la inoculación de *Rhizobium tropici* como promotor del crecimiento en semillas y plántulas de zapallo Tetsukabuto en condiciones semi controladas.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de la inoculación de semillas de zapallo Tetsukabuto con *Rhizobium tropici* en la colonización de las raíces por rizobios y su caracterización a escala de laboratorio.

- Evaluar el efecto de la inoculación con *Rhizobium tropici* en la producción de biomasa radical y aérea de plántulas de zapallo Tetsukabuto en condiciones semi controladas (vivero).

Materiales y métodos:

Descripción del material biológico y experimentos

Material vegetal evaluado: zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*) Semillas Tokita Seed Co. Ltd.®

Inoculante comercial: La formulación es a base de *Rhizobium tropici*- Rizobacter Argentina S.A. ® conteniendo 1×10^{10} UFC/ml.

A los 10 días después de la siembra se evaluó el poder germinativo (%), el peso (g) fresco y seco de plántula (Tabla 1) y la colonización de raíces para determinar la dosis que se utilizó luego para la experimentación a campo y en condiciones semi controladas.

1-Ensayo preliminar en laboratorio

En el laboratorio de la Cátedra de Microbiología en la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE, en calle Sargento Cabral 2131, Corrientes, Capital (27° 27' 29.00" S, 58° 49' 24.47" O) se realizó una prueba de poder germinativo con semillas inoculadas con dos diferentes dosis de *Rhizobium tropici* y con tres repeticiones por dosis (Fig. 1).

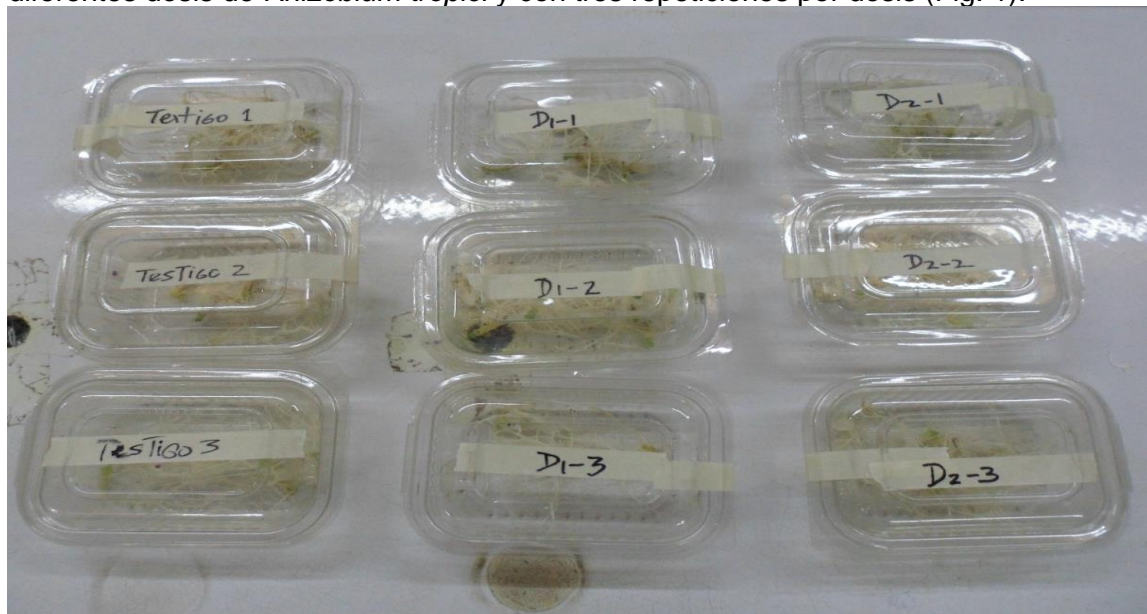


Figura 1: Ensayo preliminar de dosificación con *Rhizobium tropici* para determinar el poder germinativo de zapallo Tetsukabuto con dos dosis diferentes y un testigo.

Tabla 1: Poder germinativo (%), peso fresco y seco de plántulas (g) de zapallo Tetsukabuto con dos dosis de inoculación con *Rhizobium tropici*, 10 DDS (días después de la siembra).

Fecha de control	Tratamientos		
	T0	T I: Dosis I (0,05ml)	T II: Dosis II (0,1ml)
Poder Germinativo (%)	96%	96%	73%
Peso fresco promedio de plántula en g	1,66	1,61	1,50
Peso seco promedio de plántula en g	0,13	0,13	0,12

En función de los resultados obtenidos se eligió el tratamiento con dosis 0,05 ml de inoculante por semilla (TI, DI), ya que arrojaron un mayor poder germinativo con respecto al del Tratamiento TII.

2-Ensayo en macetas bajo condiciones semi-controladas

El ensayo se llevó adelante entre los meses de febrero-marzo bajo un invernadero tipo capilla de 24 x 7 x 3 m, con techo cubierto con plástico de 150 µm de larga duración térmica con ventilación lateral de la Cátedra de Microbiología Agrícola la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE, en calle Sargento Cabral 2131, Corrientes capital.

Posición geográfica: 27° 27' 29.00" S, 58° 49' 24.47" O

Metodología

Las semillas se inocularon con la dosis de bacteria PGPR de 0,05 ml por semilla.

Se prepararon macetas de 1,5 litros de capacidad, con suelo extraído del lote donde se realizó la replicación del ensayo a campo. El suelo utilizado para esta experiencia no fue esterilizado ni tratado químicamente a fin de replicar exactamente las condiciones en la que se encuentra en el campo en términos químicos y biológicos cuyas características se encuentran descriptas en el capítulo III. Las macetas se prepararon con el suelo bien mullido y acondicionado de la misma manera y se identificaron con rótulos para cada tratamiento, sembrándose tres semillas por maceta con posterior raleo de plántulas, dejándose prosperar una por maceta manteniendo en condiciones de humedad adecuada para facilitar su crecimiento.

Descripción de tratamientos:

- Tratamiento 1: testigo (sin inocular, ni fertilizar)
- Tratamiento 2: inoculado con *Rhizobium tropici* y sin fertilizar.
- Tratamiento 3: sin inocular con aplicación de fertilizante de síntesis química, fosfato di-amónico (18-46-0) de base a razón de 0,05 g por macetas, aplicados en solución con pipeta de 5ml por maceta, equivalente a 30 g. por planta en condiciones de campo.

Cada tratamiento contaba con diez repeticiones (macetas) dispuestas sobre mesada de manera aleatoria alternando semanalmente la posición de estas a fin de uniformizar condiciones de luz.

Variables medidas a los 30 días de la siembra (DDS):

Volumen de raíces (cm³): por volumetría (técnica de desplazamiento de Böhm, 1979).

Peso seco de la biomasa de la parte aérea y de raíces (g): por gravimetría (secado en estufa a 60°C hasta peso constante).

Área Foliar (cm²): por método de estimación no destructiva de Blanco y Folegatti (2003).

Colonización bacteriana de raíces: Se extrajeron las plantas de las macetas, se separó parte aérea de raíces y se procedió al lavado de estas (Bashan et al 1993). Las raíces fueron sembradas en caja de Petri (Fig. 2) en medio EMA (Manitol 10 g K₂HPO₄, 0.5 g, MgSO₄·7H₂O 0.2 g, NaCl 0.1 g, Extracto de levadura 1 g, Rojo congo 10 ml, Agua destilada 1 litro, Agar 18 g) y se incubaron a 28°C durante 24 horas. Posteriormente se realizaron observaciones del crecimiento bacteriano alrededor de las mismas con lupa Leica EZ4D. El crecimiento fue caracterizado macroscópicamente y luego se realizó tinción de Gram para corroborar características celulares compatibles con *Rhizobium tropici*. El medio utilizado YEM agar o YEMA (Vicent, 1970), es semi selectivo para rizobios, *Agrobacterium* y otros microorganismos Gram (-) del suelo (Pattison y Skinner, 1974).

Todo el procedimiento se realizó dentro de cabina de flujo laminar tomando las precauciones necesarias para evitar contaminación y alteración de los resultados.

Los datos de todas las variables evaluadas fueron analizados utilizando el test de análisis de la variancia (ANOVA) y la separación de medias por el Test de Tukey ($p=0,05$)

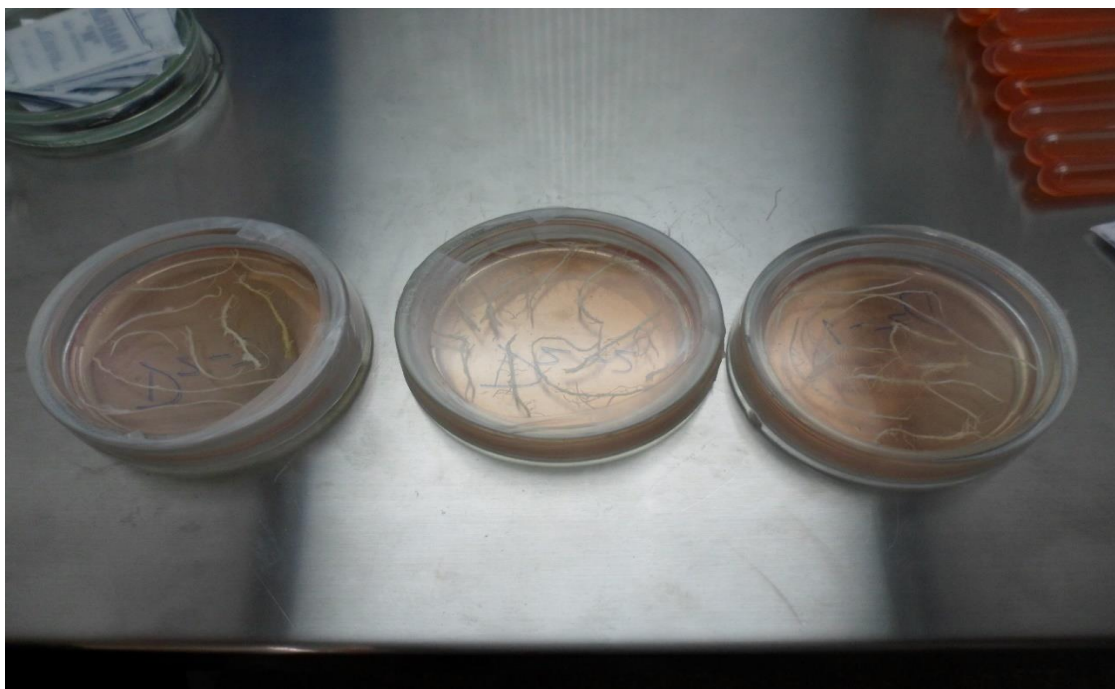


Figura 2: Siembra de raíces en caja de Petri en medio EMA.

Resultados de ensayo de la campaña 2014.

Tabla 2: Biomasa seca (g) de parte aérea y raíces, volumen de raíces (cm³) y área foliar (cm²) a 30 DDS medidas en el año 2014

Tratamientos	Biomasa seca Parte aérea (g)	Biomasa seca raíces (g)	Vol. Raíces (cm ³)	Área Foliar (cm ²)
T1	222,70 a	0,51 a	7,9 a	184.6 a
T2	171,10 b	0,44 ab	8,2 a	182.8 a
T3	190,90 ab	0,40 b	7,2 a	185.4 a
CV%	20,21	22,58	22,00	18,00

Nota: Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Los resultados hallados y expresados en la (tabla 2) en condiciones controladas mostraron que la variable peso seco de parte aérea de la planta presentó diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T2 siendo mayor en el tratamiento testigo (T1). El peso seco de raíces se diferenció de manera significativa entre los tratamientos T1 y T3 siendo mayor en el tratamiento testigo. Sin embargo el volumen de raíces y el área foliar no mostraron diferencias entre tratamientos.

Resultados de ensayo de la campaña 2015.

Tabla 3: Biomasa seca (g) de parte aérea y raíces, volumen de raíces (cm³) y área foliar (cm²) a 30 DDS medidas en el año 2015.

Tratamientos	Biomasa seca Parte aérea (g)	Biomasa seca raíces (g)	Vol. raíces (cm ³)	Area Foliar (cm ²)
T1	233,00 a	0,57 a	8,50 a	274,00 a
T2	178,00 b	0,49 ab	8,70 a	181,00 b
T3	180,00 b	0,39 b	8,20 a	163,00 b
CV%	18,57	26,23	22,00	17,00

Nota: Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

En los resultados tomados en condiciones semi-controladas del año 2015, las variables asociadas a la parte aérea de la planta, peso seco (g) y área foliar (cm²) del tratamiento T1 superaron significativamente a los demás, que a su vez no mostraron diferencias significativas entre ellos.

Como se observan los resultados en la tabla 3, las variables relacionadas a las raíces, el peso seco (g) entre T1 y T3 fue significativamente diferente, pero el volumen de raíces (cm³) no mostró diferencias estadísticas entre tratamientos.

Para la variable área foliar, solo hubo diferencia significativa entre el tratamiento testigo T1, con los dos tratamientos T2 y T3, siendo menor en estos últimos.

Finalmente, se pudo observar que las variables han presentado respuestas dispares y erráticas en cada año de muestreo y que particularmente la variable volumen de raíces no resultó sensible a los tratamientos durante ambas campañas.

Colonización de bacterias en raíces.

Al igual que en la campaña 2014 los resultados observados en la campaña 2015 para los tres tratamientos fueron similares entre sí, presentando en todos los casos crecimiento de colonias de bacterias alrededor de las raíces (Fig. 3, 4 y 5). Por otra parte, se pudieron observar tanto células Gram (-) como Gram (+), no marcándose una colonización diferenciada para el tratamiento inoculado.



Figura 3: Raíces de zapallo Tetsukabuto sin inocular y sin fertilizar, tratamiento testigo (T1), sembradas en medio de cultivo EMA. (Macetas 1;5;7, años 2015)

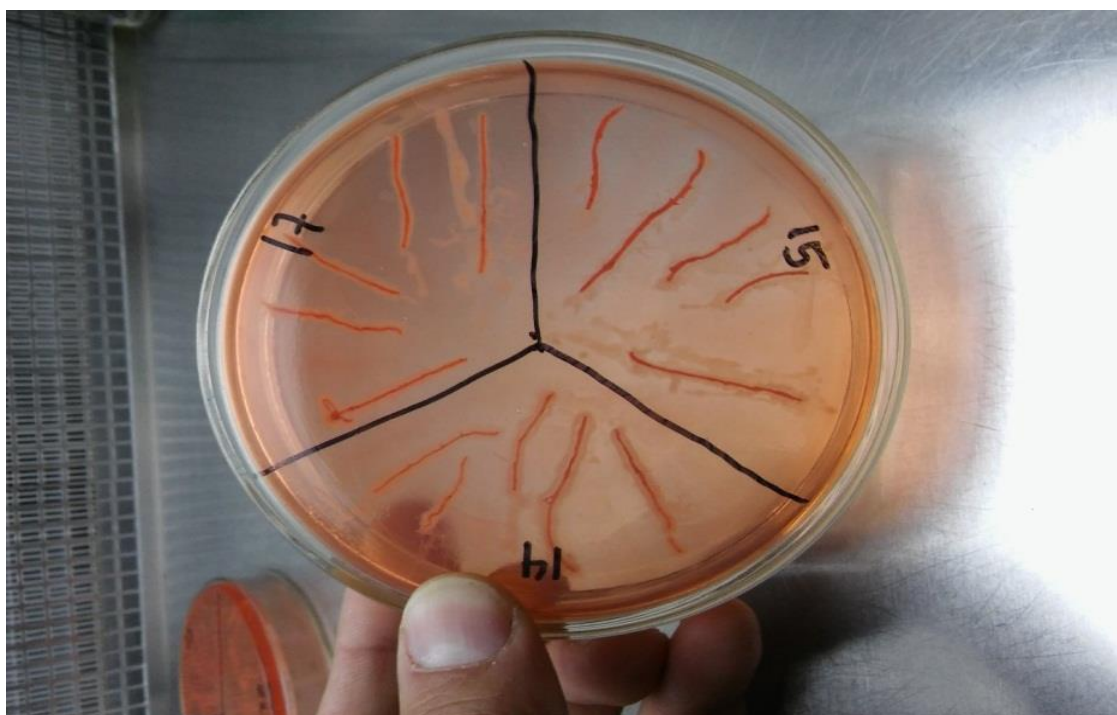


Figura 4: Raíces de zapallo Tetsukabuto inoculadas con *Rhizobium tropici* y sin fertilizar (T2), sembradas en medio de cultivo EMA. (macetas 14;15;17, año 2015)



Figura 5: Raíces de zapallo Tetsukabuto sin inocular con fertilización (T3), sembradas en medio de cultivo EMA. (año 2014)

Discusión

La introducción de una gran cantidad de bacterias exógenas como inoculante tiene el potencial de afectar los microorganismos residentes o preexistentes, y similarmente, un inoculante puede verse afectado por ellos. Dichas interferencias pueden resultar en un efecto incrementado, decreciente o nulo sobre la efectividad del PGPR (Castro-Sowinski et al., 2007; Mehboob, 2012).

En general, se han demostrado tres tipos de interacciones rizobiales con especies de plantas no leguminosas: i) interacciones que resultan en el crecimiento y la promoción del rendimiento de las no leguminosas que interactúan, ii) aquellas que producen un efecto negativo o perjudicial sobre el crecimiento y el rendimiento de plantas no leguminosas inoculadas y iii) aquellos que no pueden resultar en ningún aumento o disminución (Mehboob, 2012).

Con relación al contexto suelo-planta-ambiente, ciertos grupos pueden verse favorecidos, mientras otros inhibidos, o bien los PGPR introducidos pueden no afectar a la estructura poblacional (Nacamulli et al., 1997; Dobbelaere et al., 2003).

Las condiciones ambientales asimismo alteran la actividad microbial del suelo, es decir que, las nuevas condiciones en las que se encuentran los microorganismos fuerzan a sufrir cambios en su composición y su funcionalidad (Waldrop & Firestone, 2006).

En el presente trabajo en condiciones controladas, el tratamiento de semillas de zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima x Cucurbita moschata*) tratadas con inóculos de *Rhizobium tropici* no incrementó significativamente el crecimiento de las plantas respecto de aquellas a las que se les aplicó un fertilizante.

En las condiciones del experimento resultó particularmente evidente la indiferencia de las plantas de esta especie frente a la aplicación del *Rhizobium tropici* (T2) en el plazo acotado de evaluación correspondiente a 30 días después de la siembra (DDS). Cabe acotar que se esperaban diferencias en la población rizosférica del tratamiento inoculado en relación con los otros tratamientos. Siendo esta colonización casi

exclusividad por los rizobios situación que no resulto, dada la presencia de bacterias Gram + y Gram – de forma uniforme en todos los tratamientos.

Las respuestas podrían asociarse a factores de diversa índole: i) condiciones climáticas, ii) condiciones edáficas, iii) especie de planta hospedante, iv) especie de organismo PGPR y su formulación, dosis y momento de aplicación, entre otros tantos.

De acuerdo al trabajo de Islam, *et al* (2016) sobre el uso de PGPR en plantas de pepino, manifestó que la población de bacterias inoculadas fue mayor en las raíces a los 21 días de su inoculación.

De cualquier manera, para que estas relaciones manifiesten respuestas observables y medibles necesitan un lapso determinado, que al juzgar por los resultados hallados no fue el suficiente para que las plántulas lleguen a poder expresarlo a través de variables sensibles y cuantificables en los términos del presente experimento.

Conclusiones:

Todos los tratamientos presentaron crecimientos de colonias de bacterias en raíces sin diferenciarse entre ellos, observándose en todos los casos células Gram (+) y Gram (-) no marcándose una colonización diferenciada para el tratamiento inoculado T2.

El tratamiento inoculado (T2) no promovió el crecimiento de las plantas bajo las condiciones semi controlados en que se llevó a cabo el experimento.

CAPÍTULO III

APLICACIÓN DE PGPR *Rhizobium tropici* EN EL CULTIVO DE ZAPALLO TETSUKABUTO EN CONDICIONES DE CAMPO.

Introducción:

La agricultura sostenible implica el manejo exitoso de los recursos agrícolas para mantener o mejorar la calidad del medio ambiente sin la explotación de los recursos naturales de las generaciones futuras (Singh, 2013).

Últimamente el uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados en agricultura ha ocasionado graves problemas de contaminación. No todo el fertilizante que se aplica es aprovechado por la planta, sino que una cuantía importante acaba en lagos y lagunas (Cuadrado *et al.*, 2009). Por tal motivo, es necesario buscar alternativas estratégicas sustentables para la producción de cualquier cultivo, siendo la del uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) una de las opciones naturales de fertilización (Cuadrado *et al.*, 2009).

Las interacciones entre microorganismos y entre plantas-microorganismos benéficos son de difícil predicción, pero se considera que las comunidades microbianas que se encuentran asociadas con el sistema de raíces desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de prácticas agrícolas sustentables. Estas interacciones que ocurren en la rizósfera son las determinantes de la sanidad vegetal y de la fertilidad de los suelos, donde los microorganismos juegan un papel fundamental en la transformación, movilización y solubilización de nutrientes y su subsecuente incorporación para alcanzar óptimos rendimientos (Cano, 2011).

Bacterias del género *Rhizobium* fueron las primeras en producirse a gran escala y se ha añadido como inoculante durante 105 años a diversos cultivos agrícolas, con éxito en muchos casos (Cuadrado *et al.*, 2009). Su aplicación como biofertilizante con el fin de incrementar la producción primaria, cobra cada vez más importancia debido a los problemas ambientales por el uso excesivo de fertilizantes químicos convencionales.

Las bacterias del género *Rhizobium* son promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) y se le reconoce como la principal fijadora simbiótica de nitrógeno en especies de la familia de las Leguminosas. Sin embargo, las asociaciones entre rizobios y plantas no leguminosas pueden mejorar el crecimiento de las plantas, aunque no se ha demostrado que sea mediante la fijación de nitrógeno, sino más bien debido a la producción de sideróforos, fitohormonas o solubilización de fosfatos (Rosenblueth y Martínez, 2006).

De acuerdo con Ahmad (2006), citado por (Camelo *et al.*, 2011), se conocen mecanismos directos e indirectos para la promoción del crecimiento vegetal.

Los mecanismos directos se relacionan con la producción de fitohormonas de tipo auxinas y giberelinas por parte de la planta que pueden afectar la disponibilidad de nutrientes por la intervención directa en los ciclos biogeoquímicos. Tal es el caso de la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de nutrientes tan importantes como el fósforo.

De manera indirecta las PGPR pueden contribuir al control biológico de enfermedades, la producción de antibióticos y de sideróforos (Camelo *et al.*, 2011).

Estos antecedentes han constituido las bases sobre los que se planteó la hipótesis que a continuación se describe.

Hipótesis:

La aplicación del PGPR *Rhizobium tropici* como biofertilizante, promueve el crecimiento y desarrollo de plantas de zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*) incrementando los rendimientos, en un esquema de producción sustentable.

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la inoculación de *Rhizobium tropici* como promotor del crecimiento en plantas de zapallo Tetsukabuto en un marco de producción sustentable.

Objetivo específico:

Evaluar el crecimiento, desarrollo y rendimiento de zapallo Tetsukabuto en respuesta a la inoculación con *Rhizobium tropici* en condiciones reales de producción a campo

Materiales y métodos:**Descripción del material biológico y experimentos**

En ambos ensayos, a campo y en condiciones semi-controladas (vivero), se utilizó el mismo material vegetal y los mismos tratamientos:

- Material vegetal evaluado: zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*). Semillas de Tokita Seed Co. Ltd.®
- Material vegetal utilizado como polinizador: zapallo gris plomo (*Cucurbita maxima*) CAPS S.A.®
- Inoculante comercial: La formulación es a base de *Rhizobium tropici*- Rizobacter Argentina S.A. conteniendo 1×10^{10} UFC/ml.

Descripción de tratamientos:

- Tratamiento 1: testigo (sin inocular, ni fertilizar)
- Tratamiento 2: inoculado con *Rhizobium tropici* con 0,05 ml por semilla al momento de la siembra y sin fertilizar.
- Tratamiento 3: sin inocular con aplicación de fertilizante de síntesis química (fosfato di-amónico) de base a razón de 30 gramos por semilla al momento de la siembra.

-Localización geográfica del sitio de experimentación

El ensayo se realizó en el predio del Campo Didáctico- Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE (Fig. 9), ubicado en el Departamento Capital de la Provincia de Corrientes (27° 28' Lat. S y 58° 16' Long. O), República Argentina. Ruta Nac. N° 12, Km 1031.

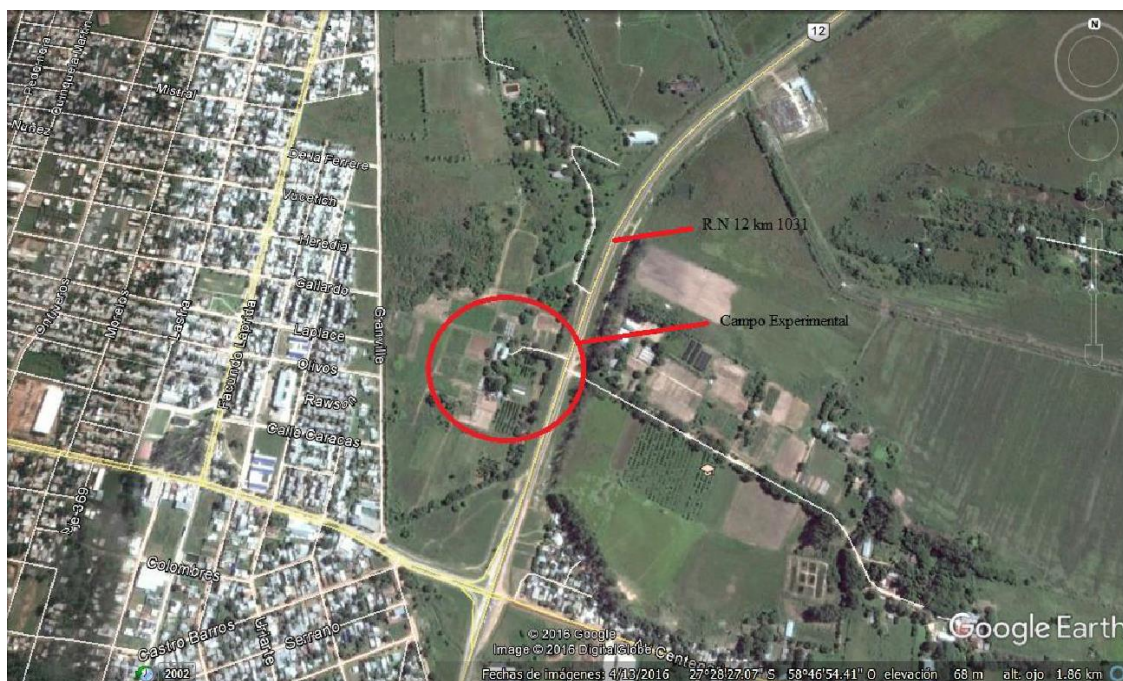


Figura 6: Sitio de experimentación a campo. Campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias UNNE, Corrientes

-Caracterización climática del sitio:

El clima de la región es caracterizado como subtropical o templado cálido, correspondiente a los “bosques siempreverdes” de tipo mediterráneo (Bruniard, 2000).

Régimen térmico: la temperatura media anual varía alrededor de 21,5 °C, la temperatura media del mes más frío (Julio) entre 16 °C y 13° C y la media del mes más cálido (enero) entre 27° y 26° C, la escasa variación anual define al clima correntino como subtropical o mesotermal. En verano se registran máxima absolutas de 42,5°C a 46,5 °C, según zonas, y en invierno, mínimas absolutas de -1°C a -5,5 °C. Sin embargo, las heladas son poco frecuentes, con 320 a 360 días libres de heladas, con frecuencias medias anuales en el Norte de 0,4 (junio-julio), no registrándose ninguna entre octubre y abril.

Régimen pluviométrico: las lluvias abundantes y frecuentes, superan 1500 mm anuales. La principal característica de este régimen es la irregularidad estacional en la distribución de lluvias, siendo el otoño la época más lluviosa y el invierno la más seca, con un máximo secundario en primavera y un mínimo secundario en verano. Por la precipitación registrada no se puede hablar de estaciones secas ni de sequías de importancia (Carnevali, 1994).

El registro de las precipitaciones y temperaturas medias mensuales ocurridas durante las experimentaciones a campo de febrero-julio en los años 2014-2015, se presentan en las figuras 7 y 8 respectivamente.

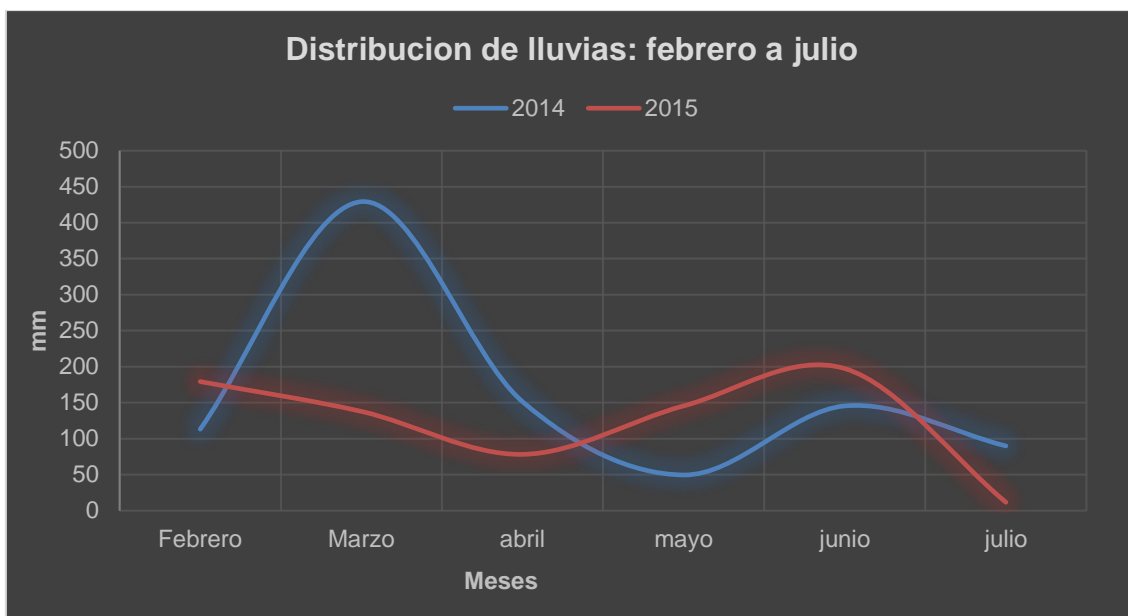


Figura 7: Precipitaciones mensuales registradas entre los meses febrero a julio del año 2014 y 2015 en el sitio de experimentación a campo.

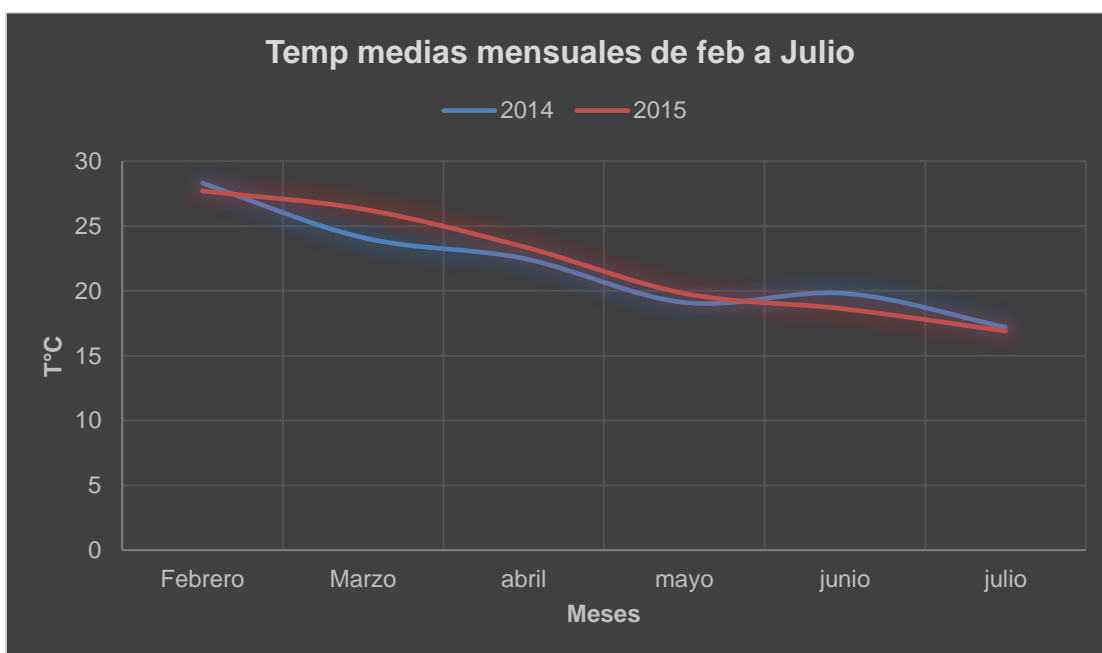


Figura 8: Temperaturas ($T^{\circ}C$) medias mensuales registradas en los meses de febrero a julio, del año 2014 y 2015 en el sitio de experimentación a campo.

En referencia a las condiciones climáticas registradas en las campañas productivas evaluadas y que fueran presentadas en las Fig 7 y 8, se pudo observar que las precipitaciones registradas en los años de experimentación, 2014 y 2015, tuvieron una marcada diferencia entre ambos años. En 2014 se registró entre los meses de febrero a julio, una precipitación acumulada de 978.8 mm; mientras que en 2015 la misma fue de 750 mm que se distribuyeron de manera más homogénea a lo largo de los meses del ciclo del cultivo, en relación a la distribución de las precipitaciones del año 2014.

-Caracterización edáfica del sitio:

El suelo del sitio de experimentación es clasificado como Udipsamment árgico (Escobar *et al.*, 1996), mixta, hipertérmica, perteneciente a la Serie Ensenada Grande. Estos suelos se encuentran dentro de los albardones, depresiones y plano de la terraza entre el Arroyo Riachuelo y el Arroyo Sombrero. Presentan una granulometría gruesa en superficie, de colores pardo a pardo rojizo en los horizontes subyacentes, son profundos (> 100 cm), masivos muy friables y mediano a débilmente ácidos en el horizonte A. Esta serie representa a los suelos de las lomadas rojizas, del cordón arenoso de Capital - Itatí. Son las áreas de mayor altura, de ahí que sean muy utilizadas para agricultura, fruticultura y horticultura, con características de minifundio y para forestación. Son suelos de excelentes condiciones físicas, pero realmente baja fertilidad natural. Poseen bajos tenores de materia orgánica (en general no llega al 1 %) y de bases de cambio (0,44 a 7,60 cmol·kg⁻¹). Su baja fertilidad natural y susceptibilidad a la erosión, ubica a estos suelos en Subclase II e y III e (Escobar *et al.*, 1996).

Diseño del Experimento de Campo

Se utilizó un diseño en bloques completo al azar, con 3 repeticiones para cada tratamiento. Cada parcela estuvo constituida por 28 plantas en 4 líneas distanciadas a 3 m. Constaban de borduras perimetrales e internas y se muestreaban solo los 2 líneas del medio de la parcela dejando un línea de bordura de cada lado.

Análisis de suelo:

Se tomaron muestras de suelo siguiendo la metodología citada por Prause (2006), para la caracterización química del mismo en el Laboratorio Provincial de Calidad Agropecuaria del Ministerio de Producción de la Prov. de Corrientes.

Tabla 4: Análisis Químico del Suelo del sitio de experimentación a campo

Parámetro	pH	N	P	K	Ca	Mg	M.O
unidad	-	[%]	[ppm]	[meq/100g]	[meq/100g]	[meq/100g]	[%]
muestra	6.33	0.05	16	0.10	6	1.5	0.45

Registro de Datos Meteorológicos

Los datos meteorológicos han sido obtenidos a partir de la Estación meteorológica automática del ICAA (Instituto Correntino del Agua y del Ambiente), con registro diario temperaturas en grados centígrados, en abrigo a 1.5 m, precipitaciones diarias y mensuales.

Preparación de suelo:

En el mes de enero de ambas campañas, 2014 y 2015, se realizó el acondicionamiento del suelo con una rastra liviana y se mantuvo la limpieza del lote con controles químicos y mecánicos de malezas hasta el momento de la fecha de siembra.

Sistematización del lote, se realizaron camellones de 1 m de ancho y una altura de 40 cm sobre el nivel del suelo y canales de desagües para evitar encharcamiento y/o estancamiento del agua en caso de abundantes precipitaciones.

Previo a la siembra, se hizo la delimitación de los tratamientos y repeticiones con estacas ocupando una superficie total del lote de experimentación de 1.840 m².

Siembra y prácticas de manejo de cultivo

Se realizó la siembra el día 17 de febrero del año 2014 y 17 de marzo en el año 2015 con semillas de zapallo Tetsukabuto de la empresa Tokita Seed Co. Ltd. con un marco de plantación de 3 m entre líneas y 2 m entre plantas.

Variables evaluadas

En cada unidad experimental, se muestrearon al azar 4 plantas, en el primer año y 5 plantas en el segundo año de experimentación para cada medición. Se midieron las siguientes variables:

Área foliar (AF): Para cada tratamiento, la medición del Área Foliar se realizó sobre 4 unidades de muestreo (UM), con 3 repeticiones sobre un diseño en completo al azar. Las determinaciones se realizaron cada 10 días, desde los 30 días después de la siembra (DDS) hasta los 90 DDS, registrándose en todos los casos la dimensión “ancho máximo de la hoja” (AMH) medido en su sección transversal con regla milimetrada, (Fig. 12) a fin de poder estimar AF a través de las fórmulas publicadas por Blanco y Folegatti (2003). Las mediciones se organizaron de la siguiente manera: Se midió el AMH de todas las hojas de la planta entera.

Formula de estimación de Área Foliar (AF):

$$AF= 38 \times 2 \times AMH - 503$$



Figura 9: Esquema de la medición del parámetro ancho máximo de hoja (AMH) para estimar Área Foliar de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas a campo.

Economía del Carbono: Para cada tratamiento se determinó la Biomasa Fresca Total de cada planta (BFTotal) y la partición de la misma en Biomasa fresca del Tallo (BFT), Biomasa Fresca de Hojas (BFH) y Biomasa Fresca de frutos (BFF), que se registraron a los 105 DDS expresándose las biomásas en $g\ pl^{-1}$. Posteriormente, estas mismas muestras se secaron en estufa a $70^{\circ}C$ hasta peso constante para obtener la Biomasa Seca Total (BSTotal), y su partición en Biomasa Seca de Tallos (BST), Biomasa Seca de Hojas (BSH) y Biomasa Seca de Frutos (BSF).

Índice de Cosecha (IC): Para cada tratamiento se calculó como el cociente entre el Peso Fresco de los Frutos por planta y la Biomasa Fresca Total por Planta (BFF/BFTOTAL)

$$IC = \frac{\text{Biomasa de Frutos por planta}}{\text{Biomasa Total de la Planta}}$$

Número de Frutos por Planta (NFPP): se determinó por conteo la cantidad de frutos totales por planta al momento de cosecha (105 DDS).

Díámetro de frutos (DF): se midió con cinta métrica en la zona ecuatorial de los frutos al momento de ser cosechados de cada tratamiento expresándose en cm.

Espesor de pulpa de frutos (EPF): se midió con regla milimetrada. Como medida se tomaron el promedio de cuatro mediciones en distintos puntos de la mitad del fruto expresados en cm. Las medidas se hicieron de todos los frutos cosechados por planta

de cada tratamiento.

Porcentaje de biomasa seca de frutos (MS%): se secaron en estufa a 70 °C hasta peso constante calculando en relación al peso fresco de la muestra.

Resultados y discusión:

Respecto a las respuestas del cultivo frente a los tratamientos evaluados, los resultados hallados se presentan en las Tablas 5 a 11, correspondientes a las campañas 2014 y 2015.

Tabla 5: Biomasa fresca hoja (BFH), biomasa seca hoja (BSH), biomasa fresca tallo (BFT), biomasa seca tallo (BST), biomasa fresca total (BFTotal), biomasa seca total (BSTotal), a los 105 DDS, índice de cosecha (IC), Área foliar (AF), de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), con inoculación con *Rhizobium tropici* y sin fertilizar (T2), fertilizado con fosfato diamónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2014.

TRAT	BFH (g pl ⁻¹)	BSH (g pl ⁻¹)	BFT (g pl ⁻¹)	BST (g pl ⁻¹)	BFTotal (g pl ⁻¹)	BSTotal (g pl ⁻¹)	IC	AF (cm ²)
T1	206,33 a	54,61 a	330,33 a	38,09 a	1379,08 a	199,37 a	0,69 a	7651,7ab
T2	85,75 a	21,39 a	162,92 a	19,44 a	914,58 a	118,16 a	0,70 a	8215,8 b
T3	166,33 a	35,28 a	311,08 a	35,34 a	1317,50 a	155,04 a	0,68 a	6217,4 a
CV %	23	25,9	17,73	22,5	9,00	18,75	26,38	10,20

Letras diferentes indican diferencias significativas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

La biomasa total y particionada tanto en peso fresco como en peso seco y el índice de cosecha no mostraron diferencias significativas en respuesta a los tratamientos.

En cuanto al AF se manifestaron diferencias estadísticas significativas entre T2 y T3, lo que significa que la inoculación permitió una mayor expansión del área foliar, pero que no se tradujo en incrementos significativos de biomasa (Tabla 5). De hecho, en un cultivo frondoso sólo las hojas exteriores están expuestas a una alta luminosidad; las interiores, se desarrollan y trabajan menos que en las zonas soleadas porque la luz que reciben indirectamente es menor.

Por esta razón, podría postularse que las plantas sometidas al Tratamiento T2, si bien alcanzaron máximos valores de AF, no fueron eficientes en la conversión de la radiación interceptada. Probablemente se generó un sombreamiento entre las hojas y por tanto una baja tasa de conversión de radiación en biomasa (Gardner *et al.*, 1985; Andrade y Sadras, 2002).

Finalmente, los tratamientos T1 y T3, permitieron que el aparato fotosintético del cultivo trabaje con mayor eficiencia, dado que con menores valores de AF alcanzaron a convertir la radiación en idénticas cantidades de biomasa total y la particionaron en iguales proporciones entre los diferentes órganos.

Tabla 6: Biomasa fresca de frutos (BFF) y biomasa seca de frutos (BSF) expresados en (g pl⁻¹), materia seca de frutos en % (MS), número de frutos por planta (NFPP) y rendimiento (kg ha⁻¹) a los 105 DDS, de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), con inoculación con rhizobium (T2), con fertilización con fosfato diamónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2014.

Tratamientos	BFF (g pl ⁻¹)	BSF (g pl ⁻¹)	MS de frutos (%)	NFPP	Rendimiento (kg ha ⁻¹)
T1	842,00 a	106,00 a	8,03 a	1,50 ab	1134,00 a
T2	665,92 a	77,33 a	10,84 a	1,00 b	898,96 a
T3	840,42 a	84,42 a	6,10 a	1,83 a	1134,56 a
CV %	23	25	23	20,52	23

Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

En relación al peso de los frutos, las variables evaluadas de peso fresco, peso seco y porcentaje de materia seca de los mismos no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 6).

Por su parte, el otro componente numérico del rendimiento expresado a través de la medición de la variable número de frutos por planta (NFPP) resultó sensible, habiéndose establecido diferencias significativas entre los tratamientos 2 y 3. Entre ambos, el menor número de frutos por planta se encontró con la inoculación con *Rhizobium tropici* (T2) (Tabla 6).

De cualquier manera, el menor número de frutos por planta estaría compensado por un mayor peso individual de los mismos, dado que el rendimiento resultó estadísticamente igual para los tres tratamientos. Este mayor peso individual se asoció asimismo con un mayor tamaño de frutos, lo que se evidencia en la Tabla 7 por las mediciones del diámetro ecuatorial de los mismos (DEF).

Tabla 7: Diámetro de fruto y espesor de pulpa de frutos de zapallo Tetsukabuto expresados en cm y cultivados sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculado con *Rhizobium tropici* (T2), fertilizado con fosfato di amónico (T3) en Corrientes a los 105 DDS durante la campaña 2014.

Tratamientos	Diámetro ecuatorial de frutos (cm)	Espesor de pulpa del fruto en (cm)
T1	12,37 a	2,26 a
T2	12,87 a	2,16 a
T3	12,17 a	2,19 a
C.V.%	14,52	11,11

Nota: Letras iguales indican sin diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

El análisis de calidad comercial de frutos: diámetro ecuatorial y espesor de pulpa se presentaron en la Tabla 7.

Por las mediciones del diámetro ecuatorial de los frutos (Tabla 7), se asume que el mayor peso individual se asoció asimismo con un mayor tamaño de frutos (Tabla 6).

No se encontraron diferencias estadísticas significativas en el espesor de pulpa, por lo que su utilidad con fines culinarios no se vería afectada por los tratamientos aplicados (Tabla 7).

De esta manera podríamos postular, con base en los resultados de la campaña 2014, que con la dosificación de *Rhizobium tropici* asignada por planta, se promueve el crecimiento de frutos, expresados en términos de peso y tamaño individual de los mismos, en detrimento de su número que mostro una diferencia estadística no significativa entre tratamiento. Al no haber diferencias estadísticas en los rendimientos de los diferentes tratamientos, pero sí en el NFPP, se asume que estos debieron haber alcanzado mayor peso individual.

Al estudiar el rendimiento de frutos de zapallo, Zaccari y Soller (2002) observaron que, al aumentar la densidad de plantas de zapallos por unidad de superficie, se incrementa el número de frutos por planta, pero disminuye su tamaño. Asimismo, Lang y Ermini (2010), quienes evaluaron diferentes densidades de cultivo de zapallo, concluyeron que la mayor densidad, se traduce en mayor sombreadamiento e indican un efecto negativo en cuanto al tamaño de frutos por planta.

El rendimiento de un cultivo viene dado por la capacidad de acumular biomasa (materia fresca y seca) y un incremento proporcional particularmente de la biomasa de los órganos que se destinan a la cosecha garantiza un incremento del rendimiento. Los asimilados, producidos por la fotosíntesis en los órganos "fuente" (principalmente las hojas), pueden ser almacenados y distribuidos vía floema entre los diferentes órganos "destino" (frutos) de una planta.

Los cultivos de crecimiento indeterminado, como el zapallo, presentan solamente crecimiento vegetativo en una primera fase muy corta de desarrollo inicial. A continuación, los frutos inician su desarrollo, pasando a ser recolectados continuamente durante un largo período, en el cual los restantes órganos vegetativos de la planta continúan su crecimiento.

Los frutos son los principales órganos destino y compiten entre ellos y con los órganos vegetativos por los asimilados disponibles. En este sentido, los asimilados disponibles en T3, debieron repartirse entre un mayor NFPP y finalmente no resultaron suficientes para sostener el peso individual y el tamaño de estos, lo que denota nuevamente su ineficacia en la conversión de la radiación.

Resultados y discusión de la campaña año 2015

Tabla 8: Biomasa fresca hoja (BFH), biomasa seca hoja (BSH), biomasa fresca tallo (BFT), biomasa seca tallo (BST), biomasa fresca total (BFTotal), biomasa seca total (BSTotal), a los 105 DDS, índice de cosecha (IC), área foliar (AF), de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculada con *Rhizobium tropici* (T2), fertilizada con fosfato di amónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2015.

TRAT	BFH (g pl ⁻¹)	BSH (g pl ⁻¹)	BFT (g pl ⁻¹)	BST (g pl ⁻¹)	BFTotal (g pl ⁻¹)	BSTotal (g pl ⁻¹)	IC	AF
T1	1423,45 a	309,00 a	1663,2 a	668,70 a	3086,65 a	668,72 a	0,66 a	5996,90 b
T2	741,34 a	128,70 a	1137,9 a	354,40 a	1879,23 a	354,43 b	0,73 a	8946,20 a
T3	835,58 a	172,80 a	1320,2 a	452,94 a	2155,81 a	452,94 a	0,76 a	9501,13 a
CV %	14,10	18,7	9,48	12,30	6,41	7,82	20,1	25,52

Nota: Letras iguales indican sin diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Las variables de BFH, BSH, BFT, BST, BFTotal no presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, pero la variable BSTotal del T2 resultó significativamente menor en relación con los otros tratamientos (Tabla 8).

Con respecto a la variable AF hubo diferencia estadística de T1 respecto de T2 y T3 que alcanzaron valores significativamente superiores (Tabla 8).

Ratificando los resultados de la anterior campaña, el incremento del AF por encima de un óptimo, no contribuyó a la conversión en biomasa lo que condice con lo encontrado por Gardner et al.; (1985).

Tabla 9: Biomasa fresca de frutos (BFF) y biomasa seca de frutos (BSF), Materia Seca de Frutos, número de frutos por planta (NFPP) y rendimiento a los 105 DDS, de plantas de zapallo Tetsukabuto cultivadas sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculación con *Rhizobium tropici* (T2), fertilizado con fosfato diamónico (T3) en Corrientes durante la campaña 2015.

Tratamientos	BFF (g pl ⁻¹)	BSF (g pl ⁻¹)	MS de frutos (%)	NFPP	Rendimiento kg ha ⁻¹
T1	2138,50 a	465 a	21,70 a	3,40 a	2886,90 a
T2	1745,00 b	389 a	22,30 a	2,87 a	2355,70 b
T3	1859,00 ab	393 a	21,14 a	3,27 a	2504,60 ab
CV %	5,00	4,70	23,33	23,50	5,00

Nota: Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Se encontraron diferencias significativas en BFF y de los rendimientos expresados en kg ha⁻¹ entre los tratamientos T1 y T2, no habiendo diferencias significativas con T3. Con respecto a BSF no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Tabla 9).

Tabla 10: Diámetro ecuatorial de fruto y espesor de pulpa de frutos de zapallo Tetsukabuto y cultivados sin fertilizar ni inocular (T1), sin fertilizar e inoculación con *Rhizobium tropici* (T2), fertilizado con fosfato di amónico (T3) en Corrientes a los 105 DDS durante la campaña 2015.

Tratamientos	Diámetro ecuatorial de frutos (cm)	Espesor de pulpa en (cm)
T1	17.66 a	3.63 a
T2	17.17 a	3.32 b
T3	17.45 a	3.53 ab
C.V.%	15,71	17,45

Nota: Letras iguales indican sin diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Con el AF óptima de T1 se obtuvo mayor biomasa seca total (Tabla 8) y se logró particionarla eficientemente hacia los órganos cosechables respecto de los demás tratamientos. Este comportamiento, se pone de manifiesto a través de las variables BFF (Tabla 9) y espesor de pulpa (Tabla 10).

A diferencia de la campaña 2014, en la campaña 2015 no observaron diferencias estadísticas entre los tamaños de frutos (diámetro ecuatorial de frutos) para los diferentes tratamientos.

Finalmente se resume en un cuadro comparativo los principales resultados de las variables más representativas medidas en la campaña 2014 y 2015 (Tabla 11).

Tabla 11: Valores medios de las variables evaluadas de biomasa fresca de hoja (BFH), biomasa seca de hoja (BSH), biomasa fresca de tallo (BFT), biomasa seca de tallo (BST), biomasa fresca total (BFTotal), biomasa seca total (BSTotal), biomasa fresca de fruto (BFF), biomasa seca de frutos (BSF), diámetro ecuatorial de fruto (DEF), espesor de pulpa de fruto (EPF), número de fruto por planta (NFPP), índice de cosecha (IC), área foliar (AF), obtenidos para las en condiciones de campo en los años 2014 y 2015 en cada tratamiento.

VARIABLE	AÑO 2014	AÑO 2015	CV (%)
BFH	161,75 b	1152,60 a	15,3
BSH	38,90 b	230,50 a	27,5
BFT	268,40 b	1440,60 a	12,9
BST	30,96 b	288,21 a	18,7
BFTotal	1568,80 b	8873,40 a	8,74
BSTotal	157,90 b	1774,70 a	12,35
BFF	1138,78 b	6280,17 a	8,82
BSF	89,47 b	409,24 a	16,08
DEF	12,50 b	16,40 a	19,41
EPF	2,23 b	3,46 a	17,50
NFPP	1,44 b	3,25 a	21,50
IC	0,68 b	0,70 a	22,93
AF	10356 b	18418 a	15,50

Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). Las diferencias se leen de manera horizontal.

Según lo que indica la Tabla 11, en todas las variables hubo una marcada influencia estadísticamente significativa en respuesta al factor año basadas en las precipitaciones ocurridas (Fig.7), que dieron cuenta de sus efectos sobre el experimento.

El presente constituye el primer trabajo en el cual se evalúa *Rhizobium tropici* como PGPR en zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima x Cucurbita moschata*).

Se han sugerido diferentes motivos por los cuales puede explicarse la poca o nula acción de las PGPR en la promoción del crecimiento de las plantas inoculadas.

De hecho, la colonización por los microorganismos rizosféricos y sus poblaciones son influenciadas por diversos factores dentro de los cuales se incluyen factores endógenos como la fenología y estadio fisiológico de las plantas hospederas, y tasa de crecimiento radical. Entre los mecanismos exógenos, se encuentran las condiciones ambientales normales (humedad y temperatura del suelo) y las condiciones extremas (Brundrett, 2002)

Uno de los factores más relevantes que pueden afectar la eficacia de las PGPR, es la competencia en la rizósfera de los inoculantes con los microorganismos nativos (Castro-Sowinski et al., 2007). El solapamiento de nicho entre una bacteria inoculante y una residente puede ser limitado, incluso si se trata de bacterias filogenéticamente cercanas.

Las bacterias residentes en la rizósfera pueden afectar a las bacterias introducidas naturalmente o como inóculos. Es por ello que estas interacciones pueden afectar de manera positiva, negativa o no tener efecto alguno sobre el funcionamiento de las PGPR (Dobbelaere et al., 2003, Mehboob, 2012) y haber sido fuertes condicionantes de los resultados alcanzados en este trabajo.

Esto se explica porque algunos inóculos, los cuales se presentan como eficaces agentes de biocontrol y crecimiento in vitro, tienen una eficacia variable en la rizósfera de un cultivo dado bajo un determinado set de condiciones ambientales de campo (Islam et al., 2016). Esta es la respuesta más probable de la falta de efectividad de los inóculos de *Rhizobium tropici*, sobre el crecimiento de las plantas del zapallo Tetsukabuto, observada en esta tesis.

Conclusiones:

La inoculación de semillas de zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima x Cucurbita moschata*) con *Rhizobium tropici*, no promovió el crecimiento bajo condiciones agroecológicas del Noroeste de la provincia de Corrientes en el que se llevó a cabo el experimento.

Se propone en un futuro realizar la experimentación en condiciones edáficas que puedan condicionar este sistema y el estudio de la ecología microbial de la rizósfera del zapallo Tetsukabuto previo y posterior a las aplicaciones con *Rhizobium tropici*, con el fin de descartar competencia negativa.

Así mismo se propone o sugiere repetir los experimentos en las mismas condiciones edáficas dado que las variaciones climáticas específicamente relacionadas con las precipitaciones pudieron afectar los resultados.

CAPÍTULO IV

FENOLOGÍA DEL ZAPALLO TETSUKABUTO CULTIVADO EN CORRIENTES.

Introducción:

La Fenología es la rama de la Agrometeorología que trata del estudio de la influencia del medio ambiente físico sobre los seres vivos. Dicho estudio se realiza a través de las observaciones de los fenómenos o manifestaciones de las fases biológicas resultantes de la interacción entre los requerimientos climáticos de la planta y las condiciones de tiempo y clima reinantes en su hábitat. En tal sentido, se realizan las observaciones de la planta y de su medio ambiente físico en forma conjunta.

La fenología tiene como finalidad estudiar y describir de manera integral los diferentes eventos fenológicos que se dan en las especies vegetales dentro de ecosistemas naturales o agrícolas en su interacción con el medio ambiente. En este sentido, la realización de las observaciones fenológicas, consideradas importantes, son la base para la implementación de todo sistema agrícola, permitiendo a los productores agrarios obtengan con su aplicación una mayor eficiencia en la planificación y programación de las diferentes actividades agrícolas conducentes a incrementar la productividad y producción de los cultivos (Yzarra, 2011).

Las observaciones fenológicas en la agricultura son de suma importancia ya que el conocimiento de las necesidades climáticas de una especie vegetal, permite una mejor elección del tipo de producción a implementar en una región. Por lo tanto, la observación y cuantificación de los distintos fenómenos de los vegetales, que se relacionan con los elementos del clima, significan un paso en el conocimiento de las formas y metodologías que permiten un uso racional del medio ambiente para poder interferir positivamente en la producción a través de un manejo adecuado de los cultivos (Pascale y Damario, 2004)

Los procesos, visibles o no, simultáneos e interdependientes, que experimentan los vegetales denominados crecimiento y desarrollo se encuentran bajo control genético y están modulados por factores ambientales. En consecuencia, el patrón de crecimiento y de desarrollo fenológico puede diferir entre variedades o cultivares de una especie. Los factores ambientales que tienen mayor incidencia en el desarrollo de los cultivos son el agua, la temperatura y el fotoperiodo, pero otros factores como la disponibilidad de nitrógeno, calidad de luz, concentración de CO₂ y radiación solar, pueden asumir un papel fundamental en la fenología de la planta (Andrade y Sadras, 2002).

Tiempo térmico o Grados Días.

El desarrollo del cultivo es principalmente estimulado por la temperatura, pero también es afectado por otros factores climáticos. La determinación del desarrollo en términos de tiempo térmico o grados día de crecimiento (GDC) es más precisa que en días calendario (Parra-Coronado et al., 2015).

El tiempo calendario se ha utilizado para la predicción de las etapas de crecimiento y desarrollo de los cultivos (Slafer y Savin, 1991). Sin embargo, se han propuesto varios modelos para mejorar el uso del tiempo calendario en la predicción del desarrollo, los cuales describen el efecto de la temperatura sobre el desarrollo fenológico (Salazar-Gutierrez et al., 2013, citado por Parra-Coronado, 2015).

Los grados día son una de las formas más correctas para medir cuánto tarda una determinada especie en alcanzar una etapa fenológica ya que depende en gran medida de la temperatura (Barrios-Gómez, 2009).

Uno de los métodos más utilizados es la acumulación de temperatura media diaria por encima de una temperatura base (T_b), conocido como tiempo térmico, grados-día de

crecimiento ($^{\circ}\text{D}$), o tiempo fisiológico, y se define como la cantidad de grados día necesarios para finalizar un determinado proceso de desarrollo o fase fenológica (Trudgill et al., 2005). El tiempo fisiológico se utiliza para el cálculo de aparición de nudos, de hojas e inflorescencias y para estimar el crecimiento y desarrollo de frutos. Cada planta tiene un requisito específico de temperatura antes de que ciertos estados fenológicos se alcancen (Parra-Coronado, 2015).

Hay varios métodos de cálculo de $^{\circ}\text{D}$, pero la más común y usada en la investigación fenológica de cultivos es, la diferencia entre la T_b (temperatura base) y la suma de las temperaturas medias mensuales durante cada fase (Parra-Coronado, 2015).

Particularmente en Corrientes no se encontraron trabajos realizados sobre la fenología de este cultivo

Hipótesis:

El comportamiento fenológico del zapallo Tetsukabuto en Corrientes se puede caracterizar en base al modelo del tiempo térmico debido a la fuerte interacción con la temperatura del aire.

Objetivo General:

Caracterizar las fases fenológicas del zapallo Tetsukabuto en función al modelo de tiempo térmico.

Objetivos Específicos:

- Relevar datos de temperatura de la zona en estudio.
- Caracterizar las fases fenológicas en función del tiempo térmico.

Materiales y métodos:

Registro de Datos Meteorológicos.

Los datos meteorológicos han sido obtenidos a partir de la Estación meteorológica automática del ICAA (Instituto Correntino del Agua y del Ambiente), con registro diario temperaturas en grados centígrados, en abrigo a 1.5 m, precipitaciones diarias y mensuales.

Preparación del material biológico:

El material biológico utilizado para las observaciones provino de las plantas del tratamiento testigo existentes en el predio del Campo Experimental de la FCA-UNNE, instaladas para el Experimento de Aplicación de PGPR *Rhizobium tropici* en el cultivo de zapallo Tetsukabuto en condiciones de campo (Capítulo III).

Diseño del Experimento.

Este estudio es de tipo observacional y descriptivo. La escala fenológica de evaluación utilizada en el presente trabajo de investigación es la presentada por Feller et al. (1995) la cual se basa en la observación macroscópica de la morfología externa de la planta.

Para determinar las fases fenológicas del cultivo se tomaron datos semanalmente del estado de las plantas del tratamiento testigo (T1) que se encontraba dispuesto en el

Campo Didáctico Experimental de la FCA-UNNE y que se utilizó para los relevamientos del Capítulo III de la presente tesis, durante las campañas 2014 y 2015.

Las variables observadas para la identificación y caracterización de las fases fenológicas, han sido nueve según la propuesta de Zaccari (2002):

Siembra	Emerg.	2 hojas verdaderas	Elongación de guías, (>50 cm)	Primordios florales	Flores abiertas	Flores fecundadas	Frutos maduros	Cosecha
---------	--------	--------------------	-------------------------------	---------------------	-----------------	-------------------	----------------	---------

Metodología de observación:

Según la escala aquí utilizada para el cultivo, se considera inicio de la fase cuando el fenómeno alcanza no menos del 10% (>10% ≤50%) de las plantas observadas. La plenitud de fase es el momento en que, visualmente, puede afirmarse que el fenómeno se expresa con su máxima intensidad, cuando se aprecia la mayor ocurrencia, y se contabiliza a partir del 50% de lo observado. Fin de fase es la aparición, desaparición o transformación de los últimos órganos de la fase, sin interrumpir la continuidad del proceso y cuando el mismo ha alcanzado o superado el 75% de los individuos observados.

Método de Cálculo de Tiempo Térmico:

La Temperatura base (Tb), por definición es la temperatura a la que la tasa de desarrollo es cero (Ritchie y NeSmith, citados por Sadras *et al.*, 2002), también definida como una temperatura inicial de crecimiento distinta y propia de cada especie, obteniéndose así, la “suma de grados-días”, también conocida como “suma de temperaturas efectivas” (Pascale y Dalmario, 2004). Para el presente ensayo, se ha utilizado como temperatura base (Tb) 10° C, para todas las fases del ciclo del cultivo.

Recientemente se ha generalizado la denominación de Tiempo Térmico (TT) a la sumatoria de temperaturas residuales (Pascale y Dalmario, 2004). Para las estimaciones de la duración de las fenofases bajo estudio, se utilizó el concepto del tiempo térmico, definido como la suma de la diferencia entre la temperatura media diaria del aire (T) y la temperatura base (Tb) correspondiente (método residual) (Andrade y Sadras, 2002; Garabatos, 1990).

$$\text{Tiempo Térmico} = \sum (T - T_b)$$

La duración de las fases ha sido calculada y referida a la ocurrencia plena de cada una de ellas.

Resultados y Discusión:

Tabla 12: Fenología de cultivos de zapallo Tetsukabuto expresado en grados días (°D) y días expresados en días después de la siembra (DDS). Año 2014 y 2015

	0	1	2	3	4	5	6	7	8
año.	Siembra	Emerg.	2 hojas verdaderas	Elongación de guías, (>50 cm)	Primord. florales	Flores abiertas	Flores fecundadas	Frutos maduros	Cosecha
2014	17/02	5 DDS (98,8°D)	20 DDS (317,6°D)	44 DDS (617,5°D)	37 DDS (462°D)	50 DDS (759,2°D)	60 DDS (865,25°D)	100 DDS (1252,95°D)	105 DDS (1291,35°D)
2015	15/03	3 DDS (75,5°D)	17 DDS (252,6°D)	37 DDS (519,3°D)	36 DDS (508°D)	44 DDS (610°D)	54 DDS (697,9 °D)	100 DDS (1124,5°D)	105 DDS (1171,3°D)

En el cultivo de zapallo se pueden distinguir dos etapas de crecimiento, una etapa vegetativa inicial (45-50 días) y luego de la aparición de las flores se superponen crecimiento vegetativo y reproductivo (Zaccari, 2002).

De la etapa inicial 0 a la 1 ocurre la germinación de semilla y emergencia de las plantas con los dos cotiledones desplegados sobre la superficie.

En la fase 2 plena, se considera cuando el 75 % del total se encuentra con dos hojas verdaderas desplegadas. La elongación de guías, mayor a 50 cm, completan la fase 3.

En la segunda etapa, reproductiva, ocurre la diferenciación de primordios florales con la fase 4. En la Fase 5, se considera el porcentaje de flores abiertas y en la fase 6 las fecundadas

Para llegar a la Fase 7, se considera la maduración comercial de frutos momento en que el fruto presenta características particulares como ser cambio de coloración del pedúnculo y presenta una serosidad en la cascara del fruto. Finalmente, la fase 8 corresponde a la cosecha de los frutos maduros.

La siembra se realizó el día 17 de febrero de 2014 y el 15 de marzo de 2015, considerando a esta fase 0. En ambas campañas, se realizó la cosecha de los frutos a los 105 DDS, tomando este como la fase 8.

Como se puede apreciar en la Tabla 12, en la campaña 2015 hubo una menor acumulación de °D con respecto a la anterior campaña para alcanzar la plenitud de todas las fases fenológicas.

Para la campaña 2014 de la fase 0 a la 8 la acumulación de temperatura por encima del mínimo biológico (10°C) resultó de 1291,35 °D a los 105 DDS. Siendo que para la campaña 2015 acumuló 1171,3 °D a cosecha, 105 DDS.

En este sentido, en trabajos realizados en Uruguay, en el Centro Regional del INIA; Zaccari (2002) realizó estimaciones de grados días para cosechas comerciales del mismo híbrido que estuvieron entorno de los 1280 a 890 °D tomando también como temperatura base 10°C. El autor atribuyó estas diferencias encontradas a otros factores ambientales que intervienen en el crecimiento y desarrollo.

De hecho, no sólo la temperatura interviene en los cambios fisiológicos de las plantas de *Cucurbita*, sino que interactúan otros de relevancia como la luz. En condiciones de campo, el fotoperíodo interactúa con la temperatura, la energía e intensidad lumínica generando en la planta cambios hormonales que determinan la relación final de flores femeninas y masculinas (Zaccari, 2002).

La proporción de flores femeninas que se logren establecer a través del cuajado determinará en parte el componente numérico del rendimiento asociado al número de frutos retenidos por planta y finalmente el rendimiento del cultivo de zapallo. Siguiendo lo aportado por Zaccari (2002) respecto a la incidencia de la luz, en términos de radiación e intensidad, podríamos vislumbrar que habiendo sido el 2015 un año con mejor distribución de lluvias y días de sol, respecto del año 2014 en que las precipitaciones fueron mayores en cantidad y distribuidas a lo largo del ciclo, hubo mayor cantidad de días nublados.

La polinización netamente entomófila que garantiza la fecundación de flores del zapallo está significativamente asociada a los factores ambientales, temperatura, velocidad del viento, frecuencia de lluvias y días nublados.

Finalmente, la máxima suma térmica registrada por Zaccari (2002) en Uruguay es coincidente con la registrada en Corrientes durante este experimento.

Conclusiones

Dada la similitud de días cronológicos y grados días necesarios para alcanzar cada fase fenológica en ambas campañas se puede afirmar que el modelo del tiempo térmico resulta útil para caracterizar las mismas en el cultivo de zapallo Tetsukabuto. En función de los resultados obtenidos para el bioambiente de la provincia de Corrientes, se necesitaron acumular entre 462 y 508 °D para alcanzar la fase de primordio floral y entre 1252 y 1124 °D para manifestar la madurez de frutos, para los años 2014 y 2015 respectivamente.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES GENERALES

Este trabajo se propuso como objetivo general evaluar la aplicación de *Rhizobium tropici* como promotor del crecimiento en plantas (PGPR) de zapallo Tetsukabuto con el fin de encontrar una nueva alternativa productiva sostenible en remplazo de los tradicionales fertilizantes nitrogenados.

La hipótesis se basó en una amplia revisión bibliográfica en la que se encontró respuestas considerablemente positivas en el uso de estos microorganismos para la producción de cultivos de especies no leguminosas.

Las variables que se evaluaron presentaron las mismas tendencias en ambas campañas. Llamativamente el tratamiento testigo arrojó los mejores resultados en la mayoría de las variables; aparentemente estas plantas se habrían adaptado o aprovecharon mejor los recursos disponibles del suelo durante el ciclo del cultivo, sin sufrir alteraciones por el agregado del fertilizante químico o del biofertilizante.

Si bien el éxito de la colonización de *Rhizobium* en plantas no leguminosas depende mucho de la selección de la cepa que debe adaptarse a las condiciones del suelo y del cultivo, resulta difícil predecir las respuestas de la potencial interacción planta-microorganismo.

Este trabajo demuestra que *Rhizobium tropici* no cumple con la función promotora del crecimiento del zapallo Tetsukabuto, tanto en condiciones semi controladas como en las condiciones reales de producción en el agroecosistema del experimento.

En otros ensayos se han citado que la implementación de esta biotecnología se ha visto obstaculizada por la falta de consistencia y variación en las respuestas que se obtienen en ensayos de campo de sitio a sitio, de año en año, o para diferentes cultivos. Las probabilidades de que las bacterias autóctonas hayan afectado el funcionamiento relativo de las bacterias PGPR en este estudio pueden ser muy altas, esto sucede cuando la actividad del inoculante aún no está totalmente estudiada.

Esto se debe en gran parte a la poca comprensión de las interacciones entre PGPR y las plantas y la microflora residente, así como a la escasez de información sobre cómo los factores ambientales influyen en los procesos que contribuyen a la promoción del crecimiento de las plantas.

Se entiende y se sabe actualmente que las interacciones entre bacterias y plantas se pueden clasificar como positivas, negativas o neutrales. De hecho, la mayoría de las bacterias asociadas a las plantas puede tener una interacción que no tiene efectos visibles sobre el crecimiento.

La presente tesis constituye el primer trabajo en el cual se evaluó la acción de *Rhizobium tropici* como PGPR en el cultivo de zapallo Tetsukabuto (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*). La respuesta que tuvo la planta con el uso del *Rhizobium*, no fue la esperada, por lo que se concluye que la hipótesis planteada es nula.

Las fases fenológicas del cultivo de zapallo Tetsukabuto respondieron al modelo basado en el tiempo térmico ($T_b=10^{\circ}\text{C}$), donde necesitaron acumular entre 462 y 508 GD° para alcanzar la fase de primordio floral y entre 1124 y 1252 GD° para manifestar la madurez comercial de los frutos. Particularmente ambas fases fenológicas se detallan dado que son las que más inciden en la estimación del rendimiento del zapallo Tetsukabuto en Corrientes.

En función a estos resultados, numerosos aspectos derivados de esta tesis podrían constituir líneas interesantes para ser investigadas:

- Ajuste de la cepa adecuada de *Rhizobium* para el zapallo Tetsukabuto
- Desarrollo de protocolos de aplicación de la cepa adecuada, de momentos, dosis, formas, etc.
- Estudios previos de la microflora nativa establecida en el sitio de experimentación.
- Relación de la fenología reproductiva de la especie en relación a la actividad entomófila y el clima.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alves, A. A. (2002). Cassava: Biology, production and utilization. Eds. RJ Hillocks, JM Tresh and AC Bellotti. CAB international. P, 67-89.
2. Andrade, FH & VO Sadras (eds). 2002. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. E.E.A. INTA Balcarce-F.C.A. (UNMP). Argentina, 450 p.
3. Atlas, R. M, Bartha, R. 2002. Ecofisiología microbiana y microbiológica ambiental. Pearson Educación, S.A., Madrid. 4º Edición. Pag. 141
4. Barrios-Gómez, E. J., & López-Castañeda, C. (2009). Temperatura base y tasa de extensión foliar en frijol. *Agrociencia*, 43(1), 29-35.
5. Bashan, Y., Holguin, G. and Lifshitz, R. 1993. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria. In: Methods in plant molecular biology and biotechnology. (Eds.) B.R. Glick. and J.E. Thompson. CRC Press, USA. pp. 331-345.
6. Blanco, F. F.; Folegatti, M.V, 2003. A new method for estimating the leaf area index of cucumber and tomato plants. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 21,n. 4, p. 666-669.
7. Böhm, 1979. Methods of Studying Root Sistem. Capitulo 12. Sección 12.5.1. Springer Verlag. Berlin Heidelberg. New York.
8. Bona, E., Lingua, G., & Todeschini, V. (2016). Effect of bioinoculants on the quality of crops. In *Bioformulations: For sustainable agriculture* (pp. 93-124). Springer, New Delhi.
9. Brundrett, M. C. (2002). Co-evolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.* 154: 275.
10. Bruniard, E. (2000). *Los regímenes climáticos y la vegetación natural: aportes para un modelo fitoclimático mundial* (No. 16). Academia Nacional de Geografía.
11. Camelo M. R., Vera, S. P. & Bonilla, R. 2011. Mecanismo de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Rev. Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 12(2), 159-166
12. Cano, M. A. (2011). A review of interaction of beneficial microorganisms in plants: mycorrhizae, *Trichoderma spp.* and *Pseudomonas spp.* *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15-31.
13. Carnevali, R. (1994). *Fitogeografía de la provincia de Corrientes: cartas, escalas 1: 500.000 y 1: 1.000. 000*. Gobierno de la Provincia de Corrientes,
14. Castro-Sowinski, S., Herschkovitz, Y., Okon, Y., & Jurkevitch, E. (2007). Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on resident rhizosphere microorganisms. *FEMS microbiology letters*, 276(1), 1-11.
15. Cuadrado, B.; Rubio, G. & Santos, W. (2009). Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de frijol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* 38 (1), 78-104.

16. Della Gaspera, P.; Rodríguez, R. A.; Elisei V. R. (2013). INTA Manual del cultivo del Zapallo Anquito (*Cucurbita moschata* Duch.). Ed. Inca Editorial y talleres gráficos, cooperativa de trabajo Ltda.
17. Di Rienzo, J.A., F., Casanoves, M. G., Balzarini, L., Gonzalez, M., Tablada, C. W. & Robledo. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
18. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical reviews in plant sciences*, 22(2), 107-149.
19. El Territorio. 2013. Argentina, en la lista mundial de grandes productores de zapallos. Disponible en: <https://www.eltterritorio.com.ar/argentina-en-la-lista-mundial-de-grandes-productores-de-zapallos-7119574727320473-et> Fecha última consulta: 28/01/2019.
20. Escobar, E.H.; Ligier, D.; Melgar, D.; Matteio, M.; & Vallejos, O. 1996. Mapa de suelos de los Departamentos de Capital, San Cosme e Iratí de la Provincia de Corrientes, Argentina. P. 129 Publicación del Convenio INTA – ICA y Pcia. de Corrientes CFI Argentina.
21. Fabra, A., Taurian, T. & Angelini, J. 2007. Los Rizobios: Taxonomía, actividad promotora del crecimiento vegetal y mecanismos de infección en leguminosas. En: Thuar, A. M., Cassán, F. & Olmedo, C. A. (Eds.), *De la Biología del suelo a la Agricultura* (p. 81-99). Río Cuarto, Argentina: Universidad Nacional de Río Cuarto.
22. FELLER, C., H. BLEIHOLDER, L. BUHR, H. HACK, M. HESS, R. KLOSE, U. MEIER, R. STAUSS, T. VAN DEN BOOM und E. WEBER, 1995b: Phänologische Entwicklungsstadien von Gemüsepflanzen: II. Fruchtgemüse und Hülsenfrüchte. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 47, 217–232. En Enz, M., & Dachler, C. BBA BSA IGZ IVA AgrEvo BASF Bayer Novartis.
23. Gardner, FP; R Brent Pearce; RL Mitchel. 1985. Carbon Fixation by crop canopies. In: *Physiology of Crop Plants*. Gardner, FP; R Brent Pearce; RL Mitchel (eds). Iowa State University Press
24. Glick B R, Patten C L, Holguin G, Penrose D M. *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting*. Londres. Imperial College Press. (1999).
25. Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, R. K., Gowda, C. L., & Krishnamurthy, L. (2015). Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech*, 5(4), 355-377.
26. Guasch Vidal, B. (2011). Selección y caracterización de mutantes de *Rhizobium Tropici* Ciat 899 afectados en la producción de factores Nod en condiciones de estrés salino.
27. Islam, S., Akanda, A. M., Prova, A., Islam, M. T., & Hossain, M. M. (2016). Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from cucumber rhizosphere and their effect on plant growth promotion and disease suppression. *Frontiers in microbiology*, 6, 1360.

28. Lang, M., & Ermini, P. (2010). Evaluación de distintas densidades de siembra en el cultivo de zapallo tipo "Anco" (*Cucurbita moschata*) en la región semiárida Pampeana. *Revista de la Facultad. de Agronomía de la Universidad de la Pampa*, 21, 39-45.
29. Larrazabal, M. 2011. La calabaza argentina, un producto consolidado. Disponible en: <http://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/49577-La-calabaza-argentina-un-producto-consolidado.html>. Fecha última consulta: 28/01/2019.
30. Mehboob, I., Naveed, M., Zahir, Z. A., & Ashraf, M. (2012). Potential of rhizobia for sustainable production of non-legumes. In *Crop Production for Agricultural Improvement* (pp. 659-704). Springer, Dordrecht.
31. Nacamulli, C., Bevivino, A., Dalmastrri, C., Tabacchioni, S., & Chiarini, L. (1997). Perturbation of maize rhizosphere microflora following seed bacterization with *Burkholderia cepacia* MCI 7. *FEMS Microbiology Ecology*, 23(3), 183-193.
32. Nee, M. (1990). The domestication of *Cucurbita* (Cucurbitaceae). *Economic Botany* 44(3): 56-68
33. Parra-Coronado, A., Fischer, G., & Chaves-Cordoba, B. (2015). Tiempo térmico para estados fenológicos reproductivos de la feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret). *Acta Biológica Colombiana*, 20(1).
34. Pascale, A. J., & Damario, E. A. (2004). *Bioclimatología agrícola y agroclimatología*. Facultad de Agronomía.
35. Pattison, A. C., & Skinner, F. A. (1974). The effects of antimicrobial substances on *Rhizobium* spp. and their use in selective media. *Journal of Applied Bacteriology*, 37(2), 239-250.
36. Pletsch, R. (2008). Diversificación productiva en Corrientes. Serie 1: El cultivo del zapallo tetsukabuto. Edic. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 23 pp
37. Prause, J. (2006). Análisis de suelo. Técnica de muestreo de suelo, agua, plantas. Bases prácticas para la fertilización. Edit. Librería La Paz. Rcia. Chaco, 96pp.
38. Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular plant-microbe interactions*, 19(8), 827-837.
39. Santillana, N., Arellano, C. & Zúñiga, D. 2005. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú. *Ecol. apl.* 4 N° 1 y 2, pp. 47-51.
40. Singh, J.S. (2013). Plant Growth Promoting Rhizobacteria Potential Microbes for Sustainable Agriculture. *Art. Gral. Resonance*
41. Slafer, GA, y Savin, R. (1991). Temperatura de base del desarrollo en diferentes fases fenológicas del trigo (*Triticum aestivum*). *Diario de botánica experimental*, 42 (8), 1077-1082.

42. Soares, A. L. D. L., Ferreira, P. A. A., Pereira, J. P. A. R., Vale, H. M. M. D., Lima, A. S., Andrade, M. J. B. D., & Moreira, F. M. D. S. (2006). Agronomic efficiency of selected rhizobia strains and diversity of native nodulating populations in Perdões (MG-Brazil): II-beans. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 30(5), 803-811.
43. Trudgill, D. L., Honek, A. D. L. I., Li, D., & Van Straalen, N. M. (2005). Thermal time—concepts and utility. *Annals of Applied Biology*, 146(1), 1-14.
44. Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*.
45. Waldrop, M. P., & Firestone, M. K. (2006). Response of microbial community composition and function to soil climate change. *Microbial ecology*, 52(4), 716-724.
46. Yzarra, W., & López, F. (2011). Manual de observaciones fenológicas. Servicio nacional de meteorología e hidrología. Perú.
47. Zaccari, F. (2002). Una breve revisión de la morfología y fisiología de las plantas de zapallos (*Cucurbita*, sp.). pp 14 -20 En: Seminario de Actualización en el Cultivo de Zapallo. Mesa Nacional de *Cucurbitaceas*. Carballo, S. (Ed.). 51 p. INIA-Las Brujas, Canelones. Uruguay.
48. Zaccari, F., Galeazzi, D., & Rahi, V. (2015). Efecto del tiempo de almacenamiento en condiciones controladas de temperatura sobre atributos físicos y químicos de zapallos “tipo kabutia” (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1).
49. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/12653/1/Seminario-actualizacion-zapallo-Octubre-2002-Mesa-Nacional-Cucurbitaceas.pdf>