



Universidad Nacional de Río Cuarto  
Facultad de Cs. Exactas, Físico-Químicas y Naturales

**VISTO** la propuesta de protocolo de trabajo entre LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO Y LA EMPRESA RIZOBACTER ARGENTINA S.A. ; y

**CONSIDERANDO:**

Que dicho protocolo de trabajo específico está enmarcado en el Convenio Marco (Expediente Nro. 87113)

Que la aprobación de este Protocolo, será beneficioso para promover la colaboración a nivel Institucional y su relación con el medio.

Que el dictamen de la Dirección de Asuntos Jurídicos de esta Universidad Nro. 6799 no hace objeciones al respecto.

Que el mismo cumple con los requisitos establecidos en las Reglamentaciones vigentes.

Por ello y en uso de las atribuciones conferidas por el Artículo 32 del Estatuto de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

**EL CONSEJO DIRECTIVO**

**DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS**

**FISICO-QUIMICAS Y NATURALES**

**RESUELVE:**

**ARTICULO 1ro.-** Aprobar el PROTOCOLO DE TRABAJO ENTRE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FISICO-QUIMICAS Y NATURALES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO y LA EMPRESA RIZOBACTER ARGENTINA S.A., según se detalla en ANEXO de la presente.

**ARTICULO 2do.-** Elevar la presente Resolución para su tratamiento al Consejo Superior.

**ARTICULO 3ro.-** Dejar establecido que a los fines administrativos se le asigna al presente protocolo el CÓDIGO SRV-CIE A 551.

**ARTICULO 4to.-** Regístrese, comuníquese. Tomen conocimiento las Áreas de competencia. Cumplido, archívese.

**DADA EN LA SALA DE SESIONES DEL CONSEJO DIRECTIVO DE ESTA FACULTAD, EN SESION EXTRAORDINARIA A LOS NUEVE DIAS DEL MES DE MAYO DEL AÑO DOS MIL TRECE.**

RESOLUCION Nro.:

111

Lic. Teresa de C. QUINTERO  
Sec. Asesoría Fís. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.

Dra. Rosa Irene CATTANA  
Decana Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.



ANEXO

PROTOCOLO DE TRABAJO

ENTRE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS,

FISICO-QUIMICAS Y NATURALES Y

LA EMPRESA RIZOBACTER ARGENTINA S.A.

En el marco del convenio aprobado por Resolución de Consejo Superior N° 160/07 - Exp. N° 87113, entre la Universidad Nacional de Río Cuarto y Rizobacter Argentina S.A. se estipula el presente protocolo entre la Facultad de de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, en adelante "la FACULTAD", con domicilio en Ruta Nacional 36 Km. 601 de la ciudad de Río Cuarto, representada en este acto por la Señora Decana, Dra. Rosa CATTANA, por una parte y por la otra la empresa Rizobacter Argentina S.A., en adelante "la EMPRESA", con domicilio en Avda. Dr. Arturo Frondizi N° 1150, Parque Industrial de la ciudad de Pergamino, Buenos Aires, representada en este acto por su Presidente el Sr. Ricardo Luis YAPUR, acuerdan celebrar un Protocolo de Trabajo que se registrá por las siguientes cláusulas.

**PRIMERA:** La actividad a ejecutar en el marco del presente Protocolo es el "Desarrollo de un formulado a base de reguladores del crecimiento vegetal (PGRs), de aplicación sobre semillas (priming) para optimizar el rendimiento de los cultivos" tal como se detalla en el ANEXO I que es parte constitutiva del presente acuerdo. Dicha actividad deberá desarrollarse en un plazo máximo de dos años a contar de la firma del presente.

**SEGUNDA:** Participarán en el desarrollo de este convenio, por parte de la FACULTAD, la Sra. Dra. María Virginia LUNA, DNI: 10.904.361 y el Sr. MSc. Oscar MASCIARELLI, DNI: 13.221.987, en su carácter de Responsables Coordinadores de las actividades y como colaboradores el Mic. Diego Sebastián PERRIG, DNI: 28.173.630, la Dra. Mariana REGINATO, DNI 27.424.037; el alumno Simón CIESLAK, DNI: 32.388.512; y el alumno Emmanuel BERTOLA, DNI: 32.000.641. Por parte de la EMPRESA participará el Ing. Gustavo GONZALEZ ANTA, DNI: 16.037.796, en su carácter de Responsable y Coordinador.

**TERCERA:** El Responsable Coordinador por la FACULTAD deberá presentar, al término de las actividades (dos años), un informe técnico de resultados y conclusiones con un detalle de las tareas realizadas. Se entregará un ejemplar de dicho informe a la Secretaría de Investigación y Extensión de la Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales y otro ejemplar a la EMPRESA.



**CUARTA:** Los participantes de estas actividades mantendrán las respectivas relaciones de dependencia por lo cual, en caso de accidente, tanto la EMPRESA como la FACULTAD serán responsables de lo que pudiera ocurrir a las personas designadas por cada una de las partes, según lo especificado en la cláusula SEGUNDA.

**QUINTA:** Para estas actividades se utilizarán las instalaciones y equipamiento que sean necesarios para el normal desarrollo de las actividades, tanto de parte de la FACULTAD como de la EMPRESA.

**SEXTA:** Los costos del convenio son expresados en el **ANEXO II** (Formulario de presupuesto).

**SÉPTIMA:** la EMPRESA aportará a la FACULTAD por el desarrollo de esta actividad la suma total de \$ 30.000 considerando gastos administrativos UNRC, gastos de elaboración del proyecto y gestión y viáticos del personal interviniente. La modalidad de pago incluye 1 pago de \$ 10.000 al momento de la firma del protocolo de trabajo, y el saldo de \$ 20.000 en 4 cuotas semestrales de \$ 5000. Las semillas, Inoculantes y adherente serán provistos por la Empresa, como los ensayos de campo previstos. Los insumos para llevar a cabo los ensayos en cámaras serán provistos por el Laboratorio de Fisiología Vegetal (FCEFQyN UNRC).

**OCTAVA:** Las partes se comprometen a no revelar a terceros y a devolver, a la finalización del presente convenio, toda información técnica originada en la otra parte, a la que se le haya dado carácter de confidencialidad y a hacer que el personal que tuviese acceso a la información no la revele a terceros y la mantenga estrictamente confidencial.


**NOVENA:** Este acuerdo tendrá vigencia a partir de su firma y se mantendrá hasta la finalización de las actividades propuestas en este Protocolo comprendidas en un lapso de 24 (veinticuatro) meses.

**DÉCIMA:** En caso de originarse, como consecuencia de la ejecución del presente convenio, resultados de investigación, la propiedad sobre los mismos será compartida en partes iguales entre la UNIVERSIDAD y la EMPRESA. Se entenderá por resultados de investigación a aquellos que sean susceptibles de protección por la legislación de patentes de invención o por otro tipo de registro legal, o aquellos resultados que no sean protegibles legalmente por patentes o por otro tipo de registro pero que puedan ser utilizados en el proceso productivo y adquieran por ello importancia económica.



**DÉCIMO PRIMERA:** Toda vigencia, reclamo o controversia que surja de la interpretación del presente Protocolo se solucionará mediante negociaciones de buena fe entre las partes. Si la divergencia, reclamo o controversia subsiste luego de tales negociaciones, las partes se someterán a la jurisdicción de los Tribunales Federales, constituyendo domicilios legales los mencionados en el presente acuerdo.

En prueba de conformidad se firman tres (3) ejemplares de un mismo tenor y un solo efecto en la ciudad de Río Cuarto a los..... días del mes .....del año 2013.-

  
Lic. Teresa del C. QUINTERO  
Sec. Académica Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.

  
Dra. Rosa Irene CATTANI  
Decana Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.



ANEXO I

PROTOCOLO DE TRABAJO  
ENTRE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO Y LA EMPRESA  
RIZOBACTER ARGENTINA SA

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

Introducción:

La necesidad de alimentar a una creciente población mundial frente un ambiente cada vez más degradado y las incertezas que se originan con las predicciones sobre el cambio climático, ejerce una presión constante sobre los profesionales y productores encargados de la producción de cultivos y crea la necesidad de adaptar los sistemas de producción a estas circunstancias. La intensificación sostenible de la producción agrícola implica optimizar la producción agrícola por unidad de superficie tomando en consideración la amplitud de los aspectos de sostenibilidad e incluyendo los impactos sociales, políticos, económicos y ambientales reales.

Las recientes tendencias indican que la incorporación de criterios científicos de manejo del ecosistema a las prácticas de manejo agrícola puede fortalecer la producción y rendimiento de los cultivos. Las opciones de intensificación de producción agrícola por medio del manejo de nuevos desarrollos tecnológicos que favorezcan la uniformidad en la germinación, implantación y desarrollo del crecimiento temprano de las plántulas está dirigida a maximizar la producción sostenible de cultivos y una mejor y eficaz respuesta a cambios ambientales tales como los denominados genéricamente como estrés abiótico (estrés hídrico, altas temperatura y salinidad).

Las fitohormonas son mensajeros químicos producidos naturalmente en una parte de la planta y se trasladan a otros órganos, donde participan en la regulación de las respuestas de crecimiento y desarrollo de las plantas, y lo hacen a muy baja concentración. Se las llama reguladores del crecimiento de plantas (PGRs), cuando son sintetizados químicamente.

Como es sabido, las plantas están sometidas a factores ambientales adversos tales como la sequía, altas temperaturas y salinidad. La reducción en el crecimiento de plantas expuestas a estas condiciones se debe a efectos múltiples tales como la inhibición de ciertas enzimas por la temperatura, por acumulación de iones específicos o bien a la escasez de agua.

Diferentes estrategias se están empleando para maximizar o mejorar o uniformar el desarrollo de plántulas en estas condiciones. Una de las herramientas tecnológicas utilizadas, es la producción de genotipos tolerantes a salinidad y/o sequía. Los intentos de mejorar la tolerancia a través de métodos convencionales, o bien la ingeniería genética de cultivos de plantas consumen mucho tiempo, son laboriosos y depende de la variabilidad genética



111

existente o de la compatibilidad. Otros intentos realizados para superar o sobrellevar estas dificultades incluyen prácticas de inoculación con microorganismos.

Una propuesta alternativa aún no desarrollada tecnológicamente, son las aplicaciones con un "pool" de fitohormonas en el momento previo a la germinación, con el objeto de aportar "refuerzos" al joven embrión que reinicia su crecimiento estimulando la uniformidad en la germinación, la formación de raíces y el establecimiento de plantas saludables y eficientes, capaces de expresar la potencialidad de su fondo genético, y permitiendo una respuesta más inmediata a los cambios ambientales, movilizar fotoasimilados y una mejor y mayor incorporación de suplementos nutricionales.

Se cree que el efecto represivo del estrés abiótico sobre la germinación de semillas y el crecimiento y desarrollo de las plantas podría estar relacionado con una disminución en los niveles endógenos de fitohormonas. Wang et al. (2001) observó que el ácido abscísico (ABA) y el ácido jasmónico (JA) se incrementan en respuesta a la salinidad, mientras que el indol-3-acético (IAA) y el ácido salicílico (SA) disminuyen. Por otra parte, la aplicación exógena de reguladores del crecimiento tales como auxinas, giberelinas y citoquininas, y salicílico producen algunos beneficios en aliviar los efectos adversos del estrés y también mejorar la germinación, crecimiento, desarrollo y calidad de semilla. La aplicación exógena de GA<sub>3</sub> fue capaz de revertir el efecto inhibitorio de la sal, oxidativo y temperatura en la germinación y establecimiento de plántulas de *Arabidopsis* (Alonso-Ramirez et al., 2009). Este efecto también fue acompañado por el incremento de los niveles de SA (Zhang et al., 2010). En trigo, la germinación de semillas disminuyó con el aumento de los niveles de estrés, y fue contrarrestado por la aplicación de AIA exógeno sobre las semillas. Además, el AIA exógeno mostró un efecto estimulador en el crecimiento de las raíces y el tallo de las plántulas (Naeem et al., 2004). Otros investigadores informaron que los parámetros de crecimiento y rendimiento de arroz se incrementaron significativamente en respuesta a la aplicación de citoquinina exógena, bajo estrés.

Por lo tanto, en este protocolo de trabajo proponemos desarrollar una fórmula a base de un "pool" de fitohormonas con la finalidad de mejorar la germinación e incrementar la implantación del cultivo bajo condiciones ambientales desfavorables.

Por otra parte, el desarrollo de las plantas está gobernado por procesos fisiológicos y metabólicos que dependen en gran medida de la disponibilidad de nutrientes; la aplicación del pool de fitohormonas podría a su vez ayudar o complementar el aporte de la inoculación biológica, que generalmente está acompañada de protectores a base de concentrados de carbohidratos. En este sentido, se ha comprobado que suplementos exógenos de glucosa sobre plántulas en estadio de post-germinación, tienen un efecto estimulante sobre el crecimiento de la raíz y el tallo; es probable, que este efecto sea consecuencia de la interrelación entre los azúcares y las vías de señalización de giberelinas y citoquininas, además de su conocida función trófica. En particular, alteraciones



en la disponibilidad de azúcares solubles intervienen en la regulación de diversos procesos, y muchos de estos procesos son también regulados por otras moléculas de señalización, tales como las fitohormonas. Cinco de los ejemplos más interesantes y de mejor conocimiento de los procesos regulados a través de las interacciones o crosstalk entre los azúcares y las fitohormonas son la embriogénesis, la germinación de las semillas, el desarrollo temprano de las plántulas, la tuberización, y la regulación de la  $\alpha$ -amilasa.

En síntesis, el uso de **tratamientos o "priming" de semillas** con la aplicación de fitohormonas podría mejorar el rendimiento de los cultivos, especialmente cuando se parte de semillas de mayor edad o tiempo de cosecha.

### Objetivo General:

El objetivo de este trabajo es desarrollar una formulación a base de reguladores del crecimiento vegetal (fitohormonas) suplementada con micronutrientes de aplicación sobre el tratamiento de semillas o "priming" para cultivos de maíz, trigo, soja y garbanzo.

### Objetivos específicos:

(a) evaluar distintas dosis de distintos fitorreguladores (auxinas, citoquininas, GA<sub>3</sub>, SA y epibrasinólido) de forma independiente sobre la germinación (EG y PG) de los cultivos mencionados, en cámara de crecimiento con condiciones controladas, tolerancia a bajas temperaturas y a variaciones de pH.

(b) seleccionar las dosis más efectivas resultantes de los ensayos anteriores y combinarlas en una fórmula única evaluando la germinación en los cultivos mencionados, en cámara de crecimiento con condiciones controladas.

(c) ensayar la fórmula en cámara de crecimiento y evaluar fitotoxicidad, parámetros de crecimiento temprano (PF aéreo y radical y PS aéreo y radical), y pigmentos fotosintéticos.

(d) evaluar EG de los lotes de semillas pre-inoculadas con la fórmula resultante para cada especie a los siete (7) días, para determinar la estabilidad y efectividad de la fórmula.

(e) evaluar la fórmula resultante sobre los parámetros de crecimiento (mencionados en c), pero con el agregado del protector bacteriano utilizado habitualmente por la Empresa, como vehículo del pool de hormonas.



(f) evaluar la fórmula resultante sobre los parámetros de crecimiento, pero con el agregado del protector bacteriano utilizado habitualmente por la Empresa más el inoculante provisto por la Empresa (fórmula+protector+inoculante).

(g) ensayar la fórmula en los cultivos citados en condiciones de campo a distintas dosificaciones (tres) y evaluar parámetros de fitotoxicidad, área foliar, y rendimiento final (materia seca, número de granos, peso de mil semillas).

#### Duración:

La duración de las actividades está sujeta al número de especies ensayadas y los tiempos fenológicos de cada una. De todas maneras, se prevé un año para las actividades que implican trabajos de laboratorio (objetivos a, b y c), más los ensayos a campo. Tiempo total aproximado: 2 años.

#### Actividades:

##### *Infraestructura*

El desarrollo del protocolo se llevará a cabo en el Laboratorio de Fisiología Vegetal (FCEFQyN-UNRC). Además, se solicitará la colaboración técnica y de manejo de los cultivos a campo del área de Rizobacter Argentina SA.

##### *Proceso:*

1-El material de los objetivos (d, e, f y g) será provisto por la Empresa.

2-Los insumos para llevar a cabo los ensayos en cámaras serán provistos por el laboratorio de Fisiología Vegetal (FCEFQyN-UNRC).

##### *Personal:*

1- El personal interviniente en este protocolo propenderá a facilitar que alumnos de la Carrera de Biología, Microbiología e Ingeniería Agronómica puedan colaborar en la realización de los ensayos con la finalidad de cumplimentar sus trabajos de tesis.

#### Metodología de trabajo:

##### Etapa 1:

a) Establecer las concentraciones fisiológicamente activas de reguladores del crecimiento (PGRs) para los procesos de interés, para las siguientes fitohormonas: ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), ácido indol-3-acético (AIA) o ácido indol-3-butílico (IBA) o ácido naftalen acético (ANA), citoquininas (6-Benzil aminopurina), ácido salicílico (SA) y brasinoesteroide (epibrasinólido). Definir





una composición de micronutrientes que acompañarán a la mezcla de reguladores del crecimiento.

b) Ensayar las concentraciones definidas en el punto a) para ser aplicadas sobre semillas en ensayos de germinación. Se utilizarán 100 semillas por placa o bandeja en un sistema entre papel humedecidas con agua destilada y se colocarán en una cámara germinadora con un ciclo de 16 h de luz/8 h de oscuridad y con ciclo de temperatura definido para cada cultivo. Se realizarán tres replicas por placa o bandeja. Al final del experimento se evaluará la energía y poder germinativo.

c) Ensayar la formulación seleccionada como óptima en el punto b). Se definirán tres dosis de aplicación en función de los cultivos a estudiar (maíz, trigo, soja y garbanzo). Posteriormente, se desarrollarán experimentos en cuatro replicas que consistirán en potes (vasos de 300 cc) con 5 semillas/pote, conteniendo una mezcla de perlita/vermiculita (1:1) en cámaras con condiciones de humedad, temperatura y ciclo de alternancia luz/oscuridad (16 hs luz a 28° C/8 hs oscuridad a 20° C, HR 80%). Los vasos serán colocados en respectivas bandejas por tratamiento y serán irrigados con soluciones de Hoagland al 25% durante todo el ciclo de cultivo. Al determinar el fin del estadio de plántula (en leguminosas: en estadio V2 o primera trifoliada expandida; en gramíneas: V3, cuando es visible el cuello de la tercera hoja), *a posteriori*, se evaluarán los siguientes parámetros fisiológicos vegetales: implantación, fitotoxicidad, crecimiento temprano (peso fresco y seco aéreo y radicular). Un vaso con 5 plántulas será separado para evaluar pigmentos fotosintéticos (técnica destructiva).

d) Repetir el ensayo anterior utilizando suelo como soporte en lugar de perlita/vermiculita.

## Etapa 2:

Ensayar en condiciones de campo estableciendo parcelas de 1 mts<sup>2</sup> para los siguientes tratamientos.

- a) control (semillas naturales)
- b) tratado con fertilizante biológico
- c) tratado con fertilización biológico + mezcla de fitorreguladores
- d) tratado con mezcla de fitorreguladores
- e) tratado con mezcla de fitorreguladores + fertilizante biológico + protector


Se evaluará implantación, fitotoxicidad, área foliar, y rendimiento final (materia seca, número de granos, peso de mil semillas).



**Etapa 3:** Se reunirán los resultados para analizarlos estadísticamente y a *posteriori* elaborar una conclusión sobre los mismos.

La conclusión de este protocolo de trabajo, permitirá entregarle a la Empresa una propuesta de desarrollo tecnológico que consistirá en un nuevo formulado a base de reguladores del crecimiento con y sin adición de nutrientes minerales, sugerencias sobre las dosis mínimas y máximas de aplicación para obtener una respuesta significativa que implique mayor rendimiento del cultivo, a los fines de permitir a la Empresa tener información sobre la relación costos del producto /beneficios.

=====

  
Lic. Teresa del C. QUINTERO  
Sec. Académica Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.

  
Dra. Rosa Irene CATTANA  
Decana Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.



111

**ANEXO II**

**NOMBRE DEL SERVICIO A TERCERO/CONVENIO ESPECIFICO/PROTOCOLO DE TRABAJO**

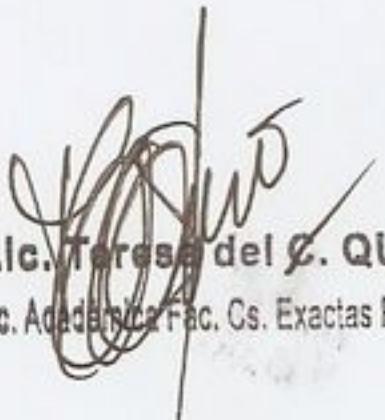
Protocolo de Trabajo con la Empresa  
Rizobacter Argentina SA y la Facultad  
de Cs Exactas, Físico, Químicas y  
Naturales

PRESUPUESTO	
Personal (1) Nota	\$2.500,00
Insumos (2)	\$16.000,00
Equipos (3)	\$2.500,00
Gastos Generales (4)	\$3.000,00
Utilidades (5)	\$0,00
Subtotal	\$24.000,00
Ret. UNRC 20 % (6)	\$6.000,00
<b>Precio del Servicio</b>	<b>\$30.000,00</b>

Nota: El monto definido en rubro Personal es destinado para incentivar económicamente a través de un contrato de locación de obra a un integrante del grupo participante Diego Perrig.

Según Artículo 4° Res. Con. Sup. N° 117/04:

- (1) Se refiere a las asignaciones complementarias para el personal de la Universidad
- (2) Refiere a los gastos específicos, como material fungible, viáticos, pasajes, construcción de prototipos, etc.
- (3) Incluye el costo de alquiler de equipos especiales o de accesorios de equipos existentes, o de otra naturaleza.
- (4) Incluye los gastos relativos a la organización y administración de la prestación.
- (5) Se fijará sobre el costo total un porcentaje en concepto de utilidad, que las facultades y secretarías consideren apropiado, en función del interés o prioridad que asignen al proyecto y la posibilidad de generar recursos que permitan a la facultad o secretaría fortalecer políticas de vinculación social o desarrollarse en otras áreas.
- (6) Distribuido de la siguiente manera: 10% al Sistema de Becas Estudiantiles, 5% Gastos Generales (electricidad, gas, telefonía, internet, etc.) y 5% restante Programas Sociales (PEAM).

  
**Lic. Teresa del C. QUINTERO**  
Sec. Académica Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.

  
**Dra. Rosa Irene CATTANA**  
Decana Fac. Cs. Exactas Fco-Qcas. y Nat.