



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

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

***“INCIDENCIA DE DISTINTAS FUENTES FOSFORADAS SOBRE
LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE NITRÓGENO Y EL
RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE SOJA”***

Alumna: Marina C. NIEDERHAUSER

DNI: 28.438.355

Director: Ing. Agr. Isabel BERNARDO

Codirector: Ing. Agr. José MARCELLINO

Río Cuarto - Córdoba

Junio/2007

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACION

Título del trabajo final: **“Incidencia de distintas fuentes fosforadas sobre la actividad biológica de nitrógeno y el rendimiento del cultivo de soja”**

Autor: Marina C. NIEDERHAUSER

Director: Ing. Agr. Isabel BERNARDO

Co-Director: Ing. Agr. José MARCELLINO

Aprobado y Corregido de acuerdo con las sugerencias de Comisión
Evaluadora:

Ing. Agr. Elena Bonadeo _____

Ing. Agr. Elena Fernandez _____

Lic. Ines Moreno _____

Fecha de presentación: ____/_____/____.

Aprobado por Secretaría Académica: ____/_____/____.

Secretario Académico

A mis padres, Elida y Oscar

A mis hermanos, Mariela y Adolfo

Agradecimientos

- A la profesora Isabel Bernardo por haberme guiado y dedicado parte de su tiempo libre en la elaboración de este trabajo.
- A la EEA INTA Río Cuarto y en especial al Ing. Agr. José Marcellino por su apoyo, apuntalamiento y colaboración en la parte experimental.
- A la Cátedra de Relación Suelo-Planta por el espacio brindado y a Marcos, Eugenio y Roque por su apreciable colaboración.
- A la Cátedra de Microbiología Agrícola: Germán, Jorge y en particular a la profesora Carmen Olmedo por su apoyo incondicional.
- A mi abuela, tíos, primos y a todas aquellas personas que de algún modo son parte de mi familia, gracias por haberme acompañado siempre y dado las fuerzas para poder recorrer este camino.
- A mis amigos con quienes compartí horas de estudio, momentos de diferentes matices y, en toda esta etapa fueron el pilar que me mantuvo de pie para seguir adelante. A todos ellos Gracias!!!
- A Andrea, Belén L, Belén R, Cristina, Flavia, Hernán, Laura, Mariela, Paola y Romina por su gran predisposición.
- A todos los profesores que contribuyeron en mi formación académica.
- A la UNRC por la oportunidad de lograr el Título de Grado.

INDICE GENERAL

Resumen	VIII
Summary	IX
I. INTRODUCCION	10
II. ANTECEDENTES	12
II.1 Requerimientos Nutricionales	12
II.1.1 Nitrógeno	13
II.1.1.1 Fijación Biológica	14
II.1.1.2 Incidencia del fósforo sobre la actividad biológica del nitrógeno ..	16
II.1.2 Fósforo	19
II.1.2.1 El fósforo y los microorganismos solubilizadores	21
II.1.3 Fertilización de soja en Argentina	25
III. HIPOTESIS	27
IV. OBJETIVOS	28
IV.1 General	28
IV.2 Específico	28
V. MATERIALES Y METODOS	29
V.1 Ubicación y caracterización de las áreas donde se realizó el ensayo	29
V.2 Implantación del ensayo a campo	30
V.3 Muestreo de suelo	31
V.4 Determinación de nutrientes	31
V.5 Evaluación de los parámetros de la fijación	31
V.6 Determinación del rendimiento	32
V.7 Procesamiento de datos	32
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	34
VI.1 Escenario ambiental	34
VI.2 Número de nódulos por planta	35
VI.3 Nódulos activos	40
VI.4 Peso seco de nódulos totales	41
VI.5 Rendimiento	42
VII. CONCLUSIONES	46
VIII. BIBLIOGRAFIA	48

INDICE DE CUADROS

Cuadro II.1: Requerimientos totales y partición de nutrientes en soja, maíz y trigo	12
Cuadro II.2: Rendimientos de distintos cultivos, con absorción de 255 kg ha ⁻¹ de N y 24 kg ha ⁻¹ de P	13
Cuadro II.3: Clases de disponibilidad de P del suelo (Bray Kurtz 1, 0-20 cm) para el cultivo de soja en la Región Pampeana	20
Cuadro V.1: Caracterización física del horizonte superficial del Hapludol típico de Río Cuarto	29
Cuadro V.2: Caracterización físico-química y química del horizonte superficial del Hapludol típico de Río Cuarto	30
Cuadro V.3: Contenido hídrico y valoración de los nutrientes a la siembra	30
Cuadro V.4: Precipitaciones durante el ciclo del cultivo de soja	30
Cuadro VI.1: Número de nódulos por planta del cultivo de soja según tratamiento	35
Cuadro VI.2: Número de nódulos activos por planta del cultivo de soja según tratamiento	40
Cuadro VI.3: Peso seco de nódulos totales por planta del cultivo de soja según tratamiento	41
Cuadro VI.4: Rendimiento, rendimiento relativo, respuesta y eficiencia a la fertilización del cultivo de soja según tratamiento	43

INDICE DE FIGURAS

Figura II.1: Relación entre el número de nódulos/planta en V6 y el rendimiento en grano	17
Figura II.2: Relación entre el rendimiento y el número de nódulos en raíces primarias y secundarias	18
Figura II.3: Consumo anual de fertilizantes en Argentina	26
Figura V.1: Hapludol Típico de Río Cuarto	29
Figura VI.1: Precipitaciones y temperaturas medias mensuales durante el ciclo del cultivo de soja	34
Figura VI.2: Número de nódulos en raíz principal/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra	36
Figura VI.3: Número de nódulos en raíz secundaria/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra	36
Figura VI.4: Número de nódulos totales/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra	38
Figura VI.5: Relación entre el rendimiento (Kg ha^{-1}) y número de nódulos totales/planta del cultivo de soja	38
Figura VI.6: Número de nódulos/planta en raíz principal (NRP) y secundarias (NRS) del cultivo de soja, 45 días después de la siembra	39
Figura VI.7: Número de nódulos activos/planta en raíz principal (NARP) y secundarias (NARS) del cultivo de soja, 45 días después de la siembra	41
Figura VI.8: Peso seco (g) de nódulos totales/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra	42
Figura VI.9: Rendimiento en grano (Kg ha^{-1}) del cultivo de soja	44
Figura VI.10: Relación entre el rendimiento (Kg ha^{-1}) y la actividad de nódulos totales/planta (NAT) del cultivo de soja	44
Figura VI.11: Relación entre el rendimiento (Kg ha^{-1}) y el peso seco de nódulos totales/planta (PST) del cultivo de soja	45

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la nutrición fosforada proveniente de fertilizantes químicos y biológicos, sobre la fijación biológica de nitrógeno y el rendimiento del cultivo de soja. El ensayo, conducido bajo condiciones de campo, se implantó durante la campaña 2004/2005 sobre un suelo del Sub grupo de Hapludoles típicos franco arenoso muy fino, de Río Cuarto. El diseño estadístico utilizado fue de parcelas completamente aleatorizadas con tres repeticiones. Los tratamientos fueron: I (inoculante *Bradyrhizobium japonicum*) y la combinación del inoculante con superfosfato simple (IF) a razón de 20 kg P ha⁻¹; inoculante con bacterias solubilizadoras de fósforo (ISP) y con ambas fuentes química y biológica (IFSP), y el correspondiente testigo (T). Para la determinación del fósforo disponible se utilizó el método de Bray y Kurtz y para la valoración de nitratos, el método del ácido fenol disulfónico. Los resultados obtenidos indican que los tratamientos fertilizados con ambas fuentes (química y biológica), solos y en combinación mostraron mayores rendimientos en grano estadísticamente significativos. En las determinaciones del número de nódulos en raíz principal, secundarias y totales, se observaron diferencias significativas entre tratamientos siendo el número de nódulos en raíz principal siempre superior a los secundarios. En lo que concierne a los nódulos activos en raíz principal y raíces secundarias hubo diferencias significativas entre tratamientos, siendo mayores en el primer caso. No ocurrió lo mismo con el peso seco de nódulos, ni hubo una relación de los parámetros mencionados con el rendimiento. Se concluye que el fósforo proveniente de fertilizantes y biofertilizantes no tuvo efecto en la nodulación, pero sí sobre la producción del cultivo de soja. También hubo efecto positivo de la inoculación ya que se determinó mayor cantidad de nódulos en los tratamientos inoculados que en el sin inocular.

Palabras claves: Soja, Fijación Biológica, Fósforo, Bacterias solubilizadoras de fósforo, Rendimiento.

INCIDENCE OF DIFFERENT PHOSPHATED SOURCES ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF NITROGEN AND THE YIELD OF THE SOYBEAN CULTURE

Summary

The aim of the present investigation was to determine the effect of the phosphated nutrition coming from chemical and biological fertilizers, on the biological fixation of nitrogen and the yield of the soybean culture. The trial, was conducted under field conditions during the campaign 2004/2005 on a Sub group of Hapludol typical very fine sandy franc soil, of the Río Cuarto. The experiments were established according to a randomized complete parcels design with three replications. The treatments were inoculant (*Bradyrhizobium japonicum*) and the combination of the inoculant with superphosphate simple (20 kg P ha⁻¹); inoculant with phosphate solubilizing bacteria; inoculant with both fertilizers (chemical and biological) were carried out and the corresponding standard. The phosphorus available was determined according to Bray and Kurtz method and the valuation nitrates was measured for the phenol dysulphonic method. The obtained results indicate that the treatments inoculated with both fertilizers, alone or in combination, showed bigger yields in grain statistically significant. In the determinations of the number of nodules in main, secondary and total root, significant differences were observed between treatments, and the number of nodules in main root was always higher to the secondary root. The active nodules in main and secondary root showed significant differences among treatments, being higher in the first case. On the other hand, the dry weight of nodules did not show the same behavior, neither they showed a relationship of the parameters mentioned with the yield. It is concluded that, the addition of phosphorus for fertilizers and biofertilizers didn't show effect in the nodulation, but effect on the yield of the soybean culture. In addition, nodules of the inoculated treatments were more numerous than nodules of the without to inoculate treatment.

Key words: Soybean, Biological Fixation, Phosphorus, Phosphorus solubilizing bacteria, Yield.

I. INTRODUCCION

Si bien la fertilidad de los suelos de la Región Pampeana ha sido clasificada, en una escala internacional, entre alta y muy alta (Sillampää, 1982), la gradual reducción en sus reservas de nutrientes ha modificado esta situación (Díaz Zorita y Barraco, 2002). En coincidencia, pero desde una perspectiva más específica, Lovera y Salas (2002) señalan que los suelos de la Región Pampeana en la que se halla inserta gran parte de la Provincia de Córdoba, tienen una alta capacidad potencial de producción. Pero actualmente la capacidad productiva de los suelos está disminuida respecto a su situación original, ya que si se comparan los valores de algunos componentes del suelo como contenido de materia orgánica, nitrógeno y fósforo en el horizonte superior de un suelo “virgen” (sin alteración) y de un suelo “actual” con muchos años de agricultura, se pueden observar marcadas reducciones en estos parámetros (ver anexo 1) (Lorenzatti y Bianchini, 2004).

Este proceso de degradación de la fertilidad física y química de los suelos, iniciado a principios de siglo, se ha originado como consecuencia de la implementación de sistemas de labranzas que agredieron las fuerzas de cohesión entre partículas del suelo, acelerando los procesos de erosión de suelo y con ello la pérdida de nutrientes. Por otro lado, la remoción del suelo, en parte, causó una aceleración de la oxidación de la materia orgánica y la consecuente pérdida de nitrógeno. Sumado a esto, la aún vigente agriculturización con rendimientos e índices de extracción de nutrientes crecientes casi linealmente, con escasa rotación de cultivos y sin reposición de nutrientes por medio de fertilizantes definen la situación actual (García y Bach, 2003).

Un claro ejemplo de esos nutrientes, perdidos por erosión, insolubilizados o extraídos, que al no ser reciclados en el ambiente dependen de la aplicación externa de los mismos, es el fósforo (P). Este fue particularmente desatendido en el proceso agrícola, con el consecuente balance negativo actual (García y Bach, 2003). Balances globales de P en la Región Pampeana (diferencia entre los niveles extraídos y el uso de fertilizantes con P) para los cultivos de maíz, girasol, soja y trigo muestran en términos generales un aumento en los niveles de extracción, asociados tanto al aumento en los rendimientos de los cultivos de cosecha como el crecimiento en el área cultivada con soja, cultivo con alta exigencia en P (Díaz Zorita y Barraco, 2002).

El incremento en el área sembrada con soja, se debe a que es uno de los productos agrícolas más valiosos y rentables por poseer buena adaptabilidad a un amplio rango de condiciones edáficas y climáticas, por fijar nitrógeno atmosférico (Echeverría *et al.*, 2001). Argentina es el principal exportador mundial de aceite y harina de soja, y el tercer productor

mundial de soja luego de EEUU y Brasil (Ministerio de Economía, 2002). En consecuencia, el complejo exportador de soja es el más relevante en la economía del país. La superficie dedicada al cultivo continua creciendo y con la aparición de los materiales transgénicos, parece no existir techo para la producción de la misma (Echeverría *et al.*, 2001).

Actualmente, la soja, es el principal cultivo de la Región Pampeana, habiendo superado la superficie sembrada con trigo, cultivo colonizador en dicha región. La magnitud del cambio no sólo remite a lo cuantitativo sino que implica un enorme cambio cualitativo del sistema agrícola regional (Martínez y Cordone, 2003) ya que la soja es un cultivo de alta extracción de nutrientes (en especial N y P) y reducida reposición al suelo, lo cual ha resultado en una degradación de los suelos, especialmente en aquellos con mayor frecuencia de soja en la rotación (Andriulo *et al.*, 1996; Urricarriet y Lavado, 1997). A pesar de que el uso de fertilizantes también es creciente, no logra compensar el 50 % de los niveles extraídos de P. Esto no significa que la fertilización es indispensable en toda la región pampeana sino que corrobora el uso extractivo de la agricultura justificando, en parte, el decaimiento en los niveles de fertilidad de los suelos de la Región pampeana (Díaz Zorita y Barraco, 2002).

La adecuada nutrición fosfatada del cultivo permite un mayor desarrollo de nódulos y, por lo tanto, una mayor tasa de fijación de N atmosférico (Díaz Zorita *et al.*, 2000). Es por ello que el estudio de la disponibilidad de P y su relación con la fijación biológica en suelos destinados a la producción de soja permitirá tener el conocimiento necesario para optimizar el manejo de tierras y disminuir las limitantes de asimilabilidad que pudieran existir de estos nutrientes esenciales.

Por otra parte, el notable incremento en el uso de fertilizantes por las prácticas de la agricultura intensiva ha llevado, en otros países, a la degradación de la calidad del aire y del agua. Por eso el uso sustentable del fósforo en agricultura requiere estrategias para mejorar su adquisición por las plantas. En este contexto, es aprovechable esta causa para el progreso de la investigación en el rol de microorganismos en la adquisición del fósforo por las plantas (Iguar y Rodríguez Barrueco, 2003). Se han implementado proyectos con alguna experiencia en el exterior y muy pocos antecedentes a nivel nacional, que proponen la utilización de microorganismos que directa o indirectamente “solubilizan” nutrientes del suelo, entre ellos fósforo (García y Bach, 2003).

Se pretende que la información obtenida aporte nuevos conocimientos relacionados a la fertilidad de los suelos para poder establecer principios o pautas de manejo, tendientes a lograr una producción rentable y sustentable. La incorporación de biofertilizantes en la producción de los cultivos es una alternativa valiosa a los efectos de preservar el ambiente de posibles contaminaciones con el empleo de fertilizantes químicos.

II. ANTECEDENTES

II.1 Requerimientos Nutricionales

El cultivo de soja requiere 80 kg de nitrógeno (N), 8 kg de fósforo (P) y 7 kg de azufre (S) por tonelada de grano producida. Tanto los requerimientos como los índices de cosecha (IC), es decir la relación entre contenido en granos y los requerimientos totales de estos nutrientes son mayores para el cultivo de soja que para otros cultivos de granos, en especial los cereales (Cuadro II.1). Sin embargo esto no significa que los requerimientos totales de un cultivo de soja sean siempre mayores a los de otros cultivos ya que el requerimiento total también está determinado por el rendimiento (Gutiérrez Boem, 2005). La gran capacidad de particionar N a los granos, hace que el retorno de este elemento al suelo a través de los residuos sea insignificante (González, 1997).

Cuadro II.1: Requerimientos totales y partición de nutrientes en soja, maíz y trigo.

Nutriente	Requerimiento (kg tn ⁻¹)			Índice de cosecha (%)			Exportación (kg tn ⁻¹)		
	Soja	Maíz	Trigo	Soja	Maíz	Trigo	Soja	Maíz	Trigo
Nitrógeno	80	22	30	75	66	66	60	14,5	19,8
Fósforo	8	4	5	84	75	75	6,7	3	3,75
Azufre	7	4	4,5	67	45	25	4,7	1,8	1,125

Fuente: Adaptado de García, 1999 y 2000.

La exportación de nutrientes (Cuadro II.1) se relaciona con el IC nutricional, el cual es alto para N y P e intermedio para S (Díaz Zorita, 2003), debido a la elevada removilización de nutrientes desde estructuras vegetativas al grano que caracteriza a dicho cultivo (Baigorri, 1999). Por ejemplo, cultivos de 4000 kg ha⁻¹ de rendimiento, requieren unos 320 kg ha⁻¹ de N, 32 kg ha⁻¹ de P, 28 kg ha⁻¹ de S, de los cuales, aproximadamente, 240 kg ha⁻¹ de N, 27 kg ha⁻¹ de P y 19 kg ha⁻¹ de S, son exportados fuera del lote en los granos (Díaz Zorita, 2003). En el Cuadro II.2 se observa el rendimiento que pueden alcanzar otros cultivos con la absorción de 255 kg ha⁻¹ de N y 24 kg ha⁻¹ de P, correspondientes a un cultivo de soja de 3000 kg ha⁻¹ de rendimiento, donde Baigorri (1999), en coincidencia con Gutiérrez Boem (2005), concluye que en relación a otros cultivos, la soja presenta una alta absorción de N y P pero estos niveles sólo son comparables con los de otras leguminosas como la alfalfa.

Cuadro II.2: Rendimientos de distintos cultivos, con absorción de 255 kg ha⁻¹ de N y 24 kg ha⁻¹ de P.

Cultivo	Rendimiento (kg ha⁻¹) con una absorción total de 255 kg ha⁻¹ de N	Rendimiento (kg ha⁻¹) con una absorción total de 24 kg ha⁻¹ de P
<i>Soja</i>	3.000	3.000
<i>Arroz</i>	15.300	6.400
<i>Maíz</i>	11.600	6.000
<i>Sorgo granífero</i>	9.100	5.200
<i>Trigo</i>	9.200	4.800
<i>Papa</i>	58.200	72.400
<i>Girasol</i>	6.400	4.000
<i>Alfalfa (heno)</i>	9.600	7.300

Fuente: Andrade *et al.*, 1996 y Potash & Phosphate Institute, 1979.

Se debe destacar que el cultivo presenta buena adaptabilidad a un amplio rango de condiciones edáficas y climáticas (Echeverría *et al.*, 2001). Esa gran rusticidad puede sugerir una escasa demanda de nutrientes, pero la información disponible en el país y en el exterior demuestra lo contrario. Es el cultivo agrícola de mayor requerimiento de N y de P y también el de mayor necesidad de S, luego de la colza, presentando asimismo los más altos índices de cosecha (Fontanetto *et al.*, 2004) y una reducida reposición al suelo lo cual ha resultado en una degradación de éste, especialmente en aquellos con mayor frecuencia de soja en la rotación (Andriulo *et al.*, 1996; Urricarriet y Lavado, 1997). En Argentina del total de elementos requeridos por la soja para su desarrollo y producción, N, P, y S son frecuentemente identificados como aquellos que limitan el logro de cultivos de alto rendimiento. La ocurrencia de deficiencias de otros elementos son menos frecuentes y no presentan la magnitud de las de N, P y S (Díaz Zorita, 2003).

II.1.1 Nitrógeno

La soja se caracteriza por acumular importantes cantidades de proteína en grano, lo cual implica que el cultivo debe acumular una cantidad significativa de N (González, 1997). Esto la convierte en el cultivo con la mayor demanda de N y la menor producción de biomasa de semilla por fotoasimilado producido. Por eso, el N es el nutriente más crítico para el cultivo y si no existen limitantes mayores, el rendimiento es función directa de la capacidad de acumular N que exhibe el cultivo (Sylvestre Begnis y Bianchini, 2004).

II.1.1.1 Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN)

Este cultivo puede cubrir sus requerimientos de N a partir del aporte del suelo (por mineralización), la fertilización y el aire, por medio de la fijación biológica de nitrógeno (FBN).

La FBN, normalmente aporta entre el 25 % y el 84 % del total absorbido por el cultivo de soja (Buttery *et al.*, 1991). Según González (1994), en Argentina se citan aportes entre el 30 y el 42 %. En ensayos realizados en la Región Pampeana (en regiones sojeras como Marcos Juárez, Pergamino y Oliveros) se estimaron valores de N fijado de aproximadamente 20 a 40 % del N total requerido por el cultivo, equivalentes a 50 y 100 kg N ha⁻¹ respectivamente (Alvarez *et al.*, 1995; Di Ciocco *et al.*, 2004); en el SE bonaerense (Balcarce) se estimó que sólo alrededor de 30 % del N acumulado proviene de la FBN (González, 2000). Dichos valores se encuentran por debajo de los obtenidos en otros países, en el medio oeste norteamericano se estima que el suelo provee el 50-75 % del N asimilado por el cultivo (Harper, 1999). Esto nos estaría indicando que se puede mejorar aún más la productividad, favoreciendo la FBN para disminuir la extracción de N del suelo (González, 1997). Debido a que este proceso es ecológica y económicamente importante para los sistemas agrícolas sustentables por su efecto positivo en la conservación del nitrógeno del suelo. Pero a pesar de ello, ambas fuentes de N (atmosférico y del suelo) deben complementarse para que el cultivo alcance rendimientos máximos (Toniutti *et al.*, 2004).

Por otro lado, disponibilidades altas de N en el suelo inhiben la FBN, es decir, que el porcentaje de N acumulado por la planta que proviene de la fijación presenta una relación inversa con la cantidad de N disponible en el suelo, el que constituye la limitante más importante de la FBN (Venturi y Amaducci, 1985). Esto se debe a que dicho mecanismo es energéticamente costoso para la planta, se consume dos a tres veces más energía para obtener 1g de N fijado que la que se necesita para obtener 1g de N desde el suelo en la forma de nitratos (6-12 g de carbohidratos por cada g de N fijado) (Baigorri *et al.*, 2003). En consecuencia cuando dicho elemento está disponible, a la planta le resulta más barato, en términos de energía gastada, absorber N del suelo, que fijarlo.

En condiciones ideales de expresión de la simbiosis, la nodulación comienza a visualizarse a los 3-5 días y la actividad de fijación desde los 10-15 días de emergencia. Los valores de N son bajos en los estados vegetativos hasta comienzos de floración, con registros promedios de 0,5-1 kg de N fijado ha⁻¹ día⁻¹, de ahí en adelante se registra la mayor actividad. La tasa máxima de fijación se sitúa entre los estados reproductivos R5-R6 con valores promedios de 3 y máximos de 5 kg de N fijado ha⁻¹ día⁻¹. Luego de esta etapa, el proceso cae en forma abrupta (Baigorri *et al.*, 2003). Imsande (1998), trabajando con distintas fuentes de N (nitratos, urea y N de FBN), registró aportes de 60 mg de N/planta por

la fijación durante el período de llenado de granos. El concluye que en presencia de niveles no inhibitorios de N inorgánico, la rápida fijación de N durante el llenado de granos mejora la eficiencia de la fotosíntesis de la soja y, por este motivo, se espera mayor acumulación de materia seca con esta fuente de N.

Si no hay limitaciones ambientales, en numerosas experiencias se observó que en estados vegetativos V4-V5, las plantas cuentan con 10-12 nódulos/planta, ubicados en su mayoría en la parte superior de la raíz primaria, con un peso por planta superior a 80 mg y un peso individual de nódulo de 7 a 8 mg. En estado reproductivo R5-R6, la adecuada nodulación presenta 40-50 nódulos por planta, de los cuales 12 por lo menos se encuentran en la parte superior de la raíz primaria, de tamaño mediano a grande de 4-6 mm de diámetro. El peso seco óptimo de nódulos por planta ronda los 800 mg y el peso individual de nódulos de 7 a 9 mg (Baigorri *et al.*, 2003), y el número de nódulos considerado como crítico para el logro de máximos rendimientos es de 15 por planta, detectándose una estrecha relación entre la nodulación y los rendimientos (Fontanetto *et al.*, 2004).

En cuanto al patrón de distribución de los nódulos, el cuello de la planta es el primer punto apto para la nodulación de las raíces por los rizobios (Peticari, 1997). Es importante resaltar la mayor nodulación en la raíz primaria ya que estos nódulos tienen una capacidad de fijación de aproximadamente diez veces más nitrógeno que los situados en raíces secundarias (Toniutti *et al.*, 2004). La mayor eficiencia de los nódulos ubicados en la raíz principal, se debe a que éstos tienen menos gasto energético en el transporte del N fijado (Galarza *et al.*, 2004). En condiciones de suelo no estresantes es cuando los nódulos se ubican en la raíz primaria (Toniutti *et al.*, 2004), por consiguiente hay que generar las condiciones para el logro de un buen sistema nodular. La práctica más recomendable para lograr que la fijación sea una fuente importante de N para el cultivo es la inoculación de la semilla con cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, incorporadas por medio de inoculantes de alta calidad (Ferraris y Couretot, 2005). El objetivo de la inoculación, es asegurar la mayor cantidad posible de bacterias sobre la semilla, de manera de lograr una rápida infección y la generación de nódulos sobre la raíz principal que sean efectivos para la FBN (Silvestre Begnis y Bianchini, 2004).

También hay que tener en cuenta, que el resultado de la inoculación no es exclusivamente un aumento del rendimiento en grano, sino que también permite mejorar la calidad proteica del mismo. En ensayos realizados por el Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), en suelos de diversas regiones que contaban con poblaciones de rizobios naturalizadas, la inoculación con cepas altamente eficientes produjo incrementos en rendimiento y en el porcentaje de proteína en grano desde 5,5 a 15 % (Peticari, 1997).

La eficiencia de la nodulación depende de la cepa que coloniza las raíces de la leguminosa, el lugar de la raíz donde lo hace y las condiciones de desarrollo de las plantas.

Altas concentraciones del inóculo en la semilla y condiciones no estresantes favorecen a las cepas introducidas por el inoculante (Toniutti *et al.*, 2004). Las cepas más eficientes son aquellas que tienen mayor cantidad de nódulos medianos y grandes siendo rojos en su interior, ubicados en la raíz primaria, y tienen rápida y prolongada fijación (desde V2-V3 hasta R6); en cambio, los rizobios menos eficientes, originan nódulos más pequeños, ubicados en raíces secundarias, y tienden a paralizar la FBN en etapas tempranas (floración), presentando en algunos casos nódulos de coloración verde (Baigorri *et al.*, 2003)

Como los asimilados para sostener la fijación son provistos por la planta, es común observar una estrecha relación entre el crecimiento y la fijación de N, ya que ambos procesos dependen de la fotosíntesis (es decir, plantas que crecen y rinden más, fijan más N) (Gutiérrez Boem, 2005). En consecuencia, la evolución de la FBN está relacionada con la tasa de acumulación de carbono (C), por lo tanto, factores que afecten el crecimiento del cultivo, afectarán la tasa de acumulación de N (García, 2000), o dicho de otra manera, condiciones que afecten el balance energético global del cultivo reducirán el aporte de la FBN (González, 1997).

La FBN es un proceso que se integra con fuerte impacto sobre sistemas agropecuarios sustentables. Por tal motivo, se aprecia la necesidad de continuar mejorando la eficiencia de utilización de este bioinsumo, a través de diagnósticos y programas genéricos (Baigorri *et al.*, 2003). Añadiéndose a ello el balance negativo de N que el cultivo de soja, en general, presenta en la Región Pampeana (Gutiérrez Boem, 2005).

II.1.1.2 Incidencia del fósforo sobre la actividad biológica del nitrógeno

Fletcher (1961) y De Mooy y Pesek (1966), coinciden en su afirmación de que el P, entre sus múltiples efectos, tiene acción no sólo sobre la planta de soja sino también sobre la nodulación y capacidad de fijación simbiótica, a las que incrementa. Consecuentemente la adecuada nutrición fosfatada del cultivo permite un mayor desarrollo de nódulos y, por lo tanto, una mayor tasa de fijación de N atmosférico (Díaz Zorita, 2004). Superfosfato aplicado a razón de 168 kg ha⁻¹ incrementó el número de nódulos por planta desde 37,8 a 49,6 (Heltz y Whiting, 1928). Asimismo, Fletcher y Kurtz (1964) mencionaron un significativo efecto del P sobre el número de nódulos en experiencias en invernáculo, con la aplicación de 140 ppm; el máximo número de nódulos por planta varió entre 12 y 25.

Como ya se mencionó en párrafos anteriores, restricciones ambientales y de nutrientes que afecten el normal desarrollo de los cultivos limitan la tasa de acumulación del N, por lo que variaciones en la cantidad fijada de N se deben a la ocurrencia de factores que afectan a este proceso.

El sistema simbiótico rizobio-soja requiere que no haya limitantes minerales, sea por exceso o por defecto, para el desarrollo normal del cultivo. Por ejemplo, en experiencias más recientes, en la región centro-este de Santa Fe, la fertilización con P y S mostró efectos positivos sobre la nodulación y producción de soja, debido a que para todos los niveles de fertilización con P y con S, se determinó mayor cantidad de nódulos (sin mostrar interacciones significativas entre los mismos) en los tratamientos inoculados que en los sin inocular de 9,3 y 7,2 y de 7,7 y 6,4 nódulos/planta respectivamente para los dos sitios evaluados. El agregado de P provocó aumentos lineales en la nodulación (en los tratamientos inoculados como en los sin inocular) a razón de 19 nódulos/planta cada 100 kg ha⁻¹ de P aplicados. En promedio, para los tratamientos de fertilización con P y con S, la producción de grano en los tratamientos inoculados fue un 5,4 % mayor que los sin inocular.

La producción de grano mostró una respuesta lineal al agregado de P con una eficiencia media de 30,22 kg de grano kg de P⁻¹, también se detectó una relación entre la nodulación y los rendimientos (Figura II.1) (Fontanetto *et al.*, 2004). En otro ensayo en el que se evaluaron cuatro sitios de las provincias de Córdoba y Santa Fe hubo una fuerte evidencia de que la práctica de inoculación combinada con la fertilización con P y S provoca los mayores rendimientos (Lorenzatti y Bianchini, 2004). Lo mismo sucedió en experiencias realizadas por la Asociación Argentina de Productores de Siembra Directa (AAPRESID), quienes dicen que las prácticas de inoculación y fertilización producen aumentos de rendimiento en soja, pero la combinación de ambas prácticas produjo los mayores incrementos (495 kg ha⁻¹ más que el testigo), y a pesar del bajo coeficiente de correlación (Figura II.2) entre el rendimiento y el número de nódulos por planta (en raíces primarias y secundarias), se observó una tendencia que indica que a medida que éstos aumentan, crece el rendimiento (Syilvestre Begnis y Bianchini, 2004).

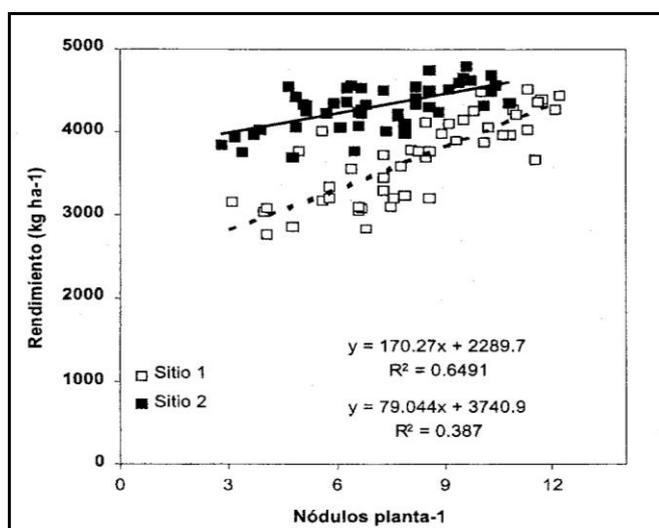


Figura II.1: Relación entre el número de nódulos/planta en V6 y el rendimiento en grano.

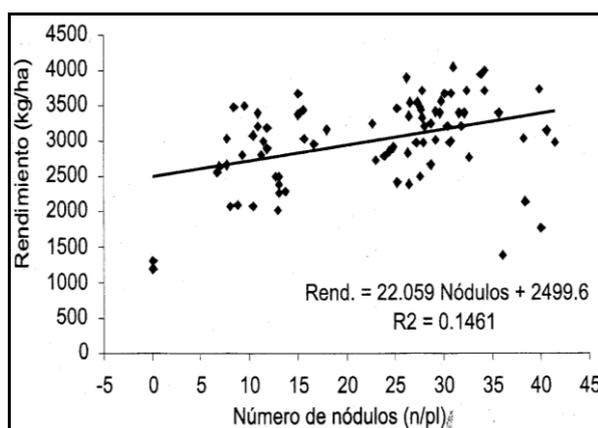


Figura II.2: Relación entre el rendimiento y el n° de nódulos en raíces primarias y secundarias.

No sólo las carencias de P disminuyen la formación de nódulos, y por consiguiente, la FBN sino también, las carencias de otros nutrientes tales como K, Ca, S y micronutrientes (Mo, Co, Ni, Fe y Mn) (Baigorri *et al.*, 2003).

Otro factor condicionante para la FBN es el estrés hídrico, el cual tiene efectos directos sobre la nodulación y la FBN: las siembras en condiciones secas provocan la mortandad de bacterias y disminuyen la posibilidad de lograr una nodulación apropiada (Baigorri *et al.*, 2003) y el impacto sobre el rendimiento depende de la intensidad y momento de ocurrencia del estrés (González, 1994). La falta de agua en etapas tempranas, retrasa la aparición de los nódulos y en etapas reproductivas, limita la FBN, restringiendo los rendimientos por menor aporte de N para la formación de granos (Baigorri *et al.*, 2003). Como lo expresa Racca (2002), cada vez que el agua útil disminuye por debajo del 60 %, umbral crítico para la soja durante el llenado de granos, se compromete también la FBN, que como ya se mencionó es máxima en esta etapa, disminuyendo el rinde potencial. Normalmente, la capacidad de fijación de los nódulos se reestablece si las condiciones de sequía no son tan severas o duran pocos días. No obstante, llega un punto (menos del 10 % del agua útil) que, aunque los nódulos y el cultivo recuperen su humedad al llover o regarse, la capacidad de fijación de los mismos, medida por la actividad de la nitrogenasa, no se recupera más.

Los períodos de estrés hídrico inducen la formación de nódulos en raíces secundarias, los cuales se comportan como altamente ineficientes para la FBN, por lo tanto, las tecnologías que reducen este estrés tales como la fertilización fosfatada, actúan como potenciadoras de la FBN (Olmedo, 2002). El P incrementa la eficiencia en el uso del agua (EUA) y tolerancia a la sequía de los cultivos por varios caminos, entre ellos el más relacionado con la FBN es el incremento en el crecimiento de las raíces con lo cual, aumenta el contenido de agua disponible para la planta por ser mayor el volumen de suelo donde extraen agua y nutrientes. El P localizado en bandas concentradas cerca de la semilla hace

que las raíces crezcan temprana y vigorosamente definiendo vastos sistemas de raíces, incrementando EUA y altas producciones (Bernardo *et al.*, 2002). Esto es de suma importancia para el cultivo en cuestión ya que la soja tiene particular necesidad de P en el estado de plántula por su limitada extensión radicular y por su influencia en la nodulación (González *et al.*, 1990). Posteriormente, la máxima tasa de absorción se ubica entre R2 y R6 y en estados fenológicos posteriores no es relevante (Vivas, 2005). Además el desarrollo más temprano y completo del follaje reduce la evaporación del agua del suelo y la erosiva energía de la gota de lluvia (Bernardo *et al.*, 2002). Aunque la fertilización es indiscutible, es importante conocer su efecto sobre la formación de los nódulos, principales responsables del suministro de N para la soja, ya que ambos factores se potencian para lograr altos rendimientos en forma sustentable.

II.1.2 Fósforo

Este elemento es el segundo nutriente limitante para la producción del cultivo luego del N. La soja para producir una tonelada de grano requiere unos 8 kg de P, cantidad que es mayormente exportada en la cosecha (Tabla II.1). La adecuada disponibilidad de P es crítica para el logro de un crecimiento rápido y el desarrollo adecuado del cultivo tanto de su parte aérea como de las raíces, de su nodulación y de la eficiencia de FBN (Gutiérrez Boem y Thomas, 1999).

Si bien los requerimientos de P son máximos luego de 30 días de la emergencia de las plántulas, su escasa movilidad en el suelo junto con el proceso de captación (difusión) requiere que el diagnóstico y las correcciones de potenciales deficiencias se realicen en el momento de la siembra o con anterioridad (Díaz Zorita, 2004). Para el eficiente manejo de la nutrición fosfatada del cultivo es conveniente estimar la capacidad del suelo para proveer este elemento. En la Región Pampeana el diagnóstico de la disponibilidad de P para el cultivo de soja se realiza, al igual que para otros cultivos, mediante la determinación del contenido de P extractable de los suelos (método de Bray Kurtz I) en la capa de 0 a 20 cm (Gutiérrez Boem, 2005).

El rendimiento de la soja se ve limitado por la disponibilidad de P del suelo, a niveles comparativamente más bajos, que otros cultivos como maíz, trigo o alfalfa. Las reducciones en los rendimientos en condiciones de deficiencias de P se explican mayormente por reducciones en el número de los granos, al afectar el área foliar y captación de la radiación en estadios tempranos de desarrollo. En casos de deficiencias muy severas el peso individual de los granos también puede disminuir, aunque lo hace en una proporción mucho menor que el número de granos (Gutiérrez Boem y Thomas, 1999). En nuestro país se han realizado estudios para relacionar los niveles de P extraídos de los suelos con la respuesta de soja a la

fertilización fosfatada. Entre ellos, la red de ensayos de fertilización de soja del proyecto fertilizar del INTA durante las campañas 2000/01 y 20001/02 en sitios mayormente ubicados en la Región Pampeana. En ellos se fertilizó el cultivo con una dosis de 20 kg ha⁻¹ de P colocado en bandas a la siembra. Se observó que el rendimiento del cultivo no fertilizado cae en la medida que la disponibilidad de P disminuye. Las mermas en el rendimiento llegaron a ser de poco más del 20 % cuando la disponibilidad fue de 3-4 ppm. El rendimiento relativo fue del 90-95 % con niveles de P del suelo de 8-12,5 ppm (Cuadro II.3). Por encima de este rango de disponibilidad (> 12,5 ppm) la probabilidad de respuesta es muy baja y se considera que la disponibilidad del nutriente para el cultivo de soja es alta. Por debajo del rango medio (< 8 ppm) la probabilidad de respuesta a la fertilización es alta, y se considera que la disponibilidad de P para la soja es baja (Gutiérrez Boem, 2005).

Dentro de este rango medio de disponibilidad se encuentran los valores críticos encontrados para el cultivo de soja en otros trabajos realizados en la Región Pampeana (Gutiérrez Boem, 2005). Melgar *et al.* (1995) señalaron que había una alta probabilidad de respuesta cuando los niveles de P eran inferiores a 9 ppm. En ensayos realizados en Entre Ríos se observó que se alcanza el 95 % del rendimiento máximo cuando el suelo tiene 9,5 ppm de P (Barbagelata *et al.*, 2000; Melchiori *et al.*, 2002). Para el sudeste de provincia de Buenos Aires se propuso como disponibilidad media de P el rango 8-11 ppm (Echeverría y García, 1998).

Cuadro II.3: Clases de disponibilidad de P del suelo (Bray Kurtz 1, 0-20 cm) para el cultivo de soja en la región pampeana.

	Disponibilidad				
	<i>Muy baja</i>	<i>Baja</i>	<i>Media</i>	<i>Alta</i>	<i>Muy alta</i>
P (ppm)	< 3,5	3,5-8,0	8,0-12,5	12,5-18,0	> 18
Rendimiento relativo (%)	< 80	80-90	90-95	95-98	> 98

Fuente: Adaptado de Díaz Zorita *et al.*, 2002.

En general, en la Región Pampeana los valores críticos observados para el cultivo de soja son menores que los observados para otros cultivos de granos, como trigo y maíz (Echeverría y García, 1998). Fuera de la Región Pampeana, Sánchez y Lizondo (1999) observaron respuestas positivas a la fertilización fosforada cuando los suelos tenían menos de 13 ppm de P disponible (35 ensayos realizados en Tucumán). Melgar *et al.* (1995) recopilaron la información de 65 ensayos realizados en el país y encontraron un 70 % de probabilidad de obtener respuestas de 200 kg ha⁻¹ o superiores en suelos con 9 a 14 ppm de P según Bray I.

Para conocer la respuesta a una dosis determinada de fósforo se requiere la realización de experimentos donde se aplican al cultivo varias dosis de P, sin embargo este tipo de ensayos no abundan en la Región Pampeana, por lo tanto, no se cuenta con la información necesaria para construir curvas de respuesta a dosis crecientes de P, de forma tal de poder calcular la dosis óptima económica para cada nivel de disponibilidad. En los pocos ensayos con dosis variables de P se observó que, en general, la respuesta a la fertilización crecía en la medida que aumentaba la dosis aplicada hasta 20 kg ha⁻¹ de P (Barbagelata *et al.*, 2000; Díaz Zorita *et al.*, 2000). En unos pocos sitios esta respuesta creciente a la fertilización continuó hasta una dosis de 30-40 kg ha⁻¹ de P (Prieto *et al.*, 1999). A partir de los resultados de la red de ensayos del proyecto fertilizar del INTA, se pueden esperar respuestas en grano al fertilizar con 20 kg ha⁻¹ de P (equivalente a 100 kg ha⁻¹ de superfosfato triple) superiores a los 200 kg ha⁻¹, en suelos con contenidos de P extractable inferiores a las 12 ppm. La respuesta es superior a los 300 kg ha⁻¹, si el P extractable del suelo es inferior a las 10 ppm (Díaz Zorita, 2003).

La soja junto con el girasol, son cultivos con requerimientos de P mayores que los cultivos de cereales, pero también con menores respuestas a la fertilización fosfatada, induciendo el empobrecimiento de P de los suelos, si no se considera su reposición en el cultivo o en la rotación (Berardo, 2003). El P es el nutriente en que la fertilización será cada vez más importante para el mantenimiento de altos niveles de rendimiento en soja, debido a la lenta pero continua reducción de los niveles disponibles en importantes áreas de la región núcleo agrícola argentina (Baigorri *et al.*, 1997), al que se le agrega ahora el S en algunas áreas de la Región Pampeana Norte y también se dispone de trabajos que reportan en algunos casos bajas disponibilidades de micronutrientes (B, Zn y Cu) (Baigorri, 1999). Gambaudo y Fontanetto (1996), mencionan un alerta para aquellos lotes con valores cercanos a 20 ppm de P disponible, que sería el nivel donde se debería comenzar restituir el P del suelo. Esto determina que cada vez sea más necesario el monitoreo de la evaluación de la disponibilidad de nutrientes, a través del análisis de suelo y material vegetal (Baigorri, 1999).

Las dosis de fertilizantes a aplicar no sólo dependen del contenido de P extraído del suelo sino también de los rendimientos esperados del cultivo (Díaz Zorita, 2003).

II.1.2.1 El fósforo y los microorganismos solubilizadores

Este nutriente en el suelo presenta elevada estabilidad, no posee compuestos inorgánicos como los nitratos que puedan ser lixiviados o volatilizados, pero su baja solubilidad es la razón principal de su deficiencia para las plantas a pesar de la continua mineralización de compuestos orgánicos del suelo. Además de la baja solubilidad, las cantidades disponibles suelen ser reducidas por las características de los fosfatos de ser

adsorbidos con bastante energía por diferentes compuestos del suelo (en especial por la fracción arcilla). Por lo tanto si la solubilidad pudiera ser incrementada, los pequeños niveles de P adquirirían gran importancia (Bernardo *et al.*, 2002). En consecuencia, para un uso sustentable del fósforo en agricultura se requiere de estrategias para mejorar su adquisición por las plantas (Igual y Rodríguez Barrueco, 2003). En este punto, es lícito mencionar que el suelo es un cuerpo vital donde se llevan adelante numerosos procesos biológicos y particularmente algunos que tienen que ver con la solubilización del fósforo orgánico e inorgánico del mismo para ponerlo a disposición de los microorganismos y las raíces de las plantas en la solución del suelo desde donde se nutren (Anta, 2006). Esta causa es aprovechable para el progreso de la investigación en el rol de microorganismos en la adquisición del fósforo por las plantas (Igual y Rodríguez Barrueco, 2003).

Kloepper y schroth definieron en 1978 a un tipo de bacterias como PGPR (por sus siglas en inglés, que significan Plant Growth Promoting Rhizobacteria, o rizobacteria promotora del crecimiento vegetal). El efecto sobre el crecimiento en las plantas inoculadas con rizobacterias ocurre por varios factores; uno de ellos es por la síntesis de ciertas sustancias reguladoras de crecimiento, como giberelinas, citocininas y auxinas, las cuales estimulan la densidad y longitud de los pelos radicales, aumentando así la cantidad de raíces en las plantas, lo que incrementa a su vez la capacidad de absorción de agua y nutrimentos y permite que las plantas sean más vigorosas, productivas y tolerantes a condiciones climáticas adversas, como las heladas o las sequías. Otro factor importante es la existencia de ciertas especies que incrementan la nutrición mineral en las plantas, ya que al solubilizar nutrientes poco móviles del suelo como el fósforo, mejoran el ingreso de este macronutriente hacia la planta, lo que se traduce en una mayor cantidad de biomasa (Hernández Montiel y Escalona Aguilar, 2004).

Entre los grupos microbianos capaces de solubilizar el fósforo edáfico los más relevantes son los hongos, muchos de los cuales son patógenos como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Sclerotium*. Un segundo grupo lo constituyen los actinomicetes y las bacterias, entre las que se puede mencionar a *Bacillus*, *Flavobacterium* y *Pseudomonas*. En este último grupo bacteriano, las pseudomonas, y particularmente una de sus especies *Pseudomonas fluorescens*, han demostrado una gran capacidad por parte de algunas de sus cepas de solubilizar las fracciones orgánicas e inorgánicas del fósforo presente en el suelo, y consecuentemente se han transformado en microorganismos más que interesantes para ser aislados, purificados y multiplicados con el propósito de elaborar inoculantes microbianos de alta eficiencia solubilizadora del P (Anta, 2006). Nahas (1996), probando 31 bacterias y 11 hongos encontró que *Pseudomonas cepacia* y *Penicillium purpurogenum* además de presentar mayor actividad de solubilización de P, mostraron respuesta significativa en grano,

materia seca y contenidos de fósforo. Estos resultados también fueron informados por Dubey (1996) cuando utilizó *Pseudomonas striata*.

La solubilización del P mineral y orgánico se produce por la capacidad que presenta la rizobacteria de producir ácidos orgánicos y fosfatasa, respectivamente. Además de estimular el crecimiento vegetal como ya se mencionó en párrafos anteriores, así como protección fitosanitaria a los cultivos debido a la producción de antibióticos y presencia de sideróforos en la cepa (Anta, 2006).

La producción de ácidos orgánicos (glutámico, láctico, cítrico, glucónico) permite solubilizar la fracción inorgánica del P, favoreciendo la liberación del mismo a la solución del suelo (Brenzoni y Petit, 2005). Los fosfatos (PO_4^{3-}) de Ca, Fe y Al pueden ser liberados a formas solubles a través de la acción de ácidos orgánicos y otros quelatos que se producen durante la descomposición. La liberación de PO_4^{3-} y micronutrientes existentes en superficies infértiles de rocas ha sido atribuida a la quelación. En lo que concierne a suelos agrícolas, la ocurrencia de los agentes quelantes es de rara ocurrencia y el incremento de la disponibilidad es causado por el efecto de acidificación de CO_2 producido por descomposición microbiana (Bernardo *et al.*, 2002). La producción de enzimas fosfatasas que hidrolizan y liberan P a la solución del suelo, a través de su acción sobre los enlaces ésteres fosfatásicos de la materia orgánica, permiten la solubilización de la fracción orgánica del P (Brenzoni y Petit, 2005).

Para que este efecto ocurra se requiere que las bacterias PGPR colonicen abundantemente las raíces (Olmedo, 2002). De acuerdo a Edi-Premono *et al.* (1996), para obtener efectos significativos es importante el desarrollo de cepas resistentes de *Pseudomonas putida* y que proliferen en la rizósfera de maíz. En test de solubilización de fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), los resultados encontrados indicaron que primero se produce una “adaptación” de la pseudomona (10-15 días) y después de éste período se incrementa el crecimiento del maíz, peso de tallos, al igual que la captación de fósforo (en estrecha relación con el pH) cuyo incremento fue de hasta un 40 %.

Se han implementado proyectos con alguna experiencia en el exterior y muy pocos antecedentes a nivel nacional, que proponen la utilización de microorganismos que directa o indirectamente “solubilizan” nutrientes del suelo, entre ellos fósforo (García y Bach, 2003).

En soja, la aplicación de superfosfato, *Pseudomonas striata* y *Aspergillus awamori* y/o 10 t de enmienda orgánica/ha modificó el número de nódulos y el peso de las plantas, área foliar, materia seca, mientras que el rendimiento de vainas fue mayor con la combinación de *Bradyrhizobium japonicum* 110 y *Pseudomonas fluorescens* 20 ó *Pseudomonas fluorescens* 21. La combinación de *Pseudomonas* y micorrizas vesicular - arbuscular (VA) resultaron en incrementos similares. La inoculación de soja con mezcla de microorganismos estimuló la nodulación, la actividad de la nitrogenasa y la actividad de los nódulos. También aumentó la

cantidad de "nitrógeno biológico" en plantas (determinado por N^{15}) en comparación con soja inoculada con bacterias solamente (García y Bach, 2003).

En ensayos de invernáculo con soja, Schreiner *et al.* (1997), concluyeron que los hongos de la micorriza influenciaron en el peso seco de vainas, en las relaciones vaina: tallo y vaina: raíz y en la nodulación. Para los tratamientos se utilizó suelo con bajo nivel de P (-P), suelo fertilizado (+P) y suelo con bajo nivel de P más inoculación con uno de los siguientes organismos: *Arbuscular micorriza (Am) Glomus etunicatum (Ge)*, *Glomus mosseae (Gm)* o *Gigaspora rosea (Gr)*. El peso seco de las plantas de Am fue intermedio a los obtenidos en los tratamientos -P y +P. A su vez, dentro de los tratamientos inoculados Gm presentó el mayor peso seco de vainas y la menor relación vaina: tallo y vaina: raíz, mientras que en Ge se obtuvo el mayor peso seco de tallos y número de nódulos.

Por otro lado, García y Bach (2003), en experiencias conducidas bajo condiciones de campo, analizaron el efecto de la inoculación con *Pseudomonas spp (PS)* sobre el cultivo de trigo. Para ello se combinó el inoculante Rizofos[®] (sin y con), con nitrógeno en dos niveles (0 y 80 kg ha⁻¹) y con P en tres niveles (0, 40 y 80 kg P₂O₅ ha⁻¹). Los resultados obtenidos indicaron que la inoculación con la bacteria se asoció a incrementos de rendimiento estadísticamente significativos. Los mayores incrementos de rendimiento se observaron cuando la inoculación se acompañó de una adecuada fertilización con N y P. También se observó que la inoculación produjo incrementos similares a los obtenidos con una dosis de P₂O₅ de 40 kg ha⁻¹, en tanto que la combinación de ese nivel de fertilización fosfatada con *Pseudomonas* produjo resultados similares a la dosis de 80 kg P₂O₅ ha⁻¹.

Con el fin de explorar la posibilidad de desarrollar el uso comercial de *Pseudomonas* solubilizadoras de P (Rizofos[®]), García (2002) realizó en maíz un ensayo similar al anterior (en dos localidades: Pergamino y Chivilcoy, Provincia de Buenos Aires). Los tratamientos contemplaron la combinación de dos dosis de N (0 y 60 kg N ha⁻¹) y tres de P (0, 40 y 80 kg P₂O₅ ha⁻¹) con bacterias y sin bacterias. Al considerar la interacción de los tres factores ensayados en promedio de las dos localidades, se observó un efecto conjunto y aditivo de los mismos. Y si bien la inoculación con *Pseudomonas* sola o en combinación con cada uno de los macronutrientes considerados incrementó los rendimientos, los resultados indicaron que las mismas poseen un efecto en el rendimiento independiente a la aplicación de N y P, arrojando un incremento de 855 kg ha⁻¹ (García, 2002)

En sorgo bicolor o granífero, la inoculación combinada de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus polymyxa* o *Pseudomonas striata* incrementó el tamaño y el peso de la panoja, el número de espiguillas por espigas, el rendimiento de grano y paja y el contenido de N y P (Jisha y Alagawadi, 1996).

En trigo, Mohammad *et al.* (1998), determinaron que la inoculación con *Glomus intraradices* para dos niveles de disponibilidad de P, produjeron incremento de rendimiento

de grano similares a los producidos por la aplicación de P. La interacción fitohormonal entre *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium leguminosarum* con éste cultivo, incrementó el número de macollos fértiles, el número de espigas, materia seca y rendimiento de grano. Paralelamente, el contenido de N y P en el grano se incrementó significativamente.

El uso a gran escala de estos microorganismos como biofertilizantes en cualquier sistema de producción agrícola traería grandes beneficios, puesto que son más baratos que los de origen inorgánico, tiene efectos positivos en las plantas (similares a los de un fertilizante químico) y no ejercen un impacto ecológico perjudicial en el ambiente ni en la salud humana. Por lo tanto adoptar este tipo de innovación tecnológica que se inclina hacia la conservación del ambiente, incrementará la productividad de los cultivos y bajará los costos de producción, contribuyendo, en suma, a una agricultura sustentable que trata de usar los recursos naturales con respeto al ambiente y sin comprometer a nuestras generaciones futuras (Hernández Montiel y Escalona Aguilar, 2004).

II.1.3 Fertilización de soja en Argentina

Si bien el consumo de fertilizantes en Argentina se ha incrementado notablemente en la década del 90 (Figura II.3), este aumento se encuentra aún lejos de alcanzar los niveles de reposición de nutrientes adecuados para la Región Pampeana. Esa baja reposición, ha llevado a una disminución considerable de la fertilidad nativa de los suelos, con lo cual la fertilización se convierte en una práctica indispensable para alcanzar rendimientos rentables y sustentables (García, 2001) es decir que los nutrientes devueltos por fertilización son sólo una pequeña porción de lo que se exporta (Lorenzatti y Bianchini, 2004). Esta situación ha provocado que la deficiencia de N y P se haya generalizado en la Región Pampeana como consecuencia de la expansión de la soja y que en algunas situaciones se encuentren respuesta al agregado de S (Echeverría *et al.*, 2001; Pedrol *et al.*, 2001 y García, 2001).

De todos modos, la tendencia hacia la fertilización en soja sigue siendo positiva, en la campaña 2005/ 2006 se aplicaron (Figura II.3), 700.000 tn contra 500.000 tn de la campaña pasada, que expresado en porcentaje el consumo creció a un ritmo del orden del 30 % anual en los dos últimos años (Díaz Zorita *et al.*, 2007).

El productor está intensificando más la tecnología, buscando maximizar rindes y rentabilidad, utilizando al fertilizante como elemento clave para el logro de estos resultados. Un punto para destacar es que el incremento fundamentalmente se sostiene buscando maximizar el balance de nutrientes, especialmente en P y S (Díaz Zorita *et al.*, 2007).

El mayor uso de fertilizantes, como el de otras prácticas de manejo que aportan a la eficiente nutrición del cultivo (tal es el caso de los inoculantes), tienen el propósito de reducir limitaciones en los rendimientos alcanzables, por lo que son prácticas que muestran

una tendencia creciente en su uso acompañando a mayores demandas de nutrientes por aumentos en los rendimientos y la reducción en la oferta de los suelos (Díaz Zorita *et al.*, 2007).



Figura II.3: Consumo anual de fertilizantes en Argentina.

En las dosis aplicadas con frecuencia, la práctica de la fertilización de soja (como en la mayoría de los cultivos extensivos en la Argentina) tienen como objetivo principal evitar la falta de nutrientes específicos para su normal producción. Por lo tanto, si bien representa un aporte de importancia para atenuar el deterioro en la fertilidad de los suelos, no es una estrategia de compensación total de la extracción de nutrientes. En la Argentina se trabaja en este sentido en la teoría de los rendimientos y no sobre la teoría de reposición de nutrientes (Díaz Zorita *et al.*, 2007).

En síntesis, la fertilización en soja se plantea a partir de la necesidad de mejorar los rendimientos y la rentabilidad del cultivo, y los balances de nutrientes en los suelos para mantener y/o mejorar su capacidad de producción (Lorenzatti y Bianchini, 2004), pero no existe una estrategia de fertilización que tienda a la reposición de los nutrientes exportados y, menos aún, a alcanzar el umbral de disponibilidad de los nutrientes deficientes (Martinez y Cordone, 2000). Sin embargo la concientización de la necesidad de devolver nutrientes al suelo crece (Díaz Zorita *et al.*, 2007).

III. HIPÓTESIS

El mayor abastecimiento de P altera la distribución de los nódulos fijadores de N, localizándose más cercanos a la superficie, y por lo tanto mejora su eficiencia.

La mayor utilización de fósforo por el cultivo aumenta la nodulación, la fijación biológica de nitrógeno y por ende el rendimiento.

IV. OBJETIVOS

IV.1 Objetivo general:

Determinar el efecto de la nutrición fosforada proveniente de fertilizantes químicos y de biofertilizantes sobre la fijación biológica de nitrógeno y el rendimiento de un cultivo de soja.

IV.2 Objetivos específicos:

Evaluar el patrón de distribución de los nódulos fijadores de N, su actividad y peso seco de los mismos.

Determinar la influencia de los tratamientos en el rendimiento en grano del cultivo de soja.

V. MATERIALES Y METODOS

V.1. Ubicación y caracterización del área donde se realizó el ensayo

El ensayo con el cultivo de soja se implantó durante la campaña 2004/2005 sobre un suelo de la región Centro Sur del Departamento Río Cuarto, Provincia de Córdoba, Argentina, perteneciente al campo de docencia y experimentación de la Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC), ubicado sobre Ruta Nacional 36, Km 601, distante 5 km al NE de la ciudad de Río Cuarto. Se trata de un suelo del Sub grupo de Hapludoles típicos (Figura V.1) franco arenoso muy fino (Soil Taxonomy, 1999). Las características de este suelo se muestran en los Cuadros V.1, V.2 y V.3.



Figura V.1: Hapludol típico de Río Cuarto, sobre el que se realizó el ensayo.

Cuadro V.1: Caracterización física del horizonte superficial del Hapludol típico de Río Cuarto.

<i>Horizonte</i> (cm)	<i>Arena</i> (%)	<i>Arcilla</i> (%)	<i>Limo</i> (%)	<i>Densidad</i> <i>Aparente</i> (kg cm ⁻³)	<i>Agua</i> <i>Gravimétrica</i> (%)	
Ap (0-18 cm)	44,15	9,52	46,33	1,12	30 KPa	1500 KPa
					17,8	10,5

Cuadro V.2: Caracterización físico-química y química del horizonte superficial del Hapludol típico de Río Cuarto.

<i>Horizonte</i> (0-18 cm)	<i>Materia Orgánica</i> (%)	<i>pH</i> <i>actual</i>	<i>C.I.C.</i> <i>cmol.kg⁻¹</i>	<i>Ca⁺²</i> <i>cmol.</i> <i>kg⁻¹</i>	<i>Mg⁺²</i> <i>cmol.</i> <i>kg⁻¹</i>	<i>K⁺</i> <i>cmol.</i> <i>kg⁻¹</i>	<i>Na⁺</i> <i>cmol.</i> <i>kg⁻¹</i>
Ap	1,98	6,5	16,95	9,4	2,78	1,68	0,89

Cuadro V.3: Contenido hídrico y valoración de los nutrientes a la siembra.

<i>Humedad (%)</i> (0-18 cm)	<i>N-NO₃⁻ ppm</i>		<i>P ppm (Bray y Kurtz I)</i> (0-18 cm)
	<i>0-18 cm</i>	<i>0-40 cm</i>	
21	19	12	11,25

En lo que respecta al clima de la región es templado, con una distribución de las precipitaciones de tipo monzónica, y una pluviometría que ronda los 700–800 mm anuales. La temperatura máxima media anual es de 22,6 °C y la mínima 10,25 °C; y el período libre de heladas es de 256 días. A continuación (Cuadro V.4), se detallan las precipitaciones ocurridas en el ciclo del cultivo.

Cuadro V.4: Precipitaciones durante el ciclo del cultivo de soja (mm).

Meses	Lluvias (mm)
Diciembre	132
Enero	270
Febrero	162
Marzo	82
Abril	56
Total en el ciclo	702

Fuente: Cátedra de Agrometeorología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria (FAV), Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC).

V.2 Implantación del ensayo a campo

Se utilizó la variedad Nidera[®] A 4303 RR de comprobado buen comportamiento en la zona. La siembra se realizó el 22/12/04 con máquina Agrometal[®] bajo un sistema de labranza de siembra directa sobre parcelas de 4,18 m de ancho (9 surcos) y 6 m de largo, siendo la distancia entre hileras de 52 cm. El diseño estadístico utilizado fue el de parcelas completamente aleatorizadas con tres repeticiones. Los tratamientos consistieron en

fertilización fosforada mediante distintas fuentes (química y biológica) e inoculación, los mismos respondieron al siguiente detalle:

- ☐ Testigo absoluto (**T**).
- ☐ Inoculado (**I**).
- ☐ Inoculado + Solubilizadoras de P (**ISP**)
- ☐ Inoculado + P + solubilizadoras de P (**IFSP**)
- ☐ Inoculado + P (**IF**)

La fertilización con P se realizó durante la siembra, y la fuente utilizada fue superfosfato simple (0-20-0) en una dosis de 100kg ha⁻¹. La inoculación líquida con *Bradyrhizobium Japonicum* (Nitragin[®]) y con las bacterias solubilizadoras de fósforo se hizo por medio de mezcla manual de la semilla previo a la siembra.

V.3 Muestreo de suelo

El muestreo de suelo se hizo a la siembra del cultivo. El mismo se realizó manualmente con muestreador de muestra compuesta, haciendo los piques al azar (siguiendo una trayectoria en zigzag) a lo largo. La profundidad de muestreo fue de 0-18 cm para la determinación de P y N-NO₃⁻, y también de 20-40 cm para este último.

La muestra, de aproximadamente 1 kg se colocó en bolsa de polietileno e identificó y conservó en lugar fresco. Luego se desmenuzó, mezcló y cuarteó, obteniéndose un peso final de aproximadamente 0,5 kg. Para el caso de nitratos, los análisis se realizaron inmediatamente para evitar cambios en el contenido del nutriente.

V.4 Determinación de nutrientes

La determinación del fósforo disponible en el suelo se realizó a la siembra, a través del método de Bray y Kurtz (Jackson, 1958). En cuanto a la determinación de nitratos, se utilizó el método colorimétrico del ácido fenol disulfónico (Black, 1965). En las mismas muestras se determinó el contenido de humedad a la siembra (0-18 cm).

V.5 Evaluación de los parámetros de la FBN

Para los muestreos, los surcos limítrofes fueron descartados al igual que los tres centrales, dejados éstos últimos para determinar rendimiento; por lo tanto los surcos restantes se utilizaron para evaluar los parámetros de la FBN.

A los 45 días de la siembra, encontrándose el cultivo en la etapa fenológica de floración (R1), se realizó un muestreo de 5 plantas al azar en cada parcela, las mismas se recolectaron con una pala y se extrajeron con raíces, las cuales se lavaron con agua para separar el suelo sin producir el arrancado de los nódulos. Se cortaron (separándolas de la parte aérea), embolsaron, identificaron y conservaron en lugar fresco. Luego en etapa de laboratorio se determinó:

- Número de nódulos ubicados en la raíz principal y en las secundarias mediante conteo bajo lupa manual y número de nódulos totales por planta.
- Nódulos activos principales y secundarios (número y porcentaje por planta), a través de apreciación visual de la coloración rosada, con lo cual se evidencia la eficiencia de los nódulos.
- Peso seco de nódulos totales por planta, para ello se secaron en estufa a 60 °C y se pesaron.

V.6 Determinación del rendimiento

La cosecha (28/04/05) se hizo en forma manual en 3 m lineales (3 m x 0,520 m = 1,56 m²) sobre los surcos centrales, tomándose 3 submuestras en cada parcela que se desgranaron con máquina estática marca Forti[®], luego se obtuvo el peso del grano y los datos colectados fueron transformados a kg ha⁻¹.

V.7 Procesamiento de datos

Los datos registrados fueron procesados por medio de análisis estadísticos realizados por el programa INFOSTAT/profesional versión 1.1 (actualización 2002). Se hizo análisis de la varianza (ANOVA), (ver anexo 2) y las medias se compararon según el Test: LSD Fisher al 5 % (P < 0,05). En cuanto al rendimiento, los valores obtenidos fueron expresados como rendimiento relativo, RR (rendimiento del cultivo no fertilizado, testigo, expresado en forma relativa al tratamiento fertilizado), respuesta a la fertilización (diferencia de rendimiento entre el cultivo fertilizado y el no fertilizado) y eficiencia de la fertilización (incremento del rendimiento, respuesta, por unidad de nutriente aplicado) (Gutiérrez Boem *et al.*, 2005).

$$RR (\%) = \frac{\text{rendimiento del testigo}}{\text{rendimiento del fertilizado}} \times 100 \quad (\text{Gutiérrez Boem } et al., 2005).$$

$$\text{Respuesta (kg ha}^{-1}\text{)} = \text{rendimiento fertilizado} - \text{rendimiento testigo} \quad (\text{Gutiérrez Boem } et al., 2005).$$

$$\text{Eficiencia} = \frac{\text{respuesta (kg grano ha}^{-1}\text{)}}{\text{dosis de fertilizante (kg P ha}^{-1}\text{)}} \quad (\text{Gutiérrez Boem } et al., 2005).$$

(kg grano kg nutr.⁻¹)

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

VI.1 Escenario ambiental

Por no contar con buena humedad en el perfil del suelo, debido a las escasas precipitaciones ocurridas durante los meses de octubre, noviembre y parte de diciembre, la fecha de siembra se debió atrasar, realizando en consecuencia soja de segunda. Sin embargo, al momento de siembra el contenido hídrico fue aceptable con un valor de 21 % (Cuadro V.3) que superó el de capacidad de campo (17,8 %) del suelo (Cuadro V.1), por lo tanto al inicio del ciclo el cultivo no sufrió deficiencias hídricas. Durante los meses de febrero, marzo y abril, llovieron (Figura VI.1) aproximadamente 300 mm en total, permitiendo un normal crecimiento del cultivo en su período crítico. El régimen térmico (Figura VI.1), se caracterizó por la ocurrencia de moderadas temperaturas medias, salvo en el mes de abril en el cual se registraron temperaturas medias bajas.

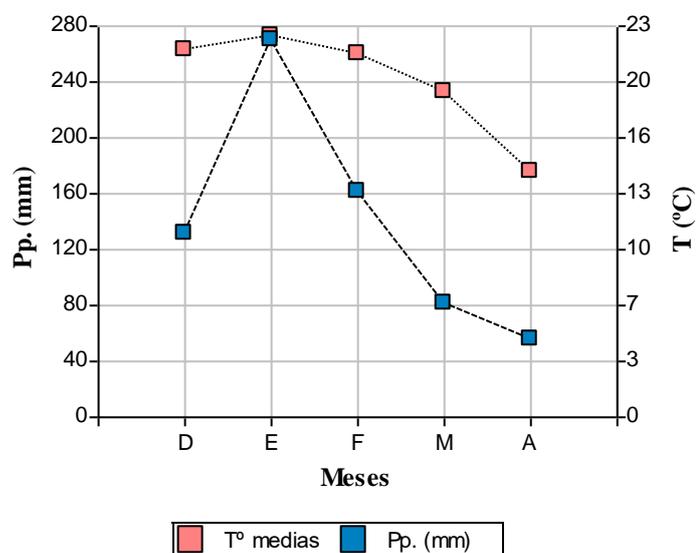


Figura VI.1: Precipitaciones (Pp.) y temperaturas (T°) medias mensuales durante el ciclo del cultivo de soja (campana 04/05).

VI.2 Número de nódulos

Las medias del número de nódulos en raíz principal (nódulos principales), secundaria (nódulos secundarios) y totales, se exponen en el Cuadro VI.1 y las Figuras VI.2, VI.3 y VI.4 respectivamente. Se observan (Cuadro VI.1) diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos para cada una de estas determinaciones presentando las mayores diferencias con el menor valor de p los nódulos totales, seguida de los nódulos secundarios y por último los principales.

Cuadro VI.1: Número de nódulos por planta del cultivo de soja según tratamiento.

Tratamientos	Nº de Nódulos en Raíz Principal *	Nº de Nódulos en Raíces Secundarias *	Nº de Nódulos totales/planta *
T	18,07 A	13,00 A	31,07 A
I	28,80 B	26,20 B	55,00 C
ISP	28,60 B	12,07 A	43,20 B
IF	28,67 B	16,87 A	45,53 B C
IFSP	29,73 B	17,47 A	47,40 B C
P	0,0160	0,0042	0,0034

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

Como se muestra en la Figura VI.2 y Cuadro VI.1, en raíz principal el testigo (T) fue el único que presentó diferencias significativas (A) con el resto de los tratamientos (B), dado el menor número de nódulos principales. El tratamiento I (inoculado) se comportó en forma similar a los tratamientos fertilizados, lo cual indica la importancia de la inoculación. En coincidencia con lo expresado por Ferraris y Couretot (2005), quienes dicen que la práctica más recomendable para lograr que la fijación sea una fuente importante de N para el cultivo es la inoculación de la semilla con cepas de *Bradyrhizobium japonicum*. Sylvestre Begnis y Bianchini (2004) también afirman que el objetivo de la inoculación es asegurar la mayor cantidad posible de bacterias sobre la semilla, de manera de lograr una rápida infección y la generación de nódulos sobre la raíz principal que sean efectivos para la FBN.

En cuanto al número de nódulos en raíces secundarias, se observa (Figura VI.3 y Cuadro VI.1) que el tratamiento con inoculante solo (I) es el único que presentó diferencias significativas correspondiéndose con el mayor valor medio de 26,2 nódulos secundarios por planta (Cuadro VI.1). Este resultado no se puede atribuir a la menor disponibilidad de P, ya que el tratamiento T con igual disponibilidad de P, sólo logró la mitad de nódulos secundarios que I.

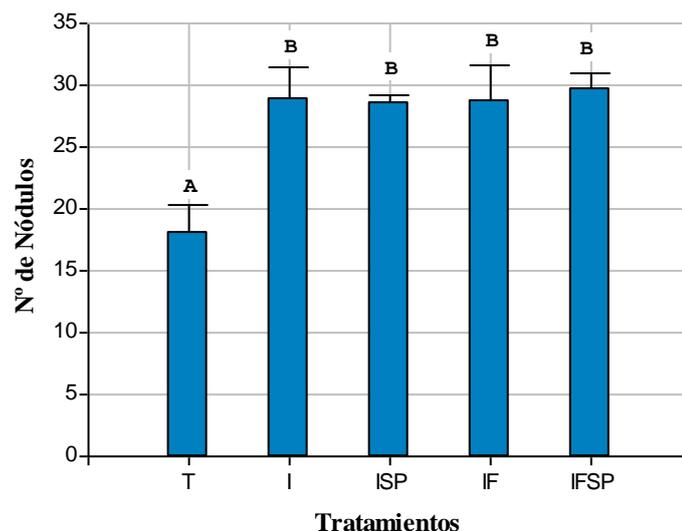


Figura VI.2: Número de nódulos en raíz principal/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra (R1).

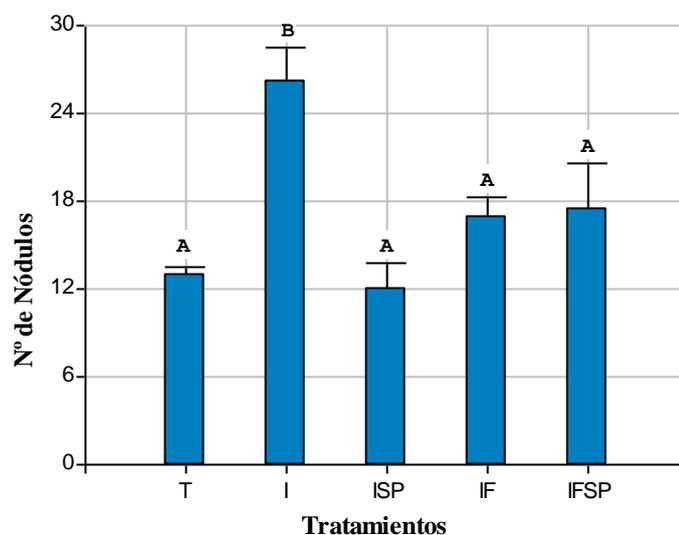


Figura VI.3: Número de nódulos en raíces secundarias/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra (R1).

En la Figura VI.4, correspondiente al número de nódulos totales, se pueden visualizar marcadas diferencias entre tratamientos, ya que I difiere significativamente de T e ISP. Además, hay diferencias significativas entre T con el resto de los tratamientos, el cual arrojó el menor número de nódulos totales respondiendo a un valor de media de 31,07 (Cuadro VI.1) como era de esperar al no contar con las cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, salvo algunas cepas naturalizadas que pudieran encontrarse en el suelo. Pero este efecto, nuevamente, no se puede atribuir a la menor disponibilidad de P en la solución del suelo ya

que el tratamiento I al igual que T, no tuvo agregado de P y sin embargo fue el que presentó el mayor número de nódulos por planta.

Se comprueba que los resultados no coinciden con los obtenidos por Heltz y Whiting (1928) dónde sí hubo un efecto del P sobre la nodulación, ya que la aplicación de superfosfato a razón de 168 kg ha⁻¹ incrementó el número de nódulos por planta desde 37,8 a 49,6. Asimismo, Fletcher y Kurtz (1964) también mencionaron un significativo efecto del P sobre el número de nódulos en experiencias en invernáculo. Si bien hay que tener en cuenta que en estas investigaciones no se menciona la realización de la práctica de inoculación llevada a cabo en el presente.

En experiencias más recientes (región centro-este de Santa Fe) Fontanetto *et al.* (2004), evaluaron el efecto de la inoculación y de la fertilización con P y S sobre la nodulación y producción de soja, y observaron que para todos los niveles de fertilización con estos nutrientes, se determinó mayor cantidad de nódulos (sin mostrar interacciones significativas entre los mismos) en los tratamientos inoculados que en los sin inocular, las diferencias fueron de 9,3 y 7,2 y de 7,7 y 6,4 nódulos/planta respectivamente para los dos sitios evaluados. También se detectó una relación entre la nodulación y los rendimientos (Figura II.1), efecto que no se observó (Figura VI.5) en el presente trabajo pese al incremento en el número de nódulos, que fue de 14,3 en promedio para los tratamientos fertilizados (acompañados con el inoculante) respecto al testigo; no coincidiendo tampoco con los resultados obtenidos por Sylvestre Begnis y Bianchini (2004), que a pesar del bajo coeficiente de correlación entre el rendimiento y el número de nódulos por planta (en raíces primarias y secundarias), se observó una tendencia que indica que a medida que éstos aumentan, incrementa el rendimiento (Figura II.2).

En cuanto al uso de biofertilizantes, tampoco se pudo comprobar efecto sobre la nodulación (producto de la mejora en la disponibilidad de P orgánico e inorgánico) en ambos tratamientos: ISP e IFSP, ya que estadísticamente son iguales no sólo al tratamiento IF, sino también al I, el cual pese a que no tuvo agregado de fertilizante biológico ni químico obtuvo un valor medio de 55 nódulos totales por planta, superando al resto de los tratamientos. Estos resultados son distintos a los obtenidos por García y Bach (2003) en cultivo de soja, en el cual la aplicación de superfosfato, *Pseudomonas striata* y *Aspergillus awamori* y/o 10 t de enmienda orgánica ha⁻¹ modificó el número de nódulos y el peso de las plantas, área foliar, materia seca, mientras que el rendimiento de vainas fue mayor con la combinación de *Bradyrhizobium japonicum* 110 y *Pseudomonas fluorescens* 20 ó *Pseudomonas fluorescens* 21. La combinación de *Pseudomonas* y micorrizas vesicular - arbuscular (VA) resultaron en incrementos similares. La inoculación de soja con mezcla de microorganismos estimuló la nodulación, la actividad de la nitrogenasa y la actividad de los nódulos. También aumentó la

cantidad de "nitrógeno biológico" en plantas (determinado por N^{15}) en comparación con soja inoculada con bacteria solamente.

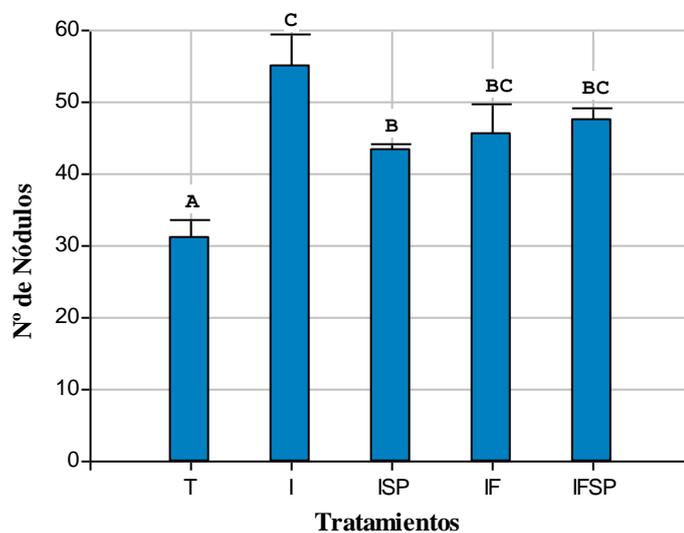


Figura VI.4: Número de nódulos totales/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra (RI).

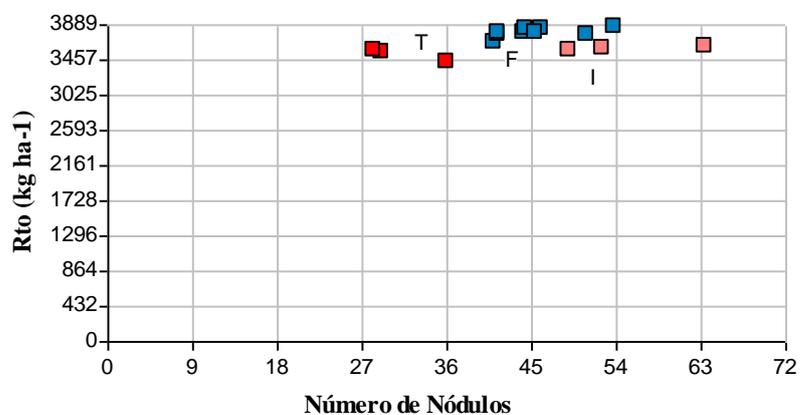


Figura VI.5: Relación entre el rendimiento ($kg\ ha^{-1}$) y el número de nódulos totales/planta del cultivo de soja. T (■): tratamiento testigo; I (■): tratamiento inoculado; F (■): tratamientos fertilizados.

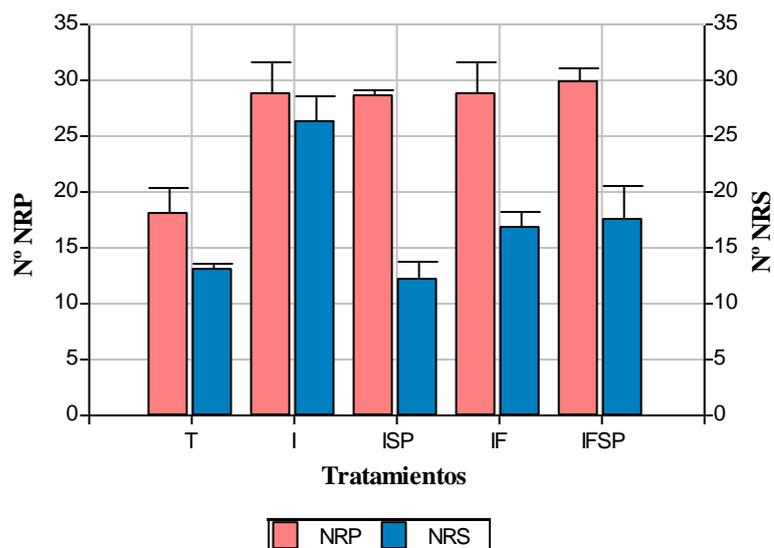


Figura VI.6: Número de nódulos/planta en raíz principal (NRP) y raíces secundarias (NRS) del cultivo de soja, 45 días después de la siembra (RI).

Se puede apreciar en la Figura VI.6 que todos los tratamientos que contemplaron los factores evaluados tanto en forma individual (fertilización química, IF, y biológica, ISP) como combinados (IFSP), el número de nódulos en la raíz principal (NRP) fue siempre superior a los secundarios (NRS) con un ligero incremento, a pesar de no haber diferencias significativas, en el tratamiento IFSP. Asimismo el inoculado (I) se comportó de forma similar a los tratamientos fertilizados en cuanto al número de NRP y manifestó el mayor número de NRS, esta respuesta podría deberse a que el resto de los tratamientos (ISP, IF e IFSP) tuvo una baja colonización del inoculante *Bradyrhizobium japonicum*, y en el ISP también por una baja colonización u adaptación de los microorganismos solubilizadores al medio.

La falta de respuesta al P pudo deberse a los niveles medios de P extractable en el suelo (11,25 ppm).

VI.3 Nódulos activos

Las cepas más eficientes son aquellas que tienen mayor cantidad de nódulos medianos y grandes siendo rojos en su interior, ubicados en la raíz primaria, y tienen rápida y prolongada fijación (desde V2-V3 hasta R6); en cambio, los rizobios menos eficientes, originan nódulos más pequeños, ubicados en raíces secundarias, y tienden a paralizar la FBN en etapas tempranas (floración), presentando en algunos casos nódulos de coloración verde (Baigorri *et al.*, 2003).

Cuadro VI.2: Nódulos activos por planta del cultivo de soja según tratamiento.

Tratamientos	Nº de Nód. Activos en Raíz Principal *	Nº de Nód. Activos en Raíces Secundarias *	% de Nód. Activos en Raíz Primaria*
T	12,00 A	8,13 A	66,41
I	22,40 B	14,07 B	77,77
ISP	20,93 B	8,73 A	73,18
IF	20,40 B	9,60 A	71,15
IFSP	19,87 B	10,07 A	66,85
P	0,0069	0,0054	----

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

Como puede apreciarse en el cuadro VI.2, en lo que concierne a nódulos activos en raíz principal (NARP) T difiere significativamente del resto de los tratamientos y, en cuanto a la actividad nodular en raíces secundarias (NARS) hay diferencias significativas de I con respecto a los otros tratamientos. Si bien, en ambos casos (NARP y NARS) hay diferencias significativas, en la raíz principal la actividad nodular fue mayor que en las raíces secundarias. Esto coincide con lo mencionado por Toniutti *et al.* (2004) y Galarza *et al.* (2004), quienes resaltan la mayor nodulación en raíz primaria ya que estos nódulos tienen capacidad de fijar aproximadamente diez veces más nitrógeno que los situados en raíces secundarias. La mayor eficiencia de los nódulos ubicados en la raíz principal, se debe a que éstos tienen menos gasto energético en el transporte del N fijado.

El tratamiento I siguió destacándose con una mayor actividad, tanto de los nódulos de la raíz principal como de las secundarias (Figura VI.7). Si se expresan los resultados del número de nódulos en raíz principal como porcentaje del número de nódulos desarrollados en la misma, se vuelve a observar un mejor comportamiento del tratamiento I con un 78 % de nódulos activos con relación a los tratamientos fertilizados y al testigo, indicando una mayor eficiencia de las cepas introducidas mediante el inoculante. También se podría inferir que I tuvo una mejor colonización de las bacterias.

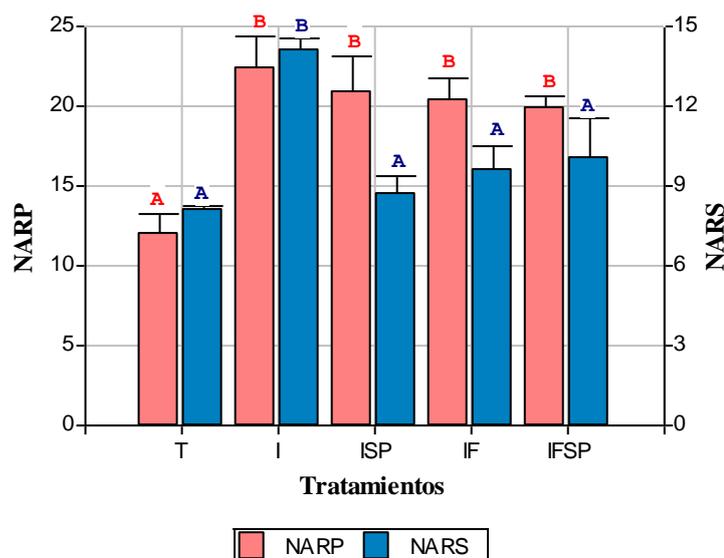


Figura VI.7: Número de nódulos activos/planta en raíz principal (NARP) y raíces secundarias (NARS) del cultivo de soja, 45 días después de la siembra (R1).

VI.4 Peso seco de nódulos totales

Cuadro VI.3: Peso seco de nódulos totales por planta del cultivo de soja según tratamiento.

Tratamientos	Peso Seco/pta. (g)
T	0,13
I	0,17
ISP	0,13
IF	0,20
IFSP	0,20
P	0,0728

Estadísticamente no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos, pero considerando las medias (Cuadro VI.3 y la Figura VI.8), se aprecia que los tratamientos IF e IFSP arrojaron el mayor peso seco de nódulos, seguidos por I y por último el ISP, y T. Asimismo hay que considerar que la diferencia para alcanzar validez estadística es de 0,02, y el grado de ajuste de los datos al modelo estadístico fue de 54 %, el más bajo con respecto a las demás determinaciones realizadas (anexo 2).

Baigorri *et al.* (2003), observaron que en los estadios vegetativos V4-V5, las plantas cuentan con 10-12 nódulos/planta, ubicados en su mayoría en la parte superior de la raíz primaria, con un peso por planta superior a 80 mg. En los estados reproductivos R5-R6, la adecuada nodulación presenta 40-50 nódulos por planta, de los cuales 12 por lo menos se encuentran en la parte superior de la raíz primaria, de tamaño mediano a grande y el peso seco de nódulos por planta óptimo ronda los 800 mg.

Por lo mencionado en el párrafo anterior, los resultados obtenidos por Baigorri *et al.* (2003), pueden tomarse como referencia pero, no podrían compararse exhaustivamente con los obtenidos en el presente trabajo debido a que las determinaciones se realizaron en otro estadio fenológico (R1).

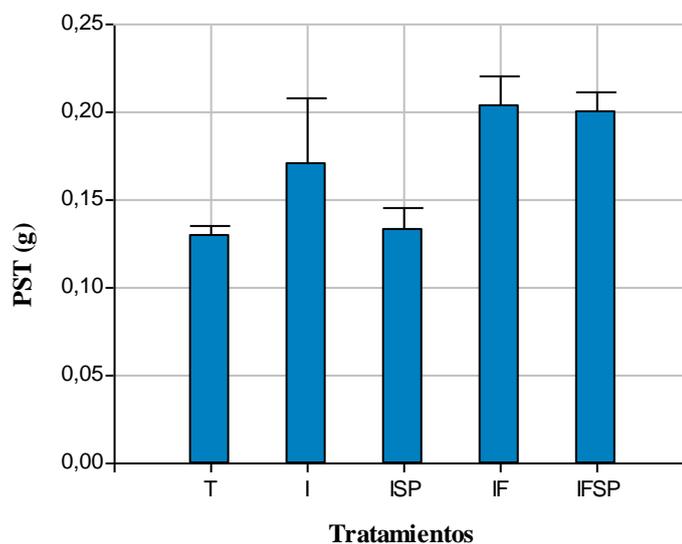


Figura VI.8: Peso seco (g) de nódulos totales/planta del cultivo de soja, 45 días después de la siembra (R1).

VI.5 Rendimiento en grano (kg ha^{-1})

El rendimiento de la soja se ve limitado por la disponibilidad de P del suelo, a niveles comparativamente más bajos que otros cultivos como maíz, trigo o alfalfa (Gutiérrez Boem y Thomas, 1999) y, el número de nódulos considerado como crítico para el logro de máximos rendimientos es de 15 nódulos por planta (Fontanetto *et al.*, 2004).

Cuadro VI.4: Rendimiento, rendimiento relativo, respuesta y eficiencia a la fertilización del cultivo de soja según tratamiento.

Tratamientos	Rendimiento (kg ha ⁻¹) *	Rto. Relativo (%)	Respuesta (kg ha ⁻¹)	Eficiencia (kg kg P ⁻¹)
T	3522,33 A	-----	-----	-----
I	3599,67 A	-----	-----	-----
ISP	3766,33 B	93,52	244,00	12,2
IF	3809,67 B	92,50	287,34	14,4
IFSP	3799,00 B	93,00	276,67	13,8
P	0,0003	-----	-----	-----

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

Del cuadro VI.4 se desprende que las diferencias fueron altamente significativas ($p < 0,001$) entre los tratamientos T e I respecto a los tratamientos ISP, IF, e IFSP. Los tratamientos fertilizados con ambas fuentes (química y biológica) muestran mayores rendimientos en grano, y sin diferir estadísticamente entre éstos, pese a que el fertilizado (IF) presenta un ligero incremento en los kg ha⁻¹ de grano producidos (Cuadro VI.4 y Figura VI.11). La diferencia en el rendimiento se debe a los kg producidos, pero del mismo modo se podría pensar que por efecto del P, cobraría relevancia en esta diferencia el número de granos (componente no evaluado en esta experiencia), pues como lo expresa Gutiérrez Boem y Thomas (1999) las reducciones en los rendimientos en condiciones de deficiencias de P se explican principalmente por reducciones en el número de los granos, al afectar el área foliar y captación de la radiación en estadios tempranos de desarrollo. En casos de deficiencias muy severas el peso individual de los granos también puede disminuir, aunque lo hace en una proporción mucho menor que el número de granos

Expresando los resultados como rendimiento relativo, respuesta a la fertilización y eficiencia agronómica de la fertilización (Cuadro VI.4), se aprecia que los mismos no difieren en demasía de los obtenidos de la red de ensayos del proyecto fertilizar del INTA (Díaz Zorita, 2003), donde el rendimiento relativo fue del 90-95 % con niveles de P del suelo de 8-12,5 ppm (Cuadro II.3) y del 92 a casi 94 % en el presente con un nivel de 11,25 ppm. Se pueden esperar respuestas en grano al fertilizar con 20 kg ha⁻¹ de P (equivalente a 100 kg ha⁻¹ de superfosfato triple) superiores a los 200 kg ha⁻¹, en suelos con contenidos de P extractable inferiores a las 12 ppm. La respuesta es superior a los 300 kg ha⁻¹, si el P extractable del suelo es inferior a las 10 ppm (Díaz Zorita, 2003), aquí la respuesta fue superior a los 200 kg ha⁻¹ con un valor máximo de 287 kg ha⁻¹ perteneciente al tratamiento IF. Del mismo modo dichos valores ratifican los obtenidos por Melgar *et al.* (1995) (en 65 ensayos realizados en el país) que encontraron un 70 % de probabilidad de obtener respuestas de 200 kg ha⁻¹ o superiores en suelos con 9 a 14 ppm de P determinado por Bray.

En cuanto a la eficiencia, si se comparan estos valores con los obtenidos por Fontanetto *et al.* (2004), donde la producción de grano mostró una respuesta lineal al agregado de P con una eficiencia media de 30,22 kg de grano kg de P⁻¹, se puede denotar que la diferencia es un poco más del doble.

Al igual que con los nódulos totales, no se manifestó una relación entre el rendimiento y la actividad de los nódulos desarrollados tanto en raíz principal como secundarias; y el peso seco de los mismos, si bien en los tratamientos IF e IFSP el peso fue mayor y los rendimientos también aunque no significativos (figura VI.8 y VI.9). Sí hubo un notable efecto de los tratamientos fertilizados sobre el rendimiento ya que en algunos casos a igual porcentaje de actividad o peso seco de nódulos que los tratamientos T e I, el rendimiento fue mayor en los primeros (Figuras VI.10 y VI.11).

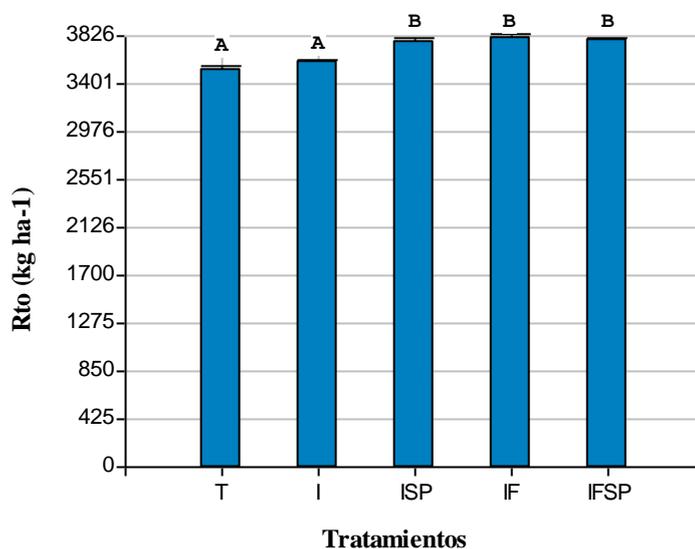


Figura VI.9: Rendimiento en grano (kg ha⁻¹) del cultivo de soja.

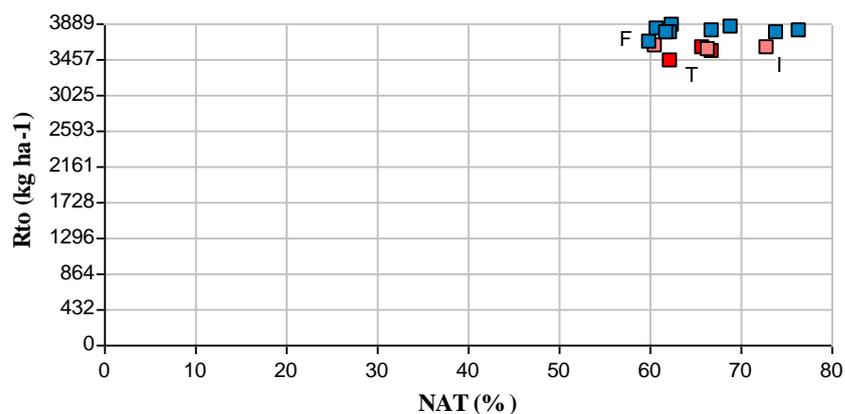


Figura VI.10: Relación entre el rendimiento (kg ha⁻¹) y la actividad de nódulos totales/planta (NAT) del cultivo de soja. T (■): tratamiento testigo; I (■): tratamiento inoculado; F (■): tratamientos fertilizados.

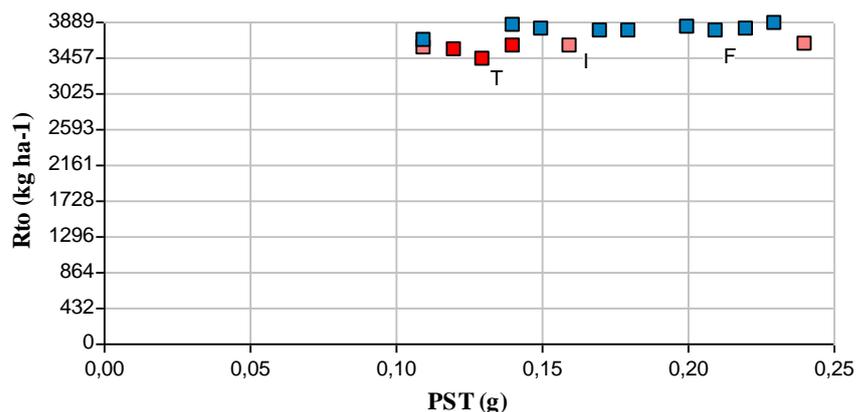


Figura VI.11: Relación entre el rendimiento (kg ha^{-1}) y el peso seco de nódulos totales/planta (PST) del cultivo de soja. T (■): tratamiento testigo; I (■): tratamiento inoculado; F (■): tratamientos fertilizados.

En lo que concierne a las bacterias solubilizadoras, las mismas produjeron incrementos en el rendimiento, al igual que lo encontrado por García y Bach (2003) en experiencias realizadas sobre el cultivo de trigo, en el cual los resultados obtenidos indicaron que la inoculación con la bacteria se asoció a incrementos de rendimiento estadísticamente significativos. Los mayores incrementos de rendimiento se observaron cuando la inoculación se acompañó de una adecuada fertilización con N y P. En un ensayo similar al anterior en el cultivo de maíz, la inoculación con *Pseudomonas* o en combinación con cada uno de los macronutrientes considerados (N y P) incrementó los rendimientos, los resultados indicaron que las mismas poseen un efecto en el rendimiento independiente a la aplicación de N y P, arrojando un incremento de 855 kg ha^{-1} (García, 2002). En sorgo bicolor o granífero, la inoculación combinada de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus polymyxa* o *Pseudomonas striata* incrementó el tamaño y el peso de la panoja, el número de espiguillas por espigas, el rendimiento de grano y paja y el contenido de N y P (Jisha y Alagawadi, 1996).

Como puede apreciarse, las experiencias con microorganismos solubilizadores de P no abundan para el cultivo de soja, y las encontradas nada señalan acerca del efecto sobre el rendimiento. Ejemplo de esto son los ensayos en invernáculo de Schreiner *et al.* (1997), con soja dónde solamente se analizó peso seco de vainas, las relaciones vaina: tallo y vaina: raíz y nodulación.

VII. CONCLUSIONES

- ✓ La inoculación con cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, presentó respuesta positiva en la FBN en cuanto al número de nódulos y a su actividad.
- ✓ No hubo efecto de la fertilización con fósforo, tanto química como biológica, sobre el patrón de distribución de los nódulos, su actividad y peso seco de los mismos, pero sí sobre el rendimiento.
- ✓ No se encontró relación entre el rendimiento y los parámetros de la fijación evaluados (nódulos totales, actividad y peso seco de los mismos).
- ✓ Independientemente del efecto del fósforo adicional, las bacterias solubilizadoras producen un incremento medio en el rendimiento.

Perspectivas

Los resultados observados en el presente trabajo muestran la importancia de continuar los estudios en lo que concierne a fertilización tanto química como biológica, FBN e inoculación en el cultivo de soja. En futuras experiencias se podrían ajustar distintas dosis de P sobre todo cuando se combinan con las bacterias solubilizadoras para poder observar mejor su efecto, contemplar tratamientos sin inocular para que no enmascare el efecto del P sobre la FBN. También sería interesante analizar este efecto en más estadios fenológicos y sobre otros componentes del rendimiento, valorar la calidad del grano en cuanto al contenido proteico, extender este estudio a otros nutrientes y a distintas condiciones ambientales, entre otros.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- ALVAREZ, R.; J. LEMCOFF, y A. MERZARI 1995 Balance de nitrógeno en un suelo cultivado con soja. **XIII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo**: 38-40.
- ANDRADE, F. H.; ECHEVERRIA, H. E.; GONZALEZ, N. S.; UHART, S. y DARWICH, N. 1996 Requerimientos de nitrógeno y fósforo de los cultivos de maíz, girasol y soja. **Boletín Técnico 134**. INTA EEA Balcarce. 17 p.
- ANDRIULO, A.; J. GALANTINI; F. ABREGO y F. MARTÍNEZ 1996 Exportación y balance edáfico de nutrientes después de 80 años de agricultura continua. **XIII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo**. Aguas de Lindoia, Sao Paulo, Brasil.
- ANTA, G. 2006 El fósforo y los microorganismos del suelo. Informes Técnicos. RIZOBACTER. En: www.rizobacter.com.ar/home/es/informes_técnicos. Consultado: 03 de mayo de 2006.
- BAIGORRI, H. 1999 Requerimientos nutricionales del cultivo de soja. **Jornadas de Actualización Técnica para Profesionales, “Fertilización de Soja”**. Bolsa de Comercio de Rosario, Argentina. p 4-7.
- BAIGORRI, H.; H. HERNAN; H. FONTANETTO; C. GALARZA; S. GAMBAUDO; F. GARCIA y R. MELGAR 1997 Fertilidad y fertilización. **En**: Giorda, L. y H. Baigorri (Eds.). El Cultivo de la Soja en Argentina. p 189-192.
- BAIGORRI, H.; A. PERTICARI; N. ARIAS; J. J. DE BATISTA; L. LETT; M. MONTECCHIA; J. C. PACHECO BASURCO; A. SIMONELLA; S. TORESANI; L. VENTIMIGLIA y R. VICENTINI 2003 Inoculación y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja. **En**: Satorre, E. (Ed.). El Libro de la Soja. Buenos Aires: Servicios y Marketing Agropecuario. Cap. 7: 69-78.
- BARBAGELATA, P.; J. MELCHIORI y O. PAPAROTTI 2000 Fertilización fosfatada del cultivo de soja en suelos vertisoles de la provincia de Entre Ríos. INTA, EEA Paraná.
- BERARDO, A. 2003 Manejo de fósforo en los sistemas de producción pampeanos. INPOFOS Cono Sur, **Simposio “El fósforo en la Agricultura Argentina”**. Rosario, Argentina. p 38-44.
- BERNARDO, I.; E. BONADEO; I. MORENO; M. BONNGIOVANI y R. MARZARI. 2002 Apoyo didáctico de la Cátedra Sistema Suelo Planta. Universidad Nacional de Río Cuarto.
- BLACK, C. A. 1965 Methods of Soil Analysis. American Society of Agronomy, Wisconsin, U.S.A. Cap. 1: 128-137.

- BRENZONI, E. y C. PETIT 2005 Datos campaña 2001/05. **Carpeta Técnica. RIZOBACTER** Argentina. p 1-4.
- BUTTERY, B. R., S. J. PARK y D. J. HUME 1991 Potencial for increasing nitrogen fixation in grain legumes. **Canadian Journal of Plant Science** **72**: 323-349.
- DE MOOY, C. y J. PESEK 1966 Nodulation responses of soybeans to added phosphorus, potassium and calcium salts. **Agronomy of Journal** **58**: 275-280.
- DI CIOCCO, C., A. ALVAREZ y F. MOMO 2004 Balance de nitrógeno en un cultivo de soja de segunda en la pampa ondulada. **XXII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo**: 48-51.
- DIAZ ZORITA M.; G. GROSSO; M. FERNÁNDEZ CANIGGGIA y G. DUARTE 2000 Efectos de la ubicación de un fertilizante nitrógeno - fosfatado sobre la nodulación y la producción de soja en siembra directa en la región de la Pampa Arenosa, Argentina. **XVII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo**: 62-65.
- DIAZ ZORITA, M. y M. BARRACO 2002 Cómo es el balance de fósforo en los sistemas pastoriles de producción de carne en la región pampeana. **Informaciones Agronómicas N° 13**: 8. INPOFOS Cono Sur. (Disponible en: www.inpofos.org.ar).
- DIAZ ZORITA, M 2003 Soja: Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo. **En**: Satorre, E. (Ed.). El Libro de la Soja. Buenos Aires: Servicios y Marketing Agropecuario. Cap. 8: 81-91.
- DIAZ ZORITA, M. 2004 Requerimientos nutricionales de soja. **En**: Díaz Zorita, M. y G. Duarte (Eds.). Manual Práctico para la Producción de Soja. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. Cap.3: 84-86.
- DIAZ ZORITA, M., E. CASTINO y E. FAY 2007 El fertilizante impulsa al cultivo de soja. **La Nación**, sección campo: 6-7.
- DUBEY, S. K., 1996 Response of soybean to rock phosphate applied with *Pseudomonas striata* in a Typic Chromustert. **Journal of the Indian Society of Soil Science** **44**: 252-255.
- ECHEVERRÍA, H. E. y F. O. GARCIA 1998 Guía para la fertilización fosfatada de trigo, maíz, girasol y soja. **Boletín Técnico** **149**, INTA EEA Oliveros. p 113-115.
- ECHEVERRÍA, H. E.; G. FERRARIS; F. GUTIERREZ BOEM y F. SALVAGIOTTI 2001 Soja: respuesta a la fertilización en la Región Pampeana. **Jornadas de Actualización Técnica para Profesionales, "Fertilidad 2001"** INPOFOS Cono Sur. p 27.

- EDI-PREMONO, M.; A. M. MOAWAD y P. L. G. VLEK 1996 Effect of phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. **Indonesian Journal of Crop Science** **11** (1): 13-23.
- FERRARIS, G. y L. COURETOT 2005 Respuesta de la soja a la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en lotes con antecedentes de soja previa. **Revista Técnica AAPRESID**, septiembre 2005. p 85-87.
- FLETCHER, H. F. 1961. Citado por de Mooy, C. J. 1973 Mineral Nutrition. **En:** Caldwell, B. E. (Ed.). Soybeans: Improvement, production and Uses. American Society of Agronomy.
- FLETCHER, H. F. y L. T. KURTZ 1964 Soil Science American Society 28: 225-228. Citado por de Mooy, C. J. 1973 Mineral Nutrition. **En:** Caldwell, B. E. (Ed.). Soybeans: Improvement, production and Uses. American Society of Agronomy.
- FONTANETTO, H.; M. DIAZ ZORITA y H. VIVAS 2004 Inoculación y fertilización con fósforo y azufre sobre la nodulación y los rendimientos de soja. Soja en siembra directa. **Revista Técnica AAPRESID**, octubre 2004. p 87-92.
- GALARZA, C.; V. GUDELJ; P. VALLONE y B. MASIERO 2004 Evaluación de diferentes formas de inoculación de soja EEA Marcos Juárez Campaña 2003-04. **Información para Extensión N° 89**. INTA EEA Marcos Juárez. p 47-53.
- GAMBAUDO, S. y H. FONTANETTO 1996 Respuesta del cultivo de soja al encalado. **Gaceta Agronómica XV**: 26-31.
- GARCIA, F. 1999 Planilla de cálculo para estimar requerimientos nutricionales de cultivos de grano y forrajeros. **INPOFOS Cono Sur**.
- GARCIA, F. 2000 Requerimientos nutricionales de los cultivos. **Informaciones Agronómicas N° 4**, Archivo Agronómico 3. INPOFOS Cono Sur.
- GARCIA, F. 2001 Presentación. **Jornadas de Actualización Técnica para Profesionales, "Fertilidad 2001"**. INPOFOS Cono Sur. p 1.
- GARCIA, R. 2002 Desarrollo de la Aplicación de *Pseudomonas* solubilizadoras de fósforo en los principales cultivos del norte de Buenos Aires. Presentación ensayos, campaña 2001-2002. INTA EEA Pergamino. 6 p.
- GARCIA, R. y T. BACH 2003 Efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sobre el rendimiento de trigo. **Informe Técnico N° 324** INTA, EEA Pergamino. 14 p.
- GONZALES, P.; H. VIVAS y R. PARRA 1990 Encalado, pH del suelo y la fertilización fosfatada. Influencia sobre la nodulación de soja. **Informe Técnico N° 4** INTA EEA Reconquista. 11 p.

- GONZALEZ, N. 1994 **Dinámica de la Fijación de Nitrógeno en Soja, en Suelos con Alta Fertilidad Nitrogenada**. Tesis de M. Sc. Programa de Post-grado en Producción Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- GONZALEZ, N. 1997 Nutrición nitrogenada. **En:** Giorda, L. y H. Baigorri (Eds.). El Cultivo de la Soja en Argentina. Cap. 9: 189-192.
- GONZALEZ, N. 2000 Fijación de nitrógeno en soja. Uso de inoculantes. **Jornadas de Actualización Profesional “Cosecha gruesa 2000”**. Mar del Plata, agosto 2000.
- GUTIERREZ BOEM, F. 2005 Fertilización de Soja. **En:** Pascale, A. (Ed.). Fertilización de cultivos de granos y pasturas: Diagnóstico y recomendación en la Región Pampeana. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Buenos Aires. Cap. 8: 111-129.
- GUTIERREZ BOEM, F., G. RUBIO y R. ALVAREZ 2005 Diagnóstico de la Disponibilidad de nutrientes. **En:** Pascale, A. (Ed.). Fertilización de cultivos de granos y pasturas: Diagnóstico y recomendación en la Región Pampeana. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Buenos Aires. Cap. 3: 27-36.
- GUTIERREZ BOEM, F.; L. SCHEINER y R. LAVADO 2002 Respuesta del cultivo de soja a la fertilización fosforada y nitrogenada. **XVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo**, Puerto Madryn. p: 16-19.
- HARPER, J. 1999 Nitrogen fixation-Limitations and potencial. **World soybean research conference VI**, Chicago, agosto 1999.
- HELTZ G. E. y D. L. WHITING 1928 **Journal American Society of Agronomy** **20**: 975-981. Citado por de Mooy, C. J. 1973 Mineral Nutrition. **En:** Caldwell, B. E. (Ed.). Soybeans: Improvement, production and Uses. American Society of Agronomy. 293 p.
- HERNANDEZ MONTIEL, L. y M. ESCALONA AGUILAR 2004 Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR. En: www.uv.mx/cienciahombre/revista. Consultado: abril de 2003.
- IGUAL, J. y C. RODRÍGUEZ BARRUECO 2003 Phosphate Solubilizing Bacteria as Inoculants for Agricultura. En: www.taxonomyoffhosfhatesolubilizingbacteria. Consultado: 31 de octubre de 2003.
- IMSANDE, J. 1998 Especial Inoculación. En: www.ecampo.com/agricultura/cultivos/soja Consultado: 03 de mayo de 2006.
- INFOSTAT 2002 InfoStat, versión 1.1. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas Argentina.

- JACKSON, M. L., 1958 Soil chemical analysis. Pentice-Hall, Engle-wood Cliffs, N. J.
- JISHA, M. S. y A. R. ALAGAWADI 1996 Nutrient uptake and yield of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) inoculated with phosphate solubilizing bacteria and cellulolytic fungus in a cotton stalk amended Vertisol. **Microbiological-Research**. 151: 2, 213-217.
- KLOEPPER, J. y M. SCHROTH 1978 Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. **Proceeding of the 4th International Conference of Plant Pathogenic Bacteria**. Angers, Francia. p 879-882.
- LORENZATTI, S. y A. BIANCHINI 2004 Modelos de producción de soja en el área central de Córdoba y Santa Fe. **En:** Díaz Zorita, M. y G. Duarte (Eds.). Manual práctico para la producción de soja. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. Cap. 8: 157-172.
- LOVERA, E. F. y H. SALAS 2002 Agricultura sustentable: Manejo del suelo y agua. **La Voz del Interior**, Suplemento rural. Córdoba, Argentina. 2 p.
- MARTINEZ, F. y G. CORDONE 2000 Avances en el manejo de azufre: novedades en respuesta y diagnóstico en trigo, soja y maíz. **Jornadas de Actualización técnica para Profesionales “Fertilidad 2000”**. INPOFOS Cono Sur. p 28-30.
- MARTINEZ, F., y G. CORDONE 2003 Fertilización en Soja de Primera y en Trigo–Soja de Segunda en la Región Pampeana Norte. **En:** Satorre, E. (Ed.). El libro de la soja. Buenos Aires. Servicios y Marketing Agropecuario. Cap. 9: 95-103.
- MELGAR, R. J., M. L. GALETTO y H. VIVAS 1995 El análisis de suelo como predictor de la respuesta de la soja a la fertilización fosfatada. **I Congreso Nacional de Soja, II reunión Nacional de Oleaginosos**, octubre 1995, Pergamino. p 167-174.
- MELCHIORI, R. J.; O. P. PAPANOTTI y P. A. BARBAGELATA 2002 Fertilización fosfatada en soja: validación del nivel crítico. INTA EEA Paraná.
- MINISTERIO DE ECONOMIA 2002 En: www.mecon.gov.ar. Consultado: 05 de junio de 2002.
- MOHAMMAD, M.; W. PAN, y A. KENNEDY 1998 Seasonal mycorrhizal colonization of winter wheat and its effect on wheat growth. Under dryland conditions. *Mycorrhiza*. 8 (3): 139-144.
- NAHAS, E., 1996 Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 12 (6): 567-572.
- OLMEDO, C. 2002 **Selección de bacterias con actividad promotora de crecimiento en soja**. Tesis Doctoral. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.

- PEDROL H.; F. SALVAGIOTTI, J. CASTELLARIN; J. MENDEZ; J. CAPURRO; J. C. FELIZIA, O. GENTILLI; A. GARGICEVICH; G. PRIETO y D. DAMEN 2001 Respuesta del cultivo de maíz a la fertilización con nitrógeno y azufre en diferentes ambientes del sur de Santa Fe. **Jornadas de Actualización Técnica para Profesionales, "Fertilidad 2001"**. INPOFOS Cono Sur. p 25-26.
- PERTICARI, A. 1997 Inoculación. **En:** Giorda, L. y H. Baigorri (Eds.). El cultivo de la soja en Argentina. p 193-197.
- POTASH & PHOSPHATE INSTITUTE 1979 Better plants with plant food. Vol. 63: p 5.
- PRIETO, G.; M. BODRERO; M. LAMAS y L. MACOR 1999 Fertilización fosfatada del cultivo de soja: experiencias en el sudeste de Santa Fe. **Informaciones Agronómicas**. INPOFOS Cono Sur. p 4-5.
- RACCA, R. 2002 Fijación biológica del nitrógeno. Actas 1° Simposio de fertilidad de Suelos y Fertilización en Siembra Directa. **X Congreso Nacional de AAPRESID**. p 197-208.
- SANCHEZ, H. y R. LIZONDO 1999 Respuesta de la soja a la fertilización fosfatada en áreas de granos de la provincia de Tucumán. **Congresos de Soja Mercosoja 99**. Rosario, Argentina. p 27-28.
- SCHREINER, R.; K. MIHARA; H. MCDANIEL y G. BETHLENFALVAY 1997 Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. **Plant and Soil**. 188 (2): 199-209.
- SILLAMPAÄ, M. 1982 Micronutrients and the nutrient status of soils. A global study. **EAO Soils Bulletin N° 48**: 444 p.
- SOIL TAXONOMY, A 1999 Basic System of Soil Classification for Making and interpreting Soil Surveys. second Edition. United States. Department of agricultura Natural Resources Conservation Service. Agricultura Handbook. Number 436.
- USASUMNER, M.E, (1981). Alleviating nutrient stress. **En:** Arkin G. F y H. M. Taylor (1981) (Eds.) Monograph N° 4. U.S.A. p 99-137.
- SYLVESTRE BEGNIS, A. y A. BIANCHINI 2004 Respuestas productivas a la inoculación y su interacción con la fertilidad química en el cultivo de soja en siembra directa. **Revista Técnica AAPRESID**, octubre 2004. p 79-81.
- TONIUTTI, M.; E. ASTEGIANO y L. FORNASERO 2004 Respuesta al cultivo de soja a la inoculación con Bradyrhizobium en lotes de alta productividad en la región central de Santa Fe. **Revista Técnica AAPRESID**, octubre 2004. p 82-86.
- URRICARIET, S. y R. LAVADO 1997 Respuesta del maíz a fertilizaciones balanceadas en suelos deteriorados. **Actas VI Congreso Nacional de Maíz**. Pergamino, Buenos Aires, Argentina. Cap. 2: 219-224.
- VENTURI, G. y M. AMADUCCI 1985 La soja. Edagricole. Bologna, Italia. 255 p.

VIVAS, H. 2005 Fósforo y azufre en la producción de soja sobre un suelo del Departamento San Justo, Santa Fe. 2004-05. **Información Técnica Cultivos de Verano. Publicación N° 104.** INTA EEA Rafaela. p 66-71.

IX. ANEXO

ANEXO 1

Tabla IX.1: Propiedades de suelos del área central de Córdoba según su uso.

Propiedad	Suelo virgen	Suelo actual
Materia orgánica (%)	5,0	2,0
Nitrógeno total (%)	0,26	0,11
Fósforo extractable (Bray y Kurtz I), ppm	60 a 70	15

ANEXO 2:

Análisis de Resultados: ANOVA

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NRP	15	0,67	0,54	13,90

NRP: Nódulos en Raíz Principal/pta.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	286,79	4	71,70	5,17	0,0160
Tratamientos	286,79	4	71,70	5,17	0,0160
Error	138,56	10	13,86		
Total	425,35	14			

Hay diferencias significativas entre tratamientos, ya que el P-valor es menor a 0,05.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NRS	15	0,76	0,66	20,35

NRS: Nódulos en Raíces Secundarias/pta

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	375,42	4	93,86	7,73	0,0042
Tratamientos	375,42	4	93,86	7,73	0,0042
Error	121,36	10	12,14		
Total	496,78	14			

Hay diferencias significativas entre tratamientos, ya que el P-valor es menor a 0,05.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NT	15	0,77	0,67	11,83

NT: Nódulos Totales/pta.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	905,56	4	226,39	8,19	0,0034
Tratamientos	905,56	4	226,39	8,19	0,0034
Error	276,45	10	27,65		
Total	1182,02	14			

Hay diferencias significativas entre tratamientos, ya que el P-valor es menor a 0,05.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NARP (N°)	15	0,73	0,62	14,33

NARP: Nódulos Activos en Raíz Principal

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	200,81	4	50,20	6,69	0,0069
Tratamientos	200,81	4	50,20	6,69	0,0069
Error	75,09	10	7,51		
Total	275,90	14			

Hay diferencias significativas entre tratamientos, ya que el P-valor es menor a 0,05.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PS	15	0,54	0,36	20,99

PS: Peso Seco de nódulos

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,01	4	3,7E-03	2,99	0,0728
Tratamientos	0,01	4	3,7E-03	2,99	0,0728
Error	0,01	10	1,2E-03		
Total	0,03	14			

No hay diferencias significativas entre tratamientos, ya que el P-valor es mayor a 0,05.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Rto kg/ha	15	0,86	0,80	1,59

Rto: Rendimiento

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20,36	4	5,09	14,77	0,0003
Tratamientos	20,36	4	5,09	14,77	0,0003
Error	3,45	10	0,34		
Total	23,80	14			

Las diferencias son altamente significativas entre tratamientos, ya que el P-valor es menor a 0,001

Comprobación de supuestos:**Prueba de normalidad****Shapiro-Wilks (modificado)**

Variable	n	Media D.E.	W*	p (una cola)
RDUO NRP	15	0,00 3,15	0,95	0,6578

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media D.E.	W*	p (una cola)
RDUO NRS	15	0,00 2,94	0,91	0,3047

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media D.E.	W*	p (una cola)
RDUO NT	15	0,00 4,44	0,88	0,0776

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media D.E.	W*	p (una cola)
RDUO NARP (N°)	15	0,00 2,32	0,93	0,4977

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media D.E.	W*	p (una cola)
RDUO NARS (N°)	15	0,00 1,27	0,97	0,9050

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media D.E.	W*	p (una cola)
RDUO MNT	15	0,00 0,03	0,98	0,9780

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media D.E.	W*	p (una cola)
RDUO Rto kg/ha	15	0,00 0,50	0,91	0,2652

Para todos los casos la distribución del error es normal, ya que el P-valor es mayor a 0,05 con lo cual se acepta la Hipótesis nula de que la distribución es normal.

Prueba de homogeneidad de varianza**Análisis de la varianza**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS NRP	15	0,49	0,29	57,73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20,91	4	5,23	2,44	0,1148
Tratamientos	20,91	4	5,23	2,44	0,1148
Error	21,39	10	2,14		
Total	42,29	14			

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS NRS	15	0,47	0,26	65,27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20,06	4	5,02	2,24	0,1375
Tratamientos	20,06	4	5,02	2,24	0,1375
Error	22,41	10	2,24		
Total	42,47	14			

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS NT	15	0,53	0,35	53,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	42,22	4	10,56	2,86	0,0811
Tratamientos	42,22	4	10,56	2,86	0,0811
Error	36,94	10	3,69		
Total	79,16	14			

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS NARP (N°)	15	0,22	0,00	71,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,13	4	1,28	0,73	0,5946
Tratamientos	5,13	4	1,28	0,73	0,5946
Error	17,69	10	1,77		
Total	22,83	14			

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS NARS (N°)	15	0,56	0,38	68,40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,20	4	1,30	3,13	0,0654
Tratamientos	5,20	4	1,30	3,13	0,0654
Error	4,15	10	0,42		
Total	9,35	14			

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS MNT	15	0,49	0,29	81,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,9E-03	4	7,2E-04	2,45	0,1146
Tratamientos	2,9E-03	4	7,2E-04	2,45	0,1146
Error	2,9E-03	10	2,9E-04		
Total	0,01	14			

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Rto kg/ha	15	0,54	0,36	59,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,63	4	0,16	2,97	0,0738
Tratamientos	0,63	4	0,16	2,97	0,0738
Error	0,53	10	0,05		
Total	1,16	14			

Para todos los casos la varianza de los errores es homogénea ya que el P-valor es mayor a 0,05 con lo cual se acepta la Hipótesis nula de que la varianza es normal.