UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Titulo del trabajo final: **"Comportamiento de B*radyrhizobium japonicum* frente a sustancias químicas y a la co inoculación con B*acillus spp.* en un cultivo de soja"**

Autor: Tamiozzo, Franco Ariel.
DNI: 30538460

Director: Ing. Agr. Carmen OLMEDO
Co-Director: Ing. Agr. Marcos BONGIOVANNI.

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

Dra. Sara Basconsuelo. _____

Dra. Carmen Olmedo. _____

Ing. Agr. Eduardo Beviacqua. _____

Fecha de Presentación: _____/_____/_____.
Aprobado por Secretaría Académica: _____/_____/_____.

_____
Secretario Académico

Dedicatoria.

Simplemente dedico este trabajo a mis padres, Elena y Daniel, por el invalorable esfuerzo de haberme brindado todo a su alcance para poder llegar a finalizar una carrera universitaria.

Agradecimientos

- A Carmen Olmedo por haberme guiado y dedicado parte de su tiempo libre en la elaboración de este trabajo.

- A Marcos Bongiovanni por su apoyo y colaboración en la realización de este trabajo.

- A Verónica Muñoz por su colaboración en la realización de este trabajo (Departamento de Lenguas UNRC).

- A todos los profesores que contribuyeron en mi formación académica.

- A la UNRC por la oportunidad de lograr el Titulo de Grado.

ÍNDICE DE TEXTO

Resumen VI

Abstract VII

I. INTRODUCCIÓN 8

II. ANTECEDENTES 11

III. HIPOTESIS 18

IV. OBJETIVOS 19

IV.1 General 19

IV.2 Específico 19

V. MATERIALES Y MÉTODOS 20

V.1 Fisiografía 20

V.2 Suelos 20

V.3 Clima 21

V.4 Implantación del ensayo 22

V.5 Evaluaciones 23

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 24

VI.1 Número de Nódulos 24

VI.2 Infectividad 25

VI.3 Componentes del Rendimiento 27

VI.4 Rendimiento 31

VII. CONCLUSIONES 34

VIII. BIBLIOGRAFÍA 35

IX. ANEXOS 39

INDICE DE CUADROS

V.2 Cuadro 1 Características físico-químicas y químicas del suelo en el área del ensayo **20**

V.2 Cuadro 2 Valoración del nivel de fósforo a la siembra **20**

V.3 Cuadro 1 Precipitaciones (mm) promedio durante el ciclo del cultivo (Período 1974-1993) **21**

V.3 Cuadro 2 Precipitaciones (mm) durante el ciclo del cultivo 2006-2007 **21**

VI.3 Cuadro 1 Peso de 1000 granos expresado en gramos **29**

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Número de nódulos por planta en Raíz Primaria **24**

Gráfico 2 Número de nódulos por planta en Raíz Secundaria **25**

Grafico 3 Infectividad de nódulos **26**

Gráfico 4 Número de nudos por planta sobre tallo principal **27**

Gráfico 5 Número de vainas por planta **28**

Gráfico 6 Número de granos por planta **31**

Gráfico 7 Rendimiento expresado en Kg. por Ha **32**

RESUMEN

Comportamiento de *Bradyrhizobium japonicum* frente a sustancias químicas y a la co-inoculación con *Bacillus spp* en un cultivo de soja.

La soja es el principal cultivo para grano de Argentina desde mediados de la década del 90´, cuando superó la producción de trigo y maíz. La utilización de inoculantes microbianos para mejorar el crecimiento y la nutrición de las plantas y por ende el tratamiento está adquiriendo cada vez más importancia en la agricultura. En el caso de la soja (*Glycine max* (L.) Merr.) es común la inoculación con cepas de *Bradyrhizobium japonicum* para la fijación biológica del nitrógeno, lo cual disminuye la necesidad de utilización de fertilizantes nitrogenados e incrementa el rendimiento del cultivo. En el marco de la necesidad de desarrollar sistemas agrícolas sostenibles, la fijación biológica de nitrógeno (FBN) es vista como una fuente esencial y potencial de nitrógeno, para las grandes áreas de suelos fértiles de la pampa argentina. En el rendimiento de la soja, el 70 % si no existen limitantes, es dependiente de la capacidad del cultivo de acumular N en particular por la FBN. El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de sustancias químicas (fungicidas, protectores y micronutrientes) y sustancias biológicas (*Bacillus spp*. solubilizador de fósforo en co-inoculación) sobre *Bradyrhizobium japonicum* (fijador de nitrógeno) en el cultivo de soja. Para esto se implantó un ensayo con el cultivo de soja en el Campo de Docencia y Experimentación de la U. N. de Río Cuarto (Ruta Nacional 36, km 601). En el ensayo se llevaron a cabo 6 tratamientos diferentes, empleando inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), fungicidas (Metalaxil M), micronutrientes (Cobalto y Molibdeno) y solubilizadoras de fósforo (*Bacillus spp.*), en parcelas realizadas en bloques aleatorios completamente al azar con 3 repeticiones cada una. A los 30 días de la siembra se evaluó densidad de plantas y nodulación. En R4 se determinó: número de nódulos activos en la raíz principal y en las secundarias. En R8 se evaluó componentes del rendimiento y rendimiento. Se observó la influencia de las diferentes sustancias químicas y biológicas sobre *Bradyrhizobium japonicum*, destacando como las de mayor efecto los tratamientos donde se empleó bacterias solubilizadoras de fósforo (co inoculación) y micronutrientes. Ésto se vio reflejado en todos los parámetros evaluados.

Palabras Clave: Soja, Fijación Biológica de Nitrógeno, Inoculación, co-inoculación.

ABSTRACT

Performance of Bradyrhizobium japonicum against chemicals and co inoculation with Bacillus spp in a soybean crop.

Soybean has developed as the main grain crop in Argentina since the mid 90s', when it exceeded the production of wheat and corn. The use of microbial inoculants to improve the growth and nutrition of plants is gaining increasing importance in agriculture. In the case of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), it is common to use inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* strains for biological nitrogen fixation, which decreases the need for the use of nitrogen fertilizer and increases crop yield. In a context where it is necessary to develop sustainable agricultural systems, biological nitrogen fixation (BNF) is seen as a potential source of nitrogen essential for large areas of fertile soils in the pampas of Argentina. Soybean yields (70%), if there are no limitations, depend on the ability of the crop to accumulate N, particularly by FBN. The purpose of this study was to determine the influence of chemicals (fungicides, safeners and micronutrients) and biological substances (*Bacillus spp.* Solubilizer phosphorus co-inoculation) on *Bradyrhizobium japonicum* (nitrogen fixer) in the soybean crop. For this, a test was carried out on soybean crops in the Educational and Research Farm of Universidad Nacional de Rio Cuarto (Ruta Nacional 36, km 601). For the test, six different treatments were carried out, using inoculant (*Bradyrhizobium japonicum*), fungicides (Metalaxyl M), micronutrients (cobalt and molybdenum), solubilizing phosphorus (*Bacillus spp.*) Plots were carried out in randomized blocks, using a completely randomized design with 3 repetitions on each. After 30 days of sowing, density and nodulation of plants was evaluated. In the R4 stage, the number of nodules on the taproot and the active nodules on the secondary roots were determined. In the R8 stage, yield components and yield were evaluated. The influence of different chemical and biological substances was observed on *Bradyrhizobium japonicum.* The most significant effect came from treatments where phosphorus-solubilizing bacteria (co-inoculation) and micronutrients were used. This was reflected on all parameters.

Keywords: Soybean, Biological nitrogen fixation, inoculation, co-inoculation.

I. INTRODUCCIÓN

La soja es el principal cultivo para grano de Argentina desde mediados de la década del 90´, cuando superó la producción de trigo y maíz. Este sostenido incremento en la producción se ha basado fundamentalmente en el aumento del área sembrada en la región pampeana desplazando al maíz y al girasol, y en regiones extrapampeanas, ya sea desplazando a otros cultivos o abriendo nuevas áreas a la producción.

En la Argentina las primeras plantaciones de soja se hicieron en 1862, pero no encontraron eco en el campo argentino de aquellos años. En 1909 se comenzó a ensayar en distintas Escuelas Agrícolas y entre 1910 y 1920 se realizaron ensayos en la Estación Experimental Agronómica de Córdoba.

La soja se expande en la Pampa Ondulada a partir de 1975, impulsada por el reemplazo gradual de los modelos de uso agrícola vigentes hasta ese momento, por uno nuevo que se caracteriza principalmente por una disminución de la actividad ganadera y la introducción del doble cultivo trigo-soja que ofrece ventajas productivas y económicas respecto de sus antecesores. La superficie de cultivo de soja creció significativamente entre las campañas 1990/91 y 2001/02: en Brasil 106%, en Argentina 170%, en Paraguay y Bolivia 125%. En la campaña 2002/03 la suma de la producción de estos países superó por primera vez a la producción de Estados Unidos. La superficie con soja en la Argentina continuó creciendo y en la campaña 2007/08 llegó a los 16.603.525 millones de hectáreas (PLANETA SOJA 2009 (a)).

En los últimos años se ha desarrollado en Argentina, un intenso debate en torno a dos aspectos relativos a la realidad agrícola del país. Por un lado, la expansión de la frontera agrícola y por otro, la concentración relativa de la producción de soja. La dinámica del área sembrada en la República Argentina, durante el ciclo 80/81 al 06/07 presentó una superficie promedio del período de 7,1575 millones de hectáreas. A partir de la campaña 97/98 en adelante siempre supera esa cifra. El crecimiento anual promedio es del 27,3%. Córdoba, Buenos Aires y Santa Fe concentraron en la campaña 06/07 el 74,5% de su superficie, Entre Ríos, Santiago del Estero, Chaco y Salta el 8,90; 4,98; 4,41 y 2,96% respectivamente. La variación porcentual para el período 81/07 es de 738,5 en soja. En la última campaña la superficie relativa ocupada es de 58,1 por soja; 20,4 trigo; 12,9 maíz y 8,6 girasol (PLANETA SOJA 2009 (b)).

Desde que la soja se expande en el país, tanto en las empresas agropecuarias, en la región pampeana, el país y en el mundo, se observaron profundos cambios socioeconómicos y tecnológicos. La soja fue impulsor de varios de los cambios observados y en los sistemas de producción, por ejemplo, el éxito de la siembra directa, cuanto menos en parte, se debió a su ajuste con el sistema del doble cultivo trigo-soja.

La utilización de inoculantes microbianos para mejorar el crecimiento y la nutrición de las plantas, está adquiriendo cada vez más importancia en la agricultura. Actualmente se encuentran disponibles en el mercado inoculantes formulados con rizobacterias fijadoras de N_2 y con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Plant Growth Promoting Rhizobacteria - PGPR), para su utilización en cultivos tanto extensivos como intensivos. En el caso de la soja (*Glycine max* (L.) Merr.) es común la inoculación con cepas de *Bradyrhizobium* para la fijación biológica del nitrógeno, lo cual disminuye la necesidad de utilización de fertilizantes nitrogenados e incrementa el rendimiento del cultivo. Cepas de otros géneros bacterianos como *Azospirillum, Pseudomonas* y *Azotobacter*, tienen actividad PGPR y se establecen en la rizósfera de las plantas.

En el marco de la necesidad de desarrollar sistemas agrícolas sostenibles, la fijación biológica de nitrógeno (FBN) es vista como una fuente esencial y potencial de nitrógeno, para las grandes áreas de suelos fértiles de la pampa argentina, donde la agricultura es todavía en gran parte extractiva, como lo demuestra el bajo consumo de fertilizantes (Urquiaga *et al*, 2004). Estos desbalances nutricionales resultan en la degradación de la fertilidad de los suelos. La remoción de nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), y azufre (S) en un cultivo de soja de 4000 Kg. ha^{-1} de rendimiento equivale a 260, 132, 156 y 79 Kg. ha^{-1} de urea, superfosfato triple, cloruro de potasio y sulfato de amonio, respectivamente. Debe aclararse que en estas estimaciones se ha descontado un 50 % del N del grano considerando que esta cantidad es aportada vía fijación simbiótica (INPOFOS, 2005 (b)).

Si bien la soja presenta requerimientos muy elevados de N, una gran parte de este requerimiento es cubierto, vía FBN, a través de la simbiosis soja – *Bradyrhizobium*. El rendimiento de soja (el 70 %), si no existen otras limitantes, es dependiente de la capacidad del cultivo de acumular N en particular por la FBN (Perticari, 2004). Por lo tanto, la inoculación de la semilla es una práctica indispensable, y de bajo costo, para lograr una adecuada provisión de N para el cultivo (INPOFOS, 2005 (a)).

El sistema simbiótico rizobio – soja requiere que no haya condicionantes por exceso o por defecto para el desarrollo normal del cultivo. Uno de los factores que limitan la fijación de nitrógeno en soja es la presencia de formas combinadas de nitrógeno en el suelo. Suelos fértiles con moderada o alta disponibilidad de formas inorgánicas de N en el momento de la siembra y/o importantes tasas de mineralización durante el ciclo del cultivo afectan al establecimiento de la simbiosis ya que retardan el inicio de la nodulación y/o inhiben el funcionamiento del sistema fijador. Las carencias de P, K, Ca, S y de micronutrientes (Cobalto, y Molibdeno) disminuyen la formación de nódulos y por consiguiente la FBN. El uso de cepas de *Pseudomonas* tiene un efecto promotor del crecimiento y rendimiento en distintos cultivos (García y Bach, 2003; Babana y Antoun, 2006). La

actividad PGPR de distintas cepas de *Pseudomonas fluorescens* se atribuye a la capacidad de solubilizar fosfatos, o a producción de fitohormonas y de sideróforos, y algunas también tienen actividad antifúngica (Rodriguez y Fraga, 1999; Compant *et al*, 2005).

Actualmente, el uso de fungicidas cura semillas en el cultivo de soja es importante debido al complejo de hongos del suelo, que pueden afectar al cultivo durante sus primeras etapas de crecimiento y producir perdidas considerables. Ante esta situación se hace importante conocer la compatibilidad que tienen los fungicidas con los microorganismos fijadores de nitrógeno, los cuales son de vital importancia en lo que respecta a la nutrición nitrogenada del cultivo.

Se pretende que la información obtenida aporte nuevos conocimientos relacionados a la actividad de estos microorganismos ligados a la fertilización de los cultivos, de modo tal de obtener pautas de manejo para lograr una producción sustentable.

II. ANTECEDENTES

El rendimiento de los cultivos está estrechamente asociado a la biomasa total producida durante su ciclo (Dreccer *et al.*, 2003). Por lo tanto, en el manejo de cultivos de alta producción es fundamental que las hojas intercepten la mayor parte de la radiación solar incidente y que estén nutridas para generar la máxima cantidad de fotoasimilados.

Los nutrientes afectan la cantidad de fotoasimilados generados, por regular, los procesos de intercepción de la radiación a través de alteraciones en el crecimiento de las hojas y en la duración del área foliar y por determinar la capacidad de transformar cada unidad de radiación interceptada en biomasa.

La adecuada nutrición de los cultivos, es fundamental para asegurar el crecimiento y desarrollo de los mismos. El nitrógeno forma parte de toda célula viva, en las plantas es constituyente de la clorofila, de las proteínas incluyendo enzimas y de muchos otros compuestos. La gran necesidad de nitrógeno de las plantas y la limitada oferta de los suelos para suministrar nitrógeno disponible, hace que sea el nutriente más limitante para la producción (Bernardo *et al*. 2004).

La soja presenta una alta acumulación de proteínas en las semillas lo cual la convierte en el cultivo con la mayor demanda de nitrógeno y la menor producción de biomasa por fotoasimilado producido. Por eso el nitrógeno es el nutriente mas crítico para el cultivo. Se estima que se requieren 80 Kg. de nitrógeno para producir una tonelada de grano. Al ser la soja una leguminosa puede cubrir sus requerimientos de nitrógeno a partir del aporte de nitrógeno del suelo y por medio de la FBN.

Los procesos de agriculturización más la intensificación que han experimentado los sistemas productivos de nuestro país, han llamado la atención de los técnicos por su impacto ecológico sobre el concepto de sustentabilidad. La reducción en la diversidad, el empobrecimiento de los suelos, la alteración del ciclo de los nutrientes, y la reducción de la materia orgánica han surgido como los primeros riesgos asociados a estos procesos (Perticari, 2004). Es decir que, como consecuencia del uso intensivo de los recursos, son cada vez menores los aportes de nitrógeno esperados desde el suelo y ante la ausencia de la fertilización química de nitrógeno, el 70 % del rendimiento de la soja es dependiente de la capacidad de acumular nitrógeno desde la FBN (Perticari, 2004). 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 medios de inoculantes de alta calidad (Ferraris y Couretot, 2005).

La FBN, se produce por intermedio de microorganismos que establecen asociaciones simbióticas con las plantas. La simbiosis es la convivencia de dos organismos no semejantes en una relación de beneficio mutuo generándose una interdependencia fisioló-

gica. Dentro de éstas, es de particular interés la asociación que forman las leguminosas con bacterias de la familia Rhizobiaceae, obteniéndose como resultado de dicha unión la formación de nódulos fijadores de nitrógeno. En el caso de la simbiosis leguminosa-rizobio, el microsimbionte, la bacteria, utiliza el carbono y la energía fotosintética del macrosimbionte (la planta) y le entrega amoníaco, producto de la fijación de N_2 atmosférico. Este proceso se lleva a cabo en los nódulos (Canigia, 2003). Los nódulos son órganos vegetales que se producen en la raíz de la planta huésped al ingresar los rizobios. Éstos son pequeñas formaciones o cuerpos dentro de las que las bacterias se transforman en bacteroides, los cuales producen la fijación de N_2.

Dentro de la familia los principales géneros son tres: *Rhizobium, Bradyrhizobium y Agrobacterium*. Los dos primeros son los géneros simbióticos por excelencia que nodulan a las leguminosas, y es *Bradyrhizobium* el que establece la simbiosis con soja (*Glycine max* (L.) Merr).

En condiciones adecuadas para la 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 nitrógeno fijados son bajos desde los estados vegetativos hasta comienzos de floración. Desde ésta última etapa en adelante se registra la mayor actividad (Perticari, 2004).

Cuando en el suelo no están presentes los rizobios del género adecuado, se debe realizar el inoculado de la semilla previo a la siembra, ya que de esta manera se estarán colocando las bacterias específicas sobre la semilla para que se lleve a cabo la FBN.

La simbiosis presenta limitaciones. Se menciona que la alta disponibilidad de formas inorgánicas de nitrógeno en el suelo retarda el inicio de la nodulación e inhibe el sistema fijador.

Por lo tanto, el exceso de nitrógeno en el suelo especialmente en forma de nitratos, tiene un efecto inhibitorio sobre la simbiosis en todos los pasos, desde la infección, formación del nódulo y la fijación de N_2 (Canigia, 2003). También es sensible a condiciones de anegamiento con 2 a 3 días de inundación se puede provocar una alta mortandad de nódulos. El estrés hídrico causa efectos directos sobre la nodulación y fijación ya que si se siembra en seco se provoca la muerte de las bacterias y si falta agua durante el ciclo del cultivo se afecta la nodulación y la fijación. Por último la temperatura también afecta la FBN, con temperaturas cercanas a 15 ºC se retrasa la nodulación y con temperaturas mayores a 40 ºC se produce la muerte de bacterias (Perticari, 2004).

Sin lugar a dudas el fósforo, después del nitrógeno, es uno de los nutrientes inorgánicos esenciales requeridos por las plantas ya que interviene en diferentes procesos biológicos, bioquímicos, y forma parte de distintas moléculas esenciales, por lo que se considera un factor limitante del desarrollo vegetal (Alexander, 1980). Consecuentemente, la

correcta provisión de fósforo es fundamental para obtener un buen desarrollo y alta producción de los cultivos.

Las plantas deben absorber el fósforo del suelo, donde se encuentra en muy baja concentración, normalmente en niveles que varían entre 5 y 30 ppm. Estos índices bajos del nutriente, se deben a que el fósforo soluble reacciona con iones como el calcio, hierro o el aluminio provocando su precipitación o fijación disminuyendo su disponibilidad para los vegetales (Rodríguez y Fraga, 1999)

Es importante mencionar que existen microorganismos del suelo como las bacterias, que pueden colaborar en la solubilización de fósforo no disponible para las plantas, por lo tanto se considera que la solubilización de distintas rocas fosfatadas y de otras fuentes de fósforo inorgánico por los microorganismos del suelo es una alternativa fundamental para incrementar la cantidad de nutrientes disponibles para las plantas (Illmer y Schinner, 1992). La simbiosis rizobio-leguminosa es altamente sensible a la carencia de fósforo. Cuando la concentración de P en la planta es inferior al 0.2% la nodulación y la fijación de N_2 son casi despreciables. Por debajo de 0.1% ni siquiera se formarán nódulos (Canigia, 2003). Cepas de otros géneros bacterianos como *Azospirillum, Pseudomonas y Azotobacter,* tienen actividad PGPR y se establecen en la rizósfera de las plantas. Los beneficios sobre las plantas debidos a la inoculación con estas bacterias, incluyen aumentos en la tasa de germinación, del crecimiento radical, de rendimiento, del contenido de proteínas, tolerancia a la sequía e incrementos de la micorrización, entre otros (Bowen y Rovira, 1999; Villegas y Fortín, 2001; Babana y Antoun, 2006). El uso de cepas de *Pseudomonas* tiene un efecto promotor del crecimiento y rendimiento en distintos cultivos (García y Bach, 2003; Babana y Antoun, 2006). La actividad PGPR de distintas cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus spp*. se atribuye a la capacidad de solubilizar fosfatos, a la producción de fitohormonas y de sideróforos, y algunas también tienen actividad antifúngica (Rodriguez y Fraga, 1999; Compant *et al.*, 2005).

La soja es el cultivo más extractivo de P por tonelada de grano producido comparado al resto de los cultivos integrantes de la rotación en la zona núcleo sojera (maíz y trigo). Por cada tonelada de grano extrae 8 Kg. ha^{-1}, exportando a través de ellos el 85 % (Gutiérrez Boem, 2003).

El fósforo es uno de los nutrientes más importantes y determinantes del crecimiento y desarrollo de las plantas y participa de:

- Procesos biológicos esenciales como la división y crecimiento celular y el desarrollo celular.
- Procesos bioquímicos fundamentales como la fotosíntesis, respiración, glucólisis y síntesis de ácidos grasos.

- Forma parte de moléculas vitales como los ácidos nucleicos, los fosfolípidos y el ATP y permite el aprovechamiento de otros nutrientes claves para las plantas.

Su deficiencia puede reducir el crecimiento, inducir producción de hojas más pequeñas, disminuir el área foliar y la eficiencia de conversión. Consecuentemente no se captura la máxima cantidad de radiación, y por cada unidad capturada se produce menor biomasa, limitando directamente el rendimiento del cultivo.

Como este nutriente, que es esencial para los cultivos, muchas veces no está disponible para los mismos, las bacterias solubilizadoras lo hacen disponible a través de:

- Producción de ácidos orgánicos (como el ácido glutámico, el ácido láctico, el ácido cítrico, el ácido glucónico) que permiten solubilizar la fracción inorgánica del fósforo, favoreciendo la liberación del mismo a la solución del suelo.
- Producción de enzimas fosfatasas que, (hidrolizan y liberan el fósforo a la solución del suelo), actúan sobre los enlaces ésteres fosfatásicos de la materia orgánica.

Estas bacterias, no solamente tienen la capacidad de mineralizar el fósforo no disponible en el suelo para las plantas, sino que también producen sustancias estimuladoras de crecimiento vegetal como fitohormonas (auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido-indol-acético) que promueven el crecimiento y el desarrollo radicular mejorando de esta forma también el conveniente suministro de nutrientes y agua para los cultivos. Se las conoce con la sigla PGPR y son un grupo de bacterias rizosféricas que provocan una mejoría en el crecimiento vegetal después de la inoculación de éstas sobre las semillas (Kloepper y Schroth, 1978).

Se ha observado que la capacidad de las rizobacterias solubilizadoras de P de producir sustancias fitoreguladoras del tipo auxina, puede contribuir al efecto estimulatorio en el crecimiento de la planta (Satter y Gaur, 1987; Leinhos y Bergmann, 1995). La fitohormona ácido-3-indolacético (AIA) promueve la longitud radical y la formación de raíces laterales (Pilet y Saugy, 1987), principales marcadores del efecto benéfico ejercido por las bacterias PGPR (Glick *et al*., 1995). El desarrollo precoz de las raíces es una ventaja para las plántulas jóvenes ya que favorece su capacidad de anclarse en el suelo y obtener agua y nutrientes de su ambiente favoreciendo su supervivencia.

La co-inoculación se basa en una combinación de microorganismos que interactúan sinérgicamente. Estudios realizados en laboratorio demostraron un efecto sinérgico por intercambio de nutrientes, removiendo algunos productos inhibidores o estimulando otros a través de mecanismos físicos o bioquímicos (Bashan *et al*., 1997).

La inoculación con mezcla de bacterias provee un mejor balance nutricional para las plantas, y la mejora en la absorción radicular de nitrógeno y fósforo es el mecanismo principal de interacción entre plantas y bacterias (Belimov *et al*, 1995). Cuando se coinoculó *B. japonicum* y *P. putida* sobre raíces de soja, se registró mayor número de

nódulos y peso seco. Los efectos benéficos de dicha coinoculación se asociaron a la pobre solubilización de fosfato y producción de sideróforos por parte de *B. japonicum* en comparación con *P. putida* (Rosas *et al*., 2006).

Estudios de co-inoculación con PGPR y *Bradyrhizobium japonicum*, en cultivos de soja a campo han demostrado un aumento en la acumulación de materia seca, proteínas en grano y producción total de proteínas (Dashti *et al*., 1997). El efecto de esta asociación tripartita una bacteria fijadora de nitrógeno, una PGPR y el cultivo de soja resultó en una promoción del crecimiento vegetal, incrementando las actividades fisiológicas de la planta y se logró aumentos en el peso, en el número de nódulos, en la fijación de nitrógeno, en el área foliar y en el peso y número de vainas (Zhang *et al*., 1996 a, b; Zhang *et al*. 1997). Experimentos a campo han demostrado un incremento en el rendimiento de las leguminosas con inoculación mixta, alcanzando rindes superiores a los obtenidos inoculando únicamente con *Rhizobium* (Burdman *et al*., 2000).

En el proceso de fijación biológica intervienen sustancias químicas (enzimas, proteínas y otros compuestos) que tienen en su constitución micronutrientes. Sus carencias generan por lo tanto fallas en el proceso de fijación (Canigia, 2003). Para que el proceso de fijación ocurra en forma exitosa es necesaria la presencia de cofactores como el molibdeno (Mo) y el cobalto (Co).

Para la soja el cobalto (Co) y el molibdeno (Mo) son dos micronutrientes de particular importancia, debido a su participación con la fijación biológica de N que tiene lugar en las raíces de esta especie a través de la simbiosis con bacterias fijadoras (*Bradyrhizobium japonicum*), y ambos se encuentran entre los elementos que podrían presentar deficiencias para el normal funcionamiento y alta producción del cultivo en el futuro (PLANETA SOJA 2009 (c)). La función del Mo está relacionada a la formación de enzimas que participan en las reacciones de formación de la nitrogenasa y nitrato reductasa, responsables de la ruptura del triple enlace del nitrógeno, y de la asimilación de este elemento en la planta durante la FBN, respectivamente.

El Co también es esencial para la FBN. Una deficiencia de Co inhibe la síntesis leghemoglobina, y como consecuencia, la FBN (PLANETA SOJA 2009 (d)).

El crecimiento de las raíces se produce a partir de tejidos de crecimiento localizados en sus extremos. Por lo tanto, en una raíz madura, lo que fue originalmente la radícula, corresponderá a la parte superior de la raíz principal (corona o cuello de la raíz). Además, la zona de los pelos absorbentes, donde se produce la infección, se encuentra cerca de los extremos de las raíces. El crecimiento de las raíces principal o laterales hace que la "zona infectable" de la raíz se aleje del cuello (Canigia, 2003).

Las cepas provenientes del inoculante se desarrollan alrededor de la radícula. Si bien los rizobios son bacterias móviles, su desplazamiento es limitado y depende del agua

alojada en los microporos, por lo que se genera una zona rica en rizobios introducidos alrededor de la radícula. La nodulación que se produce en esa etapa, en una raíz madura se verá en el cuello de la raíz (raíz principal y primeros centímetros de las laterales). A medida que la raíz crece, la zona de los pelos absorbentes se aleja del núcleo de alta carga rizobiana en el suelo (Canigia, 2003).

Si bien algunos rizobios pueden acompañar el crecimiento de la raíz algunos centímetros, la raíz se "encontrará" a su paso con rizobios naturalizados que serán los que, en mayor medida, nodulen las raíces laterales (Canigia, 2003).

En síntesis, en el cuello de la raíz (raíz principal y primer parte de las laterales) predominan las cepas introducidas, más eficientes, y en las raíces laterales, alejadas de la principal, cepas naturalizadas, menos eficientes (Canigia, 2003).

Aunque los nódulos laterales se formen por cepas introducidas efectivas, tienen menor actividad nitrogenasa (fijadora de N_2) con respecto a los ubicados sobre la raíz principal. Por ejemplo, en soja la actividad nitrogenasa específica de los nódulos de la raíz principal es de 36 μM/g/h mientras que la de los nódulos de las raíces laterales es de 2.86 μM/g/h. Esta diferencia sería por el menor aporte de energía por parte de la planta en raíces laterales respecto a la principal (Canigia, 2003).

Una adecuada nodulación presenta 40-50 nódulos por planta, de los cuales 12 se encuentran en la parte superior de la raíz principal y de tamaño medio a grande (4-6 mm de diámetro). En todos los caso, la coloración interna de la mayoría de los nódulos es roja o rosada (Perticari, 2003).

En cuanto a componentes del rendimiento, el número de nudos sobre el tallo principal es poco afectado por la disponibilidad de recursos, y depende directamente de la diferenciación de nudos que se da durante la etapa vegetativa. No sucede lo mismo con los nudos de las ramificaciones, donde estos están sujetos a las condiciones fotoperiódicas antes y después de floración y además el crecimiento y supervivencia de estos nudos está condicionado por la tasa de crecimiento del cultivo, es decir que ante deficiencias hídricas o nutricionales se resienten fuertemente, mientras que el número de nudos del tallo principal no se modifica (Kantolic, 2003). Para el número de vainas por nudo, el mismo depende de cuantas inflorescencias se desarrollan en cada uno y cuantas vainas se establecen en cada inflorescencia. Pueden encontrarse entre 1 y 20 vainas por nudo, existiendo alta variabilidad entre los nudos de la planta, entre genotipos y ante cambios en las condiciones ambientales (Board *et al*., 1999).

El vigor y sanidad de la plántula condicionan la nodulación. Actualmente el uso de fungicidas cura semillas (Carbendazim, Tiram, Fludioxinil+Metalaxil M, Metalaxil, etc.) en el cultivo de soja, se utilizan para proteger las semillas y plántulas de patógenos (complejo de hongos de suelo *Fusarium spp., Alternaria spp., Pythium spp., Phytophtora spp.*

etc.) que pueden afectar al cultivo durante sus primeras etapas de crecimiento y producir pérdidas considerables. Son productos químicos compuestos por principios activos y otras sustancias químicas acompañantes ("excipientes"). Por lo tanto, los formulados, principios activos y excipientes, deben ser inocuos para las bacterias, de lo contrario se afectará el número de rizobios por semilla y consecuentemente, la nodulación (Canigia, 2003).

Ante esta situación se hace importante conocer la compatibilidad que tienen los fungicidas con los microorganismos, los cuales son de vital importancia en lo que respecta a la nutrición del cultivo, esto se debe a que en muchos casos los principios activos no son los que realmente causan el daño a los microorganismos disminuyendo su población sobre la semilla, sino que pueden ser los colorantes, solventes etc. que traen los productos químicos.

Si se consideran todas las etapas que se incluyen en la utilización de los inoculantes, la supervivencia de las bacterias sobre las semillas es un aspecto relevante a tener en cuenta. Inmediatamente después de realizada la inoculación, las bacterias quedan expuestas a condiciones ambientales adversas.

Una estrategia empleada para mejorar la viabilidad de bacterias sobre semillas es el uso de protectores bacterianos, diseñados principalmente para disminuir el impacto de la desecación celular desde que la bacteria se adhiere sobre la superficie de la semilla en el momento de la inoculación (Montero, 2008).

La presencia de un protector bacteriano aplicado con el inoculante también puede reducir el impacto de las altas temperaturas ambientales sobre la viabilidad de la bacteria adherida en la semilla y puede atenuar los efectos tóxicos de pesticidas (Montero, 2008).

III. HIPÓTESIS

"El uso de fungicidas, micronutrientes, protectores bacterianos microorganismos solubilizadores de fósforo afectan el comportamiento de *Bradyrhizobium japonicum* en el cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.)"

IV. OBJETIVOS

IV.1 Objetivo general.

Determinar la influencia de sustancias químicas (fungicidas, protectores y micronutrientes) y sustancias biológicas (*Bacillus spp*. solubilizador de fósforo en co-inoculación) sobre *Bradyrhizobium japonicum* (fijador de nitrógeno) en un cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.).

IV.2 Objetivos específicos.

Evaluar el efecto de las sustancias químicas y biológicas sobre *Bradyrhizobium japonicum* en la emergencia, estadio reproductivo 4 (biomasa aérea, nodulación y eficiencia) y en madurez fisiológica.

Evaluar si las sustancias químicas y biológicas sobre *Bradyrhizobium japonicum* tiene algún efecto sobre los componentes del rendimiento de soja.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Durante la campaña 2006/2007 se implantó un ensayo de cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) en el Campo de Docencia y Experimentación de la U. N. de Río Cuarto (Ruta Nacional 36, km 601).

V.1 Fisiografía.

El Campo de Docencia y Experimentación se encuentra en la región centro sur del departamento Río Cuarto, y ubicado en el ambiente geomorfológico correspondiente a la Planicie Periserrana Distal de la Provincia de Córdoba. La unidad presenta relieve suavemente ondulado, con pendientes menores al 2 % y está constituida por sedimentos eólicos franco arenosos finos.

V.2 Suelos.

Los suelos son Hapludoles típicos, profundos y bien drenados, de textura franco arenosa en superficie y franca en el subsuelo, que no presenta impedimentos fisicoquímicos para el desarrollo de las plantas. Presentan una capacidad de retención de humedad algo baja, por lo que son susceptibles al estrés hídrico en las épocas de seca. Además son propensos a ser erosionados lo que debe ser contemplado en su manejo. Las características de este suelo se muestran a continuación.

Cuadro 1: Características físico-químicas y químicas del suelo en el área del ensayo (Niederhauser, 2007).

Horizonte (0-18 cm)	Materia Orgánica (%)	pH actual	C.I.C $cmol.kg^{-1}$	Ca $cmol.kg^{-1}$	Mg $cmol.kg^{-1}$	K $cmol.kg^{-1}$	Na $cmol.kg^{-1}$
Ap	1,98	6,5	16,95	9,4	2,78	1,68	0,89

Cuadro 2: Valoración del nivel de fósforo a la siembra (Niederhauser, 2007).

P ppm (Bray y Kurtz I) (0-18 cm)
11,25

V.3 Clima.

El clima que presenta la zona, es templado subhúmedo con estación seca invernal. Las precipitaciones varían de oeste a este entre los 700 a 800 milímetros anuales concentrándose el 80 % de las mismas en el periodo de octubre a abril (régimen monzónico). Las precipitaciones durante el ciclo del cultivo se detallan en el cuadro 3.

El periodo libre de heladas es de 240 días (en promedio, desde el 11 de septiembre hasta el 11 de mayo) y con heladas extremas registrándose un periodo de 167 días (desde el 16 de abril al 29 de octubre). La temperatura promedio anual del período 1974-1993 es de 16.4 ºC con una amplitud de 13.9 ºC entre el mes más cálido (enero, 23 ºC) y el más frío (Julio 9.1 ºC).

Cuadro 1: Precipitaciones (mm) promedio durante el ciclo del cultivo (período 1974-1993).

Mes	Precipitaciones (mm)
Noviembre	114
Diciembre	130
Enero	130
Febrero	100
Marzo	103
Abril	39
Total	**616**

Fuente: Cátedra de Agrometeorología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria (FAV), Universidad Nacional de Río Cuarto. Agroclimatología de Río Cuarto UNRC volumen 1.

Cuadro 2: Precipitaciones (mm) durante el ciclo del cultivo (2006-2007).

Mes	Precipitaciones
Noviembre	166
Diciembre	160
Enero	169
Febrero	155
Marzo	85
Abril	11
Total	**746**

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

V.4 Implantación del ensayo.

En el ensayo se llevaron a cabo 6 tratamientos diferentes, empleando fungicida (Maxim XL), micronutrientes (Cobalto y Molibdeno), protectores bacterianos y solubilizadoras de fósforo (*Bacillus spp.*) en parcelas realizadas en bloques aleatorios completamente al azar con 3 repeticiones cada una. Los tratamientos se detallan a continuación:

Tratamiento 1: semilla sin tratar.

Tratamiento 2: semilla + inoculante (S + I).

Tratamiento 3: semilla + inoculante + protector bacteriano (S + I + P).

Tratamiento 4: semilla + inoculante + fungicida (S + I + F).

Tratamiento 5: semilla + inoculante + cobalto y molibdeno (S + I + CoMo).

Tratamiento 6: semilla + inoculante + *Bacillus spp.* (S + I + Solubilizadora).

De los tratamientos mencionados anteriormente el que corresponde a semilla con inoculante solamente, es el que se tomó como tratamiento testigo.

La semilla de soja empleada para la siembra pertenece al cultivar TJ 2049 RG del semillero La Tijereta. La siembra se realizó el 19/12/2006 con máquina Agrometal para siembra directa, en parcelas de 4 surcos cada una de 30 metros de largo con un espaciamiento entre hileras de 0,525 m. Se sembraron 23 semillas por metro.

Para los mencionados tratamientos se contó con el inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), el fungicida, los micronutrientes, protectores bacterianos y bacterias solubilizadoras de fósforo (*Bacillus spp.*), estas últimas, aisladas por la cátedra de Microbiología Agrícola de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UNRC.

Las dosis empleadas fueron las siguientes:

Inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*): 3 cc / Kg de semilla.

Bacterias solubilizadoras de fósforo (*Bacillus spp.*): 5 cc / Kg de semilla.

Micronutrientes (CoMo): 2 cc / Kg de semilla.

Protectores bacterianos: 2.5 cc / Kg de semilla.

Fungicida Maxim XL (Fludioxonil + Metalaxil M): 5 cc / Kg de semilla.

V.5 Evaluaciones.

A los 30 días de sembrado se evaluó nodulación (presencia o ausencia de nódulos), y en R4 (aproximadamente 70 días posteriores a la siembra) se realizó un muestreo de cuatro plantas al azar en cada parcela y se determinó: número de nódulos en la raíz principal y en las secundarias, nódulos activos (número y porcentaje por planta) a través de apreciación visual de la coloración rosada, con lo cual se evidencia la eficiencia de los nódulos y peso seco de nódulos totales/planta, para ello se secaron en estufa a 60 ºC. En madurez fisiológica (R8) se evaluaron componentes del rendimiento (número de nudos sobre tallo principal, número de vainas por planta y número de granos por planta) y rendimiento.

La cosecha se hizo en forma manual (se tomó una muestra de plantas de los surcos centrales correspondientes estas a 1 m^2 de superficie), se desgranaron con máquina cosechadora estática. Se determinó el peso del grano de las muestras correspondientes, se corrigió humedad del grano y los datos fueron transformados a kg ha^{-1}.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa INFOSTAT/profesional versión 1.1 (actualización 2006). Se hizo análisis de la varianza (ANOVA), y las medias se compararon según el test de comparaciones múltiples LSD Fisher con un nivel de significancia del 5 % ($P <= 0,05$).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La campaña 2006/2007 se caracterizó por una alta ocurrencia de precipitaciones durante el ciclo de desarrollo del cultivo de soja superándose los 700 milímetros, lo cual permitió un normal crecimiento y desarrollo del cultivo.

VI.1. Número de Nódulos

Como puede observarse en los gráficos 1 y 2, hay diferencias en el número de nódulos tanto en la raíz primaria como en la secundaria, entre los tratamientos de semilla inoculada + Cobalto y Molibdeno (CoMo), y el tratamiento de semilla inoculada + solubilizadoras de fósforo (*Bacillus spp*.) con relación a los restantes tratamientos. Siendo el tratamiento con solubilizadoras de fósforo el de mayor diferencia con respecto a los demás.

Estas diferencias adquieren real importancia al realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos, el cual permite definir que las diferencias entre el tratamiento con inoculante y solubilizadoras y el inoculado más CoMo presentan diferencias estadísticamente significativas con los demás tratamientos. Los resultados estadísticos también indican que las diferencias entre estos dos tratamientos también son estadísticamente significativas.

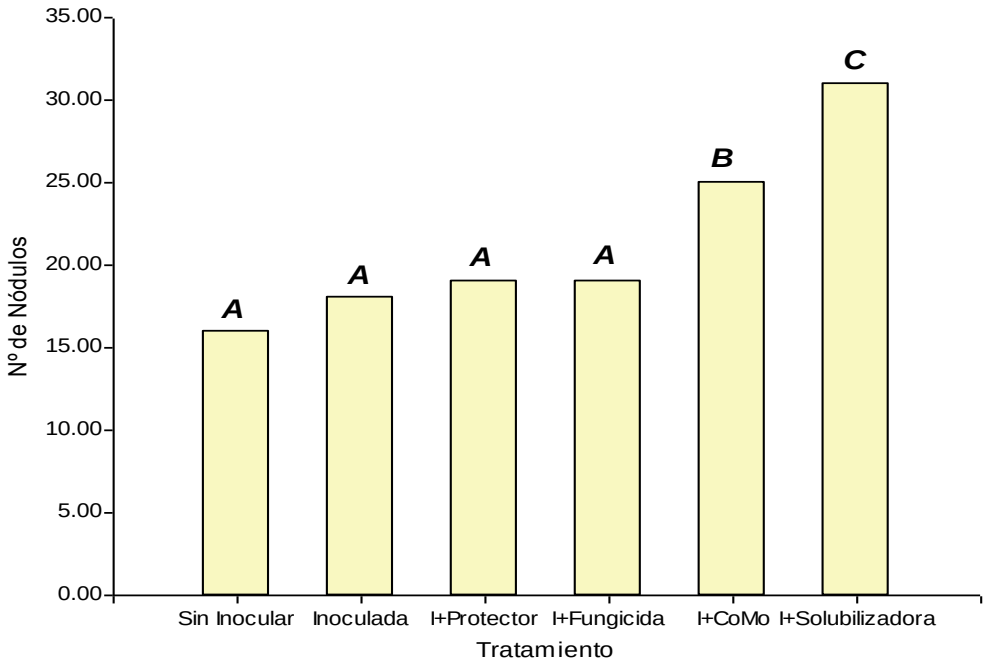

Gráfico 1: Número de nódulos por planta en Raíz Primaria. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05).

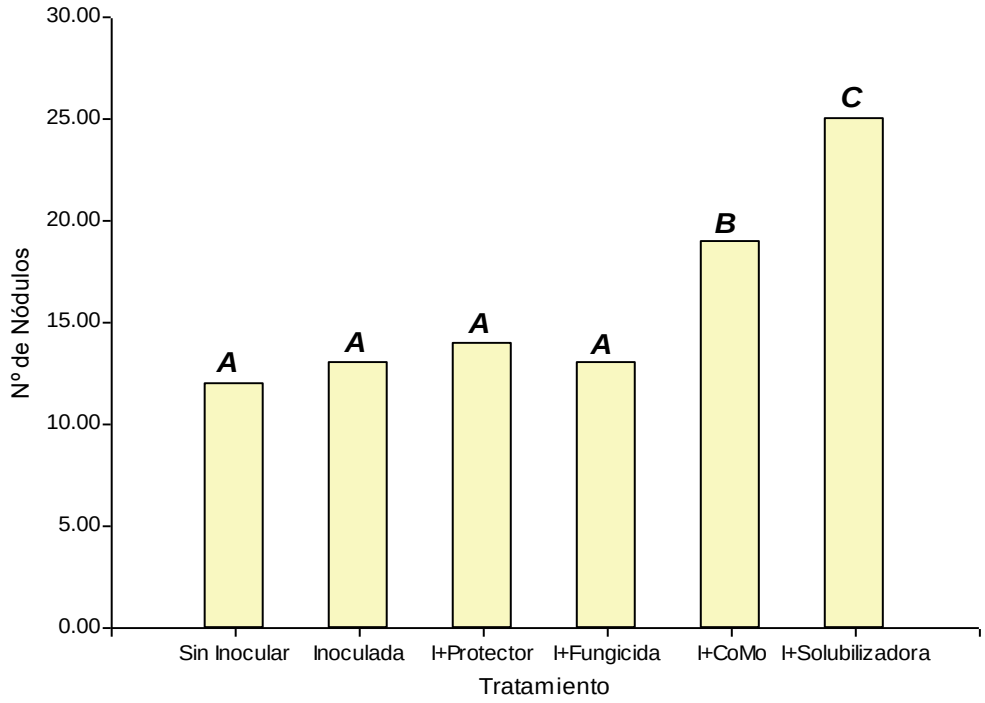

Gráfico 2: Número de nódulos por planta en Raíz Secundaria. Letras distintas indican diferencias significativas ($p <= 0.05$).

Las diferencias observadas se deben a que la inoculación con mezcla de bacterias mejora el balance nutricional de la planta, permitiendo en este caso tener una adecuada nutrición de nitrógeno y fósforo, como mencionan Belimov *et al*. (1995). Según Rosas *et al*. (2006), esas diferencias se deben al efecto benéfico de las solubilizadoras de fósforo en cuanto a la producción de sideróforos que permiten una mayor solubilización de fosfatos. Bashan *et al*. (1997), mencionan también, que se produce un efecto sinérgico por intercambio de nutrientes, donde se remueven algunos (fósforo) y se estimulan otros (nitrógeno).

En cuanto al tratamiento de semillas con inoculante + CoMo, la diferencia se debe a que el Cobalto (Co) y el Molibdeno (Mo) actúan como cofactores de la nodulación, el Co interviniendo en la síntesis de leghemoglobina la cual favorece la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN), y el Mo es importante para la formación de la nitrogenasa y nitrato reductasa, responsables de, la ruptura del triple enlace del nitrógeno y de la asimilación de este elemento en la planta durante la FBN respectivamente.

Por último y para los demás tratamientos, si bien se presentaron diferencias en cuanto al número de nódulos, las mismas no presentan diferencias estadísticamente significativas.

VI.2 Infectividad.

La actividad de la enzima nitrogenasa requiere baja concentración de oxígeno, que en los nódulos está regulada por la leghemoglobina. Ésta es una proteína que contiene hierro con características similares a la hemoglobina animal, con capacidad para unirse al oxígeno. Provee suficiente oxígeno para las funciones metabólicas del bacteroide, pero previene la acumulación de oxígeno libre que destruiría la actividad de la nitrogenasa. La leghemoglobina le da el color rojo al interior de los nódulos activos. Si un nódulo tiene el interior rojo, indica que está fijando activamente nitrógeno y se consideran nódulos efectivos. Dentro de cierto rango, cuanto más rojo es el nódulo, más efectivo es (Canigia 2003).

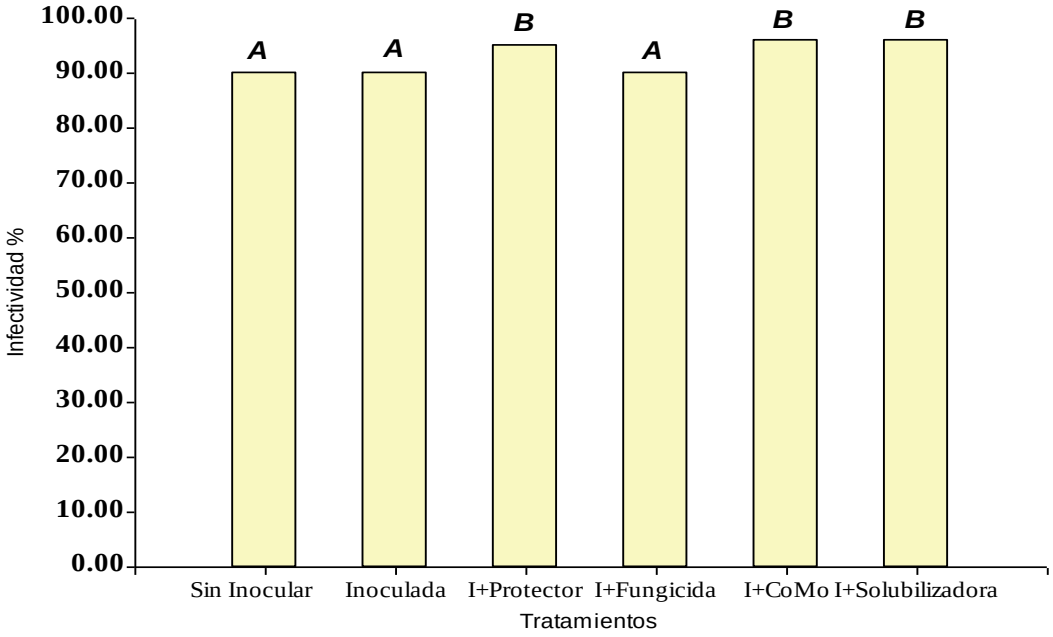

Gráfico 3: Infectividad de nódulos. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05).

Como se puede ver en el gráfico 3, los tratamientos que manifiestan diferencias significativas son los inoculados más protector bacteriano, inoculado más Cobalto y Molibdeno y inoculado más solubilizadoras de fósforo.

En el caso del tratamiento con protectores bacterianos, esta mayor infectividad por sobre el testigo se debe a, que como menciona Montero, (2008), estas sustancias mejoran la viabilidad de las bacterias encargadas de llevar a cabo la FBN ya que las protegen de las elevadas temperaturas, evitan la desecación de las mismas y además las protegen de los efectos nocivos que puedan causar los fungicidas.

Para cuando se empleó cobalto y molibdeno, la mejora en la infectividad se debe a, que como menciona PLANETA SOJA (2009 a y b), el cobalto y el molibdeno son cofactores de la FBN y de gran importancia para ésta, ya que el Mo está relacionado con la

formación de enzimas como la nitrogenasa y nitrato reductasa, las que son responsables de la ruptura del triple enlace del N, y de la asimilación de este elemento en la planta durante la FBN, respectivamente. El Co también es esencial para la FBN. Una deficiencia de éste inhibe la síntesis de leghemoglobina, y como consecuencia, la FBN es deficiente.

Por último para el tratamiento con solubilizadoras de fósforo la mayor infectividad se produce por efecto de la mejor nutrición que recibe la planta y por el efecto sinérgico por intercambio de nutrientes producido por ambas bacterias (fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo) como mencionan Bashan *et al*. (1997).

VI.3 Componentes del Rendimiento

Como en todos los cultivos para grano, el rendimiento del cultivo de soja resulta de dos componentes numéricos independientes entre si: el número de granos por unidad de superficie y el peso que alcanzan. El número de granos tiene a su vez subcomponentes, como lo son el número de nudos por unidad de superficie, el número de vainas por nudo y el número de granos por vainas. Por lo tanto, para comprender su dinámica es conveniente analizar separadamente como evolucionan cada uno de los subcomponentes que lo determinan.

El número de nudos que se diferencian en el tallo principal depende principalmente de las condiciones fotoperiódicas previas a floración y de la sensibilidad al fotoperíodo y el hábito de crecimiento del genotipo.

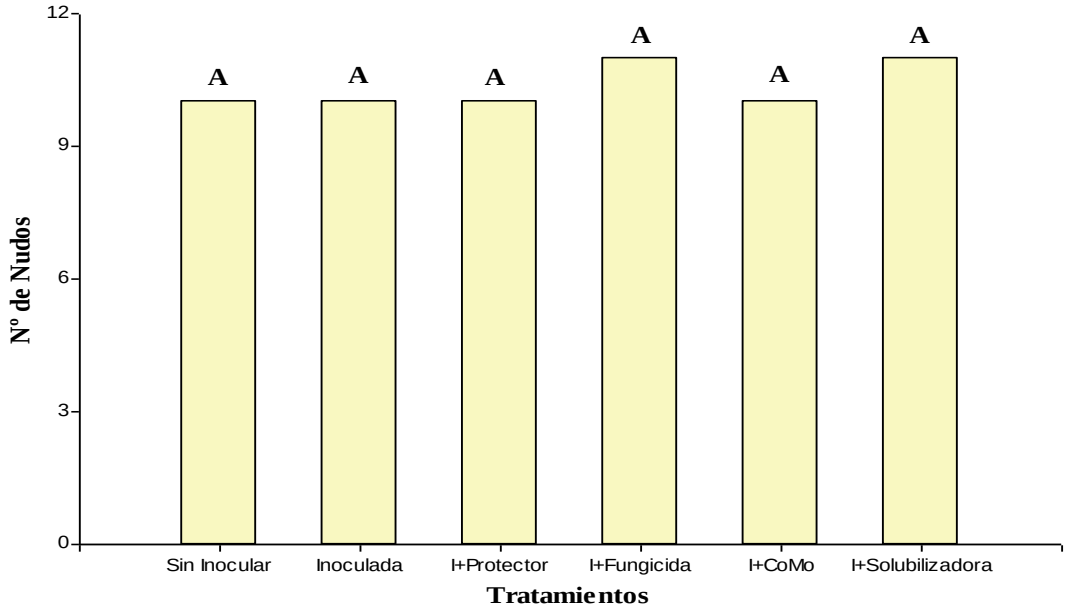

Gráfico 4: Número de nudos por planta sobre tallo principal**.** Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05).

Como puede observarse en el gráfico 4, si bien se presenta alguna diferencia en el número de nudos entre los diferentes tratamientos, las mismas no son estadísticamente significativas. Ésto se debe a como menciona Kantolic, (2003), el número de nudos sobre el tallo principal es poco afectado por la disponibilidad de recursos, y depende directamente de la diferenciación de nudos que se da durante la etapa vegetativa. No sucede lo mismo con los nudos de las ramificaciones, donde estos están sujetos a las condiciones fotoperiódicas antes y después de floración y además el crecimiento y supervivencia de estos nudos está condicionado por la tasa de crecimiento del cultivo, es decir que ante deficiencias hídricas o nutricionales se resienten fuertemente, mientras que el número de nudos del tallo principal no se modifica.

El número de vainas por nudo depende de cuantas inflorescencias se desarrollan en cada uno y cuantas vainas se establecen en cada inflorescencia. Pueden encontrarse entre 1 y 20 vainas por nudo, existiendo alta variabilidad entre los nudos de la planta, entre genotipos y ante cambios en las condiciones ambientales (Board *et al*., 1999).

Toda condición ambiental que favorezca el ritmo de fotosíntesis y la tasa de crecimiento del cultivo, conducirá a maximizar el número de vainas por nudo Kantolic, (2003).

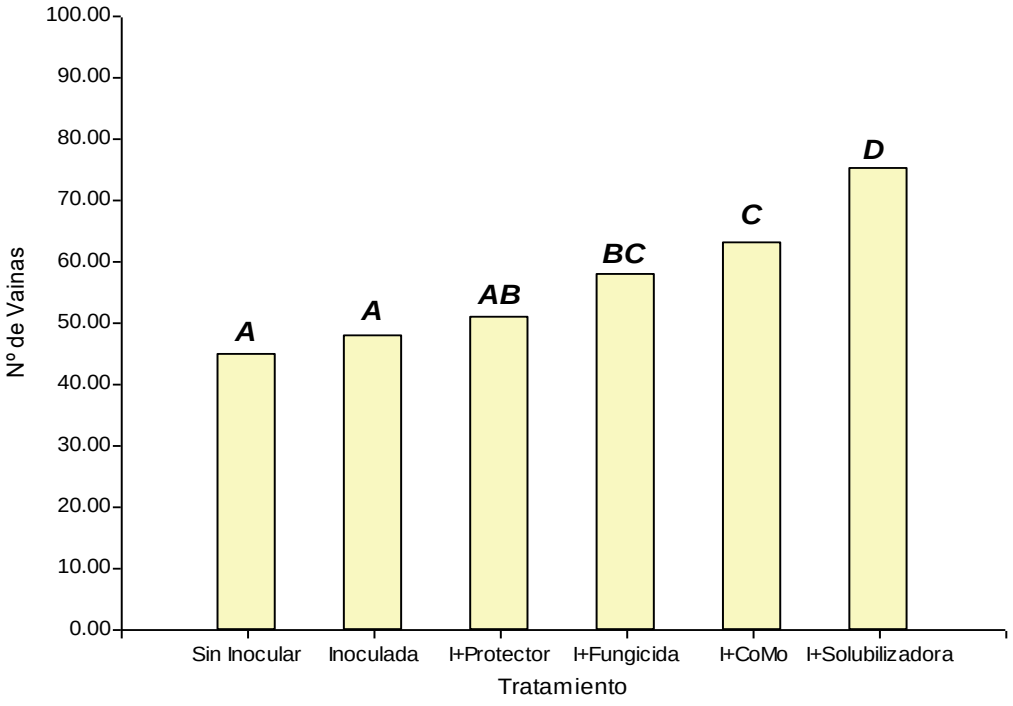

Gráfico 5: Número de vainas por planta**.** Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05).

Por lo tanto, y como se puede ver en el gráfico 5, el mayor número de vainas que presenta el tratamiento con inoculante más solubilizadora de fósforo en relación al resto

de los tratamientos se debe a una mejor nutrición de la planta, producto, cómo mencionan Bashan *et al*. (1997), del efecto conjunto (sinergismo) de las bacterias fijadoras de nitrógeno y de las bacterias solubilizadoras de fósforo que, además de hacer disponible este elemento, promueven el crecimiento y el desarrollo radicular mejorando de esta forma también el conveniente suministro de nutrientes y agua para los cultivos. Además, otro efecto que se produce, producto de la acción PGPR de las solubilizadoras de fósforo (dentro de la asociación tripartita), es una promoción del crecimiento vegetal, incrementando las actividades fisiológicas de la planta y lográndose aumentos en el peso, en el número de nódulos, en la fijación de nitrógeno, en el área foliar y en el peso y número de vainas (Zhang *et al*, 1996 a, b, 1997).

Por último, el otro subcomponente que hace al número de granos por unidad de superficie y que incide directamente en el rendimiento del cultivo es el peso de los granos.

Cuadro 1: Peso de 1000 granos expresado en gramos. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05).

Tratamientos	Peso de 1000 granos.
Sin inocular	120 **A**
Inoculada	121 **A**
I + Protector	122 **A**
I + Fungicida	126 **A**
I + CoMo	159 **B**
I + Solubilizadora	179 **C**

El peso final del grano puede describirse como una función de su tasa de crecimiento y de la duración del periodo de llenado. En ambos casos están influenciados genéticamente y varían de acuerdo a las condiciones ambientales. La tasa de crecimiento del grano es sensible a factores ambientales como por ejemplo temperatura, fotoperíodo, radiación y disponibilidad de nitrógeno. En cuanto al periodo de llenado de los granos, las disminuciones en el peso de los granos causadas por deficiencias hídricas o nitrogenadas están mas frecuentemente asociadas a un acortamiento del periodo de llenado que a cambios efectivos en la tasa de crecimiento de los granos.

En este caso las diferencias estadísticas observadas entre los tratamientos de semilla inoculada más solubilizadora de fósforo (47 % más en relación al testigo) e inoculada más cobalto y molibdeno (31 % más en relación al testigo), se deben principalmente a una mejor absorción de nitrógeno y fósforo en el tratamiento con solubilizadoras de fósforo y a una mejor toma de nitrógeno por parte de las bacterias fijadoras de nitrógeno en el tratamiento con CoMo.

Ésto se debe a que la soja presenta una alta acumulación de proteínas en las semillas lo cual la convierte en el cultivo con la mayor demanda de nitrógeno y la menor producción de biomasa por fotoasimilado producido. Por eso el nitrógeno es el nutriente mas crítico para el cultivo. Al ser la soja una leguminosa puede cubrir sus requerimientos de nitrógeno a partir del aporte de nitrógeno del suelo y por medio de la FBN y como mencionan Belimov *et al.* (1995) la inoculación con mezcla de bacterias provee un mejor balance nutricional para las plantas, y la mejora en la absorción radicular de nitrógeno y fósforo es el mecanismo principal de interacción entre plantas y bacterias. Bashan *et al.* (1997), destacan que, la co-inoculación se basa en una combinación de microorganismos que interactúan sinérgicamente. Estudios realizados en laboratorio demostraron un efecto sinérgico por intercambio de nutrientes, removiendo algunos productos inhibidores o estimulando otros a través de mecanismos físicos o bioquímicos. Además de remover nutrientes, las solubilizadoras de fósforo, producen sustancias estimuladoras de crecimiento vegetal como lo son las fitohormonas, que promueven el crecimiento y el desarrollo radicular mejorando de esta forma también el conveniente suministro de nutrientes y agua para el cultivo.

En los tratamientos con Cobalto y Molibdeno, las diferencias que se observan están relacionadas a un mejor funcionamiento de la FBN, ya que el cobalto y el molibdeno son cofactores de la FBN, y como menciona PLANETA SOJA 2009 (a y b), son de gran importancia para que ésta se lleve a cabo de manera óptima, ya que el Mo está relacionado con la formación de enzimas que participan en las reacciones de formación de la nitrogenasa y nitrato reductasa, responsables de la ruptura del triple enlace del N, y de la asimilación de este elemento en la planta durante la FBN, respectivamente. El Co también es esencial para la FBN. Una deficiencia de Co inhibe la síntesis de leghemoglobina, y como consecuencia, la FBN es deficiente.

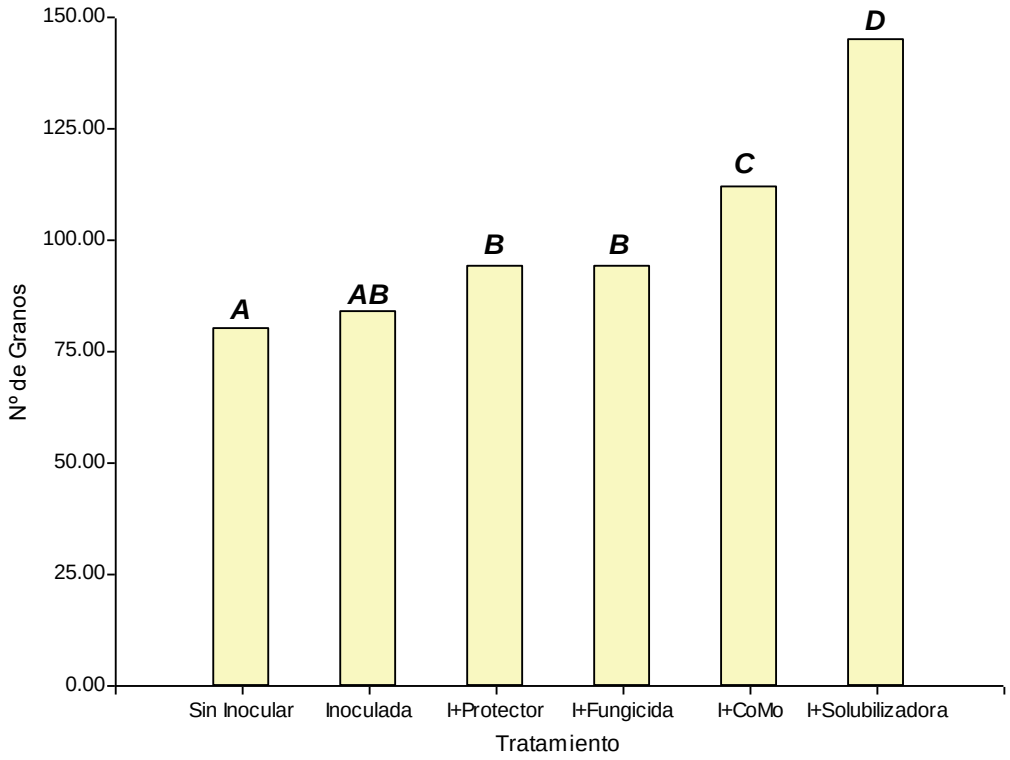

Gráfico 6: Número de granos por planta**.** Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05).

Analizados los subcomponentes del número de granos por unidad de superficie, al observar el número de granos, se encuentra una relación directa con el número de vainas, encontrándose un comportamiento de los tratamientos, similar al presentado en número de vainas.

Como se puede apreciar en el gráfico 6, los tratamientos que presentan mayor número de granos y diferencias estadísticas significativas en relación al resto y entre sí, son el tratamiento inoculado más solubilizadoras de fósforo y el inoculado más cobalto y molibdeno (CoMo).

VI.4 Rendimiento en grano (Kg ha^{-1})

Como se dijo anteriormente el rendimiento tiene como componentes al número de granos por unidad de superficie y al peso de estos granos.

Se estima que se requieren 80 kg de nitrógeno para producir una tonelada de grano. Según Perticari, (2004) con el uso intensivo de los recursos, son cada vez menores los aportes de nitrógeno esperados desde el suelo y ante la ausencia de la fertilización química de nitrógeno, el 70 % del rendimiento de la soja es dependiente de la capacidad de acumular nitrógeno desde la FBN. Además del nitrógeno, el fósforo es de importancia ya que la soja es el cultivo más extractivo de este nutriente por cada tonelada de grano que

produce (8 Kg por cada tonelada de grano) (Gutiérrez Boem, 2003). El rendimiento de soja se ve limitado por la disponibilidad de P del suelo, a niveles comparativamente más bajos que otros cultivos como maíz, trigo o alfalfa.

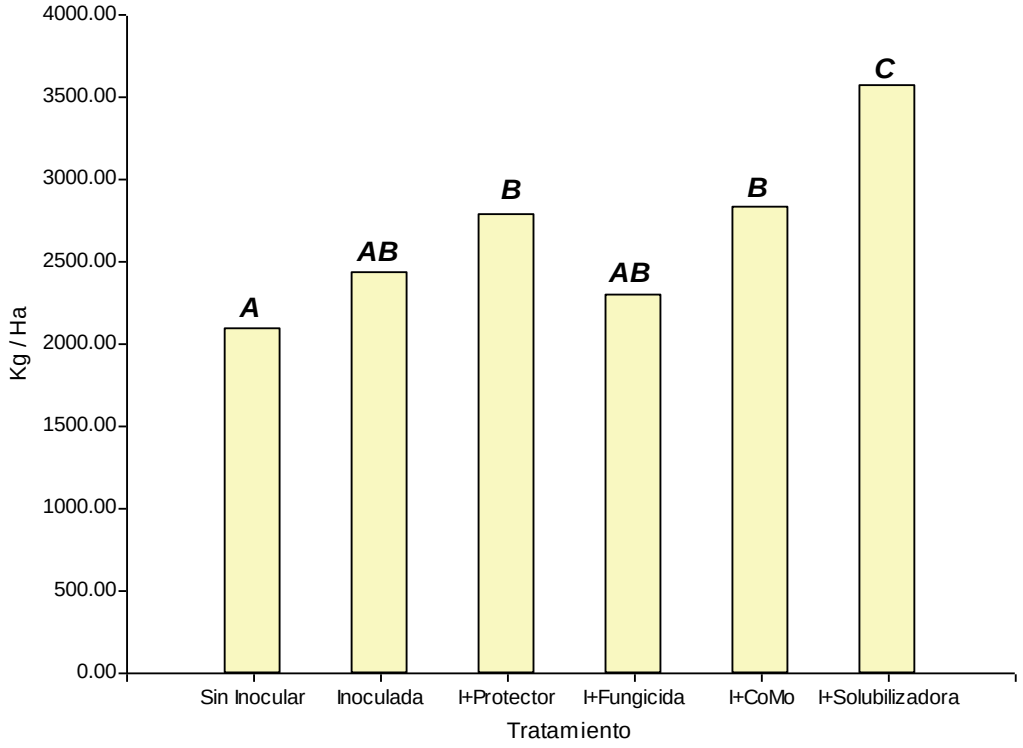

Gráfico 7: Rendimiento expresado en Kg. por Ha**.** Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05).

Como se puede ver en el gráfico 7, se observan diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos de semilla inoculada más solubilizadora de fósforo (co-inoculado), inoculada más cobalto y molibdeno (CoMo) y inoculada más protector en relación al resto de los tratamientos. De estos tres tratamientos el que marco diferencias significativas es el inoculado más solubilizadora de fósforo (46 % mas por sobre el testigo). El tratamiento con CoMo presentó un 16 % más por sobre el testigo y el inoculado más protector marco un incremento de un 14 % por sobre el testigo.

Ésto se debe a un mejor balance nutricional para las plantas, y la mejora en la absorción radicular de nitrógeno y fósforo (Belimov *et al*. 1995). Ésto está en coincidencia con lo que marca Burdman *et al*. (2000) en donde dice que experimentos a campo han demostrado un incremento en el rendimiento de las leguminosas con inoculación mixta, alcanzando rendimientos superiores a los obtenidos inoculando únicamente con *Rhizobium*. En cuanto a los tratamientos con CoMo y protectores de las bacterias, estos marcaron las diferencias con el resto, producto de un adecuado funcionamiento de la FBN ante la presencia de los cofactores necesarios para ésta y por la protección que brindan dichas

sustancias, empleadas para tal función, de modo tal que permiten que se mantenga un alto número de bacterias por semilla una vez que se realizó la inoculación.

VII. CONCLUSIONES

Luego de desarrollar el análisis de los resultados y su posterior discusión, se puede concluir sobre lo siguiente:

El uso de sustancias como fungicidas, protectores, micronutrientes y microorganismos solubilizadores de fósforo afectaron el comportamiento de *Bradyrhizobium japonicum* en el cultivo de soja, encontrándose que:

- En los tratamientos donde se empleó, cofactores como el Cobalto y el Molibdeno y cepas solubilizadoras de fósforo se observaron mejoras importantes en todos los parámetros evaluados (nodulación, rendimiento y componentes del rendimiento) en relación al tratamiento testigo (semilla inoculada solamente).
- En los tratamientos donde se utilizó el inoculante solo, con protectores de bacterias y con fungicidas, se presentaron mejoras en los diferentes parámetros, pero éstas no presentaron diferencias significativas en relación al tratamiento testigo.
- El efecto producido por las cepas solubilizadoras de fósforo sobre *Bradyrhizobium japonicum* presentaron las mayores diferencias con el tratamiento testigo y estadísticamente fueron significativas.

Los resultados observados en el presente trabajo marcan la importancia de continuar los estudios en cuanto a la inoculación y co inoculación del cultivo de soja (Fijación Biológica de Nitrógeno y Bacterias Solubilizadoras de Fósforo) debido a la importante asociación sinérgica que presentan ambas bacterias.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

ALEXANDER, M. 1980 Transformaciones microbianas del fósforo. (p.: 355-371). En: **Introducción a la Microbiología del Suelo**. AGT editor, México, 491 p.

BABANA, H. A., y ANTOUN. 2006. Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field-grown wheat (Triticum aestivum L.) in Mali. **Plant and Soil**, 287: 51-58.

BASHAN, Y. y G. HOLGUIN. 1997 Azospirillum plants relationships: environmental and physiological advances (1990-1996) **Can. J. Microbiol**. 43: 403-121.

BERNARDO, I; E. BONADEO; I. MORENO; M. BONGIOVANNI y R. MARZARI. 2004 **Apoyo didáctico Cátedra Sistema Suelo Planta Universidad Nacional de Río Cuarto**. Apuntes para clases teóricas Unidad Nº 12 Pág. 128.

BELIMOV A., KOJEMIAKOV A. y C. CHUVARLIYEVA. 1995. Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing bacteria. **Plant and Soil**. 173: 29-37.

BOARD, J.E.; M.S KANG y B.G. HARVILLE. 1999. Path analisys of the yield formation process for lated-planted soybean. **Agron. J**. 91:128-135.

BOWEN, G. y A. ROVIRA 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Sparks, D. (Ed.) **Advances in Agronomy** 66: 1-103.

BURDMANN, S; B. HAMAOUI y Y. OKON 2000 Improvement of legume crop yields by coinoculation with Azospirillum and Rhizobium The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. The Hebrew University of Jerusalem, Israel.

CANIGIA M.V.F 2003. **Manual de Nodulación**. En www.nitragin.com.ar Consultado: 12-08-2009

COMPANT, S.; B. DUFFY; J. NOWAK; C. CLEMENT y E.A. BARKA 2005. Mini-review: Use of plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles mechanisms of action, and future prospects. **Applied and Environmental Microbiology**. 71 (9): 4951-4959.

DASHTI, N; F. ZHANG; R. HYNES y L. SMITH 1997 Application of plant growth promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max*) increases protein and dry matter yield under short seasons conditions. **Plant and soil** 188-33-41

DRECCER, M; R. RUIZ; G. MADDONNI y E. SATORRE. 2003. En: Satorre, E. R, Vence Arnold. G, Slafer. E, de la Fuente. D, Miralles. M, Oteguiy R, Savin. **Producción de granos, Bases funcionales para su manejo**. ed: Facultad de Agronomía Universidad Nacional de Buenos Aires. Buenos Aires. 18: 481- 497.

FERRARIS, G. y L. COURETOT 2005. **Respuesta de la soja a la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en los lotes con antecedentes de soja previa**. Revista Técnica AAPRESID, 85-87.

GARCÍA, R y T. BACH 2003. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sobre el rendimiento del trigo. Informe técnico 324, **INTA EEA** Pergamino. 19 p.

GLICK, B.R.; D.M KARATUROVIC y P.C. NEWELL 1995 A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. **Canadian Journal of Microbiology**, 41: 533-536.

GUTIÉRREZ BOEM, F. 2003. Respuesta del cultivo de soja a la fertilización fosforada. **Simposio: El fósforo en la Agricultura Argentina**. 62-65. Rosario, Argentina.

ILLMER, P. y F. SCHINNER. 1992 **Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils**. Soil Biol. Biochem. 24: 389-395.

INPOFOS 2005 (a) Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo. Fernando O. García. En www.inpofos.org Consultado: 19-08-2009

INPOFOS 2005 (b) Soja: Criterios para la fertilización del cultivo. Fernando O. García. En www.inpofos.org Consultado: 19-08-2009

KANTOLIC, A.G. 2003. Inoculación y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja. En SATORRE, E. *et al*. **El libro de la soja** – 2003. Ed. CREA-AAPRESID. Buenos Aires. 264 p.

KLOEPPER, J.W. y M.N. SCHROTH. 1978 **Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes**. Proc. 4th Int. Conf. Plant Path. Bact. Angers. 879-882.

LEINHOS, V. y H. BERGMANN 1995 **Influence of auxin producing rhizobacteria on root morphology and nutrient accumulation of maize (Zea mays L.) by inoculation with indol-3-acetic acid (IAA) producing Pseudomonads strains and by exogeneously applied IAA under different water supply conditions**. Angew Bot 69: 37-41.

MONTERO, F. A. 2008 **Protectores Bacterianos. Acción sobre la viabilidad de inoculantes de soja y la respuesta a la nodulación**. Nuestro Campo Argentino Año 4 Nº 55 Octubre de 2008: 10-14.

NIEDERHAUSER, M. 2007. **Incidencia de distintas fuentes fosforadas sobre la actividad biológica de nitrógeno y el rendimiento del cultivo de soja.** Tesis Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

PERTICARI, A. 2003. Bases funcionales de la determinación de rendimiento y manejo del cultivo de soja. En SATORRE, E. *et al*. **El libro de la soja**. Ed. CREA-AAPRESID. Buenos Aires. 264 p.

PERTICARI, A. 2004 **Impacto de la FBN en la producción de soja**. Proyecto fertilizar año 2004-INTA.

PILET, P.E. y M. SAUGY 1987 Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. A critical re-examination. **Plant Physiology** 83: 33-38.

PLANETA SOJA 2009 (a) Impactos recientes de la soja en Argentina. Factores que hacen a la situación productiva actual del cultivo en Argentina. Ing. Agr. Arturo Regonat –PRECOP- EEA INTA Reconquista. En www.planetasoja.com.ar Consultado: 14-09-2009

PLANETA SOJA 2009 (b) Evolución de la Frontera Agrícola. Campañas 80/81-06/07**.** Ing. Agr. Liliana Ramírez e Ing. Agr. (MSc) Juan C. Porstmann. Cátedra de Administración Rural - Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Revista Agromensajes - Publicación cuatrimestral de la Facultad de Ciencias Agrarias UNR. Número 25 - Agosto de 2008. En www.planetasoja.com.ar Consultado: 31-10-2009

PLANETA SOJA 2009 (c) Efecto de la fertilización con cobalto y molibdeno y de la inoculación sobre la nodulación y los rendimientos de la soja. H. Fontanetto, 0. Kelter, C. Negro, L. Beiotti y D. Giailevra. EEA INTA Rafaela. En www.planetasoja.com.ar Consultado: 14-09-2009

PLANETA SOJA 2009 (d) Hacia una mejora en la fijación biológica de nitrógeno (FBN). Evaluación de diferentes dosis de cobalto y molibdeno como tratamiento de semillas o foliar en soja de primera-Pergamino. Ings. Agrs. Gustavo N. Ferraris y Lucrecia Couretot. En www.planetasoja.com.ar Consultado: 12-12-2008

RIZOBACTER ARGENTINA 2005. **Carpeta Técnica, Rizofos liq Fertilizante Biológico**. Datos Campaña 2001-2005 ensayos sobre Trigo.

RODRIGUEZ, H. y R. FRAGA. 1999 Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotech. Adv**. 17: 319-339.

ROSAS S.; J. ANDRÉS; M. ROVERA y N. CORREA 2006. Phosphate solubilizing Pseudomonas putida can influence the rhizobia-legume symbiosis. **Soil Biology and Biochemistry**.

SATTER, M.A. y A.C. GAUR 1987 Production of auxins and gibberelins by phosphate dissolving microorganisms. **Zentralbl Mikrobiol** 142: 393-395.

SEILER, R.; R. FABRICIUS; V. ROTONDO; M. VINOCUR 1995 **Agroclimatología de Río Cuarto UNRC Volumen 1.**

URQUIAGA S.; C. JANTALIA; B. ALVES y R. BODDEY 2004. **Importancia de la FBN en el secuestro de carbono en el suelo y en la sustentabilidad agrícola**. En: Biología del suelo. Ed. FAUBA.

VILLEGAS, J. y J.A. FORTIN 2001. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NH4+ as nitrogen source. **Canadian Journal of Botany** 79: 865-870.

ZHANG, F; N R. DASHTI; H. HYNES y L. SMITH. 1996 (a) Plant growth promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max*) nodulation and nitrogen fixation at sub optimal root zone temperatures. **Ann. Boot**. 77: 453-459.

ZHANG, F; N R. DASHTI; H. HYNES y L. SMITH. 1996 (b) Inoculation of soybean (*Glycine max*). Whit genistein preincubated *Bradyrhizobium japonicum* or genistein directly applied into soil increases soybean protein and dry matter yield under short seasons conditions. **Plant soil** 179: 233-241.

ZHANG, F; N R. DASHTI y L. SMITH. 1997 Application of plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max*). Growth and physiology at suboptimal root zone temperatures. **Annals of Botany** 79: 243-249.

IX. ANEXO

Análisis de la varianza

NÓDULOS RAÍZ PRIMARIA

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Nod Raíz Primaria	18	0.86	0.77	13.07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	495.50	7	70.79	8.96	0.0013
Bloque	12.33	2	6.17	0.78	0.4842
Tratamiento	483.17	5	96.63	12.23	0.0005
Error	79.00	10	7.90		
Total	574.50	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=3.61572

Error: 7.9000 gl: 10

Bloque	Medias	n	
3.00	20.83	6	A
1.00	21.00	6	A
2.00	22.67	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=5.11340

Error: 7.9000 gl: 10

Tratamiento	Medias	n			
1.00	16.00	3	A		
2.00	18.00	3	A		
4.00	19.00	3	A		
3.00	19.67	3	A		
5.00	25.00	3		B	
6.00	31.33	3			C

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Análisis de la varianza

NÓDULOS RAÍZ SECUNDARIA

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Nod Raíz Secundaria	18	0.83	0.71	17.27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	373.67	7	53.38	6.99	0.0034
Bloque	1.00	2	0.50	0.07	0.9370
Tratamiento	372.67	5	74.53	9.76	0.0013
Error	76.33	10	7.63		
Total	450.00	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=3.55417

Error: 7.6333 gl: 10

Bloque	Medias	n		
2.00	15.83	6	A	
1.00	15.83	6	A	
3.00	16.33	6	A	

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=5.02636

Error: 7.6333 gl: 10

Tratamiento	Medias	n			
1.00	12.00	3	A		
4.00	13.00	3	A		
2.00	13.00	3	A		
3.00	14.00	3	A		
5.00	19.33	3		B	
6.00	24.67	3			C

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Análisis de la varianza

INFECTIVIDAD %

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Infectividad %	18	0.76	0.58	2.34

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	145.89	7	20.84	4.41	0.0175
Bloque	5.44	2	2.72	0.58	0.5795
Tratamiento	140.44	5	28.09	5.95	0.0083
Error	47.22	10	4.72		
Total	193.11	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=2.79547

Error: 4.7222 gl: 10

Bloque	Medias	n		
3.00	92.17	6	A	
2.00	92.67	6	A	
1.00	93.50	6	A	

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=3.95339

Error: 4.7222 gl: 10

Tratamiento	Medias	n			
4.00	90.00	3	A		
2.00	90.00	3	A		
1.00	90.00	3	A		
3.00	95.00	3		B	
5.00	95.67	3		B	
6.00	96.00	3		B	

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

.

Análisis de la varianza

NUMERO DE NUDOS

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
N° de Nudos	18	0.30	0.00	13.57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8.39	7	1.20	0.60	0.7423
Bloque	5.44	2	2.72	1.37	0.2983
Tratamiento	2.94	5	0.59	0.30	0.9043
Error	19.89	10	1.99		
Total	28.28	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=1.81421

Error: 1.9889 gl: 10

Bloque	Medias	n	
3.00	10.00	6	A
2.00	10.00	6	A
1.00	11.17	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=2.56568

Error: 1.9889 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	
5.00	9.67	3	A
3.00	10.33	3	A
2.00	10.33	3	A
1.00	10.33	3	A
6.00	10.67	3	A
4.00	11.00	3	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Análisis de la varianza

NUMERO DE VAINAS

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
N° Vainas	18	0.90	0.84	8.14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2013.00	7	287.57	13.50	0.0002
Bloque	64.33	2	32.17	1.51	0.2672
Tratamiento	1948.67	5	389.73	18.30	0.0001
Error	213.00	10	21.30		
Total	2226.00	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=5.93706

Error: 21.3000 gl: 10

Bloque	Medias	n	
2.00	55.17	6	A
1.00	55.50	6	A
3.00	59.33	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=8.39627

Error: 21.3000 gl: 10

Tratamiento	Medias	n				
1.00	44.33	3	A			
2.00	48.00	3	A			
3.00	51.33	3	A	B		
4.00	57.67	3		B	C	
5.00	63.33	3			C	
6.00	75.33	3				D

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Análisis de la varianza

NUMERO DE GRANOS

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
N° de Granos	18	0.93	0.89	7.74

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8809.17	7	1258.45	20.39	<0.0001
Bloque	28.00	2	14.00	0.23	0.8011
Tratamiento	8781.17	5	1756.23	28.45	<0.0001
Error	617.33	10	61.73		
Total	9426.50	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=10.10745

Error: 61.7333 gl: 10

Bloque	Medias	n	
1.00	99.83	6	A
3.00	101.83	6	A
2.00	102.83	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=14.29409

Error: 61.7333 gl: 10

Tratamiento	Medias	n				
1.00	79.67	3	A			
2.00	84.00	3	A	B		
4.00	94.00	3		B		
3.00	94.00	3		B		
5.00	112.00	3			C	
6.00	145.33	3				D

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Análisis de la varianza

PESO DE 1000 SEMILLAS

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Peso 1000 Semillas	18	0.96	0.93	4.44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9409.58	7	1344.23	35.91	<0.0001
Bloque	107.57	2	53.79	1.44	0.2828
Tratamiento	9302.01	5	1860.40	49.70	<0.0001
Error	374.31	10	37.43		
Total	9783.90	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=7.87043

Error: 37.4312 gl: 10

Bloque	Medias	n	
1.00	134.87	6	A
3.00	138.07	6	A
2.00	140.85	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=11.13047

Error: 37.4312 gl: 10

Tratamiento	Medias	n			
1.00	120.37	3	A		
2.00	121.33	3	A		
3.00	122.30	3	A		
4.00	125.73	3	A		
5.00	158.83	3		B	
6.00	179.00	3			C

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Análisis de la varianza

RENDIMIENTO

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Rendimiento	18	0.80	0.66	12.11

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4218830.10	7	602690.01	5.79	0.0068
Bloque	75542.69	2	37771.35	0.36	0.7046
Tratamiento	4143287.40	5	828657.48	7.96	0.0029
Error	1041315.81	10	104131.58		
Total	5260145.90	17			

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=415.11916

Error: 104131.5806 gl: 10

Bloque	Medias	n	
3.00	2587.00	6	A
1.00	2664.25	6	A
2.00	2745.67	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa:=0.05 DMS:=587.06714

Error: 104131.5806 gl: 10

Tratamiento	Medias	n			
1.00	2088.33	3	A		
4.00	2290.33	3	A	B	
2.00	2436.17	3	A	B	
3.00	2784.00	3		B	
5.00	2827.00	3		B	
6.00	3568.00	3			C

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)