

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final de Grado

Efecto de la coinoculación con bacterias solubilizadoras
de fósforo sobre la productividad del cultivo de soja.

Patricio A. Reinhartd

31.799.048

Director: Thuar, Alicia.

Río Cuarto - Córdoba

Agosto 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final:

**Efecto de la coinoculación con bacterias solubilizadoras
de fósforo sobre la productividad del cultivo de soja.**

Autor: Reinhardt, Patricio Adrián.
DNI: 31799048

Director: Thuar, Alicia.

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión
Evaluadora:

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, papá y al hermano Ingeniero por hacerme la vida más fácil.

A mi directora Alicia por su ayuda.

A mis compañeros por hacerme pasar lindos momentos en Río Cuarto.

Río Cuarto, 8 de Agosto del 2012

Coordinador de Carrera de Agronomía

Ing. Rodrigo Martinez

Fac. de Agronomía y Veterinaria

Tengo el agrado de dirigirme a Ud. con motivo de solicitar la presentación oral de la Tesis de Agronomía del alumno Patricio Adrián Reinhardt titulada “Efecto de la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fósforo sobre la productividad del cultivo de soja”; la misma ha sido corregida y aprobada por el jurado.

Dicha presentación se realizará el día 15 de Agosto de 2012 a las 12 hs.

El jurado que ha corregido el escrito son: Ing. Graciela Boito y Dra. Alicia Thuar.

Sin otro particular le saluda muy atte

Profesora Alicia Thuar

INDICE DEL TEXTO

RESUMEN	IV
SUMMARY	V
INTRODUCCION	1
OBJETIVO GENERAL	6
OBJETIVOS ESPECIFICOS	6
MATERIALES Y METODOS	7
RESULTADOS Y DISCUSION	12
CONCLUSIONES	21
BIBLIOGRAFIA CITADA	22
ANEXO	27

INDICE DE CUADROS

Cuadro XXIII: Precipitación durante el ciclo del cultivo.	7
Cuadro XXIV: Análisis físico-químico del suelo. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba.	8
Cuadro XXV: Características de la variedad.	9
Cuadro XXVI: Escala Fehr y Caviness.	10
Cuadro I: Análisis de varianza (ANAVA), de Peso seco de raíz más nódulo.	27
Cuadro II: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del peso seco raíz más nódulos, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).	27
Cuadro III: Análisis de varianza (ANAVA), de Peso seco de biomasa aérea.	28
Cuadro IV: Análisis de varianza (ANAVA), de número de nódulos planta ⁻¹ en la raíz principal.	28
Cuadro V: Análisis por el Test de LSD de número de nódulos planta ⁻¹ en la raíz principal.	29
Cuadro VI: Análisis de varianza (ANAVA), de número de nódulos planta ⁻¹ en la raíz lateral.	29
Cuadro VII: Análisis de varianza (ANAVA), de efectividad de los nódulos.	30
Cuadro VIII: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey de efectividad de nódulos, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).	30
Cuadro IX: Análisis de varianza (ANAVA), de número de vainas planta ⁻¹ .	30
Cuadro X: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del número de vainas planta ⁻¹ , letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).	31
Cuadro XI: Análisis de varianza (ANAVA), de número de granos vaina ⁻¹ .	32
Cuadro XII: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del número de granos vaina ⁻¹ , letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).	32
Cuadro XIII: Análisis de varianza (ANAVA), del peso de 1000 granos.	33
Cuadro XIV: Análisis de varianza (ANAVA), del rendimiento.	33
Cuadro XV: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del rendimiento, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).	33
Cuadro XVI: Peso seco raíz más nódulos, por tratamiento. (V5)	34
Cuadro XVII: Peso seco biomasa aérea, por tratamiento. (V5)	34
Cuadro XVIII: Número de nódulos en la raíz principal, por tratamiento. (V5)	35
Cuadro XIX: Número de nódulos en la raíz lateral, por tratamiento. (V5)	35
Cuadro XX: Número de vainas por planta, por tratamiento.	35
Cuadro XXI: Peso de los 1000 granos en gramos, por tratamiento.	36
Cuadro XXII: Rendimiento (Kg ha ⁻¹).	36

INDICE DE FIGURAS

Figura 5: Peso seco raíz más nódulos (g) en los diferentes tratamientos.	12
Figura 6: Peso seco de biomasa aérea (g) en los diferentes tratamientos.	13
Figura 7: Número de nódulos en la raíz principal en los distintos tratamientos.	14
Figura 8: Número de nódulos en la raíz lateral por tratamientos.	15
Figura 9: Efectividad de cada tratamiento.	16
Figura 10: Número de vainas planta ⁻¹ de cada tratamiento.	17
Figura 11: Número de granos vaina ⁻¹ de cada tratamiento.	18
Figura 12: Peso de 1000 granos de cada tratamiento.	19
Figura 13: Rendimiento en grano de cada tratamiento.	20
Figura 1: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del peso seco de raíz más nódulos.	27
Figura 2: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del número de vainas planta ⁻¹ .	31
Figura 3: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del número de granos vaina ⁻¹ .	32
Figura 4: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del rendimiento.	34

RESUMEN

La soja constituye el principal cultivo de verano y es componente de todas las rotaciones por su alto valor en el mercado internacional. Es un cultivo de gran rusticidad, con capacidad para desarrollarse y producir aún en condiciones de suelos con ciertas limitaciones.

La inoculación con mezclas 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. Cuando se coinoculo *B.japonicum* y *Pseudomonas spp* sobre raíces de soja, se registro mayor número de nódulos y peso seco. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fósforo sobre la productividad de soja.

El ensayo se realizó en el campo experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Se utilizo un diseño completamente aleatorizado con 4 tratamientos y 4 repeticiones, los cuales fueron T1: sin inocular, T2: inoculado con *Bradyrhizobium japonicum*, T3: coinoculación (*Bradyrhizobium japonicum* más bacterias solubilizadoras de fósforo) y T4: bacterias solubilizadoras de fósforo. Se evaluó en el estadio V5 (Peso seco de raíz más nódulos por planta; Peso seco de biomasa aérea por planta; Número de nódulos por planta en la raíz principal; Número de nódulos por planta en la raíz lateral), estadio R3 (Efectividad) y estadio R8 (Número de vainas planta⁻¹; Número de granos vaina⁻¹; Peso de 1000 granos y Rendimiento).

En los tratamientos donde se utilizo la inoculación, se presentaron diferencias estadísticamente significativas en peso seco de raíz más nódulos planta⁻¹, número de nódulos en la raíz principal, efectividad, número de granos vaina⁻¹ y rendimiento para *Rhizobium*; y en peso seco de raíz más nódulos planta⁻¹, número de nódulos en la raíz principal y rendimiento cuando se inoculo con bacteria solubilizadora de fósforo. En el tratamiento donde se empleo la coinoculación se observan diferencias estadísticamente significativas en parámetros como efectividad y rendimiento.

Palabra clave: Soja, Coinoculación, Nodulación, *Bradyrhizobium japonicum*, bacterias solubilizadoras de fósforo.

SUMMARY

Soybean is the main summer crop and is a component of all rotations for its high value in the international market. It is a crop of great hardiness, able to develop and produce soil conditions even with some limitations.

The inoculation with bacteria provides a better nutritional balance for plants, and improving root uptake of nitrogen and phosphorus, is the main mechanism of interaction between plants and bacteria. When coinoculated and *Pseudomonas* spp *B.japonicum* on soybean roots, was registered largest number of nodules and dry weight. The aim of this study was to evaluate the effect of co-inoculation with phosphate solubilizing bacteria on soybean productivity.

The study was conducted at the experimental field of the National University of Río Cuarto. Was used a completely randomized design with 4 treatments and 4 repetitions, which were T1: uninoculated, T2: inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*, T3: coinoculation (*Bradyrhizobium japonicum* more phosphorus solubilizing bacteria) and T4: phosphorus solubilizing bacteria. Was evaluated in stage V5 (root dry weight more nodules per plant, dry weight biomass per plant, number of nodules per plant in the main root, number of nodules per plant at the root side), R3 stage (Effectiveness) and stage R8 (number of pods plant⁻¹, Number of grains pod⁻¹, 1000 grain weight and yield).

In the treatments where inoculation was used, there were statistically significant differences in root dry weight more nodules plant⁻¹, Number of nodules on the main root, effectiveness, number of grains pod⁻¹ and *Rhizobium* performance, and root dry weight more nodules plant⁻¹, number of nodules on the main root and performance when inoculated with bacteria solubilizing phosphorus. In the treatment where employment co-inoculation was observed statistically significant differences in parameters such as effectiveness and performance.

Key words: Soybean, co-inoculation, nodulation, *Bradyrhizobium japonicum*, phosphorus solubilizing bacteria.

INTRODUCCION

La soja (*Glycine max*) es una leguminosa originaria del continente asiático. Es el cultivo que más ha crecido en los últimos 25 años en nuestro país y se diferencia de los otros granos ya que se exporta en casi su totalidad (alrededor del 96 %), como poroto, harina o pellets, aceite y biodiesel, estas son una de las razones que explican por que el productor siembra cada vez más soja disminuyendo consecuentemente la superficie destinada a otros cultivos como, trigo y maíz, cuyos registros de exportación se han cerrado en repetidas ocasiones.

En la campaña 2010/11 el área cultivada con esta especie fue de 18.886.634 ha, con una producción de 48.885.703 tn, sembradas en una amplia zona del país (desde los 23° a los 39° de latitud sur). En la región pampeana se concentra cerca del 94 % de la superficie cultivada y el 95% de la producción total (MAGPyA, 2012). La superficie sembrada en la provincia de Córdoba, en la misma campaña fue de 5.054.390 ha, siendo la producción total de 12.252.266 tn (MAGPyA, 2012).

En el departamento Río Cuarto la superficie sembrada en la campaña 2010/11 fue de 586.000 ha, la producción en toneladas fue de 1.386.500 y la producción por hectárea de 2366 kg (MAGPyA, 2012).

La soja constituye el principal cultivo de verano y es componente de todas las rotaciones por su alto valor en el mercado internacional. Es un cultivo de gran rusticidad, con capacidad para desarrollarse y producir aún en condiciones de suelos con ciertas limitaciones. Esta propiedad puede sugerir una escasa demanda de nutrientes, pero la información disponible en el país y en el exterior demuestran lo contrario. Es el cultivo agrícola de mayor requerimiento de nitrógeno y de fósforo, luego de la colza, presentando asimismo los más altos índices de cosecha (Fontanetto *et al.*, 2010).

El nitrógeno es uno de los nutrientes esenciales más importantes, con una gran participación en los sistemas de producción y es el elemento que mas comúnmente limita la producción de los cultivos de grano. Sus fuentes de provisión son el suelo y la fijación biológica. El nitrógeno presente en la solución de suelo proviene de la mineralización de la materia orgánica cuyo nivel en el suelo es fundamental para mantener una producción sustentable; mientras que el nitrógeno aportado por la fijación biológica procede de la asociación simbiótica con bacterias específicas que fijan nitrógeno atmosférico. Este nutriente forma parte de toda célula viva, en las plantas es constituyente de clorofila, de proteínas, incluyendo las enzimas y de muchos otros compuestos. La gran necesidad de nitrógeno de las plantas y la limitada oferta de los suelos para suministrar el nitrógeno disponible, hace que sea el nutriente mas limitante para la producción (Bernardo *et al.*, 2004).

La soja se caracteriza por acumular importantes cantidades de proteína en el grano, alcanzando valores promedios del 40%, para lo cual debe almacenar grandes cantidades de

nitrógeno. Se estima que se requieren 80 kg de nitrógeno para producir 1000 kg de soja (Thuar *et al.*, 2007).

Una gran parte de este requerimiento es cubierto vía FBN (Fijación Biológica del Nitrógeno) a través de la simbiosis Soja- *Rhizobium* y en diferentes zonas sojeras de la Argentina aporta desde el 23 al 72 % de nitrógeno derivado de la atmósfera (Racca, 2009).

La calidad de muchos suelos de diversas áreas de nuestro planeta ha declinado significativamente desde que sistemas pastoriles o forestales fueron paulatinamente remplazados por la actividad agrícola. Este proceso de agriculturización creciente, en muchas situaciones desmedidos, sumado al manejo inadecuado de las tierras ha conducido al deterioro de la estructura del suelo y a la consecuente reducción en el nivel de materia orgánica, con una marcada disminución de la fertilidad química y física del suelo (Salinas – García *et al.*, 1997). En nuestro país, a partir de la década del 80', también se ha manifestado el proceso de degradación de los suelos como consecuencia de la intensificación de las actividades agrícolas (Urricariet y Lavado, 1999; Micucci y Taboada, 2006). La agricultura continua, el uso de sistemas de labranza agresivos y, sumado a esto, el monocultivo de soja o la secuencia trigo/soja, provocaron el deterioro de las propiedades químicas, físicas y biológicas de los suelos y el incremento de las superficies afectadas por los procesos erosivos y de degradación (Buschiazzo, *et al.*, 1998; Micucci y Taboada, 2006).

En este sentido, debido a la continua pérdida de fertilidad química de los suelos, se considera que la necesidad de nitrógeno de la soja debe ser cubierta en mayor medida por el mecanismo de FBN, que por la absorción por flujo masal de nitrógeno disponible en el suelo. En este aspecto, la respuesta del cultivo a la inoculación debe ser positiva.

La práctica más recomendable para lograr que la FBN sea una fuente importante de N (nitrógeno) para el cultivo de soja es la inoculación de la semilla con cepas de *Bradyrhizobium japonicum* incorporadas por medio de inoculantes de alta calidad. La respuesta a la inoculación es mayor cuando los lotes no cuentan con antecedentes de soja (Thuar *et al.*, 2007). No obstante, también se ha observado respuesta a la reinoculación en lotes con historia sojera previa (Ferraris *et al.*, 2010).

La FBN es catalizada por el complejo enzimático nitrogenasa, el cual consta de dos metaloproteínas (Azcon- Bieto y Talon, 2000). Esta enzima es extremadamente sensible al oxígeno y se inactiva de forma irreversible cuando se expone al aire. Para lograr bajas concentraciones, la planta suministra al nódulo una proteína, la leghemoglobina, que es capaz de complejar y transportar O₂ con gran afinidad. Dado que la leghemoglobina es roja, la actividad fijadora de nitrógeno en los nódulos es fácilmente detectable por observación de coloración rosada, a diferencia de la coloración blanca o parduzca de los nódulos inefectivos (Lodeiro *et al.*, 2003).

En condiciones adecuadas para la expresión de la simbiosis, la nodulación comienza a visualizarse a los 5-15 días. Los valores de nitrógeno fijado son bajos desde los estados vegetativos hasta comienzo de floración. Desde esta última etapa en adelante se registra la mayor actividad (Peticari, 2004).

Se considera que la FBN es una de las alternativas más viables para recuperar N en el ecosistema (Kimbal, 1980). En las praderas se ha estimado que 175 millones de toneladas/año se fijan biológicamente, de la cual el 70% va al suelo (Burity *et al.*, 1989).

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).

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 limita 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 tasa de mineralización durante el ciclo del cultivo afectan al establecimiento de la simbiosis ya que retardan el inicio de la nodulación e inhiben el funcionamiento del sistema fijador. Por lo tanto, el exceso de nitrógeno en el suelo, especialmente en forma de nitrato, tiene un efecto inhibitorio sobre la simbiosis en todos los pasos, desde la infección, formación de nódulos y la fijación de N₂ (Canigia, 2003). También es sensible a condiciones de anegamiento, con 2 a 3 días de inundación se pueden 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 la bacteria y si falta agua durante el ciclo del cultivo se afecta la nodulación y la fijación. La temperatura también afecta la FBN, con temperaturas cercanas a 15⁰ C se retrasa la nodulación y con temperaturas mayores a 40⁰ C se produce la muerte de la bacteria (Peticari, 2004). Las carencias de fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S) y de micronutrientes (Cobalto y Molibdeno) disminuyen la formación de nódulos y por consiguiente la FBN (García y Bach, 2003; Babana y Antoun, 2006).

Después del nitrógeno, el P es el elemento más importante para el desarrollo de los cultivos. Este proviene en su mayor parte de la meteorización de minerales primarios y las formas iónicas del ácido fosfórico mono y di ácido son las comúnmente presentes en la solución del suelo, de los cuales se nutren las plantas. Los restos vegetales que retornan al suelo constituirán la fracción de fósforo orgánico, el cual por mineralización pasará a la solución del suelo (Darwich, 2006).

Las plantas deben absorber el fósforo del suelo, donde se encuentra en muy bajas concentraciones, 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 aluminio provocando su precipitación o su fijación disminuyendo su disponibilidad para los vegetales (Rodríguez y Fraga, 1999).

El P en solución y en la fase sólida del suelo están en equilibrio, si los iones fosfato no son absorbidos por los vegetales llegarán a un punto en el cual estos se fijarán quedando sorbidos o adsorbidos sobre la fase sólida. Debido a su baja solubilidad y la fuerza con que es retenido por los sólidos, el fósforo tiene muy poca movilidad en el suelo, ocurriendo el mayor movimiento por difusión. El pH del suelo tiene una gran influencia en la disponibilidad de P, pudiéndose observar que entre pH 6,4 a 7,8 ocurre la máxima disponibilidad de P, mientras que ésta disminuye hacia mayor acidez o alcalinidad. A pH ácidos reaccionan con el aluminio o hierro en solución formando compuestos insolubles; a pH alcalino reaccionan con el calcio dando compuestos como Carbonatos (Darwich, 2006).

Su adecuada disponibilidad en soja es crítica para lograr un rápido crecimiento y un desarrollo adecuado de la parte aérea, raíces y de los nódulos (número, ubicación y tamaño) y de una eficiente FBN (Fontanetto *et al.*, 2009).

La deficiencia de P reduce el crecimiento de las plantas y produce hojas pequeñas de color verde oscuro y de mayor grosor. Las reducciones en los rendimientos como consecuencia de deficiencias de P se explica mayormente por reducciones en el número de granos al afectar el área foliar y consecuente captación de la radiación en estadios tempranos de desarrollo del cultivo (Gutiérrez Boem y Thomas, 2001). La carencia de este nutriente debe ser suplida por medio de fertilizantes minerales. Sin embargo gran parte de éste tiende a acumularse en el suelo en forma de compuestos insolubles indisponibles para la planta. Una forma de hacerlo aprovechable es por medio de microorganismos solubilizadores de fósforo.

La inoculación con cepas solubilizadoras de fósforo en plantas de leguminosas y no-leguminosas ha demostrado tener efectos comparables a los fertilizantes fosforados (Fernandez *et al.* 2008). Está descrito que los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas* y *Bacillus* son los solubilizadores de fósforo más eficientes (Rodríguez y Fraga, 1999).

Estos organismos liberan ácidos orgánicos que disuelven los fosfatos insolubles haciéndolos disponibles para las plantas por los que son considerados de gran importancia dentro de la microflora del suelo (Kloepper *et al.*, 1989).

Las *Pseudomonas* son un género bacteriano, en el cual se encuentran especies con potencialidad para ser consideradas promotores del crecimiento de las plantas (PGPR, por sus siglas en inglés).

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

Estudios sobre la influencia del fósforo inorgánico en la FBN han recibido considerable atención en las leguminosas, en razón de su alto requerimiento durante las fases de desarrollo de los nódulos radiculares.

La simbiosis rizobio- Leguminosa es altamente sensible a la carencia de fósforo. Cuando la concentración de P en la planta es inferior a 0.2% la nodulación y la fijación de N₂ son casi despreciable. Por debajo de 0.1% ni siquiera se formarían nódulos (Canigia, 2003).

La presencia de microorganismos solubilizadores de fósforo (*Pseudomonas*) conjuntamente con cepas específicas que fijan nitrógeno provee un mejor balance nutricional para las plantas, registrándose mayor número de nódulos y peso seco (Kloster, 2007).

Los microorganismos solubilizadores de fosfatos inorgánicos desempeñan un importante papel en el suplemento de fósforo para las plantas. Este factor viene despertando la atención para la utilización de esos microorganismos como inoculante comercial o el manejo de sus poblaciones como forma de promover una mejor utilización del fósforo existente en el suelo o el adicionado como fertilizante (Silva Filho y Vidor, 2001).

Se ha observado que la capacidad de la rizobacterias solubilizadoras de P de producir sustancias fitoregulatoras del tipo auxina, pueden contribuir al efecto estimulador en el crecimiento de la planta (Setter 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). La solubilización de fósforo mineral y orgánico se produce por la capacidad que presenta la rizobacteria de producir ácidos orgánicos y enzima fosfatasa, respectivamente. Además produce estimulación del crecimiento vegetal por la presencia de citoquininas, giberelinas y ácido indolacético, así como protección fitosanitaria a los cultivos debido a la producción de antibióticos y presencia de sideróforos en la cepa (Gonzales Anta, 2003).

La inoculación con mezclas 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 coinoculo *B.japonicum* y *P. putida* sobre raíces de soja, se registro mayor número de nódulos y peso seco. Los efectos benéficos de dicha coinoculación se asociaron a la pobre solubilización de fosfato y producción de sideroforos por parte de *B. japonicum* en comparación con *P.putida* (Rosas *et al.*, 2006).

OBJETIVOS

Objetivo general

❖ Evaluar el efecto de la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fósforo sobre la productividad de soja.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la coinoculación en semilla de soja sobre el crecimiento del cultivo en el estadio vegetativo V5 y reproductivo (R3 y R8).
- Determinar el efecto de la coinoculación en semilla con *Bradyrhizobium japonicum* y solubilizadoras de fósforo en el rendimiento del cultivo de soja.

MATERIALES y METODOS

Durante la campaña 2010/2011 se implanto el ensayo de cultivo de soja (*Glycine max*) en el Campo de Docencia y Experimentación de la U. N. de Río Cuarto (Ruta Nacional 36, Km 601).

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.

Clima.

El clima que presenta la zona es templado subhúmeda 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 período de Octubre a Abril (régimen Monzónico). Las precipitaciones durante el ciclo del cultivo se detallan en cuadro XXIII.

El período 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 período de 167 días (desde el 16 de Abril al 29 de Octubre). La temperatura promedio anual del período 1974- 1993 es de 16,4⁰ C con una amplitud de 13,9⁰C entre el mes más cálido (Enero 23⁰C) y el mes más frío (Julio 9,1⁰C).

CuadroXXIII: Precipitación durante el ciclo del cultivo.

Mes	Precipitación (mm)
Diciembre	127.80
Enero	137.10
Febrero	86.30
Marzo	93.50
Abril	56.30

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 la época de seca. Además son propensos a ser erosionados lo que debe ser contemplado en su manejo (Atlas de suelo de la Provincia de Córdoba).

Previo a la siembra se realizó una caracterización inicial del suelo a través de un análisis físico-químico del mismo (Cuadro XXIV). Para ello se tomó una muestra compuesta de 20 submuestras de los primeros veinte centímetros de suelo, siguiendo un esquema en “M” buscando obtener una muestra homogénea y representativa. Se analizó materia orgánica (%), fósforo (ppm), pH en agua, nitrógeno de nitratos (ppm), y nitratos en la solución del suelo.

Cuadro XXIV: Análisis físico-químico del suelo. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba.

VARIABLE	UNIDADES	VALORES
Materia orgánica 1	%	1.74
Nitrógeno de Nitratos 2	(ppm)	8.95
Fósforo 3	(ppm)	10.37
Nitrato 4	(ppm)	39.6
pH(en agua 1:2.5) 5		6.88

1 Materia orgánica: Método de Walkley- Blak.

2 y 4 Nitrógeno: Reducción por cadmio.

3 Fósforo: Método de Kurtz y Bray.

5 pH: Potenciometría 1: 2,5.

La siembra se realizó el 20 de diciembre de 2010 con una sembradora de siembra directa de 9 surcos, a una densidad de 27 plantas/m² a 0.52 metros entre línea.

La semilla que se utilizó fue LDC 4.2 GM IV.

Características de la variedad:

LDC 4.2 es una variedad con la capacidad de alcanzar el máximo potencial de rendimiento dentro del grupo IV corto. También se caracteriza por su excelente comportamiento en siembras de segunda. Cuadro XXV.

Cuadro XXV: Características de la variedad.

Características	
Ciclo	IV corto
Habito de crecimiento	Indeterminado
Días de emergencia a R8	149
Porte de la planta de acuerdo a su ciclo	Medio/Alto
Potencial de ramificación	Alto
Suceptibilidad al vuelco (1 a 10)	6
Peso promedio de 1000 semillas (g)	174
Comportamiento a Cancro del tallo	Resistente
Color de la chaucha	Castaña
Color de la flor	Púrpura

La inoculación en todos los casos se realizó al momento de la siembra sobre la semilla.

Para la inoculación líquida se utilizaron bacterias solubilizadoras de fósforo a razón de 180 cm³ cada 50kg de semilla; mientras que para la inoculación líquida con *Bradyrhizobium japonicum* se utilizó un producto comercial a razón de 200cm³ cada 50kg de semilla.

El ensayo se dispuso en parcelas de 2.08 metros de ancho y de 25 metros de largo, en diseño completamente aleatorizado con 4 tratamientos y 4 repeticiones.

Los tratamientos fueron los siguientes:

- Tratamiento 1: Testigo (sin inocular).
- Tratamiento 2: Semillas inoculadas con bacterias *Bradyrhizobium japonicum*.
- Tratamiento 3: Semillas inoculadas con bacterias *Bradyrhizobium japonicum* más bacteria solubilizadora de fósforo.
- Tratamiento 4: Semillas inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo.

La escala de Fehr y Caviness (Cuadro XXVI) fue la utilizada para determinar los estadios fenológicos del cultivo, que emplea dos escalas: una para los estados vegetativos, identificados con la letra V, y otra para los estados reproductivos, identificados con la letra R (Satorre *et al*, 2004).

Cuadro XXVI: Escala Fehr y Caviness.

ESTADOS VEGETATIVOS	ESTADOS REPRODUCTIVOS
VE Emergencia	R1 Comienzo de Floración
VC Cotiledonar	R2 Plena Floración
V1 Primer nudo	R3 Comienzo de Fructificación
V2 Segundo nudo	R4 Plena Fructificación
V(n) nudo	R5 Comienzo de Llenado de granos
	R6 Máximo tamaño de semilla
	R7 Comienzo de Madurez
	R8 Plena Madurez

Métodos para cuantificar la promoción de crecimiento.

Determinación en quinto nudo (V5).

Número de nódulos de la raíz principal y lateral:

Se cuantifico el número de nódulos en las raíces principal y lateral.

Determinación de peso seco de raíz más nódulo:

Se determino mediante secado en estufa durante 48hs a 65⁰C y posterior pesado con balanza digital expresado los valores en gramos.

Determinación de peso seco de biomasa aérea:

Se determino mediante secado en estufa durante 48hs a 65⁰C y posterior pesado con balanza digital expresado los valores en gramos.

El procedimiento consistió en extraer 4 muestras de 5 plantas por tratamiento.

Determinación al comienzo de fructificación (R3).

Determinación de eficiencia de nódulos por presencia de leghemoglobina:

Nódulos que estaban activos (rojos) y los inactivos (verdes). Los activos muestran actividad simbiótica o de fijación del nitrógeno atmosférico. Para cuantificar la efectividad se utilizaron 5 plantas de las 20 totales de cada tratamiento y se saco porcentaje (%), teniendo en cuenta como 100 % el número total de nódulos por planta.

Determinación en madurez fisiológica (R8).

Número de vainas por planta.

Número de granos por vaina.

Peso de 1000 granos.

El procedimiento consistió en extraer 4 muestras de 5 plantas por tratamiento.

Rendimiento. Se determinó por trilla manual en un área de 1 m² por tratamiento (4 muestras por tratamiento) y los resultados fueron expresados en kilogramos por hectárea (kg ha⁻¹).

Análisis estadísticos de los resultados

- Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante ANAVA (Di Rienzo *et al.*, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estadio de desarrollo V5.

Peso seco de raíz más nódulos por planta:

En el peso seco de raíz más nódulos planta⁻¹ (Figura 5) se observan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre el tratamiento 1 del 2 y 4. En este caso (semillas inoculadas con bacterias solubilizadoras de fósforo), presenta un valor de 6.80 g, mientras que el testigo 5.99 g, lo que equivale a un incremento de 13.52 %, coincidiendo con O'Sullivan y O'Gara, (1992) quienes afirman que ciertas especies de *Pseudomonas* promueven el crecimiento vegetal. En el tratamiento inoculado con *Bradyrhizobium japonicum* (Tratamiento 2) el promedio fue de 6.55 g y la media del testigo fue de 5.99 g, lo que equivale a un incremento del 9.33 % (Cuadro XVI-anexo). Esto coincide con los resultados obtenido por Montero *et al*, (2001), quienes obtuvieron valores entre 0.65 y 0.35 kg, de materia seca radical en plantas de soja inoculadas.

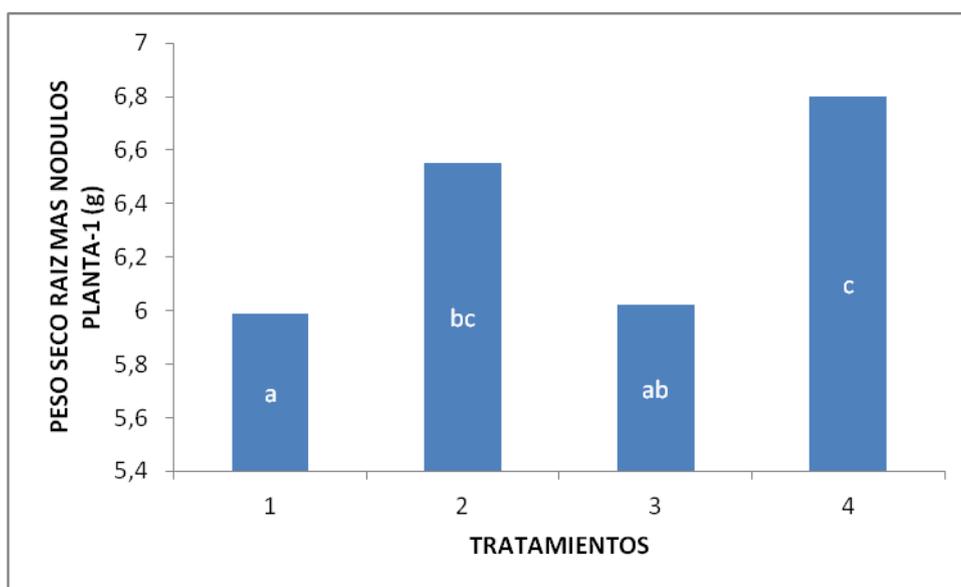


Figura 5: Peso seco raíz más nódulos (g) en los diferentes tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Peso seco de biomasa aérea por planta:

En el peso seco de biomasa aérea (Figura 6) no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre los distintos tratamientos. Comparando el testigo (7.72 g), con el tratamiento 4 (8.10 g), equivale a un incremento de 4.90 % en el inoculado con bacterias solubilizadoras de fósforo (Cuadro XVII-anexo).

Los resultados obtenidos de materia seca aérea en estado vegetativo por Peticari *et al.* (2003 a) son superiores a $0.08 \text{ kg planta}^{-1}$, siendo estos similares a los resultados obtenidos en este trabajo. Kloster, (2007) encontró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos coinoculados y fertilizados (P y N) en estadios vegetativos tempranos.

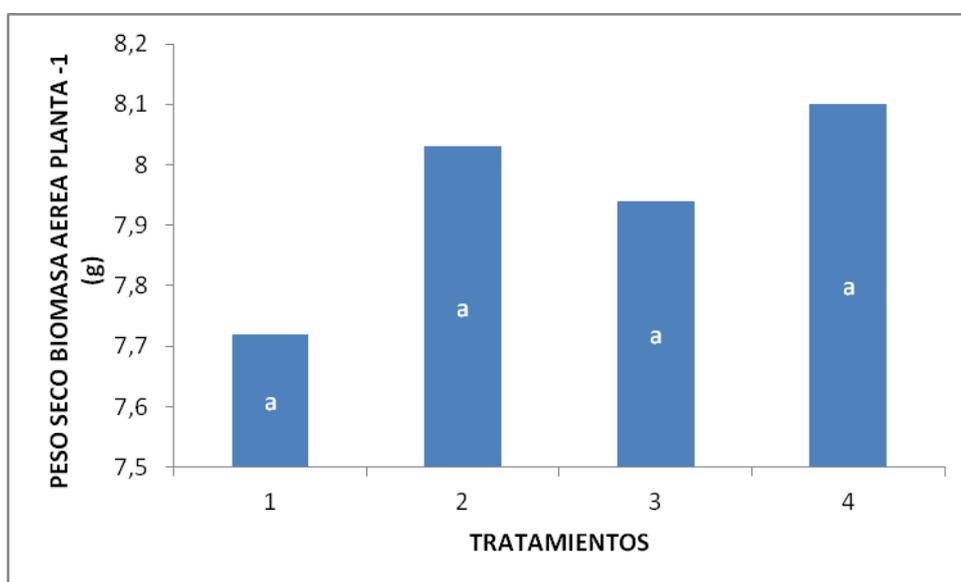


Figura 6: Peso seco de biomasa aérea (g) en los diferentes tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Número de nódulos por planta en la raíz principal:

En cuanto al número de nódulos en la raíz principal (Figura 7) se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) a favor del tratamiento 2 (Inoculación con bacterias *Bradyrhizobium japonicum*). El promedio de este tratamiento fue de $14.20 \text{ nódulos planta}^{-1}$ y el testigo de $10 \text{ nódulos planta}^{-1}$, lo que equivale a un incremento del 42 %. El número de nódulos por planta registrados son coincidentes con los informados por Peticari *et al.* (2003 a) que considera a una adecuada nodulación al menos 12 nódulos en la parte superior de la raíz principal y entre 40 y 50 nódulos por planta.

En cuanto al número de nódulos en la coinoculación no surgieron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) en relación al testigo, aun así se obtuvo un incremento de 12% con respecto a dicho tratamiento 1 (Cuadro XVIII- anexo); esto se debe a que la mezcla de bacterias mejora el balance nutricional de la planta, permitiendo en este caso tener una adecuada nutrición de nitrógeno y fósforo, como menciona Belimov *et al.* (1995).

La carencia de fósforo disminuye la formación de nódulos y por consiguiente la FBN (Rivero et al, 1995).

En algunas circunstancias las sojas que forman muchos nódulos no son las mejores, dado que esto significa un drenaje de fotoasimilados muy grande hacia el complejo fijador que no siempre, por distintas condiciones, puede ser correspondida con una mayor fijación de nitrógeno (Ventimiglia y Carta, 2002).

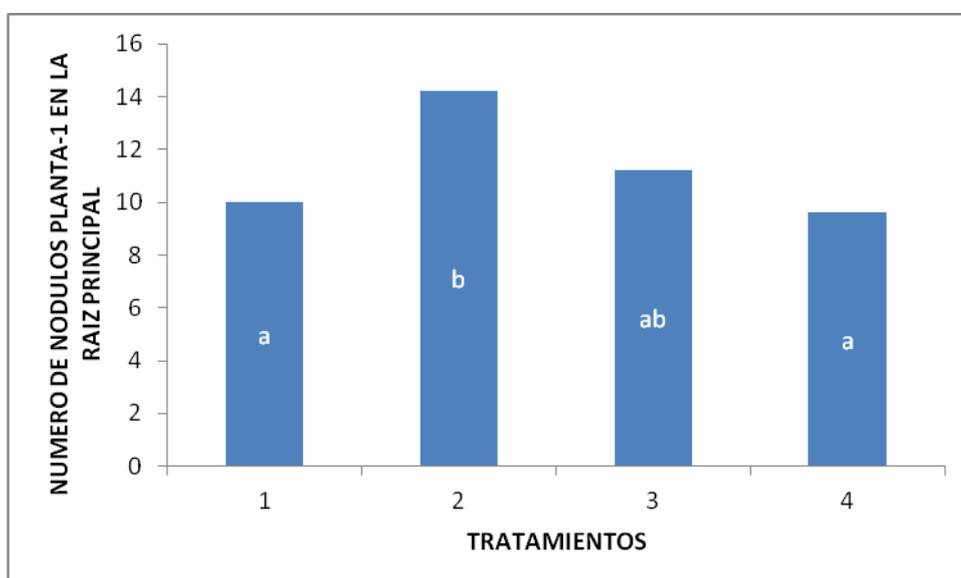


Figura 7: Número de nódulos en la raíz principal en los distintos tratamientos.

Número de nódulos por planta en la raíz lateral:

En cuanto al número de nódulos en la raíz lateral (Figura 8) no se observan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre los distintos tratamiento. El promedio de los tratamientos inoculados fue de 22.86 nódulos en la raíz lateral y el promedio del testigo fue de 21.80, lo que equivale a un incremento de 4.86 % (Cuadro XIX- anexo).

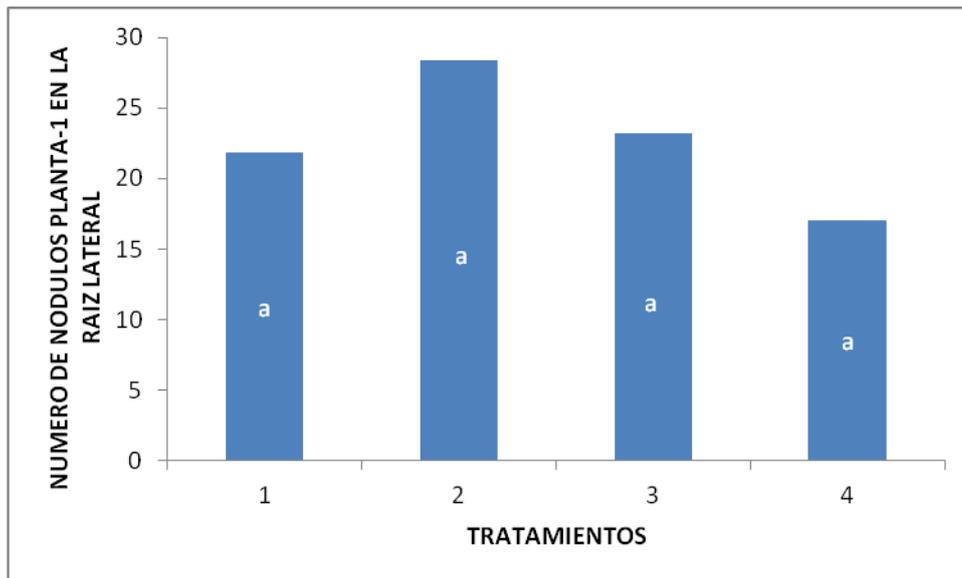


Figura 8: Número de nódulos en la raíz lateral por tratamientos.

La bibliografía consultada describe que la nodulación en la raíz principal es una característica cualitativa para determinar la calidad de la nodulación y que los nódulos presentes en la raíz principal han sido formados por las cepas introducidas con el inoculante en las primeras etapas del cultivo, mientras que los de raíz secundaria son colonizados por cepas naturalizadas y son de menos tamaño y con menor actividad fijadora (Papakosta, 1992; Diaz Zorita *et al.*, 1999, Fernandez Canigia, 2003).

Estadio de desarrollo R3

Efectividad:

La efectividad se refiere a la facultad de la bacteria para fijar el nitrógeno atmosférico. Se puede inferir a través de la relación del total de nódulos activos y el total de nódulos en la planta.

En la efectividad (Figura 9) se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre el tratamiento 1 respecto del 2 y 3. Las diferencias observadas se deben a que en la coinoculación la mayor infectividad se produce por efectos de la mejor nutrición que recibe la planta y por el efecto sinérgico por intercambio de nutrientes producido por ambas bacterias (solubilizadoras de fósforo y fijadora de nitrógeno) como menciona Bashan *et al.* (1997).

La efectividad fue positivo para los tratamientos 2 y 3 (mayor al 70 %); mientras que para los demás tratamientos fueron infectados por bacterias naturalizadas del suelo (Ventimiglia *et al.*, 2002).

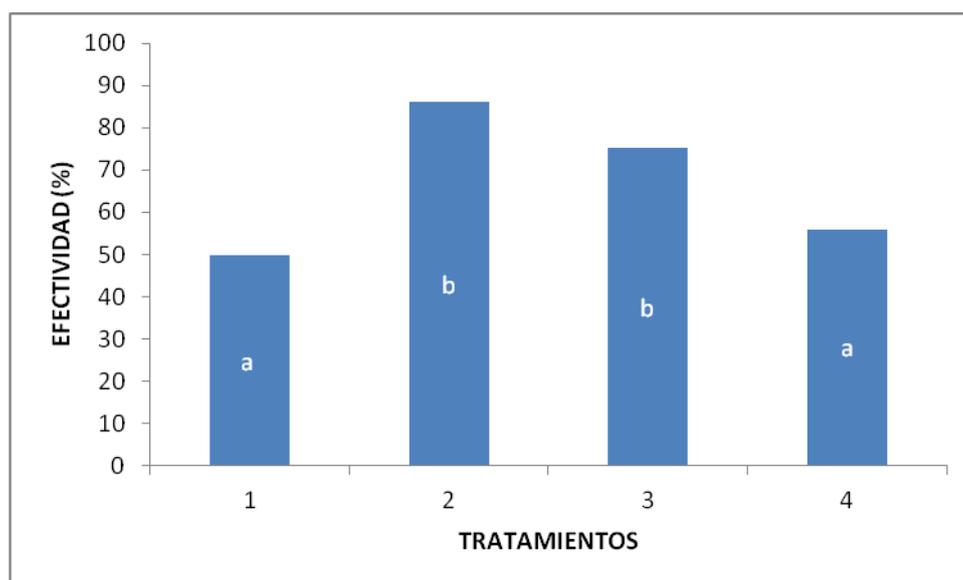


Figura 9: Efectividad de cada tratamiento.

Estadio de desarrollo (R8)

Número de vainas por planta:

Como se muestra en la figura 10 se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre el tratamiento 4 respecto del 1 y 2. El número de vainas por nudo depende de

cuantas inflorescencias se desarrollan en cada nudo y cuantas vainas se establecen en cada inflorescencia. Pueden encontrarse ente 1 a 20 vainas por nudo, existiendo alta variabilidad entre los nudos de las plantas, entre genotipos y ante cambios de 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).

El mayor número de vainas que presenta el tratamientos 4 en relación al testigo se debe a una mejor nutrición de la planta, producto del efecto benéfico de las solubilizadoras de fósforo en cuanto a la producción de sideróforos que permiten una mayor solubilización de fosfatos (Rosas *et al.* 2006).

En cuanto al número de vainas planta⁻¹ en la coinoculación no surgieron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) en relación al testigo, obteniéndose un incremento de 41.17 % con respecto al tratamiento 1 (Cuadro XX- anexo), debido a que, como mencionan Bashan *et al.* (1997), del efecto conjunto (sinergismo) de las bacterias fijadoras del nitrógeno y de las baterías solubilizadoras de fósforo que, además de hacer disponible este elemento, promueve el crecimiento y el desarrollo radicular mejorando de esta forma también el conveniente suministro de nutriente y agua para el cultivo. 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 la actividad fisiológica de la planta y lográndose aumento en el peso, en la fijación del nitrógeno, en el área foliar y en el peso y número de vainas (Zhang *et al.*, 1996, 1997).

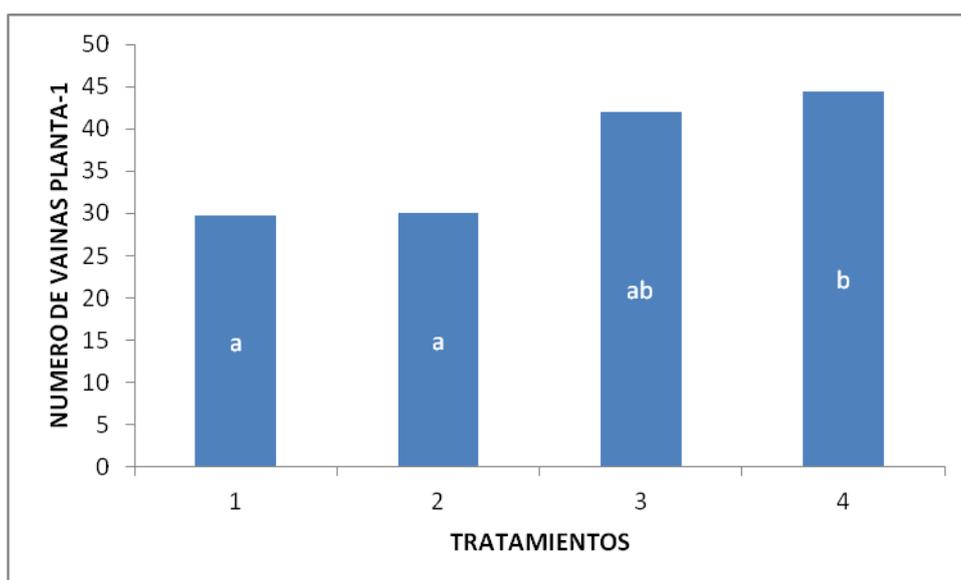


Figura 10: Número de vainas planta⁻¹ de cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Número de granos por vaina:

Como se muestra en la figura 11, se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) del tratamiento 2 respecto al 1 y 4. El número de granos vaina⁻¹, tiene un amplio grado de control genético, y es el subcomponente del número de granos más estable ante variaciones ambientales. Sin embargo bajas tasas de crecimiento en la fase de llenado de grano, uno o más granos de una vaina pueden abortar (Satorre *et al.*, 2004).

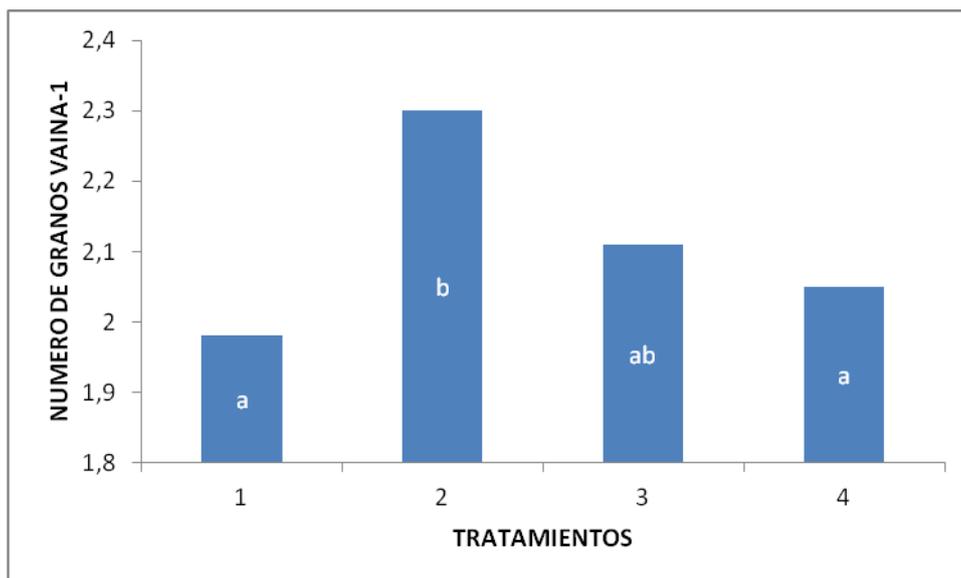


Figura 11: Número de granos vaina⁻¹ de cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Peso de 1000 granos:

En el peso de 1000 granos (Figura 12) no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre los distintos tratamientos. Comparando el valor del testigo (165.50 g), con los tratamientos inoculados 2 (170 g) y 3 (169.75 g) se puede concluir que equivalen a un incremento de 2.70 % y 2.51 % respectivamente (Cuadro XXI-anexo).

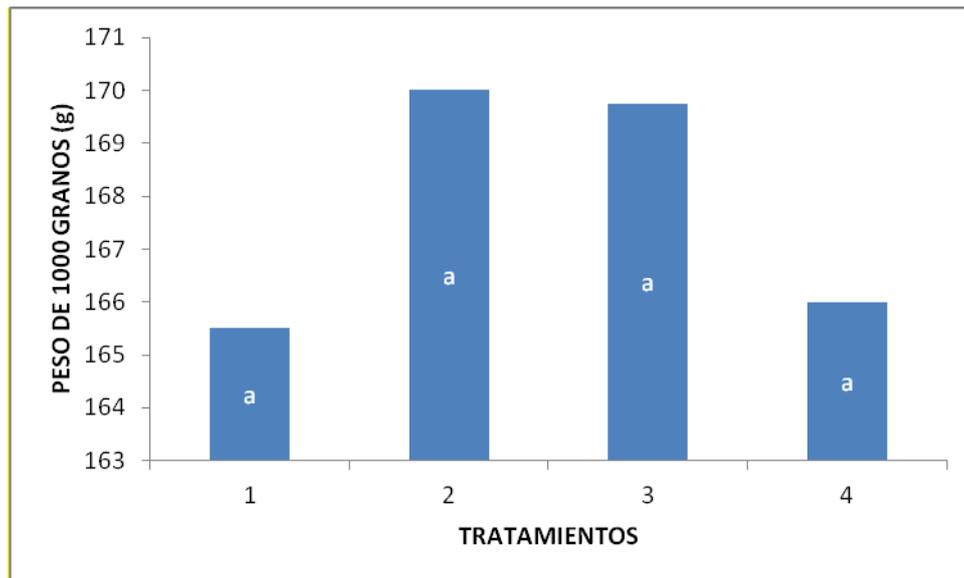


Figura 12: Peso de 1000 granos de cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Rendimiento en grano (kg ha^{-1}):

El rendimiento en Soja tiene como componente el número de grano y el peso de grano. Ambas variables son función de la duración del período y de la tasa de crecimiento. En duales casos están influenciados genéticamente y varían de acuerdo a las condiciones ambientales. La tasa de crecimiento es sensible a factores ambientales como por ejemplo temperatura, radiación, disponibilidad de nutrientes e hídricas. En cuanto a la duración del período es afectado por la temperatura, fotoperíodo, disponibilidad hídrica y de nutrientes (Satorre *et al.*, 2004).

Como se muestra en la figura 13, se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) para los tratamientos 2, 3, 4 con $3815.40 \text{ kg ha}^{-1}$ en los tratamientos inoculados, mientras que en el testigo es de $2765.75 \text{ kg ha}^{-1}$, como resultado de lo mencionado se obtiene una diferencia del $1049.65 \text{ kg ha}^{-1}$ (Cuadro XXII-anexo).

Esto 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). Burdman *et al.*, (2000) dice que experimentos a campo han demostrado un incremento en el rendimiento de las leguminosas con inoculación mixta alcanzando rendimientos superiores a los obtenidos inoculados únicamente con *Rhizobium*. En este caso la inoculación y la inoculación mixta tuvieron iguales resultados.

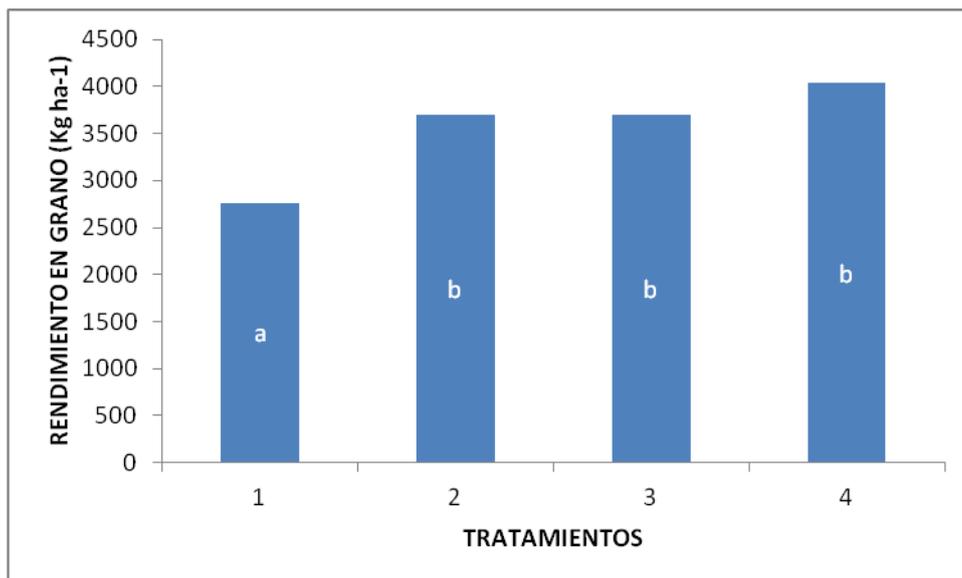


Figura 13: Rendimiento en grano de cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

CONCLUSION

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

- En los tratamientos donde se utilizó la inoculación, se presentaron diferencias estadísticamente significativas en peso seco de raíz más nódulos planta⁻¹, número de nódulos en la raíz principal, efectividad, número de granos vaina⁻¹ y rendimiento para *Rhizobium*; y en peso seco de raíz más nódulos planta⁻¹ y rendimiento cuando se inoculó con bacteria solubilizadora de fósforo.

- En el tratamiento donde se empleó la coinoculación se observan diferencias estadísticamente significativas en parámetro como efectividad respecto al testigo y al tratamiento 4.

- La productividad se vio mejorada, obteniéndose una diferencia de rendimiento en los tratamientos inoculados y coinoculados de 1049.65 kg ha⁻¹ con respecto al testigo.

- Los resultados observados en el presente trabajo confirman la importancia de continuar los estudios en cuanto a la coinoculación del cultivo de soja (FBN y bacterias solubilizadoras de fósforo) debido a la importante asociación sinérgica que presentan ambas bacterias.

BIBLIOGRAFIA

- AZCON- BIETO, J y M. TALON. 2000. **Fundamentos de fisiología vegetal**. Ed. McGraw-Hill Interamericana. P: 253, 254-255.
- BABANA H. A y ANTOUN. 2006. Effect of tilemsi phosphate rock- solubilizing microorganismo on phosphorus aptake 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.
- BELIMOV, A; A. KOJEMIAKOV y C. CHUVARLIYEVA. 1995. Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate- solubilizing bacteria. **Plant and Soil**. 173: 29-37.
- BERNARDO, I; E. BONADEO; I. MORENO; M. BONGIOVANNI y R. MARZARI. 2004. **Apoyo didáctico Cátedra Sistema Suelo Planta Universidad Nacional de Rio Cuarto**. Apuntes para clases teóricas Unidad N^o 12. P: 128.
- BOARD, J; M. KANG y B. HARVILLE. 1999. Path analisys of the yield formation process for lated-planted soybean. **Agron. J**. 91: 128- 135.
- BURDMANN, S; B. HAMAOUY 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.
- BURITY H. A.; M. A. FARIS y B. E. CULMAN. 1989. Estimation of nitrogen fixation and transfer from alfalfa to associated grasses in mixed swards under field conditions. **Plant and Soil**. 114: 249- 255.
- BUSCHIAZZO, D. E.; J. L. PANIGATTI y P. W. UNGER. 1998. Tillage effects on soil properties and crop production in the subhumid and semiari Argentinean Pampas. **Soil. Till. Res.** 49: 105- 116.
- CANIGIA, M.F.A. 2003. **Manual de Nodulación**.En: www.nitragin.com.ar. Consultado: 15-12-2011.
- COMPANT, S; B, DUFFI; J, NOWAK y E.A. BARKA. 2005. Minireview; Use of plant Growth- Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases Principles mechanisms of action, and future prospects. **Applied and Eaviromental Mycrobiology**.71 (9): 4951-4959.

- DARWICH, N. A. 2006. **Manual de Fertilidad de Suelos y uso de Fertilizantes**. 3^{ra} ed. Ed. Talleres de Gráfica Armedenho, Bs As, Argentina. P: 93- 100.
- DIAZ ZORITA, M. y M. FERNANDEZ CANIGIA. 1999. Patrones de nodulación de soja en relación con propiedades del suelo bajo tres sistemas de labranza. **Revista de la Facultad de Agronomía de La Plata**. 104: 53-60.
- DI RIENZO J.A.; F. CASANOVES; M. G. BALZARINI; L. GONZALEZ; M. TABLADA y C.W. ROBLEDO. InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- FERNANDEZ CANIGIA, M.V. 2003. **Factores determinantes de la nodulación**. 1^o Ed. Bs As. Nitragin Arg. ISBN 987-210580- 4. 46pp.
- FERNANDEZ, L., E. PEROTTI., M. SAGARDOY., M GOMEZ. 2008. Denitrification activity of *Bradyrhizobium* sp. isolated from argentine soybean cultivated soils. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 24: 2577- 2585.
- FERRARIS, L. y L. COURETOT. 2010. Respuesta de la soja a la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en lotes con antecedentes de soja previa. En: [www. agrositio.com/vertext-print.Asp?id= 56495 y se= 1000](http://www.agrositio.com/vertext-print.Asp?id=56495&se=1000). Consultado: abril del 2011.
- FONTANETTO, H.; O. Keller; J. ALBRECHT; D. GIAILEVRRRA; C. NEGRO y L. BELOTTI. 2009. Manejo de la fertilización de Soja en la Región Pampeana Norte y en el NOA Argentino. En: Mejores prácticas de Manejo para una mayor eficiencia en la nutrición de cultivos. Bs As, Argentina. 1^{ra} Edición. p: 109- 117.
- FONTANETTO, H.; M. DÍAZ ZORITA y H. VIVAS. 2010. Inoculación y fertilización con fósforo y azufre sobre la nodulación y los rendimientos de soja. En: [www. agrolluvia. Com/ wp- content/ uploads/ 2010/06/ Inoculación- y - fertilización- con- Fósforo- y – Azufre- sobre- la- nodulación- y – los- rendimientos- de- Soja. pdf](http://www.agrolluvia.com/wp-content/uploads/2010/06/Inoculación-y-fertilización-con-Fósforo-y-Azufre-sobre-la-nodulación-y-los-rendimientos-de-Soja.pdf). Consultado: noviembre de 2010.
- GARCIA, R y T. BACH. 2003. Efecto de la inoculación con *Pseudomona* sobre el rendimiento del trigo. Informe técnico 324, **INTA EEA Pergamino**. 19p.
- GONZALES ANTA, G. 2003. Desarrollo de la aplicación de *Pseudomonas* solubilizadoras de fósforo en los principales cultivos del norte de Buenos Aires, Trigo. En: [www. rizobacter. com. ar./ strasa/ rizofoz/ oficiales/ Informe% 20 final% 20 Rizofos% 20 Liq% 20 EEA% 20 INTA% 20 Pergamino% 202002. pdf](http://www.rizobacter.com.ar/strasa/rizofoz/oficiales/Informe%20final%20Rizofos%20Liq%20EEA%20INTA%20Pergamino%202002.pdf). Consultado noviembre 2010.

- GUTIERREZ, F. H y G. W. THOMAS. 2001. Phosphorus nutrition and wáter déficits in field-grown soybeans. **Plant an Soil**. 207: 87- 96.
- INFOFOS. 2005. Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo. Fernando O. García. En: www.inpofos.org. Consultado: noviembre de 2012.
- KANTOLIC, A. G. 2003. Inoculación y fijación biológica del nitrógeno en el cultivo de soja. En: SATORRE, E. *et al.* **El libro de la Soja**. 2003. Ed: CREA- AAPRESID. Buenos Aires. 264p.
- KIMBALL, J. 1980. **Biología**. 4^{ta} ed. Ed. Addison- Wesley Iberoamericana, España. 883p.
- KLOEPPER, J.; R. LIFSHITZ y R. ZAABLOTOWICZ. 1989. Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnol**. 7: 39- 44.
- KLOSTER, N. 2007. **Estudio del efecto de las bacterias solubilizadoras de fosforo en cultivos de soja inoculado con Bradyrhizobium japonicum en distintos estadios de crecimiento de la planta**. Tesis. Fac de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa, Argentina. 45p.
- LEIHOS, 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 exogenously applied IAA under different water supply conditions. **Angew Bot**. 69: 37- 41.
- LODEIRO, A; S. LOPEZ- GARCIA; E. MONGIARDINI; J. QUELAS y A. PERTICARI. 2003. Los rizobios y la inoculación de las leguminosas para la fijación simbiótica de nitrógeno. En: Microbiología Agrícola, Un aporte de la investigación Argentina, UNSE. P: 159- 177.
- MAGPyA. 2012. Estimaciones Agrícolas, MAGyA. En: [www. siia.gov. ar/ index. php/ series-por- tema/ agricultura](http://www.siia.gov.ar/index.php/series-por-tema/agricultura). Consultado marzo de 2012.
- MICUCCI, F y M. A. TABOADA. 2006. Soil physical properties and soybean (*Glycine max*, Merrill) root abundances in conventionally and zero- tilled soils in the humid pampas of Argentina. **Soill till. Res**. 86: 152- 162.
- MONTERO, F.A; K.M. FILIPPI y M. SAGARDOY. 2001. Nodulacion y Nutricion Nitrogenada en Soja Convencionales y Resistentes al Glifosato Inoculadas con *Bradyrhizobium japonicum*, **Ciencias del Suelo**. 19: 159- 162.

- O´ SULLIVAN, D y D. O´GARA. 1992. Trails of fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in suppression of plant rott pathogens. **Microbiological Review**. 56: 662- 676.
- PAPAKOSTA, D.K. 1992. Effect of inoculants rate on nodulation and varios agronomic traits of soyben. **Journal Agronomy y Crop Science**. 168: 238- 242.
- PERTICARI, A; H. BAIGORRI; J. DE BATISTA; M. MONTECCHIA; J.C. PACHECO BURSACO; S. TORESANI; L. VENTIMIGLIA y R. VICENTE. 2003 a. Inoculacion y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja. **El libro de la soja**. Buenos Aires. Servicios y Marketing Agropecuario. Cap 7. Pp. 69- 76.
- PERTICARI, A. 2004. **Impacto de la FBN en la producción de soja**. Proyecto fertilizar año 2004- INTA.
- PILET, P.A y M. SAUGY. 1987. Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. A ctrial re- examination. **Plant Physiology**. 83: 33- 38.
- RACCA, R. W. 2009. Importancia de la FBN en cultivos y principales factores ambientales que la condicionan. En: **XVII Congreso Aapresid, la era del ecoprogreso**. Rosario, agosto de 2009. p: 213- 215.
- RIVERO, E; J. PACHECO BASURCO y I. BRUTTI. 1995. Efectos de P, S, B, Mo, Cu, Fe, Zn y Mn sobre la nodulación en *Glycine max* en condiciones controladas. En: **Resúmenes XIV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo**. Mendoza, octubre 1993. p: 115- 127.
- RODRIGUEZ, H. y R. FRAGA. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotech. Adv.** 17: 319- 339.
- ROSAS, S; J.ANDRES; M. ROVERA y N. CORREA. 2006. Phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia-legume symbiosis. **Soil Biology and Biochemistry**.
- SALINAS- GARCIA, J. R.; F. M. HONS y J. E. MATOCHA. 1997. Long- term effects of tillage and fertilization on soil organic matter dynamics. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 61: 152- 159.
- SATORRE, E; R. BENECH ARNOLD; G. SLAFER; E. DE LA FUENTE; D. MIRALLES; M. OTEGUI y R. SAVIN. 2004. **Producción de granos. Bases funcionales para su manejo**. 1^{ra} ed. Ed .Facultad de Agronomía, Buenos Aires. 783p.
- SATTER, M.A y A.C. GAUR. 1987. Production of auxins and gibberelins by phosphate dissolving microorganisms. **Zentralbl Mikrobiol**. 142: 393- 395.

- SILVA FILHO, G. N y C. VIDOR. 2001. Actividad de microorganismos solubilizadores de fosfatos na presencia de nitrogenio, ferro, calcio e potasio. **Pesq. agropec. bras.** 36, N° 12. P: 1495- 1508.
- THUAR, A.; F. CASSAN y C. OLMEDO. 2007. **De la biología del suelo a la agricultura.** 1^{ra} ed. Ed. Universidad Nacional de Rio Cuarto, Cordoba. 259p.
- THUAR, A.; F. CASSAN y C. OLMEDO. 2007. **De la biología del suelo a la agricultura.** 1^{ra} ed. Ed. Universidad Nacional de Rio Cuarto, Cordoba. 277- 291.
- URRICARIET, S y R. S. LAVADO. 1999. Indicadores de deterioro en suelo en la pampa ondulada. **Ciencia del suelo.** 17: 37- 44.
- VENTIMIGLIA, L y H. CARTA. 2002. **Experimentación en campo de productores- Resultados de experiencias campaña 2002/03.** INTA. Centro Regional Buenos Aires Norte. Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. UEESA INTA 9de Julio. P: 116- 120.
- ZHANG, F.; N.R. DASHTI; H. HYNES y L.SMITH. 1996. Plant growth promoting rhizobacteria to soybean(*Glicine max*) nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures. **Soil-Root.** 179: 233- 241.
- ZHANG, F.; N.R. DASHTI; H. HYNES y L.SMITH. 1997. Application of plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glicine max*). Growth and physiology at suboptimal root zone temperatures. **Annals of Botany.** 79: 243- 249.

ANEXO

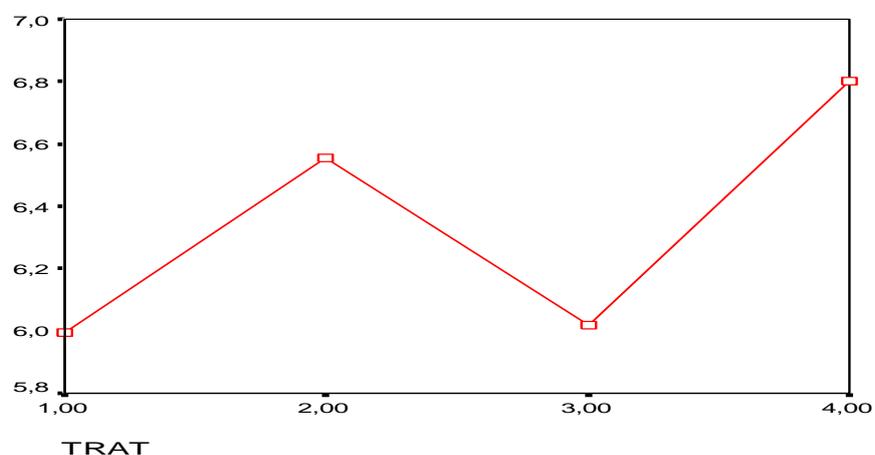
Cuadro I: Análisis de varianza (ANAVA), de Peso seco de raíz más nódulo.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadratica	F	Sig.
Peso seco raíz más nódulos	Inter-grupos	9,585	3	3.195	7.147	0.0005
	Intra-grupos	33,971	76	0.447		
	Total	43,556	79			

Cuadro II: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del peso seco raíz más nódulos, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).

	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = .05		
			1	2	3
Tukey HSD(a)	1 a	20	5,9950		
	3 ab	20	6,0200	6,0200	
	2 bc	20		6,5550	6,5550
	4 c	20			6,8000
	Sig.		0,999	0,063	0,654

Figura 1: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del peso seco de raíz más nódulos.



Cuadro III: Análisis de varianza (ANAVA), de Peso seco de biomasa aérea.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Peso seco de biomasa aérea	Inter-grupos	1.592	3	3.195	0,367	0,777
	Intra-grupos	109.808	76	0.447		
	Total	111.400	79			

Cuadro IV: Análisis de varianza (ANAVA), de número de nódulos planta⁻¹ en la raíz principal.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Número de nódulo planta ⁻¹ en la raíz principal	Inter-grupos	69.950	3	21.650	3.184	0.05
	Intra-grupos	108.800	16	6.800		
	Total	173.750	19			

Cuadro V: Análisis por el Test de LSD de número de nódulos planta⁻¹ en la raíz principal.

(I) TRAT	(J) TRAT	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,00 a	2,00	-4,2000(*)	1,64924	0,022	-7,6962	-0,7038
	3,00	-1,2000	1,64924	0,477	-4,6962	2,2962
	4,00	0,4000	1,64924	0,811	-3,0962	3,8962
2,00 b	1,00	4,2000(*)	1,64924	0,022	0,7038	7,6962
	3,00	3,0000	1,64924	0,088	-0,4962	6,4962
	4,00	4,6000(*)	1,64924	0,013	1,1038	8,0962
3,00 ab	1,00	1,2000	1,64924	0,477	-2,2962	4,6962
	2,00	-3,0000	1,64924	0,088	-6,4962	0,4962
	4,00	1,6000	1,64924	0,346	-1,8962	5,0962
4,00 a	1,00	-0,4000	1,64924	0,811	-3,8962	3,0962
	2,00	-4,6000(*)	1,64924	0,013	-8,0962	-1,1038
	3,00	-1,6000	1,64924	0,346	-5,0962	1,8962

Cuadro VI: Análisis de varianza (ANAVA), de número de nódulos planta⁻¹ en la raíz lateral.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadratica	F	Sig.
Número de nódulos planta ⁻¹ en la raíz lateral	Inter- grupos	330.000	3	110.000	2.696	0.081
	Intra- grupos	652.800	16	40.800		
	Total	982.800	19			

Cuadro VII: Análisis de varianza (ANAVA), de efectividad de los nódulos.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadratica	F	Sig.
Efectividad	Inter-grupos	951.94	3	1411.58	23.73	0.01
	Intra-grupos	4234.75	16	59.50		
	Total	5186.70	19			

Cuadro VIII: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey de efectividad de nódulos, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).

	Tratamiento	N	Subconjunto alfa = .05	
			1	2
Tukey HSD(a)	1 a	20	49.87	
	4 a	20	56	
	3 b	20		75.18
	2 b	20		86.13
	Sig.		0,075	0,945

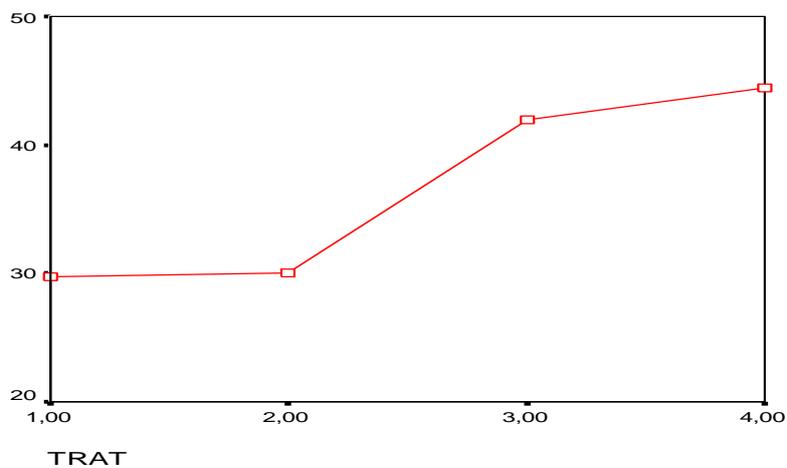
Cuadro IX: Análisis de varianza (ANAVA), de número de vainas planta⁻¹.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadratica	F	Sig.
Número de vainas planta ⁻¹	Inter-grupos	3612,038	3	1204,013	5,496	0,002
	Intra-grupos	16649,650	76	219,074		
	Total	20261,688	79			

Cuadro X: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del número de vainas planta⁻¹, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).

	Tratamiento	N	Subconjunto alfa = .05	
			1	2
Tukey	1 a	20	29,7500	
HSD(a)	2 a	20	30,0500	
	3 ab	20	42,0000	42,0000
	4 b	20		44,4500
	Sig.		0,051	0,953

Figura 2: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del número de vainas planta⁻¹.



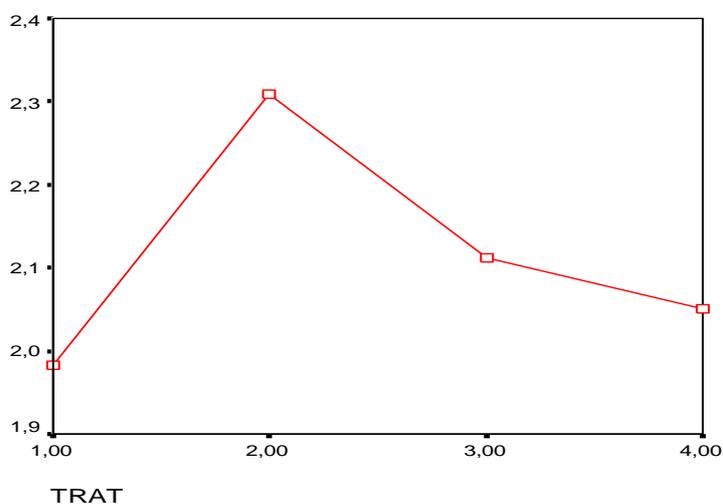
Cuadro XI: Análisis de varianza (ANAVA), de número de granos vaina⁻¹.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Número de granos vaina ⁻¹	Inter-grupos	1,184	3	0,395	6,145	0,001
	Intra-grupos	4,883	76	0,064		
	Total	6,068	79			

Cuadro XII: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del número de granos vaina⁻¹, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).

	Tratamiento	N	Subconjunto alfa = .05	
			1	2
Tukey HSD(a)	1 a	20	1983.5	
	4 a	20	2.0510	
	3 ab	20	2.1125	2.2225
	2 b	20		2.3095
	Sig.		0.380	0.075

Figura 3: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del número de granos vaina⁻¹.



Cuadro XIII: Análisis de varianza (ANAVA), del peso de 1000 granos.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Peso de 1000 granos	Inter-grupos	68.688	3	22.896	0.539	0.665
	Intra-grupos	509.750	12	42.479		
	Total	578.438	15			

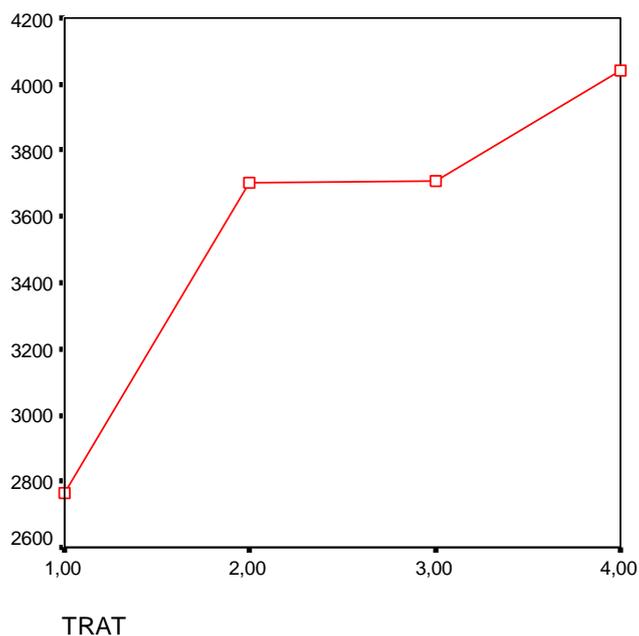
Cuadro XIV: Análisis de varianza (ANAVA), del rendimiento.

Variable		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Rendimiento	Inter-grupos	3610763.5	3	1203587.833	18.572	0.0005
	Intra-grupos	777668.5	12	64805.708		
	Total		15			

Cuadro XV: Análisis de comparación de medias por el Test de Tukey del rendimiento, letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$ Test de Tukey).

	Tratamiento	N	Subconjunto alfa = .05	
			1	2
Tukey HSD(a)	1 a	4	2765.7500	
	2 b	4		3700.500
	3 b	4		3704.750
	4 b	4		4041.00
	Sig.			1.000

Figura 4: Gráfica de subgrupos homogéneos Test de Tukey del rendimiento.



Cuadro XVI: Peso seco raíz más nódulos, por tratamiento. (V5)

Tratamiento	Peso seco raíz más nódulos (g)	Tratamiento	Peso seco raíz más nódulos (g)
1	5.99	1	5.99
4	6.80	2	6.55
% Dif	13.52	% Dif	9.30

Cuadro XVII: Peso seco biomasa aérea, por tratamiento. (V5)

Tratamiento	Peso seco biomasa aérea(g)
1	7.72
4	8.10
% Dif	4.90

Cuadro XVIII: Número de nódulos en la raíz principal, por tratamiento. (V5)

Tratamiento	N ⁰ nódulos raíz principal	Tratamiento	N ⁰ nódulos raíz principal
1	10	1	10
2	14.20	3	11.20
% Dif	42	% Dif	12

Cuadro XIX: Número de nódulos en la raíz lateral, por tratamiento. (V5)

Tratamiento	N ⁰ nódulos raíz lateral
1	21.80
2	28.40
3	23.20
4	17
Inoculado	22.86
Testigo	21.80
%Dif	4.86

Cuadro XX: Número de vainas por planta, por tratamiento.

Tratamiento	N ⁰ vainas planta ⁻¹
1	29.75
3	42
% Dif	41.17

Cuadro XXI: Peso de los 1000 granos en gramos, por tratamiento.

Tratamiento	Peso de 1000 granos (g)	Tratamiento	Peso de 1000 granos (g)
1	165.50	1	165.50
2	170	3	169.75
% Dif	2.71	% Dif	2.56

Cuadro XXII: Rendimiento (kg ha⁻¹).

Tratamiento	Rendimiento (kg ha ⁻¹)
1	2765.75
2	3700.50
3	3704.75
4	4041
Inoculado	3815.40
Testigo	2765.75
Dif (Kg ha ⁻¹)	1049.65