



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO**

**FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA**

Trabajo final presentado para optar el grado de Ingeniero Agrónomo

Modalidad: Proyecto

**Población microbiana en un suelo con cultivo de soja.**

**Julián Francisco**

**DNI: 30.990.292**

**Directora: : Alicia Thuar**

**Río Cuarto - Córdoba**

**Diciembre 2012**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO  
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN**

Título del Trabajo Final: **“Población microbiana en un suelo con cultivo de soja”.**

Autor: Julián Francisco

DNI: 30.990.292

Directora: Alicia Thuar

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

Prof. Dr. Andres Javier \_\_\_\_\_

Profesora: Ferreira Analía \_\_\_\_\_

Prof. Dra. Thuar Alicia \_\_\_\_\_

Fecha de Presentación: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Aprobado por Secretaría Académica: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

---

Secretario Académico

## **DEDICACIÓN**

Esta tesis se la dedico a mis padres, Susana y Guillermo, por haberme formado y educado desde el día en que decidieron traerme al mundo. Gracias por los valores inculcados y por dedicarme todos estos años de esfuerzo y no dejarme caer hasta alcanzar el objetivo. Este es el premio al esfuerzo de ustedes de cada día y por confiar en mí.

A mi señora, Macarena, siendo el sostén que me permitió poder sortear todos y cada unos de los obstáculos que se me impusieron en esta etapa de mi vida, siendo un referente en todo momento para mí, pero por sobre todas las cosas, una gran persona.

A mis hermanos, María Emilia, Guillermo y María José y sus respectivas familias, por tenerme paciencia, entender mis días de esfuerzo y acompañarme en este camino. Hoy es una meta cumplida y ustedes formaron parte de la misma.

A mi familia política, Pedro, Silvia y Milton, quienes desde el primer día no dejaron de apostar en mí y me aceptaron como uno más de ustedes, gracias por confiar en mí y apoyarme día a día sabiendo que lo íbamos a lograr, dándome palabras de aliento en todo momento. Fue importante su apoyo incondicional.

A mis amigos con quienes compartimos años de vida universitaria, donde tuvimos momentos buenos y malos, donde supimos reír y contenernos ante cada triunfo o fracaso. Es uno de los mejores premios que me dio la universidad.

Por último, dedico esta tesis a la Universidad Nacional de Río Cuarto quien me dio la posibilidad de formarme y hoy ser un profesional más de los tantos que forma. Y a mi directora de Tesis y amiga Alicia Thuar, quien me dedico tiempo y esfuerzo en este último tramo para llegar a ser un profesional.

## INDICE GENERAL

<b>Índice general</b> .....	<b>III</b>
<b>Índice de cuadros</b> .....	<b>IV</b>
<b>Índice de figuras</b> .....	<b>V</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>VI</b>
<b>Summary</b> .....	<b>VII</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. HIPOTESIS Y OBEJTIVOS</b> .....	<b>4</b>
<b>III. MATERIALES y MÉTODOS</b> .....	<b>5</b>
<b>Ubicación del sitio específico</b> .....	<b>5</b>
<b>Caracterización edafoclimatica</b> .....	<b>5</b>
<b>Diseño experimental y tratamiento</b> .....	<b>8</b>
<b>Características de la variedad</b> .....	<b>8</b>
<b>Metodos de siembra y conteo total</b> .....	<b>10</b>
<b>Analisis estadístico</b> .....	<b>11</b>
<b>III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>12</b>
<b>IV. CONCLUSION</b> .....	<b>17</b>
<b>V. BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>18</b>
<b>VI. ANEXOS</b> .....	<b>21</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Análisis físico-químico del suelo. UNRC, Córdoba.....	8
<b>Cuadro 2.</b> Características de la variedad LDC 4,2.....	9
<b>Cuadro 3:</b> Precipitaciones medias anuales y temperatura media anual para la serie 1981-2010.....	20
<b>Cuadro 4:</b> Precipitaciones mensuales (mm) para el periodo diciembre 2009-abril 2010.	20
<b>Cuadro 5.</b> Estadística descriptiva de la variable número de colonias microbianas presentes en raíz para los distintos niveles del factor inoculante en el estadio V5 de un cultivo de soja.	21
<b>Cuadro 6.</b> Estadística descriptiva de la variable número de colonias microbianas presentes en rizósfera para los distintos niveles del factor inoculante en los estadios V5 y post-cosecha de un cultivo de soja.....	21
<b>Cuadro 7.</b> Análisis de la varianza para la variable número de colonias microbianas presentes en la raíz de un cultivo de soja.....	23
<b>Cuadro 8.</b> Test de comparación de medias (Tukey) de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.....	23
<b>Cuadro 9.</b> Prueba de normalidad para los residuos de la variable número de colonias microbianas presentes en la raíz de un cultivo de soja.....	25
<b>Cuadro 10.</b> Test de homogeneidad de varianzas para los residuos absolutos de la variable número de colonias microbianas presentes en la raíz de un cultivo de soja.....	25
<b>Cuadro 11.</b> Análisis de la varianza para la variable número de colonias microbianas presentes en la rizósfera de un cultivo de soja.....	26
<b>Cuadro 12.</b> Test de comparación de medias (Tukey) de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.....	26
<b>Cuadro 13.</b> Prueba de normalidad para los residuos de la variable número de colonias microbianas presentes en la rizósfera de un cultivo de soja.....	27
<b>Cuadro 14.</b> Test de homogeneidad de varianzas para los residuos absolutos de la variable número de colonias microbianas presentes en la rizósfera de un cultivo de soja.....	28
<b>Cuadro 15.</b> Análisis de la varianza (ANAVA) de peso seco de nódulos.....	28
<b>Cuadro 16.</b> Análisis de comparación de medias por el Test de Tuckey del peso seco de nódulos.....	28

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ubicación geográfica del ensayo. Campo experimental UNRC (CAMDOCEX) Río Cuarto, Córdoba.....	5
<b>Figura 2.</b> Precipitaciones y temperaturas medias anuales de la serie 1981-2010. UNRC. Río Cuarto, Córdoba. ....	6
<b>Figura 3.</b> Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo (diciembre 2009-abril 2010).....	7
<b>Figura 4.</b> Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo y media de la serie 1980-2010.....	12
<b>Figura 5.</b> Gráfico de barras de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.....	13
<b>Figura 6.</b> Gráfico de barras de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.....	13
<b>Figura 7.</b> Peso seco nódulos.planta <sup>-1</sup> .....	14
<b>Figura 8.</b> Número de granos vaina <sup>-1</sup> .....	15
<b>Figura 9.</b> Rendimiento (kg ha <sup>-1</sup> ).....	16
<b>Figura 10.</b> Número de colonias Microbianas.....	16
<b>Figura 11.</b> Gráficos de cajas (box-plot) de la variable número de colonias en raíz y en rizósfera para los distintos niveles del factor inoculante en los estadios fenológicos V5 (raíz) y V5 y post-cosecha (rizósfera) de un cultivo de soja.....	22
<b>Figura 12.</b> Gráfico de barras de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.....	24
<b>Figura 13.</b> Gráfico de barras de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.....	27
<b>Figura 14.</b> Gráfico de medias de peso seco de nódulos.....	29

## **RESUMEN**

Población microbiana en un suelo con cultivo de soja.

El grano de soja es una fuente proteica muy importante. Tanto las proteínas como el aceite que se obtiene de la semilla de soja tienen gran demanda debido a sus diversos usos potenciales, ya sea a nivel industrial como para la alimentación animal y humana. Tal es así, que actualmente representa el cultivo del cual el hombre obtiene la mayor cantidad de productos, con múltiples aplicaciones para su vida. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la comunidad microbiana en un suelo sembrado con cultivo de soja en comparación con un suelo post-cosecha. Durante el transcurso del ciclo del cultivo se determinaron variables como número de colonias microbianas en rizósfera y raíces (rizoplano y endófitas), también se determinó lo mismo en un suelo post-cosecha, ambos en un medio Trypticase Soya Agar. En el número de colonias microbianas tanto en raíces como en rizósfera, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. El estrés hídrico ocurrido durante la etapa crítica del cultivo influyó negativamente en el testigo sin inocular, con respecto a los demás tratamientos, tanto en raíz como en rizósfera, al observarse un menor número y actividad de los microorganismos que formaban parte de los inoculantes utilizados.

## **SUMMARY**

Microbial population in soil with soybean.

The soybean is a very important protein source. Both proteins and the oil obtained from the soybean are in great demand because of its various potential applications, either industrial and animal feed and human. So much so, that currently represents the culture from which the man gets most products, with multiple applications for his life. The aim of this study was to evaluate the microbial community in soil planted with soybean compared with a post-harvest soil. Variables were determined throughout the crop cycle and they include number of microbial colonies in rhizosphere and roots (rhizoplane and endophytic). We also determined the same parameters in a post-harvest soil, both in Trypticase Soy Agar medium. The number of microbial colonies in root and rhizosphere was shown statistically significant differences between treatments. Water stress, occurred during the critical stage of the crop, negatively influenced uninoculated control, in respect to the other treatments in both root and rhizosphere. In this conditions, we observed lower number and activity of microorganisms that were part of inoculants used.

## INTRODUCCIÓN

La productividad y sustentabilidad de los ecosistemas dependen de la capacidad de los suelos de funcionar como un sistema diverso y resiliente, soportar una productividad primaria y secundaria neta sostenible y proteger la calidad del ambiente. Este concepto involucra a las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Harris & Bezďicek, 1994).

Haynes y Tregurtha, 1999, consideran que tanto las propiedades biológicas como las bioquímicas de los suelos están íntimamente vinculadas con diversas funciones que se realizan en el medio y son muy sensibles a las perturbaciones ocasionadas por distintos manejos, por lo que resultan indicadores apropiados de la calidad del suelo.

La rizósfera se define como uno de los ecosistemas más importantes en términos energéticos y de extensión. Las plantas liberan por sus raíces entre un 10 y 70% de compuestos orgánicos de distinta naturaleza, denominados rizodeposiciones, que se metabolizan por los microorganismos que habitan en la rizósfera. La concepción de la rizósfera como ecosistema y no como una interface asimétrica, implica un equilibrio entre los elementos interactuantes, que son las plantas y los microorganismos. Estos microorganismos edáficos son los principales motores de la mayoría de los ciclos biogeoquímicos, a través de los cuales nuestra biósfera recicla la materia y por lo que fluye gran parte de la energía que mueve a los ecosistemas (Gutiérrez Mañero, *et al.*, 2006).

El termino rizósfera se utilizó por primera vez en el siglo XIX para hacer referencia al efecto de las raíces de leguminosas sobre el suelo circundante en términos de mayor actividad microbiana por la liberación de materia orgánica desde las raíces (Hilther, 2006).

Los microorganismos que se desarrollan en la rizósfera tienen un papel fundamental sobre la fisiología de la planta, no sólo con carácter individual sino como un conjunto coordinado de elementos, gracias al diálogo molecular que se establece entre los microorganismos, y entre ellos y la planta sobre la base de la percepción de quórum. Los microorganismos que ejercen un efecto beneficioso sobre la planta se denominan bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-PGPRs) y la forma en que ejercen su efecto permite clasificarlas en PGPRs de acción directa o indirecta, dependiendo si la bacteria es capaz de promover el crecimiento vegetal a través de un mecanismo que requiera la participación metabólica de la planta o no (Gutiérrez Mañero, *et al.*, 2006).

Kloepper *et al.* (1989) consideraron bacterias promotoras del crecimiento vegetal a aquellas bacterias que se desarrollan en el ecosistema rizosférico y que pueden estimular el crecimiento de las plantas.

Como un método tradicional y cultivo-dependiente, el recuento de placas es rápido, económico, y puede proveer información directamente del componente heterotrófico de la población en el momento (Tabacchioni *et al.*, 2000). Estimándose sobre 5000 especies de bacterias que han sido descritas (Pace, 1997), donde sólo aproximadamente de 0.1% a 1% de la población bacteriana del suelo puede ser cultivada por prácticas estándar de laboratorio (Torsvik *et al.*, 1998). Las limitaciones incluyen crecimiento de condiciones como temperatura, pH, y luminosidad.

La soja (*Glycine max*) es una leguminosa originaria del continente asiático. En Argentina se produjeron las primeras plantaciones en 1962, pero a partir de los años '70 su producción se incrementó notablemente. En la década del '90 se liberaron al medio los primeros materiales de soja transgénica resistentes al glifosato que en conjunto con la difusión de la siembra directa, facilitó la notable expansión del área bajo cultivo con esta oleaginosa. Los agricultores argentinos se inclinaron hacia esta tecnología porque aparecía como la solución a los problemas que enfrentaban. La adopción de estas alternativas tecnológicas, simplificaron y abarataron el control de malezas y la implantación del cultivo. Además, gracias a la siembra directa, se incorporaron al proceso productivo áreas en las que la utilización de labranzas convencionales implicaba gran susceptibilidad ecológica (MAGPyA, 2010).

La producción de soja ha ido creciendo en los últimos años, incluso en zonas marginales o de tierras no tan aptas para el cultivo. La soja está aumentando un millón de hectáreas por año y no hay limitaciones con relación al mercado. El desafío, es mantener la producción sustentable y con equilibrio (Escande, 2002).

En la actualidad en Argentina se siembra una superficie de alrededor de 32 millones de hectáreas, correspondiéndole a esta oleaginosa (soja) 18 millones. Siendo de esta manera el cultivo que más ha crecido en los últimos 25 años, diferenciándose de los otros granos ya que se exporta casi en su totalidad (cerca del 96% de la producción) ya sea como harina, poroto o pellets, biodiesel y aceite, ésta es una de las razones que explica por qué el productor siembra cada vez más soja disminuyendo consecuentemente la superficie destinada a otros cultivos como, trigo y maíz. La soja como (poroto, harina, aceite y biodiesel) se ha constituido en el más importante en la balanza comercial de nuestro país (MAGPyA, 2010).

La producción de soja de la última campaña se estimó en 39,9 millones de toneladas, semejante a la cosecha 2005/06 que alcanzó 40,7 millones y 9,3 millones inferior a la campaña 2010/11 que fue de 49,2 millones. El rinde nacional promedio fue de 22,1 q/ha para una superficie sembrada de 18,7 millones de hectáreas y una superficie no cosechada de 700 mil. Esta campaña, a diferencia de la anterior, ha mostrado marcadamente los efectos de la Niña. Pese a que hubo algunas mejoras parciales en las provincias de Buenos Aires y La Pampa, los daños en los cultivos de Córdoba y en las provincias del NOA y NEA hicieron caer los rindes e impactaron en la producción nacional (Bolsa de Comercio de Rosario, 2012).

En el departamento de Río Cuarto, la superficie sembrada en la campaña 2011/2012 fue de 646.450 ha, la producción en toneladas fue de 1.205.840 y la producción por hectárea de 1.923 kg (MAGPyA, 2012).

La campaña sojera 2011/2012 se caracterizó por una gran variabilidad tanto en rendimiento como en calidad, pero puede considerarse muy buena para toda la cadena, desde el productor hasta la industria y exportación. Los rendimientos estuvieron 15 a 20% por debajo de lo que se esperaba debido a las enfermedades de fin de ciclo. Al mismo tiempo, subrayó que los rendimientos fueron afectados por falta de agua y temperaturas altas –superiores a los 35 °C– durante la etapa de llenado del grano (Cuniberti, 2012).

### **HIPÓTESIS:**

La comunidad microbiana del suelo se modifica durante el ciclo del cultivo.

### **OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar la comunidad microbiana en un suelo sembrado con cultivo de soja en comparación con un suelo post-cosecha.

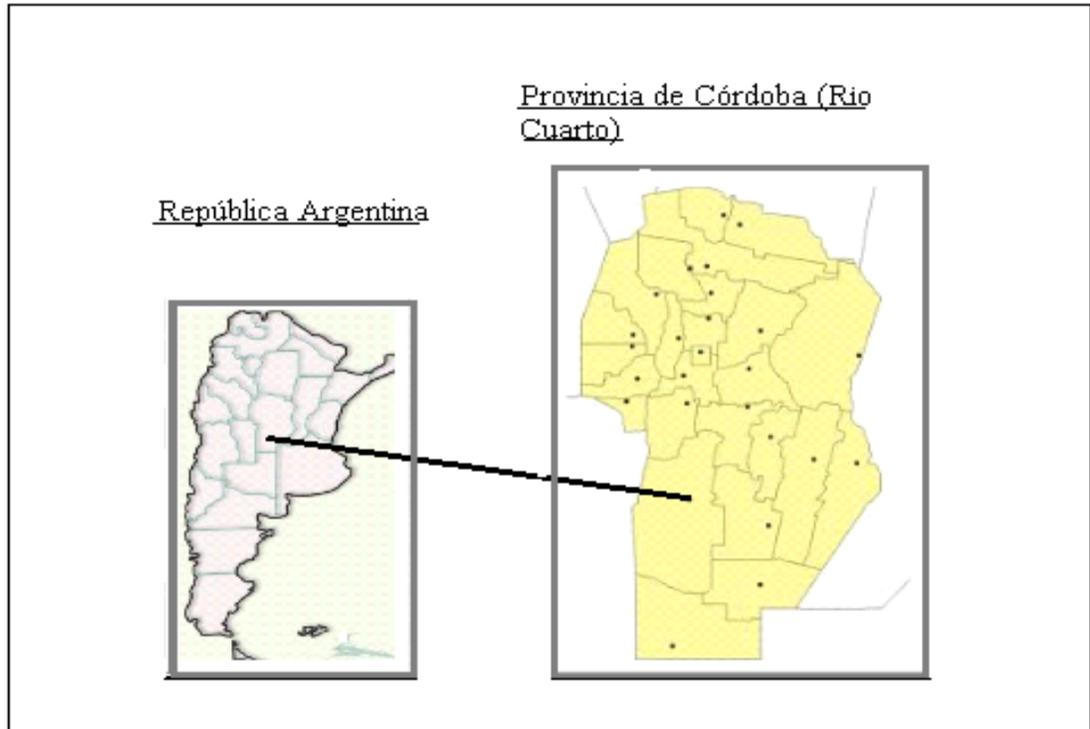
### **OBJETIVO ESPECÍFICO:**

- Cuantificar comunidad bacteriana de un suelo cultivado con soja.
- Determinar número total de colonias bacterianas en la rizósfera del cultivo.
- Calcular el número de colonias en rizoplano y endófitas en cultivo de soja.
- Evaluar comunidad microbiana en un suelo en el mismo lote post-cosecha.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del sitio específico

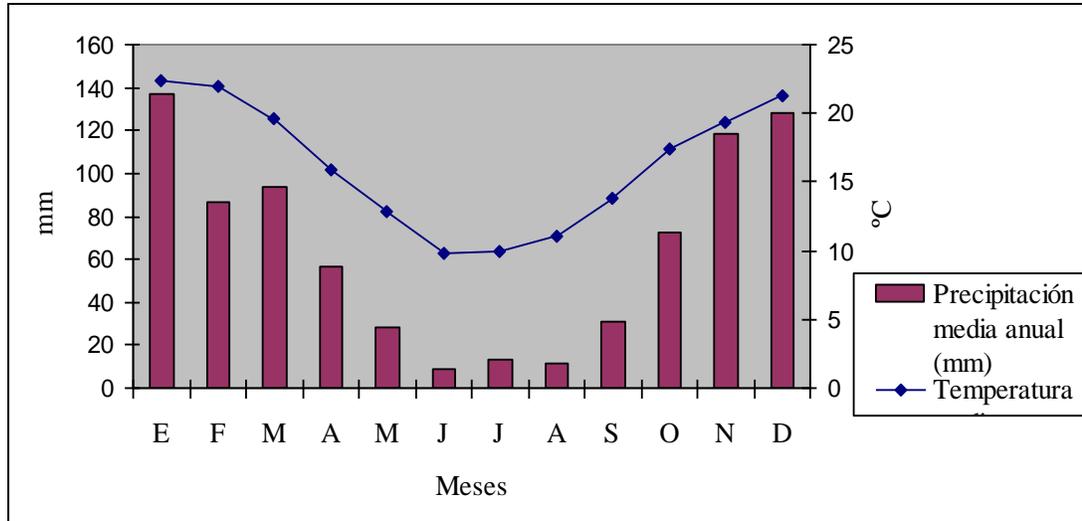
El ensayo se realizó durante la campaña 2009/2010, en el campo experimental de la UNRC (CAMDOCEX) ubicado sobre Ruta Provincial N°36 Km 601 en la localidad de Río Cuarto, a los 64°30' Longitud W de G y 33°07' Latitud Sur, a 421 m.s.n.m. Provincia de Córdoba (Figura 1).



**Figura 1:** Ubicación geográfica del ensayo. Campo experimental UNRC (CAMDOCEX) Río Cuarto, Córdoba.

### Caracterización edafoclimática

Se tomó como referencia la serie de datos registrados en la estación meteorológica de la Universidad Nacional de Río Cuarto durante el período 1981-2010. La zona se caracteriza por tener un régimen de precipitaciones de tipo monzónico irregular, aproximadamente el 80 % de las precipitaciones se concentra en el semestre más cálido que se da entre los meses de octubre y marzo (Figura 2).

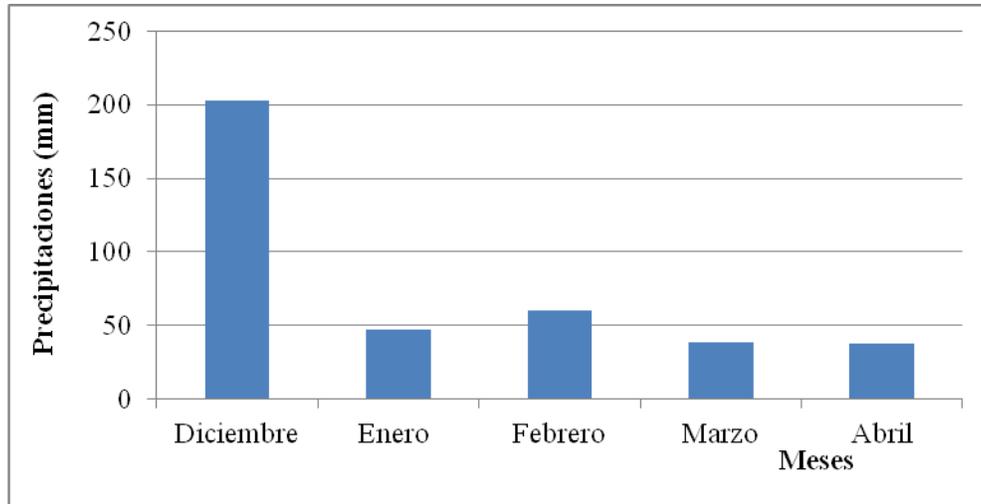


**Figura 2:** Precipitaciones y temperaturas medias anuales de la serie 1981-2010. UNRC. Río Cuarto, Córdoba.

El valor medio anual de las precipitaciones es de 796,5 mm, con una gran variación interanual, encontrándose años secos con precipitaciones del orden del 56% de la media y años lluviosos que alcanzan el 150%.

El régimen térmico es mesotermal. La temperatura media anual es de 16.29°C, la del mes más cálido (enero) es de 22.7 °C, y la del mes más frío (julio) es de 9.8°C, la fecha media de la primer helada es el 25 de mayo, con una fecha extrema el 29 de abril, y la fecha media de la última helada es el 12 de septiembre con una fecha extrema del 4 de noviembre, siendo el período libre de heladas en promedio de 255,7 días, desde primer quincena de septiembre y primer quincena de mayo. La frecuencia de granizo es de 1,87 días/año (Seiler *et al.* 2010).

Durante el período experimental se consideraron las precipitaciones mensuales (mm), ocurridas durante el ciclo del cultivo (Diciembre 2009 a Abril 2010) (Figura 3). La precipitación acumulada durante el período diciembre 2009- abril 2010 fue de 387 mm.



**Figura 3:** Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo (diciembre 2009-abril 2010).

El suelo es un Haplustol típico franco arenoso muy fino, los horizontes del perfil son Ap1 (0-12 cm), Ap2 (12-22 cm), Bw1 (23-33 cm), Bw2 (33-50 cm), BC (50-80 cm) y Ck (+ 80 cm), es un suelo profundo y bien drenado, de textura franco arenosa en superficie y franca en subsuelo, que no presentan impedimentos fisicoquímicos para el desarrollo de las plantas, son atributos que lo hacen agrícola. Sin embargo, presentan una capacidad de retención de la humedad algo baja, por lo que son susceptibles al estrés hídrico en épocas de sequía. Son además, 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 de los primeros 20 cm del perfil, siguiendo un esquema en M buscando obtener una muestra homogénea y representativa. Se analizó materia orgánica (%) por el método Walkley-Black, nitrógeno de nitratos (ppm) con el método de reducción por Cadmio, nitratos (ppm), fósforo (ppm) por el método de Kurtz y Bray, humedad (%) y pH en agua por potenciometría 1:2,5 (Cuadro 1).

<b>VARIABLES</b>	<b>RESULTADOS</b>
Materia Orgánica	<b>1,72 %</b>
Nitrógeno de Nitratos	<b>17,50 ppm</b>
Nitratos	<b>77,5 ppm</b>
Fósforo	<b>22,50 ppm</b>
Humedad	<b>15,52 %</b>
pH en Agua (1:2,5)	<b>6,51</b>

**Cuadro 1:** Análisis físico-químico del suelo. UNRC, Córdoba.

### **Diseño experimental y tratamientos**

Todos los tratamientos se ubicaron sobre rastrojo de maíz (*Zea mays*) en un mismo lote. Se utilizó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y cuatro repeticiones cada uno. El tamaño de las parcelas fue de 28,6 m<sup>2</sup> para cada repetición, con una distancia entre líneas de 52 cm. En los tratamientos 2, 3, 4, 5 y 6 las semillas fueron tratadas con inoculantes para soja en fórmulas comerciales a dosis de marbete según los tratamientos. Los muestreos de suelo con cultivo implantado se realizaron en V5 y en post-cosecha. El procedimiento consistió en extraer cuatro muestras de diez plantas por tratamiento en estado vegetativo V5 y en post-cosecha.

La semilla que se utilizó fue LDC 4,2, del criadero LDC. La siembra se realizó el 10 de diciembre de 2009. El sistema de labranza que se utilizó fue siembra directa, con una densidad de 22 semillas por metro lineal, a una distancia entre hileras de 0,52 metros (423.000 semillas ha<sup>-1</sup>). Se realizó un seguimiento del cultivo recorriendo el lote periódicamente y se controló malezas en V6 con el uso de glifosato al 48% en dosis de 3 litros ha<sup>-1</sup>.

### **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 2).

<b>Características</b>	
Ciclo	IV Corto
Hábito de crecimiento	Indeterminado
Zonas de siembra más recomendadas	Provincia de Buenos Aires y zonas de alto potencial en Córdoba y Santa Fe.
Días desde emergencia a R8	149
Porte de planta de acuerdo a su ciclo	Medio / Alto
Potencial de ramificación	Alto
Susceptibilidad al vuelco (1 a 10)	6
Distancia entre surcos recomendada	Igual o menor a 35 cm
Peso promedio de 1000 semillas (g)	174
Comportamiento a cancro del tallo	Resistente
Comportamiento a <i>Phytophthora</i>	Resistente
Color de flor	Púrpura
Color de pubescencia	Castaña clara
Color de vaina	Castaña
Color de hilo	Negro

**Cuadro 2:** Características de la variedad LDC 4,2.

***Los tratamientos fueron los siguientes:***

Tratamiento 1

- Semilla sin inocular (Testigo)

Tratamiento 2

- Semilla inoculada con inoculante Rizoliq con una dosis de 140 cc 50 Kg<sup>-1</sup> de semilla.

Tratamiento 3

- Semilla inoculada con Experimental 1 con una dosis de 150 cc 50 Kg<sup>-1</sup> de semilla.

Tratamiento 4

- Semilla inoculada con Rizoliq TOP con una dosis de 150 cc 50 Kg<sup>-1</sup> de semilla.

#### Tratamiento 5

-Semilla inoculada con Experimental 3 con una dosis de 150 cc 50 Kg<sup>-1</sup> de semilla.

#### Tratamiento 6

-Semilla inoculada con la cepa E109 (Cepa testigo de referencia de INTA- Castelar) con una dosis de 150 cc 50 Kg<sup>-1</sup> de semilla.

#### ***Determinaciones realizadas:***

##### En la etapa vegetativa (V5):

\_ Número de colonias microbianas en rizósfera y raíces (rizoplano y endófitas) en medio (TSA), para los seis tratamientos.

En laboratorio se separó la fracción rizósfera de las raíces de las plantas de cada muestra, para poder homogeneizar la muestra rizosférica y se extrajo 1 g, éste se colocó en un tubo que contenía 9 ml de buffer que se agitó de manera mecánica, durante 2 minutos obteniéndose la dilución 10<sup>-1</sup>. A continuación, de la dilución 10<sup>-1</sup> se tomó con pipeta estéril 1 ml y se lo depositó en otro tubo con 9 ml de buffer, obteniéndose así la dilución 10<sup>-2</sup>. De esta manera se continuó hasta alcanzar la dilución máxima de 10<sup>-10</sup>.

Para la fracción rizoplano y endófitas se lavaron con agua corriente las raíces, luego se cortaron y se pesaron 1 g para macerarlas en un mortero esterilizado con 9 ml de buffer fosfato estéril y se realizaron las suspensiones diluciones, como se mencionó arriba; para todos los tratamientos.

#### **Métodos de siembra y conteo total**

Se inocularon 0,1 ml de las diluciones 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-10</sup> de cada una de las fracciones estudiadas (Rizósfera, Rizoplano y Endófitas) por duplicado en cajas de Petri que contenían Trypticase Soya Agar (TSA). Las placas se incubaron en estufa a 28 °C durante 10 días. Se contaron número de colonias microbianas crecidas en las placas durante los primeros 6 días de manera consecutiva, haciéndose el séptimo y último conteo de colonias, recién a los 10 días post-siembra obteniendo UFC. ml<sup>-1</sup>.

En la etapa de post-cosecha se realizó del mismo modo.

\_Peso seco de masa nodular:

Se separaron los nódulos de las raíces y se llevaron a estufa durante 48 horas a 65°C, luego se determinó el peso con una balanza digital y se expresaron los valores en gramos (g).

A los 120 días en madurez fisiológica (R8):

# Número de granos por vaina

# Rendimiento por tratamiento en kg. ha<sup>-1</sup>.

El rendimiento final se obtuvo por trilla manual en un área de 1m<sup>2</sup> por repetición y los resultados fueron expresados en kilogramos por hectárea.

En la etapa de post-cosecha:

\_ Número de colonias microbianas en el suelo post-cosecha en medio Trypticase Soya Agar (TSA), realizando la siembra y el conteo del modo arriba mencionado.

### **Análisis Estadístico**

En el presente estudio se evaluó la respuesta de un cultivo de soja al tratamiento con distintos inoculantes. A tal efecto, se realizó un experimento, bajo un diseño completamente aleatorizado con 7 repeticiones, para comparar mediante un análisis de la varianza (ANOVA) y el test de Tuckey con un nivel de significación del 5 %, el número de colonias microbianas obtenidas de la aplicación de los distintos tratamientos.

La ecuación del modelo estadístico es la siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

donde  $y_{ij}$  representa la respuesta observada,  $\mu$  representa la media general,  $\alpha_i$  representa el efecto del tratamiento  $i$  ( $i=1\dots a$ ,  $a=7$ ) y  $\varepsilon_{ij}$  representa el error aleatorio asociado a la observación  $ij$ .

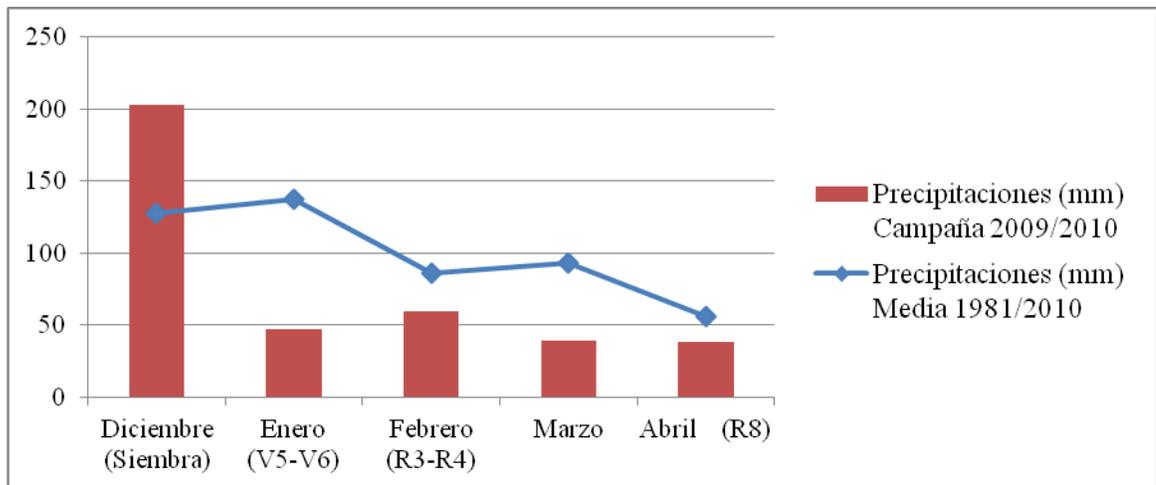
La hipótesis a probar es:

$$H_0: \alpha_i = 0 \text{ (no hay efecto de inoculante).}$$

Los datos fueron analizados con el programa estadístico InfoStat (2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La campaña 2009/2010 se caracterizó por un inicio (diciembre) con precipitaciones por encima de la media, lo cual permitió una correcta implantación del cultivo. Luego, en los meses de enero, febrero y marzo las precipitaciones se encontraron muy por debajo de la media, originando problemas de estrés hídrico en el cultivo. La principal limitante de la zona es el agua, expresada en ETC (evapotranspiración del cultivo), se estima que la soja posee una eficiencia en el uso del agua de entre 5 y 11 kg.mm<sup>-1</sup> ha<sup>-1</sup> (Gil, 2008) por lo cual para un rendimiento de 4000 kg ha<sup>-1</sup>, sin considerar otras limitantes, se necesitaría una ETC de 500 mm de agua. En esta campaña las precipitaciones en la etapa del cultivo fueron 387 mm, lo cual indica las malas condiciones de humedad. La (figura 4) muestra la distribución de las precipitaciones ocurridas durante el ciclo del cultivo.

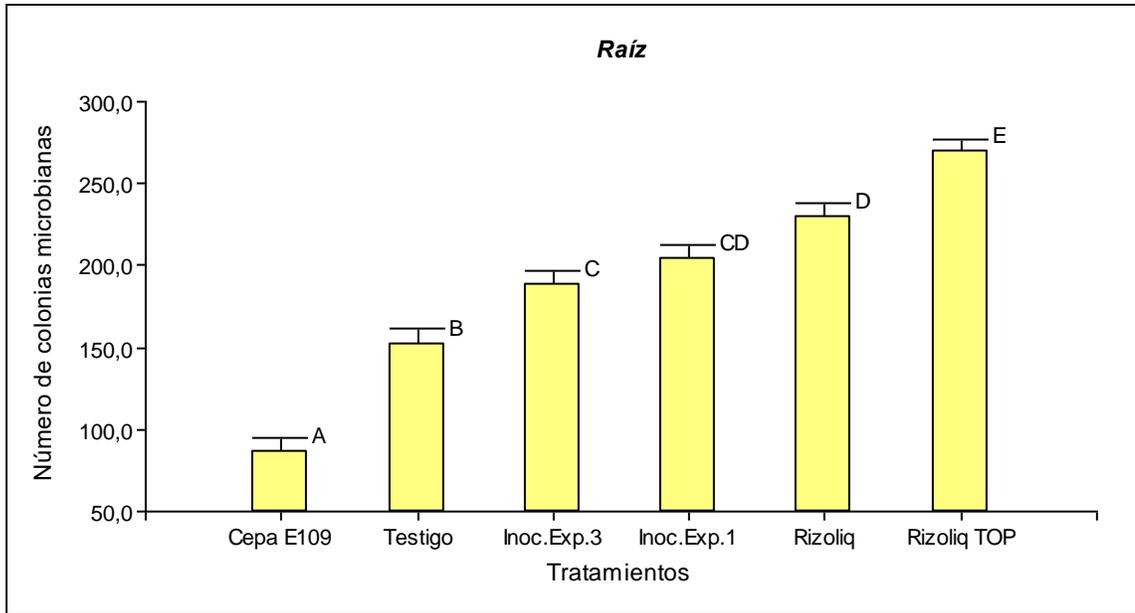


**Figura 4:** Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo y media de la serie 1980-2010.

### Muestreo en la etapa vegetativa (V5):

\_ Número de colonias microbianas en las raíces en medio (TSA).UFC. ml<sup>-1</sup>

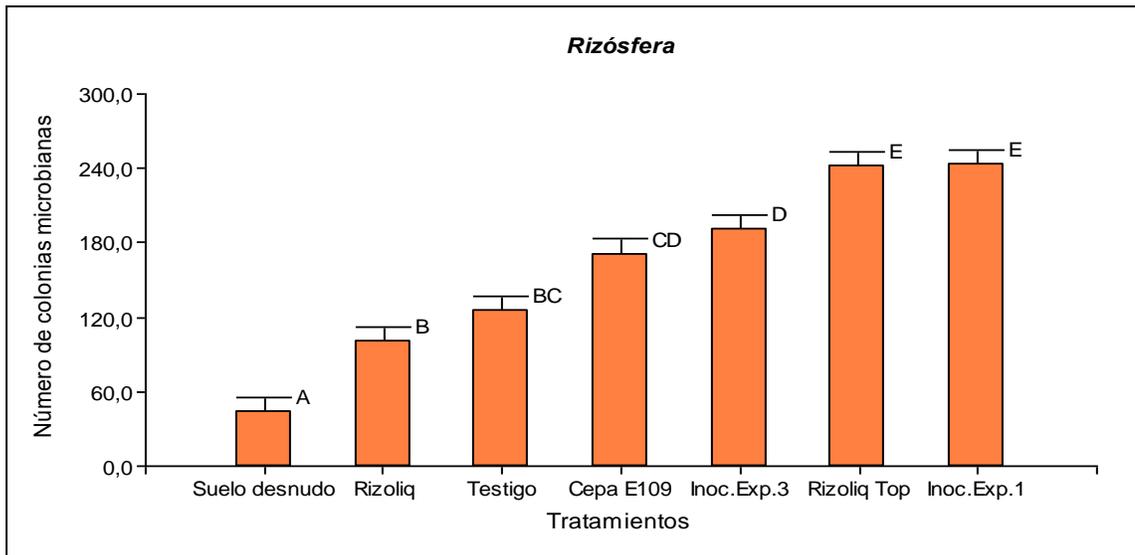
Como se observa en el siguiente gráfico (figura 5) se encuentran diferencias estadísticamente significativas al 5% cuando analizamos el número de colonias microbianas en las raíces, entre el tratamiento 1, 2, 4 y 5 en relación al tratamiento 6 destacándose el tratamiento 4 (Rizoliq TOP) con 226 colonias.



**Figura 5.** Número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.

\_ Número de colonias microbianas en la rizósfera en medio (TSA).UFC. ml<sup>-1</sup>

El número de colonias microbiana en la rizósfera presenta diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos 2, 3, 4 y 5, en relación al testigo y la Cepa E109, como puede observarse en Figura 6.



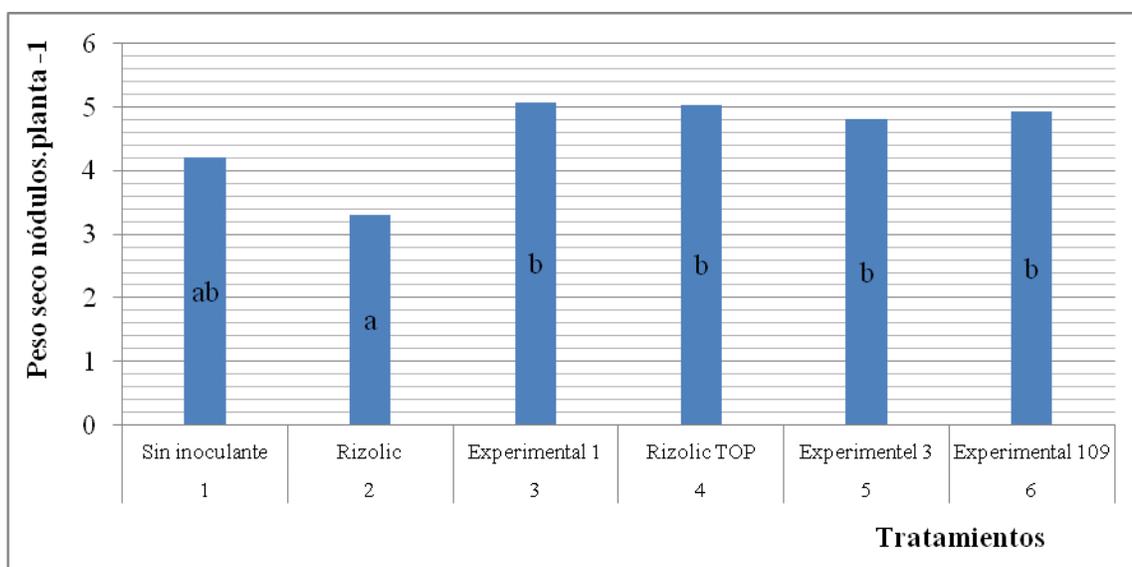
**Figura 6.** Número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.

### Peso seco de nódulos:

El peso seco de los nódulos no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos inoculados en comparación al testigo. Resultados similares fueron obtenidos por Paytas e Iglesias (2000), quienes observaron la presencia de nódulos en los testigos de los ensayos de inoculación con *Bradyrhizobium japonicum*. En el citado trabajo se observó la presencia de *Rhizobium-Bradyrhizobium* naturalizados en lotes con historia sojera.

Por otro lado, Peticari *et al.* (2003) informó que la reinoculación anual conduce al establecimiento en los suelos de poblaciones de rizobios naturalizadas provenientes de las cepas de los inoculantes. Ésta podría ser la probable causa de la presencia de nódulos en el testigo sin inocular del presente estudio, ya que el lote donde se llevó a cabo la experiencia tiene una historia sojera prolongada.

Como podemos observar en la figura 7, el tratamiento 2 presenta el menor peso seco de nódulos y también encontramos menor número de colonias aisladas en la rizósfera (Figura 6); mientras que el tratamiento 3 y 4 muestran diferencias significativas y mayor peso de nódulos.



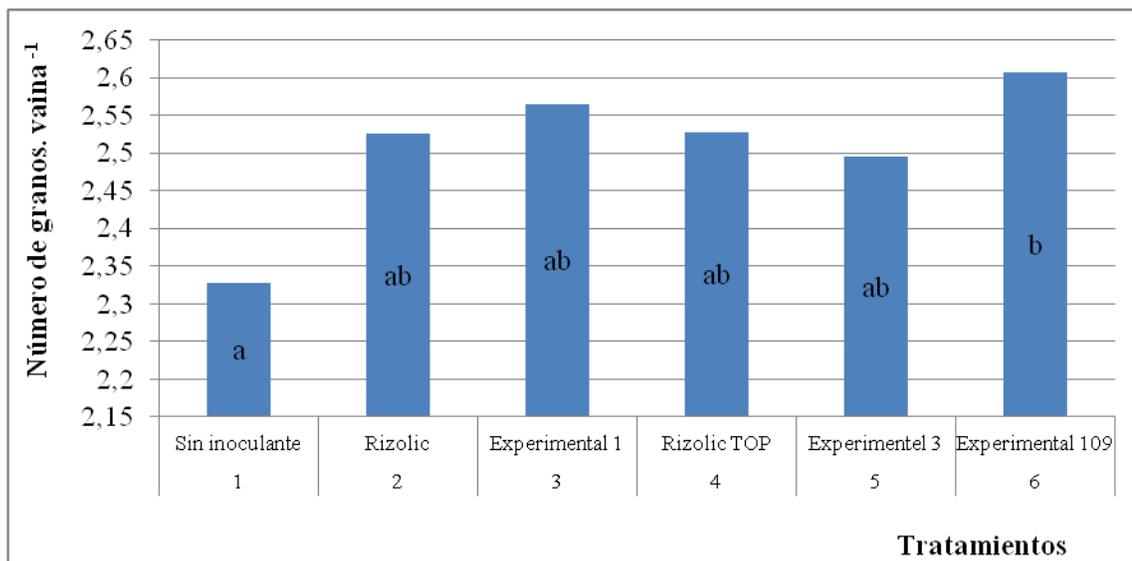
**Figura 7.** Peso seco nódulos.planta<sup>-1</sup>.

### Muestreo en la etapa Reproductiva R8:

#### Número de granos/vaina:

El número de granos por vaina presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos 1 y 6, con un número de granos por vaina igual a 2,32 en el tratamiento 1 y de 2,6 en el tratamiento 6. Como resultado de lo mencionado se obtiene una diferencia del 10,76 % a favor del tratamiento 6, observándose además que todos los tratamientos inoculados superan al testigo (Figura 8). Por otro lado, no existe una diferencia muy amplia entre los tratamientos,

esto se debe a que el componente del rendimiento granos por vaina tiene un alto control genético y en promedio resulta poco modificable ante cambios en la disponibilidad de recursos. Resultados similares fueron registrados por Tauro y Thuar (2011), quienes evaluaron la respuesta de la nodulación en soja con el uso de protectores bacterianos en la inoculación.

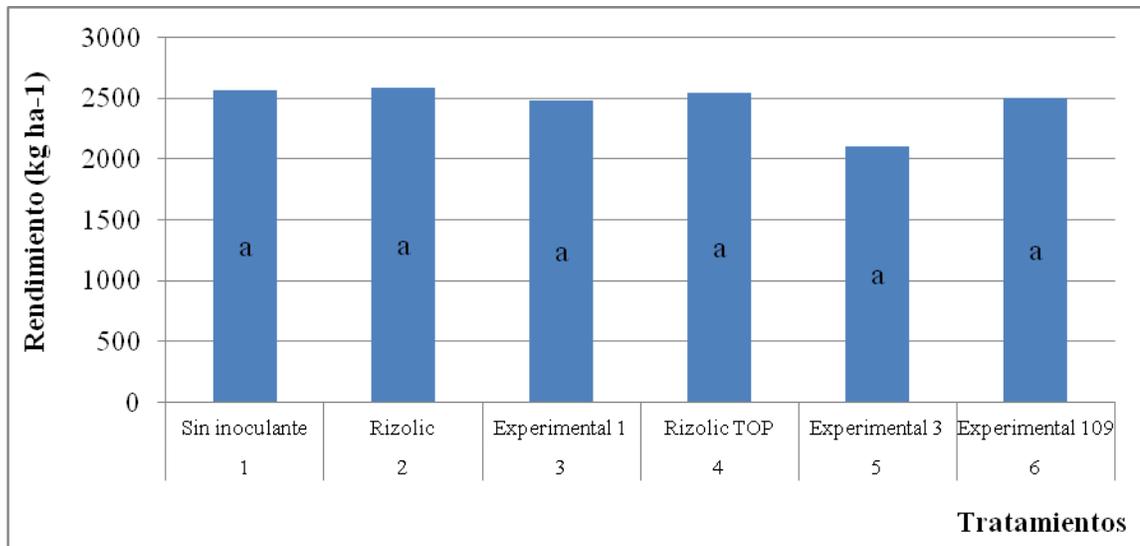


**Figura 8.** Número de granos vaina<sup>-1</sup>.

Rendimiento (kg. ha<sup>-1</sup>):

El rendimiento, no mostró diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y los demás tratamientos (Figura 9). Estos resultados se pueden explicar si se tiene en cuenta que durante el desarrollo del cultivo, principalmente en las etapas reproductivas, donde se define la mayor tasa de nodulación y el rendimiento, el cultivo soportó un período importante de estrés hídrico (Figura 3 y 4). Estos datos coinciden con información proveniente de Kantolic (2007), quien observó que la etapa en la cual se determina la mayor acumulación de nitrógeno vía fijación biológica, R1 a R5, coincide con la mayor parte de la etapa crítica para la definición de rendimiento en soja. Por otro lado, Collino *et al.* (1985) observaron que a partir de R5 los granos se convierten en el principal destino del carbono y nutrientes dentro de la planta y, por lo tanto, los nódulos pasan a ser un destino secundario. Las tasas de FBN van decayendo en este período y podrían llegar a limitar el aporte de N al cultivo. Dicha variación está determinada no sólo por los diferentes contenidos de N mineral (que antagoniza con la FBN), sino también con el hecho de que la soja en Argentina se cultiva en secano y el proceso de FBN es altamente sensible a pequeñas disminuciones en la condición hídrica del cultivo. Por lo tanto, las prácticas

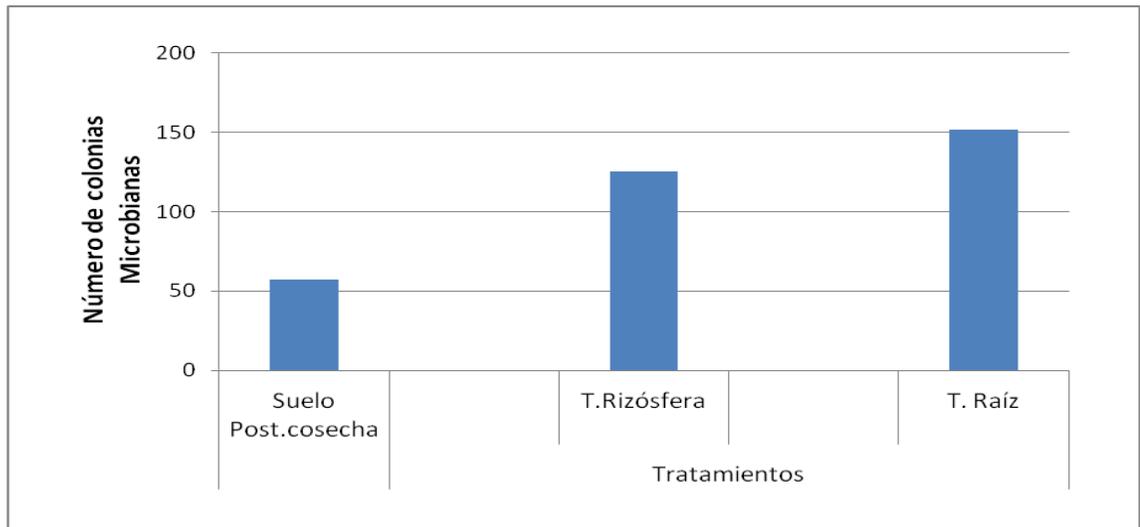
de manejo del cultivo que favorezcan la captación y acumulación de agua en el perfil del suelo, indirectamente favorecerán la nutrición nitrogenada del cultivo.



**Figura 9.** Rendimiento (kg ha<sup>-1</sup>).

Muestreo en post-cosecha:

\_ Número de colonias microbianas en el suelo en medio (TSA).



**Figura 10.** Número de colonias Microbianas.

En este gráfico (figura10), se puede observar como el número de colonias microbianas en el suelo post-cosecha, es significativamente menor con respecto a los otros dos tratamientos.

## CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente experiencia donde se comparó el efecto de cinco inoculantes distintos sobre el número de colonias microbianas presentes en la rizósfera y en las raíces (rizoplano y endófitas) y un testigo sin inocular, permiten concluir que:

- 1) Existen diferencias estadísticamente significativas para estas variables.
- 2) En raíces (rizoplano y endófitas) la media del número de colonias microbianas obtenidas con el inoculante Rizoliq TOP fue mayor que las medias obtenidas con el resto de los inoculantes.
- 3) En la rizósfera, la media del número de colonias microbianas obtenidas con los inoculantes Rizoliq TOP e inoculante experimental 1, fueron mayores que aquellas obtenidas con el resto de los inoculantes.
- 4) Los tratamientos 3, 4 y 5, mostraron mayor cantidad de microorganismos en raíz y rizósfera en la etapa vegetativa V5.
- 5) Con respecto al peso de los nódulos, los tratamientos 3, 4, 5 y 6 fueron los que evidenciaron un mayor peso seco por planta durante la etapa vegetativa V5.

## BIBLIOGRAFIA

ABRIL, A. 2003. **¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas?** Ecología Austral 13: 195-204.

Boero, G. 2000. **Soil Quality Assessment. XVII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo.** Mar del Plata.

Collino, D; Racca, R.W; Avila, A y Butto, C. 1985. **Efectos del ambiente sobre los mecanismos de FBN en cultivos.** En: Biología del suelo. **Transformaciones de la materia orgánica, usos y biodiversidad de los organismos edáficos.** Editorial de la Facultad de Agronomía-UBA. pp: 28.

Cuniberti, M. y Herrero, R. 2006. **Factores que influyen en el contenido de proteína y aceite en la soja argentina.** Inf. de Actualización Técnica N° 7, pág. 67-70.

CUNIBERTI, M., Herrero, R., Mir, L., Berra, O. y Macagno, S. **Rendimiento y calidad comercial e industrial de soja en la Región Núcleo-Sojera.** Cosecha 2011-12.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. **InfoStat versión 2011.** Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL

Escande A. 2002. **Identificación y Manejo Integrado de Enfermedades de la Soja en el Sudeste Bonaerense.** EEA INTA Balcarce-FCA (Unidad Integrada).

Gutiérrez Mañero, F.J., J.A. Lucas García, A. Probanza Lobo, y B. Ramos Solano, 2006. **Interacción planta-microorganismos en un ecosistema denominado rizosfera.**

GIL, R.C.2008. **La eficiencia en el uso del agua en el sistema agrícola. Instituto de suelos INTA Castelar.** En: [www.donmario.com.ar](http://www.donmario.com.ar). Consultado 20/03/2011.

Harris, R & D Bezdicek. 1994. **Cambios biológicos en el suelo fertilizado con nitrógeno.** Editor Juan Alberto Galantini-(CIC, CERZOS-U.N.Sur) Descriptive aspects of soil quality/Elath. Pp23-35.

Haynes R. J. & Tregurtha, R 1999. **Effects of increasing periods under intensive arable vegetable production on biological, chemical and physical indices of soil quality.** Biol. Fertil. Soils 28: 259-266.

Hilther, 2006. **Interacción planta-microorganismos en un ecosistema denominado rizósfera.**

Infostat, 2012. “**Infostat version 2011**”. En: [www.infostat.com.ar](http://www.infostat.com.ar). Consultado: 25/08/2012.

Kloepper, J.W., R. Lifshitz and R.M. Zablotowicz. 1989. **Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity**. Trends Biotechnol. 7:39-49.

Lal, R. 1998. **Land use and soil management effects on soil organic carbon dynamics on Alfisols in Western Nigeria**. Pp. 109-126.

Lupwayi, NZ; WA Rice & GW Clayton. 1998. **Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation**. Soil Biol. Biochem. 30: 1733-1741.

MAGPyA, 2010. **Contexto del cultivo de soja en el mundo**. En: <http://www.engormix.com>. Consultado: 22-06-2010.

Pace, N. R. 1997. **A molecular view of microbial diversity and the biosphere**. Science. 276: 734-740.

Perticari, A; Arias, N; Baigorri, H; De Battista, J.J; Montecchia, M; Pacheco Basurco, J.C; Simonella, A; Toresani, S; Ventimiglia, L y Vicentini, R. 2003. **Inoculación y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja**. Capítulo 7. El libro de la soja. Ed. SEMA. pp. 69-76.

Seiler, R. A; V. H. Rotondo; R. A. Fabricius; M. G. Vinocur; C. Bonacci. (2010). **Agroclimatología de Río Cuarto- 1981/10**. Volumen I. Publicación realizada por el Dto. De Imprenta y Publicaciones U.N.R.C., Argentina. 66p.

Tabacchioni, S., L. Chiaini, A. Bevivino, C. Cantale and C. Dalmastrì, 2000. **Bias Caused by using different isolation media for assessing the genetic diversity of a natural microbial population**. Microbial ecology. 40:169-176.

Tauro, R y A. Thuar, 2011. **Efecto de los protectores bacterianos sobre la nodulación en soja**. Trabajo final de grado. Fac. de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina. 23 p.

Torsvik, V., Daae, F. L., Sandaa, R. A. and Oveas, L. 1998. **Review article: Novel techniques for analyzing microbial diversity in natural and perturbed environments**. Journal of Biotechnology. 64: 53-62.

Vairuz, N. 2012. **Evaluación del efecto de diferentes inoculantes en el cultivo de soja.** Trabajo final de grado. Fac. de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina. 13 p.

## ANEXO

**Cuadro 3:** Precipitaciones medias anuales y temperatura media anual para la serie 1981-2010.

UNRC. Río Cuarto. Córdoba.

Mes	Temperatura media anual(°C)	Precipitación media anual (mm)
Enero	22,4	137,1
Febrero	22	86,3
Marzo	19,6	93,5
Abril	15,9	56,3
Mayo	12,9	28,4
Junio	9,8	9,2
Julio	9,9	13,7
Agosto	11,1	11,1
Septiembre	13,8	30,6
Octubre	17,4	72,1
Noviembre	19,4	118,4
Diciembre	21,3	127,8
Total	Promedio=16,29	784,5

**Cuadro 4:** Precipitaciones mensuales (mm) para el periodo diciembre 2009-abril 2010. UNRC.

Río Cuarto, Córdoba.

Mes	Precipitaciones(mm)
Diciembre	203
Enero	47
Febrero	60
Marzo	39
Abril	38
Total	387

## Estadística descriptiva

**Cuadro 5.** Estadística descriptiva de la variable número de colonias microbianas presentes en raíz para los distintos niveles del factor inoculante en el estadio V5 de un cultivo de soja.

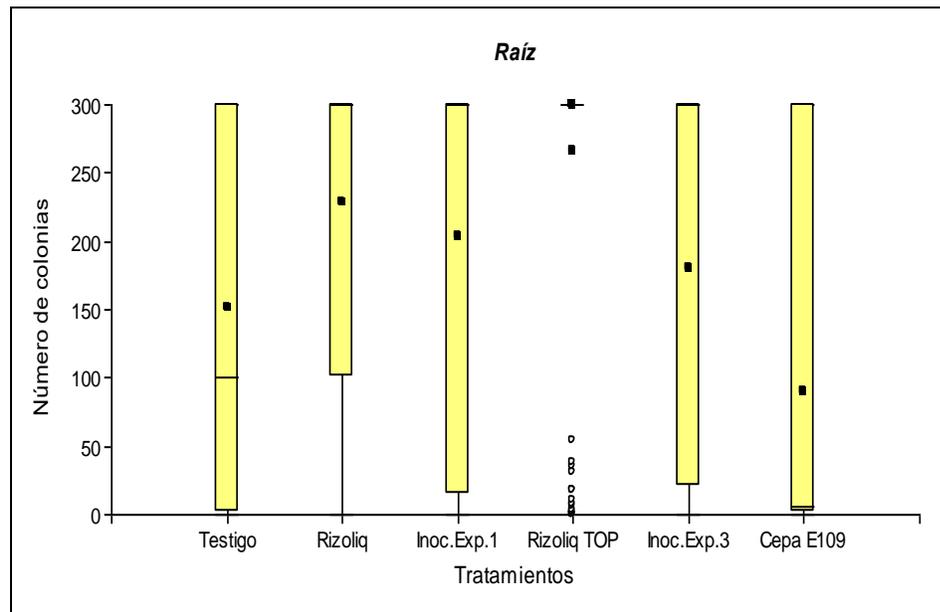
Tratamiento	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
Testigo	95	151,28	145,84	14,96	0	300
Rizoliq	139	229,26	123,17	10,45	0	300
Inoc.Exp.1	125	203,62	135,83	12,15	0	300
Rizoliq TOP	127	266,28	92,67	8,22	0	300
Inoc.Exp.3	57	180,12	142,04	18,81	0	300
Cepa E109	110	90,55	131,69	12,56	0	300

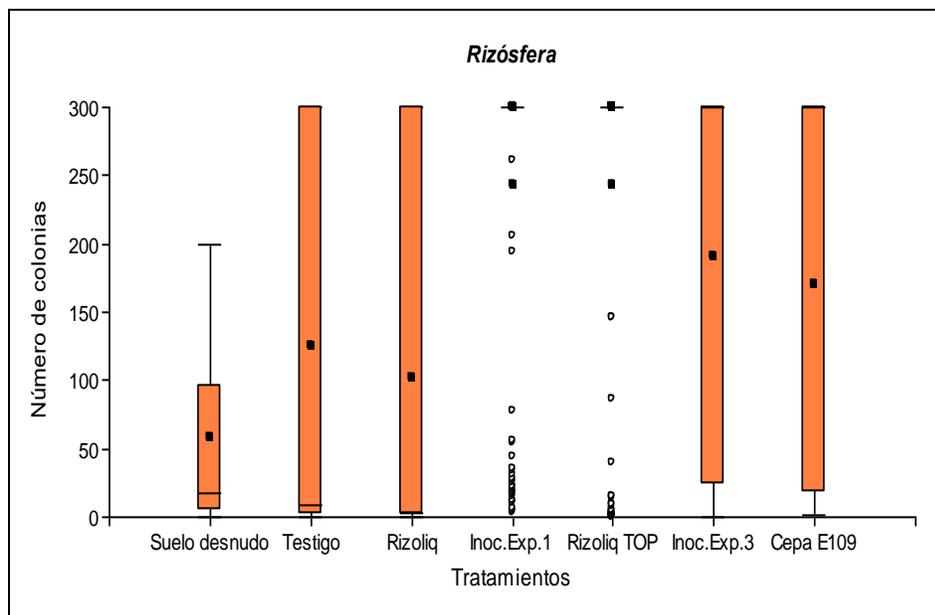
Ref.: Inoc.Exp.: inoculante experimental.

**Cuadro 6.** Estadística descriptiva de la variable número de colonias microbianas presentes en rizósfera para los distintos niveles del factor inoculante en los estadios V5 y post-cosecha de un cultivo de soja.

Tratamiento	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
Suelo desnudo	74	57,54	74,83	8,70	0	200
Testigo	126	125,10	143,63	12,80	0	300
Rizoliq	106	101,22	138,99	13,50	0	300
Inoc.Exp.1	135	242,92	111,10	9,56	3	300
Rizoliq TOP	132	242,48	115,28	10,03	0	300
Inoc.Exp.3	84	190,88	133,81	14,60	0	300
Cepa E109	103	170,76	136,38	13,44	2	300

Ref.: Inoc.Exp.: inoculante experimental.





**Figura 11.** Gráficos de cajas (box-plot) de la variable número de colonias en raíz y en rizósfera para los distintos niveles del factor inoculante en los estadios fenológicos V5 (raíz) y V5 y post-cosecha (rizósfera) de un cultivo de soja.

### Estadística analítica

En el presente estudio se evaluó la respuesta de un cultivo de soja al tratamiento con distintos inoculantes. A tal efecto, se realizó un experimento, bajo un diseño completamente aleatorizado con 7 repeticiones, para comparar mediante un análisis de la varianza (ANOVA) el número de colonias microbianas obtenidas de la aplicación de los distintos tratamientos. La ecuación del modelo estadístico es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

donde  $y_{ij}$  representa la respuesta observada,  $\mu$  representa la media general,  $\alpha_i$  representa el efecto del tratamiento  $i$  ( $i=1\dots a$ ,  $a=7$ ) y  $\varepsilon_{ij}$  representa el error aleatorio asociado a la observación  $ij$ .

La hipótesis a probar es:

$$H_0: \alpha_i = 0 \text{ (no hay efecto de inoculante).}$$

Los datos fueron analizados con el programa estadístico InfoStat (2011).

### Análisis de la varianza para la variable número de colonias microbianas presentes en raíz

Los resultados del ANOVA para la variable número de colonias microbianas presentes en raíz permiten observar que el valor  $p$  es significativo ( $p < 0,0001$ , cuadro 7) es decir, menor al nivel de significación nominal de la prueba ( $\alpha = 0,05$ ). De esta manera se rechaza la hipótesis nula ( $H_0: \alpha_i \neq 0$ ) y se concluye que existen diferencias en el número de colonias microbianas bajo los distintos tratamientos o niveles de inoculación.

Por otra parte, mediante un test de comparación de medias (Tukey) se compara el número de número de colonias microbianas en raíz derivadas de la aplicación de los distintos tratamientos o niveles de inoculación. Es posible observar que la media para el número de colonias microbianas obtenidas de la aplicación del inoculante Rizoliq TOP es mayor que la medias obtenidas de la aplicación del resto de los tratamientos (cuadro 8, figura 12).

**Cuadro 7.** Análisis de la varianza para la variable número de colonias microbianas presentes en la raíz de un cultivo de soja.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Número de colonias	80	0,80	0,78	16,25

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	276348,75	5	55269,75	57,94	<0,0001
Tratamiento	276348,75	5	55269,75	57,94	<0,0001
Error	70584,97	74	953,85		
Total	346933,72	79			

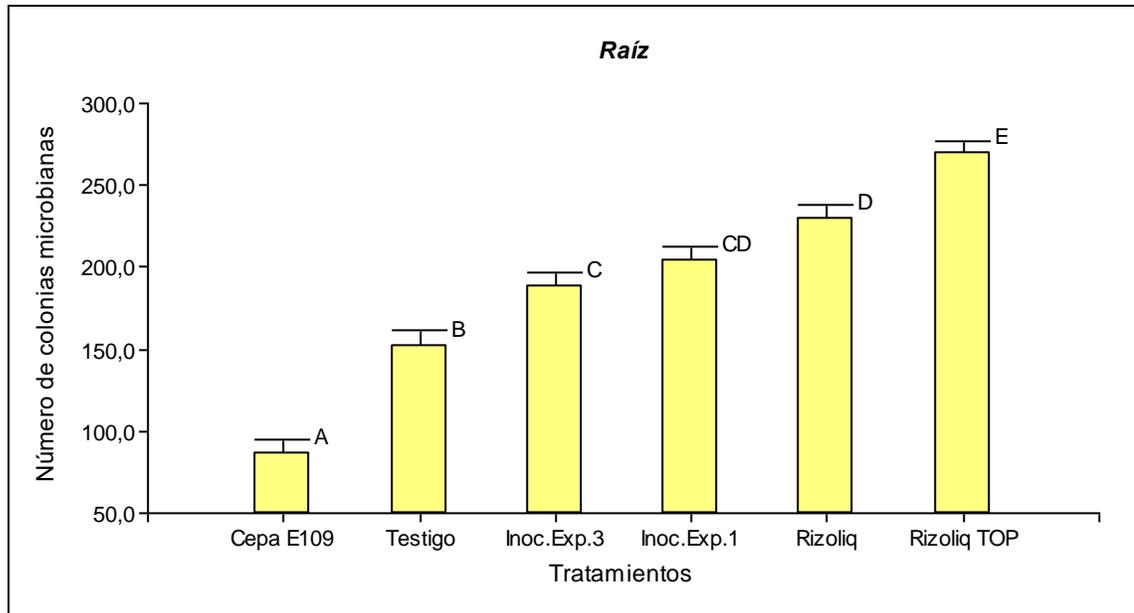
**Cuadro 8.** Test de comparación de medias (Tukey) de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.

#### **Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=35,12377**

Error: 953,8510 gl: 74

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
Cepa E109	86,76	14	8,25	A
Testigo	151,46	10	9,77	B
Inoc.exp.3	188,26	14	8,25	C
Inoc.Exp.1	204,03	14	8,25	C D
Rizoliq	229,36	14	8,25	D
Rizoliq TOP	269,19	14	8,25	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )



**Figura 12.** Gráfico de barras de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.

Los supuestos tradicionales del ANOVA implican errores independientes, normalmente distribuidos y con varianzas homogéneas para todas las observaciones. A partir del valor de los residuos se puede verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas.

### Normalidad

Para determinar si los datos cumplen con este supuesto, InfoStat permite realizar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks. En este análisis, las hipótesis que se someten a prueba son:

$H_0$ : los residuos de la variable número de colonias microbianas tienen distribución normal.

$H_1$ : los residuos de la variable número de colonias microbianas no tienen distribución normal.

### Test de Shapiro-Wilks para los residuos de la variable número de colonias microbianas

Dado el valor  $p$  del test ( $p=0,0406$ , cuadro 9), es posible concluir que existen evidencias para rechazar el supuesto de distribución normal para los residuos de esta variable.

**Cuadro 9.** Prueba de normalidad para los residuos de la variable número de colonias microbianas presentes en la raíz de un cultivo de soja.

<b>Shapiro-Wilks (modificado)</b>					
Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Número de colonias	80	0,00	29,89	0,95	0,0406

### **Homogeneidad de varianzas**

La prueba de Levene permite verificar el cumplimiento de este supuesto. Esta prueba consiste en realizar un análisis de la varianza usando como variable dependiente el valor absoluto de los residuos. Este análisis se debe realizar con un modelo a una vía de clasificación.

Las hipótesis que se someten a prueba son:

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_a^2$$

$H_1$ : al menos dos varianzas son distintas.

donde  $\sigma_i^2$  es la varianza del tratamiento  $i$ ,  $i = 1, \dots, a$ .

### Prueba de Levene para los residuos absolutos de la variable número de colonias microbianas

El p-valor del factor tratamiento de este ANOVA ( $p=0,0002$ , cuadro 10) es menor al nivel de significación nominal de la prueba ( $\alpha=0,05$ ). Por esta razón, se rechaza la hipótesis de varianzas homogéneas.

**Cuadro 10.** Test de homogeneidad de varianzas para los residuos absolutos de la variable número de colonias microbianas presentes en la raíz de un cultivo de soja.

<b>Test de Levene</b>				
Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS Número de colonias	80	0,27	0,22	77,85

<b>Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)</b>					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8348,11	5	1669,62	5,53	0,0002
Tratamiento	8348,11	5	1669,62	5,53	0,0002
Error	22356,75	74	302,12		
Total	30704,86	79			

### Análisis de la varianza para la variable número de colonias microbianas presentes en rizósfera

Los resultados del análisis de la varianza para la variable número de colonias microbianas presentes en rizósfera permiten observar que el p-valor es significativo ( $p<0,0001$ , cuadro 11),

menor al nivel de significación de la prueba ( $\alpha=0,05$ ). Por esta razón, se rechaza la hipótesis nula ( $H_0: \alpha_i \neq 0$ ) y se concluye que existen diferencias en el número de colonias microbianas obtenidas de la aplicación de los distintos tratamientos.

Además, mediante un test de Tukey se compara el número de número de colonias microbianas en rizósfera obtenidas de la aplicación de los distintos tratamientos o niveles de inoculación. De esta manera se observa que las medias para el número de colonias microbianas obtenidas de la aplicación del inoculante experimental 1 y Rizoliq TOP son mayores que la medias obtenidas de la aplicación del resto de los tratamientos (cuadro 12, figura 13).

**Cuadro 11.** Análisis de la varianza para la variable número de colonias microbianas presentes en la rizósfera de un cultivo de soja.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Número de colonias	93	0,74	0,73	26,46

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	447645,56	6	74607,59	41,83	<0,0001
Tratamiento	447645,56	6	74607,59	41,83	<0,0001
Error	153396,37	86	1783,68		
Total	601041,92	92			

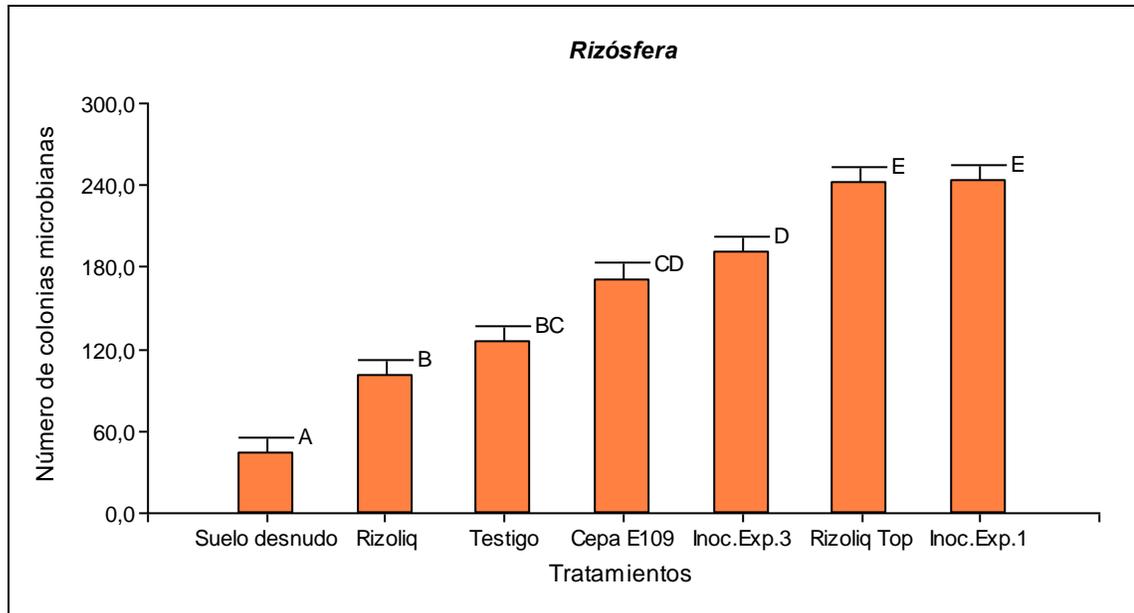
**Cuadro 12.** Test de comparación de medias (Tukey) de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=49,53034**

Error: 1783,6787 gl: 86

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
Suelo desnudo	43,25	13	11,71	A
Rizoliq	100,20	14	11,29	B
Testigo	125,10	14	11,29	B C
Cepa E109	170,61	12	12,19	C D
Inoc.Exp.3	190,70	12	12,19	D
Rizoliq TOP	241,58	14	11,29	E
Inoc.Exp.1	243,45	14	11,29	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p <= 0,05$ )



**Figura 13.** Gráfico de barras de la variable número de colonias microbianas para los distintos niveles del factor inoculante.

#### Test de Shapiro-Wilks para los residuos de la variable número de colonias microbianas

Dado el p-valor del test ( $p=0,0018$ , cuadro 13) es posible concluir que existen evidencias para rechazar el supuesto de normalidad.

**Cuadro 13.** Prueba de normalidad para los residuos de la variable número de colonias microbianas presentes en la rizósfera de un cultivo de soja.

#### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Número de colonias	93	0,00	40,83	0,94	0,0018

#### Prueba de Levene para los residuos absolutos de la variable número de colonias microbianas

El valor p del factor tratamiento de este ANOVA ( $p=0,0001$ , cuadro 14) es menor al nivel de significación del test ( $\alpha=0,05$ ). Por esta razón, se rechaza la hipótesis de varianzas homogéneas.

**Cuadro 14.** Test de homogeneidad de varianzas para los residuos absolutos de la variable número de colonias microbianas presentes en la rizósfera de un cultivo de soja.

**Test de Levene**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS Número de colonias	93	0,28	0,23	80,30

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19285,72	6	3214,29	5,52	0,0001
Tratamiento	19285,72	6	3214,29	5,52	0,0001
Error	50094,15	86	582,49		
Total	69379,86	92			

**Cuadro 15.** Análisis de la varianza (ANAVA) de peso seco de nódulos.

Variable		Gl	CV	p
Peso seco de nódulos	Tratamientos	5	6,464	0,001
	Error	18		
	Total	23		

**Cuadro 16.** Análisis de comparación de medias por el Test de Tuckey del peso seco de nódulos.

Tratamiento	N	Peso seco de nódulos por planta (g.pl <sup>-1</sup> )
2	4	3,3 a
1	4	4,2 ab
5	4	4,8 b
6	4	4,925 b
4	4	5,025 b
3	4	5,075 b

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

**Figura 14.** Gráfico de medias de peso seco de nódulos.

