

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final presentado para optar al Grado de Ingeniero
Agrónomo

Modalidad: Proyecto

EFECTO DEL USO DE PROTECTORES BACTERIANOS EN
COINOCULACIÓN CON *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*
Y *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* EN EL CULTIVO DE
SOJA.

Alumno: GONZALEZ, Facundo Daniel
DNI: 34.446.933

Director: THUAR, Alicia María.
Co-Director: BRUNO, Carla.

Río Cuarto – Córdoba
Octubre 2012

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final:

**EFFECTO DEL USO DE PROTECTORES BACTERIANOS EN
COINOCULACIÓN CON *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*
Y *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* EN EL CULTIVO DE SOJA**

Autor: Gonzalez, Facundo Daniel
DNI: 34.446.933

Director: Thuar, Alicia María
Co-Director: Bruno, Carla

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

Prof. Teresa Amalia Kraus _____

Prof. Miguel Ángel Di Renzo _____

Prof. Alicia María Thuar _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

III

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mi familia por el incondicional apoyo brindado a lo largo de estos años durante el cursado de la carrera y en mi vida.

IV

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermano y abuelas por el apoyo brindado.

A mi novia por haber estado siempre allí.

A Alicia por haberme dado la posibilidad y su tiempo para realizar este trabajo.

A todos mis amigos, y en especial a Marcos por su cooperación en todo momento.

A todos GRACIAS!!!!

INDICE DEL TEXTO

RESUMEN	XI
SUMMARY	XII
INTRODUCCION	
Antecedentes.....	1
Hipótesis.....	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos.....	11
MATERIALES Y METODOS	
Caracterización del sitio experimental.....	12
Cultivar.....	13
Cepas.....	14
Protector.....	14
Fertilizante.....	14
Tratamiento de semillas.....	14
Descripción de los tratamientos evaluados.....	15
Diseño experimental del ensayo.....	16
Siembra y fertilización.....	16
Evaluaciones realizadas.....	17
Análisis de datos.....	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Características particulares de la campaña 2011-2012	18
Determinaciones en estadio fenológico R2	
Número de nódulos.....	20
Peso de nódulos.....	25
Peso seco aéreo y radical.....	29
Determinaciones en estadio fenológico R6	
Número de nódulos.....	31
Peso de nódulos.....	36

Peso seco aéreo y radical.....	40
Comparaciones entre las determinaciones realizadas en los estadios fenológicos R2 y R6.....	42
Determinaciones en estadio fenológico R8	
Rendimiento.....	44
Contenido de proteínas en grano.....	50
CONCLUSION.....	52
BIBLIOGRAFIA.....	53
ANEXOS.....	66

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características generales del sitio experimental.....	13
Tabla 2: Esquema de distribución de los tratamientos.....	16
Tabla 3: Datos de evapotranspiración.....	19
Tabla 4: Contenido de nitrógeno y proteína en grano.....	50

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Nitrógeno proveniente del suelo y por FBN en el cultivo de soja.....	3
Figura 2: Relación entre el N proveniente de la FBN y la disponibilidad inicial de nitratos en el suelo en el cultivo de soja.....	4
Figura 3: Precipitaciones medias mensuales históricas y ocurridas durante la campaña 2011-2012.....	18
Figura 4: Temperaturas medias mensuales históricas y ocurridas durante la campaña 2011-2012.....	19

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R2

Figura 5: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R2.....	20
Figura 6: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	21
Figura 7: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R2	23
Figura 8: Número de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	23
Figura 9: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R2.....	24
Figura 10: Número de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	24
Figura 11: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	25
Figura 12: Peso de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	26
Figura 13: Peso de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	26
Figura 14: Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R2.....	27
Figura 15: Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R2.....	27
Figura 16: Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R2.....	28
Figura 17: Peso seco aéreo y radical por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	29
Figura 18: Peso seco aéreo por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	30
Figura 19: Peso seco radical por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	30

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R6

Figura 20: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R6.....	31
Figura 21: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	32
Figura 22: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R6.....	33

VIII

Figura 23: Número de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	34
Figura 24: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R6.....	35
Figura 25: Número de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	35
Figura 26: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	36
Figura 27: Peso de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	37
Figura 28: Peso de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	37
Figura 29: Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R6.....	38
Figura 30: Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R6.....	38
Figura 31: Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R6.....	39
Figura 32: Peso seco aéreo y radical por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	40
Figura 33: Peso seco aéreo por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	40
Figura 34: Peso seco radical por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	41
Figura 35: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2 y R6.....	42
Figura 36: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R2 y R6.....	42
Figura 37: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2 y R6.....	43
Figura 38: Peso por nódulo de raíces principales y secundarias en estadio fenológico R2 y R6.....	43

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R8

Figura 39: Rendimiento en grano en estadio fenológico R8.....	44
Figura 40: Número de granos por m ² de superficie en estadio fenológico R8.....	45
Figura 41: Peso de 100 granos en estadio fenológico R8.....	45
Figura 42: Contenido de proteína en granos en estadio fenológico R8.....	51

INDICE DE ANEXOS

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R2

Anexo 1: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R2.....	66
Anexo 2: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	67
Anexo 3: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R2.....	67
Anexo 4: Número de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	68
Anexo 5: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R2.....	68
Anexo 6: Número de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	69
Anexo 7: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	69
Anexo 8: Peso de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	70
Anexo 9: Peso de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	70
Anexo 10: Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R2.....	71
Anexo 11: Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R2.....	71
Anexo 12: Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R2.....	72
Anexo 13: Peso seco aéreo y radical por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	72
Anexo 14: Peso seco aéreo por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	73
Anexo 15: Peso seco radical por m ² de superficie en estadio fenológico R2.....	73

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R6

Anexo 16: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R6.....	74
Anexo 17: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	75

Anexo 18: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R6.....	75
Anexo 19: Número de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	76
Anexo 20: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R6.....	76
Anexo 21: Número de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	77
Anexo 22: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	77
Anexo 23: Peso de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	78
Anexo 24: Peso de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	78
Anexo 25: Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R6.....	79
Anexo 26: Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R6.....	79
Anexo 27: Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R6.....	80
Anexo 28: Peso seco aéreo y radical por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	80
Anexo 29: Peso seco aéreo por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	81
Anexo 30: Peso seco radical por m ² de superficie en estadio fenológico R6.....	81
 EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R8	
Anexo 31: Rendimiento en grano en estadio fenológico R8.....	82
Anexo 32: Número de granos por m ² de superficie en estadio fenológico R8.....	82
Anexo 33: Peso de 100 granos en estadio fenológico R8.....	83
Anexo 34: Contenido de proteína en granos en estadio fenológico R8.....	83

RESUMEN

La soja necesita gran cantidad de nitrógeno para su crecimiento, pudiendo cubrir gran parte de los requerimientos por medio de la fijación biológica en la simbiosis con *Bradyrhizobium japonicum*. *Azospirillum* y *Pseudomonas* son otros géneros bacterianos con capacidad de promoción del crecimiento vegetal por medio de la fijación de nitrógeno en forma libre, producción y liberación de hormonas promotoras del crecimiento y solubilización de fosfatos. Estas rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas (PGPR) pueden ser utilizadas en conjunto de manera tal que interactúen sinérgicamente. Para disminuir el impacto de problemas que ocurren durante el tratamiento de semilla se utilizan protectores bacterianos permitiendo lograr mayor viabilidad de las bacterias, y mayor beneficio posterior. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del uso de protectores bacterianos sobre la coinoculación con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* en el cultivo de soja. Se realizó un ensayo donde los tratamientos evaluados incluyeron inoculaciones simples y diferentes coinoculaciones con y sin protectores bacterianos, además de un testigo con fertilización nitrogenada, y un testigo sin inoculación. Se observó que la aplicación de fertilizante inhibió de forma parcial la nodulación; y que las prácticas de inoculación, coinoculaciones y uso de protectores bacterianos no permitieron mejorar aspectos de la nodulación con respecto al testigo. En rendimiento se observó que 6 de 8 tratamientos con algún tipo de inoculación superaron estadísticamente al testigo. El uso de protectores bacterianos no demostró ser efectivo en el presente ensayo. Por ello esta técnica de uso de protectores en la coinoculación con *Azospirillum* y *Pseudomonas* se considera de interés experimentarla en más campañas con ambientes climáticos diferentes. Es importante aclarar que el cultivo sufrió estrés hídrico en gran parte de su ciclo, por ello se justifica la inversión de esfuerzos para repetir dicho ensayo, de modo de poder ampliar y profundizar el conocimiento de este tema.

Palabras claves: Soja, Nitrógeno, Inoculación, Coinoculación, Protectores bacterianos.

SUMMARY

Soybean need large amounts of nitrogen for its growth, and is able to meet many of the requirements through biological fixation by symbiosis with *Bradyrhizobium japonicum*. *Azospirillum* and *Pseudomonas* are others bacterial genus capable of promoting the growth of plant through nitrogen fixation in free form, and by production and release of growth promoting hormones and phosphate solubilization. These promoting growth plant rhizobacteria (PGPR) may be used together so that interacts synergistically. In order to reduce the impact of problems that occur during seed treatment, bacterial protectors are used; leading to a bacterial viability increase and a greater benefit later on. The aim of this study was to evaluate the effect by using protectors in coinoculation with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*. A test was realized in which the treatments evaluated included simple inoculations and different co-inoculations with and without bacterial protectors, a treatment with nitrogen fertilization, and a treatment without inoculation. It was observed that the application of fertilizer had partially inhibited nodulation; inoculation practices, coinoculations and the use of bacterial protectors did not allowed to improve nodulation aspects compared to the treatment without inoculation. In yield it was observed that 6 to 8 treatments with any inoculation statistically had outperformed the control. It could not be confirm the beneficial effect of using protectors at this study. So the use of protectors technique in coinoculation with *Azospirillum* and *Pseudomonas* is considered interesting to be conducted in more agriculture cycle with different climatic environments. It is important to clarify that the crop suffered water stress much of its cycle, therefore it is worth the effort investment to repeat the test, so as to broaden and develop the understanding of this topic in depth.

Keywords: Soybean, Nitrogen, Inoculation, Coinoculation, Bacterial Protectors.

INTRODUCCION

La soja (*Glycine max* L. Merr) es una planta nativa de Asia, siendo el norte y centro de la China, el sitio en el que se originó y sufrió el proceso de domesticación. En los comienzos del siglo XX la soja se conoció en Europa como un alimento exótico proveniente de los países orientales (Hymowitz, 1970), estando confinada su producción fundamentalmente a China, Indonesia, Japón y Corea. Hacia el final de la década de 1940 y en los comienzos de los años 50, Estados Unidos de América expandió el cultivo de soja convirtiéndose en el principal productor mundial. Ya en el año 1968 se producían en el mundo alrededor de 28 millones de hectáreas de soja en cerca de 28 países (Hymowitz, 1970). Es decir que a partir de su sitio de origen, el cultivo de soja se dispersó por diversos sitios del planeta, cultivándose en los 5 continentes.

A pesar de que no hace tantos años que el cultivo de esta leguminosa se difundiera en Argentina y Brasil, en la actualidad el área sembrada y la producción han convertido a estos dos países en uno de los polos de producción de soja más importante a nivel mundial. Según datos del Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (S.A.G.P.yA.) la superficie sembrada con soja en Argentina en la campaña 2009/2010 fue de 18.343.272 de hectáreas con una producción de 52.676.620 de toneladas y un rendimiento promedio de 2905 kg. por hectárea.

La producción de soja interesa principalmente porque las semillas contienen entre un 40-42% de proteínas de buena calidad y un 18-22% de aceite que pueden presentar hasta un 85% de ácidos grasos no saturados y además, las semillas están libres de colesterol (Achakzai *et al.*, 2002).

En la región pampeana los elementos que en mayor medida controlan la producción del cultivo de soja son el nitrógeno (N), el fósforo (P) y el azufre (S). Varios productos con formulaciones biológicas para el tratamiento de semillas de soja han mostrado efectos favorables sobre la producción del cultivo (Díaz-Zorita *et al.*, 1999).

El uso eficiente del N en sistemas agropecuarios a través de la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) es una práctica económicamente viable y resulta ser una herramienta muy útil para mantener una agricultura sustentable.

Si esta última alternativa pudiera reemplazar, aunque sea en parte, la fertilización de los cultivos, el productor y el país se verían beneficiados, no sólo medido en términos puramente económicos, sino también se evitarían problemas ambientales, beneficiándose la salud de la población. (Marko e Iglesias, 2003)

El N es el principal nutriente limitante de la producción de los cultivos y a pesar de ser uno de los elementos más abundantes del planeta no siempre está disponible para la mayoría de las plantas (Vance, 2001).

Se debe recordar que sus fuentes de provisión para los cultivos son el suelo y la fijación biológica. El N presente en la solución del suelo proviene de la mineralización de la materia orgánica, el nivel de ésta en el suelo es fundamental para mantener una producción sustentable. El N que proviene de la fijación atmosférica y más específicamente, de la FBN es de gran importancia ya que la alta demanda de este nutriente en la soja, estimada en unos 80 kilogramos por tonelada de grano producido, es mayoritariamente cubierta a partir del proceso de FBN en la simbiosis entre la leguminosa y los rizobios. La FBN es un proceso de gran relevancia en la producción de soja observándose beneficios significativos al inocular con cepas específicas de *Bradyrhizobium japonicum*. (Hungría y Campo, 2005; Peticari, 2007; Salvagiotti, 2008).

Al respecto, González (2006) cita que el 90% de la soja que se siembra se inocula. Los incrementos en los rendimientos asociados a la inoculación en los cultivos de soja son variables y dependientes del suelo, por su capacidad de suministro de N y de la presencia o no de bacterias capaces de fijar N proveniente de cultivos anteriores. El aporte de N por esta vía oscila entre el 30 y el 94%, dependiendo de la calidad de la inoculación y el manejo posterior del cultivo (Hungría y Campo, 2004; Hungría y Campo, 2005; Peticari, 2005 a; Peticari, 2007; Salvagiotti *et al.*, 2008; Collino *et al.*, 2007; Racca, 2009)

La inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* permite, en promedio, aumentos de rendimientos de entre 200 y 900 kilogramos por hectárea en cultivos desarrollados en lotes con y sin historia sojera respectivamente (Martínez Lalis, 2000; Hungría *et al.*, 2006; Ferraris *et al.*, 2006). Si bien la mayoría de los suelos cultivados con soja presentan poblaciones naturalizadas de rizobios, abundan los estudios que muestran aumentos de aproximadamente el 8 % en los rendimientos al inocular anualmente el cultivo (Hungría *et al.*, 2006; Peticari, 2005 a).

Para el sudeste la provincia de Buenos Aires, se citan diferencias de 500 a 1000 kg de grano por hectárea por efecto de la nodulación en lotes en los que nunca se cultivó soja (Calviño *et al.*, 2004). En trabajos realizados en la provincia de Entre Ríos, se han encontrado incrementos que van desde alrededor de 100 a 300 kg en lotes en los que se ha realizado cultivo de soja con anterioridad, hasta 1400 kg por hectárea en lotes de bajos contenidos de materia orgánica y en los que nunca se cultivó soja (Benintende *et al.*, 1997). Los aumentos en los rendimientos están asociados a una mayor disponibilidad de N para el cultivo debido al aporte de este elemento que brinda esta asociación, si bien las plantas noduladas consumen parte de los fotosintatos que producen para mantener la bacteria asociada simbióticamente. El N que aportan

al cultivo estas bacterias está relacionado a la masa nodular formada por la asociación (Benintende *et al.*, 1997).

La FBN en el cultivo de soja comienza 30 días después de la siembra, aumenta hasta alcanzar un máximo durante el período reproductivo e inicio del llenado de los granos y disminuye a partir del estadio de desarrollo R5. Los requerimientos de N hasta floración son cubiertos mayormente a partir de la oferta edáfica, mientras que los aportes por FBN son muy importantes luego de la floración y durante el llenado de los granos (figura 1) (Zapata *et al.*, 1987).

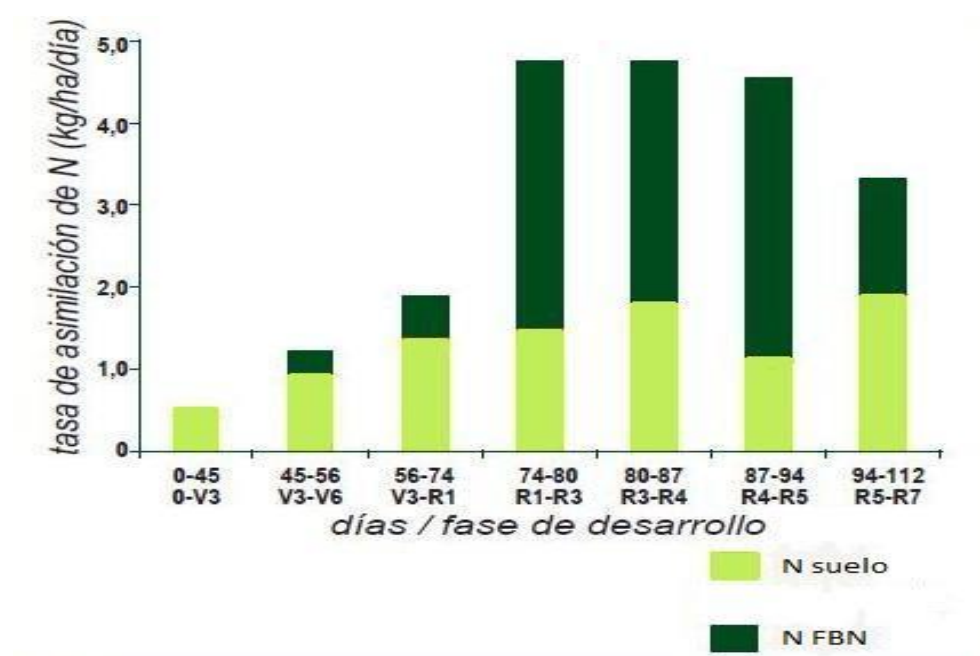


Figura 1: Nitrógeno proveniente del suelo y por FBN en el cultivo de soja (Zapata *et al.*, 1987).

En general, para la planta es más económico tomar N del suelo y/o fertilizante que de la FBN. A mayor presencia de N en el suelo menores posibilidades hay para la FBN y a la inversa, a menor presencia de N en el suelo hay más N de la FBN (figura 2) (Lett *et al.*, 1998; Racca, 2009).



Figura 2: Relación entre el N proveniente de la FBN y la disponibilidad inicial de nitratos en el suelo en el cultivo de soja (Herridge *et al.*, 2001. En: Ferraris y González Anta, 2007).

Al limitarse la FBN, el balance de N del suelo resulta negativo en extremo, porque convierte a la soja como neta exportadora del nutriente (Lett *et al.*, 1998). Considerando la superficie en que se siembra soja y su expansión, mejorar el balance de N en el cultivo es esencial para la sustentabilidad de nuestros sistemas de producción (Cardone y Martínez, 2004). El aprovechamiento de este potencial requiere de todos los componentes, desde la inoculación con rizobios efectivos, hasta el manejo del cultivo y el mejoramiento productivo del mismo, para permitir un alto suministro de N por la FBN hacia la planta (Peticari *et al.*, 2007).

En Argentina, la producción de soja se construye sobre la actividad de bacterias del género *Bradyrhizobium*, aportadas por los inoculantes o naturalizadas en el suelo. Si se efectúa una estimación conservadora, que considere que, en la integral de la superficie cultivada, la tasa de aporte de la fijación biológica del nitrógeno equivale al 50% del nitrógeno total acumulado en el cultivo, ésta arroja una cifra de 1,8 millones de toneladas de N ingresadas por esta vía. Este valor supera ampliamente la totalidad del consumo anual de fertilizantes nitrogenados en la Argentina que se ubica alrededor de 1,2 millones de toneladas de fertilizantes nitrogenados (Melgar, 2005), y que equivale a aproximadamente a 0,47 millones toneladas de N.

Las bacterias beneficiosas para las plantas pueden presentar diferentes mecanismos de interacción, pero en cualquier caso, el efecto final tiene que traducirse en un incremento en la producción. En este sentido la asociación de bacterias capaces de fijar nitrógeno en simbiosis con leguminosas es la más significativa ya que los beneficios son cuantificables y las leguminosas son la fuente proteica más importante para los países en desarrollo y la segunda fuente de alimentos a nivel mundial (Thuar *et al.*, 2012).

Desde un punto de vista práctico, distintos autores demostraron que cepas bacterianas pertenecientes a distintos géneros aumentaban la nodulación, el crecimiento y la fijación de N cuando se inoculaban junto con rizobios en distintas leguminosas (Groppa *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1996; Chanway *et al.*, 1989).

Los inoculantes disponibles en el mercado en los últimos años han incorporado además el agregado de microorganismos promotores del crecimiento (PGPR del inglés Plant Growth Promoting Rizobacteria). Las PGPR tienen efecto sobre plantas cultivadas, generando beneficios directos sobre éstas mediante la estimulación del crecimiento y mejoras en la nutrición nitrogenada y fosforada (García de Salamone *et al.*, 1990; Sarig *et al.*, 1990; de Freitas *et al.*, 1997).

Los mecanismos por los cuales estos microorganismos ejercen efectos benéficos sobre las plantas son numerosos. Entre ellos podemos mencionar la fijación de nitrógeno asociada a la raíz o libremente, producción de fitohormonas, incremento en la permeabilidad de la raíz, producción de sustancias movilizadoras de nutrientes, sideróforos, resistencia a estreses bióticos y abióticos.

Dentro del grupo de las PGPR se encuentran las bacterias del género *Azospirillum*, que presentan la capacidad de colonizar raíces y estimular el crecimiento radicular. La inoculación con esta bacteria constituye una herramienta económica y ecológicamente sustentable que se está difundiendo local e internacionalmente (Bashan *et al.*, 2004; Caballero-Mellado, 2004; Cassán y García de Salamone, 2008).

En un principio, estas bacterias fueron conocidas por su capacidad de fijar nitrógeno libremente, pero en la actualidad se reconocen otros mecanismos de promoción vegetal más importantes. Entre estos se destaca la producción y liberación de hormonas promotoras del crecimiento radical tales como ácido indol acético, citocininas (Tien *et al.*, 1979), giberelinas (Bottini *et al.*, 1989) y etileno (Strzelczyk *et al.*, 1994); así como de otras moléculas reguladoras del crecimiento vegetal, tales como el ácido abscísico (ABA) (Perrig *et al.*, 2007) y la diamina cadaverina (CAD) (Cassán *et al.*, 2003), de enzimas pectinolíticas distorsionando la funcionalidad de las células de las raíces y el aumento en la producción de exudados promoviendo al crecimiento de otros organismos rizosféricos. También se han descrito la

liberación de moléculas señal afectando el metabolismo de las células vegetales y desencadenando eventos que resultan en alteraciones, promoción y crecimiento de raíces y de la parte aérea de las plantas (Dobbelaere *et al.*, 2003). Si bien los conocimientos de los efectos de *Azospirillum* sp. sobre el crecimiento de abundantes especies cultivadas no es reciente, si lo es su utilización extensiva en condiciones de producción.

En experimentos en condiciones controladas y a campo se ha observado la estimulación de *Azospirillum* sp. provocando importantes cambios en la morfología del sistema radical (Tien *et al.*, 1979). La inoculación de diferentes cultivos con cepas de *Azospirillum* sp. provoca un aumento en el número y densidad de pelos radicales y un acortamiento en el tiempo de su aparición (Tien *et al.*, 1979; Morgenstern y Okon, 1987; Barbieri y Galli, 1993).

En experimentos a campo de inoculación con *Azospirillum* sp. se citan incrementos en los rendimientos desde 3 a 50% en aproximadamente dos terceras partes de los trabajos (Okon y Labandera- Gonzalez, 1994; Rodríguez Cáceres *et al.*, 2008).

Si bien la mayoría de los estudios con *Azospirillum* sp. se han realizado en gramíneas, existen trabajos donde se reportan efectos positivos en leguminosas y otros cultivos (Okon y Itzigsohn, 1995; Dardanelli *et al.*, 2008).

En cultivos de leguminosas, la aplicación dual de *Bradyrhizobium* sp. y *Azospirillum* sp. ha sido señalada como un área de investigación de interés, ya que existen trabajos en los que se han observado efectos positivos en producción de materia seca, en rendimiento en grano y contenido de N en leguminosas en comparación con inoculaciones con rizobios solamente (Burdman *et al.*, 1998; Gonzalez, 2006).

Los resultados positivos de la inoculación dual en leguminosas han sido atribuidos a la ocurrencia de una nodulación más temprana, incremento en el número de nódulos, mayores tasas de fijación de N e incrementos en el desarrollo radical en general.

Similar a lo observado en pastos y cereales, se encontró que la inoculación con *Azospirillum brasilense* en poroto y alfalfa promovía la formación de pelos radicales (Yahalom *et al.*; 1987). Cassán *et al.* (2009) también encontró que la coinoculación produjo un crecimiento positivo en distintos cultivos, particularmente en los estadios tempranos de desarrollo del vegetal. Uhrich y Benintende (2005) encontraron en la región noreste Argentina que la coinoculación de rizobios y azospirilos en un lote en el que se había realizado cultivo de soja con anterioridad, mostró efectos positivos en las variables peso y número de nódulos en los estadios fenológicos V4 y R4 de la escala desarrollada por Fehr y Caviness (1971).

En Argentina desde 1981 hasta 1996, se realizó en el Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA) dependiente del INTA-Castelar, un intenso programa cuyos

objetivos más importantes fueron seleccionar e identificar en el laboratorio, cepas de *Azospirillum* sp. potencialmente aplicables en agricultura y evaluar la capacidad de todas estas cepas seleccionadas de promover el crecimiento en especies cultivables (Toresani *et al.*, 2006). Actualmente se encuentran disponibles para los productores agropecuarios varias marcas de inoculantes comerciales con *Azospirillum* (Maddonni *et al.*, 2004). Sin embargo, aún es necesario ajustar la tecnología a fin de lograr su máxima eficiencia (Díaz-Zorita *et al.*, 2004) y reducir la variabilidad.

El fósforo es otro de los elementos que con frecuencia limita la producción de los cultivos y son varios los microorganismos asociados a aportes a la nutrición fosfatada de las plantas. Entre estos se encuentran bacterias de los géneros *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium* y *Pseudomonas*, algunas levaduras y algunos hongos tales como *Penicillium* y *Aspergillus* cuyos aportes a la nutrición con fósforo se describe según mecanismos básicos de solubilización del fósforo mineral: acidificación y presencia de enzimas fosfatasas (Coyne, 1999). Dentro del género bacteriano *Pseudomonas* se encuentran especies con potencialidad para ser consideradas promotores del crecimiento de las plantas (Kloepper *et al.*, 1993). Además, se ha descrito que la promoción del crecimiento de las plantas inducida por *Pseudomonas* podría también asociarse a la producción de algunas fitohormonas y a la protección sanitaria al liberar antibióticos y otros metabolitos antagonistas de hongos patógenos. Algunos estudios sugieren que el tratamiento con *Pseudomonas* controla o reduce en maíz la ocurrencia de enfermedades causadas por *Phytium* sp., *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. (Pandey *et al.*, 2001).

Pseudomonas fluorescens y *Pseudomonas Chlororaphis* han sido utilizadas con fines agronómicos en nuestro país, en ese orden de importancia. Los efectos atribuidos a este grupo bacteriano pueden resumirse en una acción de biocontrol, la secreción de sustancias inductoras y la solubilización de nutrientes. En ensayos realizados en el centro norte de Buenos Aires y sur de Santa Fe en soja, se cuantificó un incremento del rendimiento de 8,4 % en la práctica de inoculación con *Pseudomonas* (Ferraris, 2009).

En soja, la coinoculación de *Pseudomonas fluorescens* 2137 y *Bradyrhizobium japonicum* A1047 incrementó la colonización de *B. japonicum* A1047 en las raíces, el número de nódulos y la actividad de reducción del acetileno (ARA); se cree que *P. fluorescens* 2137 podría liberar sustancias que estimulen el crecimiento de la población rizobiana (Chebotar *et al.*, 2001).

En Argentina se han llevado a cabo experimentos a campo que avalan los efectos de las coinoculaciones. Así por ejemplo, la inoculación de semillas de maíz con *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*, producen un aumento en el contenido de fósforo de las plantas, esta mayor concentración puede ser debido a un aumento de la biomasa radical inducida

por *A. brasilense* y por lo tanto mayor exploración del suelo, y a la solubilización del fósforo del suelo que promueve *P. fluorescens* (Garetto y Thuar, 2012).

El objetivo de la inoculación es lograr el establecimiento de una población de rizobios en la rizosfera de las plantas de soja suficientes para la infección, y posterior nodulación, del huésped con cepas efectivas de FBN. La aplicación de los rizobios en tratamientos de semillas es una de las alternativas más eficientes de inoculación aunque, en las condiciones actuales de producción ocurren potenciales limitaciones para su uso efectivo. La inoculación en el surco de siembra resulta una alternativa interesante cuando se quiere proteger a la bacteria de los efectos deletéreos, con respuestas similares al tratamiento sobre la semilla siendo que es necesario incrementar las dosis a razón de 4 a 5 veces la dosis/ha del tratamiento de semilla (Baliña *et al.*, 2006). El tratamiento de las semillas requiere de la incorporación de mejoras tanto en la formulación de los inóculos como en el proceso de aplicación.

Los inoculantes están integrados por un soporte formulado sobre el que se conservan en forma activa las bacterias que luego serán aplicados sobre las semillas antes o durante su siembra. Estos productos contienen básicamente bacterias seleccionadas por su especificidad, infectividad, efectividad y capacidad de producción en escala industrial. La FBN es un proceso particularmente sensible a las perturbaciones ambientales, la ocurrencia de estrés (hídricos o térmicos) en los primeros días de implantación del cultivo condicionará el tipo de cepas de rizobios que formarán los nódulos y su ubicación en las raíces que, a su vez, influirá sobre la eficiencia del sistema de FBN (Racca y Collino, 2005). Las cepas de *Bradyrhizobium japonicum* con que se formulan los inoculantes para soja son objeto de estudio permanente y, bajo convenios de investigación específicos, se están seleccionando nuevas cepas procurando una alta competitividad y eficiencia en FBN para mejorar la performance actual de inoculantes comerciales (Ferraris *et al.*, 2006).

El buen uso de los inoculantes procura proveer, en el ambiente rizosférico durante la aparición de las raíces, una alta carga de rizobios contribuyendo a la formación de nódulos de cepas del inoculante con eficiente capacidad de FBN. Los problemas más comunes que ocurren durante la inoculación son aplicaciones en dosis inferiores a las recomendadas, determinando menor número de bacterias en la semilla; exposición del inoculante a altas temperaturas durante el tratamiento de la semilla, lo que disminuye drásticamente la viabilidad de las bacterias; exposición a condiciones ambientales desfavorables que provocan estrés hídrico y térmico; mantenimiento y regulación ineficiente de equipos; altas cargas y alto tiempo de mezclado; y operaciones realizadas por usuarios (aplicadores) desinformados. (Peticari, 2005 a; Nitragin Argentina). Otro de los factores de estrés a los que se exponen las bacterias del inoculante ocurre

al ser aplicadas sobre las semillas en forma conjunta con curasemillas (fungicidas, insecticidas, micronutrientes), práctica ampliamente difundida en los sistemas de producción de soja. Reducciones en hasta el 70% de las células bacterianas y en la nodulación bajo condiciones de campo se reportan sólo con 2 horas de contacto de inoculantes con algunos fungicidas (Hungria *et al.*, 2006).

Un estudio realizado por Nitragin Argentina sobre 1154 casos relevados en las últimas ocho campañas, observó que en los casos en los cuales la inoculación arrojó respuestas regulares a malas (46% de la muestra) presentaban fallas en el tratamiento de la semilla. Como contrapartida, los casos de respuestas exitosas (el 54% restante) eran aquellos que contaban con una buena calidad de aplicación. Algo similar ocurre en Entre Ríos donde la tasa de adopción de la técnica de inoculación es muy alta, sin embargo aún se observan problemas en los lotes asociados a fallas en la nodulación de las plantas de soja. (Arias, 2010)

Cada planta inoculada se nutre a sí misma; por eso es muy importante el factor de la calidad de la aplicación (Díaz-Zorita *et al.*, 1999).

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

Los protectores bacterianos son sustancias, por lo general hidratos de carbono, que nutren a la bacteria y la protegen de la desecación en el período que transcurre desde el tratamiento hasta la llegada de la semilla al suelo (Ferraris *et al.*, 2006).

Estos protectores también han permitido reducir la mortalidad bacteriana cuando se emplean fungicidas e insecticidas curasemillas sobre estas (Montero y Sagardoy, 2003, Montero y Sagardoy, 2005), con significativos incrementos del rendimiento (Micucci *et al.*, 2009; Micucci *et al.*, 2010; Ferraris *et al.*, 2010). Por último, en situaciones de campo muchas veces no es posible realizar convenientemente la inoculación, por falta de equipamiento, tiempo, condiciones climáticas o por no contar con personal calificado; en estos casos es sumamente útil contar con protectores bacterianos en semilla tratada anticipadamente.

La coinoculación (aplicación conjunta de rizobium y microorganismos PGPR), la detección de nuevas cepas y el desarrollo de mejores protectores bacterianos son parte de las tendencias de mediano plazo para el mejoramiento del aprovechamiento de los beneficios de la práctica de inoculación en sistemas eficientes de FBN en soja. (Ferraris *et al.*, 2006)

Hasta el momento es poca la información a nivel nacional que permite estimar el impacto en el cultivo de soja a nivel de producción cuando se realizan las prácticas de coinoculación con

cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense* y el uso de protectores bacterianos. Por esta razón existe la necesidad de definir en forma precisa su efecto en la producción, de tal modo que sumar los potenciales de los microorganismos antes mencionados en conjunto con el uso de protectores para los mismos sean sistemáticamente positivos.

Todo lo mencionado arriba justifica la inversión de esfuerzos para ampliar y profundizar el conocimiento de este tema.

HIPOTESIS

El uso de protectores bacterianos en la coinoculación con *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense* en soja producen aumentos en la producción del cultivo.

OBJETIVO GENERAL

Contribuir a la producción del cultivo de soja mediante el uso de protectores bacterianos en la coinoculación con *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar el efecto de protectores bacterianos en el peso seco aéreo y radical en los diferentes tratamientos a los 60 y 90 días después de siembra cuando el cultivo se encuentre en floración y llenado de granos respectivamente (estadios fenológicos R2 y R6 respectivamente).
- Evaluar el efecto de protectores bacterianos en el peso seco y número de nódulos en los diferentes tratamientos a los 60 y 90 días después de siembra.
- Evaluar el efecto de protectores bacterianos en el rendimiento en granos y los componentes del mismo (número de granos por superficie y peso de los 100 granos) en madurez fisiológica del cultivo (estadio fenológico R8).
- Determinar el contenido de nitrógeno en grano (producción) por el método de Kjeldahl modificado de cada tratamiento.

MATERIALES Y METODOS

A - CARACTERIZACION DEL SITIO EXPERIMENTAL

La experiencia se desarrolló en el campo experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto (33°07' Latitud Sur, 64°14' Longitud Oeste, 421 m. s.n.m), que se encuentra ubicada sobre la Ruta Nacional N° 36, Km 601, Río Cuarto, Córdoba.

El clima del sitio experimental, está caracterizado por un régimen de precipitaciones monzónico, que concentra el 80% de las lluvias en el período de octubre a abril. La precipitación media anual es de 784 mm para la serie 1981-2010 (Servicio de Agrometeorología, 2012).

El régimen térmico es mesotermal. La temperatura media del mes más cálido (enero) es de 22,4 °C con una máxima absoluta de 41.6 °C. La temperatura media del mes más frío (julio) es 9.9 °C, con una mínima absoluta de -11.6 °C. La amplitud térmica media anual es de 12.5 ° C (Servicio de Agrometeorología, 2012). La fecha media de la primera helada es el 25 de mayo y de la última helada es el 12 de septiembre, siendo el período libre de heladas en promedio de 255 días (Seiler *et al.*, 1995).

El suelo sobre el cual se realizó el ensayo está clasificado como Hapludol típico, franco arenoso muy fino (Cantero *et al.*, 1986). Para establecer los requerimientos de fertilización se realizó un análisis de suelo que consistió en la toma de muestras de los primeros 40 cm. de profundidad utilizando transectas (discriminando submuestras de 0-20 cm y 20-40 cm de profundidad) para analizar las propiedades físico-químicas del suelo midiendo los siguientes parámetros: pH y conductividad eléctrica (1:2,5 suelo/agua) (Mc Lean, 1982); Materia orgánica (Método Walkley – Black, 1934); Fósforo (Bray y Kurtz, 1945); N-NO₃ por el método de reducción de cadmio (Lambert y Dubois, 1971). En la tabla 1 se resumen las características generales del sitio experimental.

Tabla 1: Características generales del sitio experimental.

SITIO	Campo Experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto
Tipo de suelo	Hapludol típico
Textura del suelo	Franco arenoso muy fino
Sistema de labranza	Siembra directa
Cultivo antecesor	Maíz
Historia de inoculación	Si
P del suelo (ppm)	16,45
N-N03 (0-20 cm) (ppm)	13,67
N-N03 (20-40 cm) (ppm)	16,90
NO3 (0-20 cm) (ppm)	60,55
NO3 (20-40 cm) (ppm)	74,87
MO (%)	1,65
Fertilización	120 kg urea en el tratamiento que corresponda.
Ph (0-20 cm)	6,7
Ph (20-40 cm)	6,7
Conductividad eléctrica 1:1 (mmho/cm) (0-20 cm)	0,123
Conductividad eléctrica 1:1 (mmho/cm) (20-40 cm)	0,102
Humedad acumulada hasta 1,6 m. de profundidad (mm) *	158

*DAP: 1,3 – Humedad CC: 24,8 % v_v – Humedad PMP: $\frac{1}{2}$ CC (Atlas de Suelos de la Provincia de Córdoba)

B - CULTIVAR

Soja variedad Don Mario 4210 (Grupo IV corto).

C - CEPAS

- *Bradyrhizobium japonicum* E109 (INTA_IMYZA) como cepa de referencia.
- *Pseudomonas fluorescens*.
- *Azospirillum brasilense*.

D - PROTECTOR

Bioprotector de uso comercial.

E - FERTILIZANTE

Urea granulada incorporada al costado de la línea de siembra.

F - TRATAMIENTO DE SEMILLAS

Las cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense* empleadas se formularon como inoculantes líquidos, siguiendo procedimientos estándares del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 1988). El número de microorganismos por mililitro de inoculante es del orden de 10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC/ml) para *Bradyrhizobium japonicum*, de 10^{10} UFC/ml para *Pseudomonas fluorescens* y para *Azospirillum brasilense* 10^9 UFC/ml.

Los inoculantes fueron aplicados a la semilla previo a la siembra. En el tratamiento de coinoculación se aplicó un inoculante constituido por la mezcla de las cepas individuales. Las dosis utilizadas de cada producto para realizar el tratamiento de semilla fueron las siguientes:

- Tratamiento con *Bradyrhizobium japonicum*: 50 ml. cada 100 kg. de semilla
- Tratamiento con *Pseudomonas fluorescens*: 50 ml. cada 100 kg. de semilla
- Tratamiento con *Azospirillum brasilense*: 20 ml. cada 100 kg. de semilla
- Tratamiento con Bioprotector: 25 ml. cada 100 kg. de semilla

En todos los casos se utilizó agua destilada hasta completar 500 ml de caldo cada 100 kg de semilla.

G – DESCRIPCION DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS

T 1 - C: Control: sin inocular ni fertilizar.

T 2 - N: Fertilización nitrogenada: se aplicó urea (fertilizante nitrogenado) en una dosis total de 120 kg/ha a la siembra.

T 3 - I: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109*.

T 4 - I+PF+AB: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109*, *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*.

T 5 - I+PF: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109* y *Pseudomonas fluorescens*.

T 6 - I+AB: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109* y *Azospirillum brasilense*.

T 7 - I + PB: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109* y protector bacteriano.

T 8 - I+PF+AB+PB: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109*, *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense* y protector bacteriano.

T 9 - I+PF+PB: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109* y *Pseudomonas fluorescens* y protector bacteriano.

T 10 - I+AB+PB: Inoculado con cepas de *Bradyrhizobium japonicum E109* y *Azospirillum brasilense* y protector bacteriano.

H - DISEÑO EXPERIMENTAL DEL ENSAYO

Los tratamientos se asignaron en un diseño experimental de bloques completos al azar con diez tratamientos y tres repeticiones. El tamaño de las parcelas fue de 30 metros de largo y 7 surcos de ancho distanciados a 0,52 metros. El sistema de labranza utilizado fue siembra directa con antecesor de maíz y el desarrollo del cultivo fue bajo condiciones de secano. En la tabla 2 se muestra un esquema de distribución de los tratamientos a campo.

Tabla 2: Esquema de distribución de los tratamientos.

Parcela	Bloque A	Bloque B	Bloque C
1	T1	T5	T10
2	T2	T7	T5
3	T3	T10	T2
4	T4	T1	T7
5	T5	T9	T3
6	T6	T2	T8
7	T7	T6	T1
8	T8	T4	T9
9	T9	T8	T4
10	T10	T3	T6

I - SIEMBRA Y FERTILIZACION

La siembra del cultivo se realizó el día 22 de noviembre del 2011 con una sembradora AGROMETAL de 9 surcos distanciados a 0,525 metros entre si, con sistema de dosificación neumática. Se utilizaron 85 kg de semilla/ha de modo de lograr una densidad de 40 plantas por m² (17 gramos cada 100 semillas, con un 80 % de establecimiento).

De acuerdo al análisis de suelo realizado no se realizó fertilización con fósforo. En cuanto a nitrógeno solo se realizó fertilización en el tratamiento 2, la que consistió en aplicar 120 kg/ha de urea (46% N) a la siembra incorporados al costado de la línea.

J - EVALUACIONES REALIZADAS

En las etapas fenológicas R2 (plena floración) y R6 (máximo tamaño de semillas) se tomaron muestras de plantas de cada tratamiento y repetición para determinar:

- Número y peso seco de nódulos por planta y superficie: los nódulos fueron secados en estufa a 70 °C hasta peso constante.
- Peso seco de raíz y de parte aérea por superficie. Las muestras fueron secadas en estufa a 70 °C hasta peso constante.

En la etapa fenológica R8 (madurez fisiológica) se tomaron muestras de plantas de cada tratamiento y repetición para determinar:

- Rendimiento en grano por superficie: el rendimiento se expresó en kilogramos por hectárea en base a los componentes del mismo, es decir número de granos por superficie y peso de los 100 granos.

Luego de realizada la evaluación de rendimiento se tomaron muestras de granos (producción) de cada tratamiento para determinar:

- Contenido de proteína por medio de la cuantificación de nitrógeno en grano por el método de Kjeldahl modificado (Nelson y Sommers, 1973).

Para los muestreos se descartaron surcos de bordura, y se trabajó sobre surcos centrales de cada parcela. El procedimiento fue extraer las plantas que se encontraban en medio m² de superficie (95,23 cm. de surco), realizándose 3 repeticiones por cada parcela.

El análisis de contenido proteico de granos se realizó por duplicado sobre muestras formada por granos de todas las repeticiones de cada tratamiento juntas por razones de costo económico de cada análisis.

K - ANALISIS DE DATOS

Con los datos obtenidos se realizó el correspondiente análisis estadístico a través de ANOVA (análisis de varianza) y las medias comparadas con la prueba de DGC con un nivel de significancia de 5 % ($p=0,05$). Se utilizó la prueba de Shapiro - Wilks para probar la normalidad de los errores. Para probar la homogeneidad de las varianzas se realizó la prueba de Levene (Di Renzo *et al.*, 2012). El análisis estadístico se realizó usando el programa InfoStat (InfoStat, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSION

CARACTERISTICAS PARTICULARES DE LA CAMPAÑA 2011-2012

La sequía que ha ocurrido en buena parte de territorio nacional para la pasada campaña 2011-2012, ha generado un significativo impacto en el rendimiento potencial de los cultivos. La región sur de Córdoba no fue la excepción. Se registraron en simultaneo dos eventos vinculados al fenómeno de la sequía: a) la ausencia casi total de precipitaciones durante los meses de diciembre y enero (cuando lo esperado está en el orden de los 200 mm) y b) un incremento de las temperaturas por encima de lo normal (Seiler, 2012).

En el ciclo del cultivo las precipitaciones fueron menores a los promedios históricos, con una precipitación acumulada de 408 mm del 22 noviembre (momento en que se realizó la siembra) hasta el 4 de abril (día en que se realizó la evaluación de rendimiento) (figura 3).

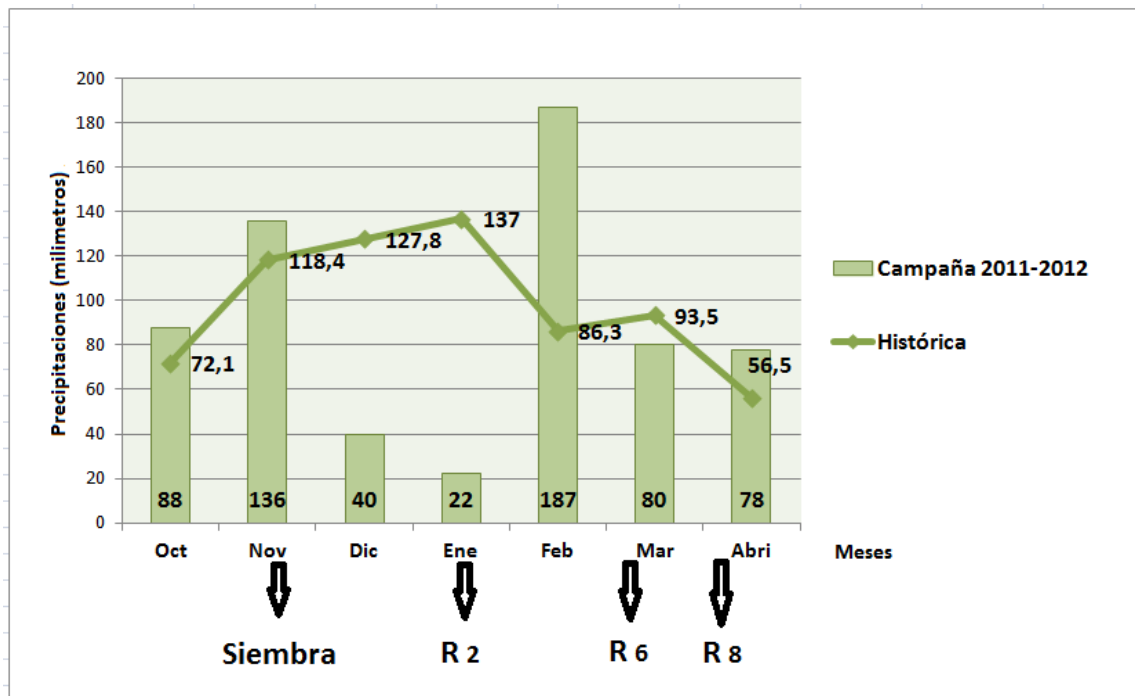


Figura 3: Precipitaciones medias mensuales históricas y ocurridas durante la campaña 2011-2012 en Río Cuarto (Servicio de Agrometeorología, 2012).

El incremento de las temperaturas, fenómeno vinculado al cambio climático, fue en promedio 2,4 °C durante los meses de diciembre y enero (figura 4). Ello produjo un incremento en la Evapotranspiración (ET) que, sumado a la falta casi total de precipitaciones durante

diciembre y enero, desencadenó trastornos fisiológicos que afectó el rendimiento potencial de los cultivos y, en los casos más severos, determinó la muerte de plantas.

Durante el ciclo del cultivo hubo 88 días en que la temperatura superó los 30 °C, 34 días los 35 °C, 18 días los 37 °C y 12 días en los que superó los 38 °C

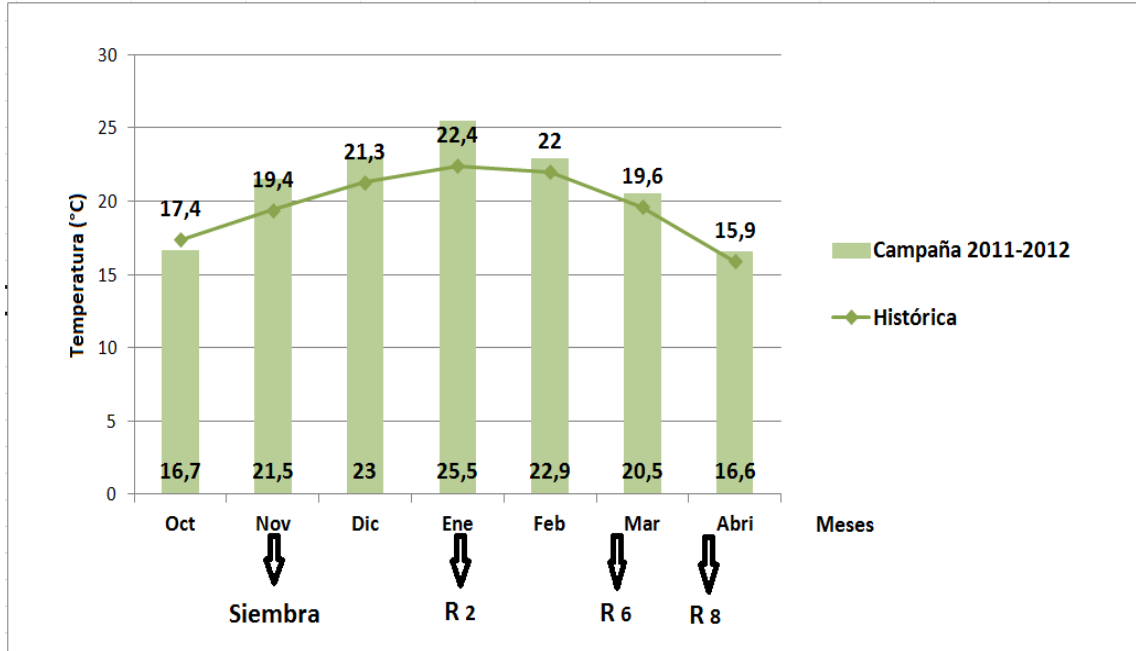


Figura 4: Temperaturas medias mensuales históricas y ocurridas durante la campaña 2011-2012 en Río Cuarto (Servicio de Agrometeorología, 2012).

Los datos informan que en el período estudiado además de menores precipitaciones hubo un significativo incremento de la ET (tabla 3).

Tabla 3: Datos registrados por la estación meteorológica Adcon Telemetry localizada en el CAMDOCEX FAV.

	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2011-2012
Lluvia (mm) acumulada 01-Jul al 15-Feb	552	486	614	400
ET (mm) acumulada del 01-Sep al 15-Feb	854	838	862	1011

El ciclo analizado presenta claras diferencias con respecto a los valores históricos. En primer lugar, las lluvias registradas durante el inicio de la primavera (octubre y noviembre) fueron levemente superiores a la de los valores promedios. En segundo lugar durante diciembre y enero las lluvias no superaron los 70 mm (cuando lo esperado es más de 250 mm) y las temperaturas fueron superiores a los valores normales lo que causó el aumento de la demanda atmosférica (a valores con intensidad histórica) que acentuó el déficit hídrico. Por último durante

el mes de febrero las lluvias duplicaron los valores históricos pero no lograron revertir la situación pasada.

Síntesis de los aspectos climáticos:

Estrés térmico: causante de daños foliares, florales y frutos.

Déficit hídrico: causante de una sensible merma de rendimiento por la alta ET, escasas precipitaciones y baja disponibilidad de agua del suelo.

DETERMINACIONES EN ESTADIO FENOLOGICO R 2

Las determinaciones en el estadio fenológico R2 se realizaron el día 17 de enero del año 2012.

1 – NUMERO DE NODULOS

Se puede observar en la figura 5 como en el número total de nódulos por planta hubo diferencias estadísticas a favor de aquellos tratamientos que tenían algún tipo de inoculación en la siembra (T3 a T10) y del testigo sin fertilizar (T1), con respecto al tratamiento testigo con fertilización (T2).

La nodulación en los tratamientos inoculados (T3 a T10) fue similar que en el control sin inocular ni fertilizar (T1), esto puede deberse a que los ensayos se desarrollaron en sitios con antecedentes de cultivos de soja y supuesta presencia de cepas naturalizadas de *Bradyrhizobium japonicum*.

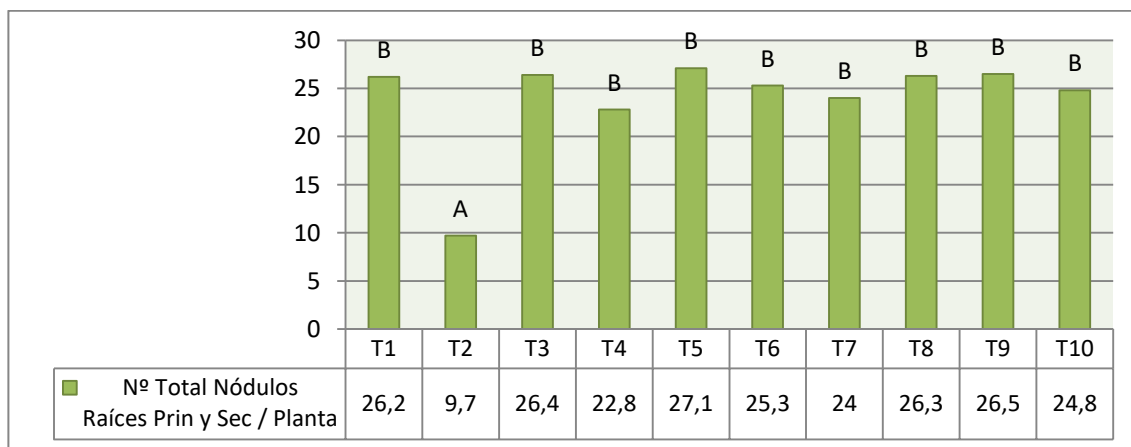


Figura 5: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

En la figura 6 se observa como en el número total de nódulos por superficie hubo diferencias estadísticas a favor de todos los tratamientos que tenían algún tipo de inoculación en la siembra (T3 a T10) con respecto al tratamiento testigo con fertilización (T2). Además no existen diferencias entre el testigo sin fertilizar (T1) y aquellos tratamientos que tenían algún tipo de inoculación en la siembra exceptuando el tratamiento con coinoculación con *Pseudomonas fluorescens* (T5) que fue el que tuvo estadísticamente el valor de nódulos por superficie mayor con respecto a los demás tratamientos.

Chebotar *et al.* (2001) también observó que la coinoculación con *P. fluorescens* incrementó la colonización de *B. japonicum* en las raíces y el número de nódulos formados.

Pseudomonas es un microorganismo que aporta a la nutrición fosfatada mediante diferentes mecanismos asociados a la solubilización del fósforo mineral (Coyne, 1999); teniendo el P entre sus múltiples efectos, el de incrementar la nodulación (De Mooy y Pesek, 1966). El fósforo influencia el desarrollo de los nódulos a través de sus funciones básicas en las plantas ya que provee el mecanismo de almacenamiento de energía en la forma de ATP, estimula del crecimiento radicular, favoreciendo la nodulación por mayor crecimiento de pelos radicales. Además un adecuado nivel de fósforo favorece el proceso de fotosíntesis, el transporte de azúcares y otras importantes funciones que influyen directamente o indirectamente la fijación de N en las leguminosas. (Date, 2000; Balaña y Díaz- Zorita, 2006).

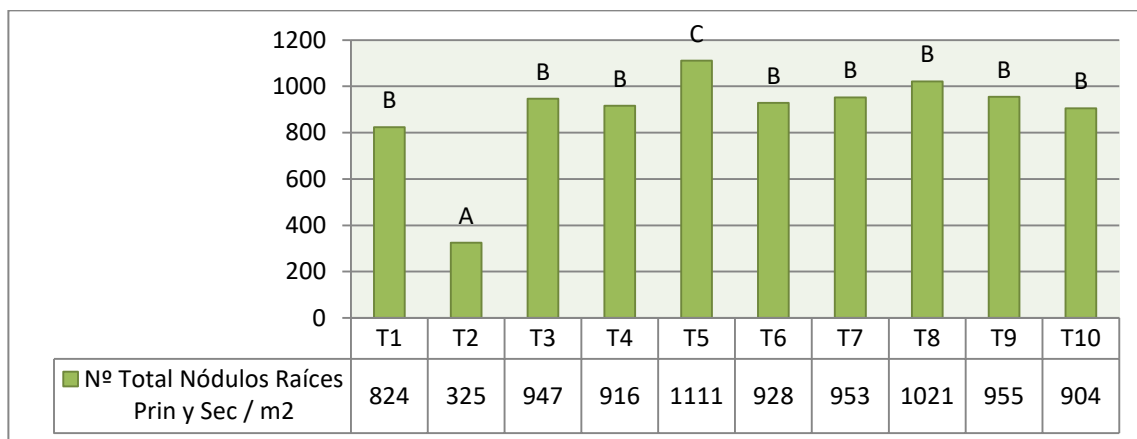


Figura 6: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Al analizar los resultados anteriores se ve que en todos los tratamientos menos el 2 se observó un número de nódulos adecuado del cultivo, lo que se relaciona a un bajo contenido de nitratos en el suelo que no impidió el establecimiento de la simbiosis. Estos resultados

evidenciaron que la nodulación responde a condiciones edáficas particulares, especialmente relacionadas a la deficiencia de nitrógeno (González *et al.*, 1998; Fernández Canigia, 2003; Racca, 2003). Altos niveles de nitratos en el suelo pueden inhibir tanto la formación de nuevos nódulos como la actividad de los nódulos ya formados (Zhang y Smith, 2002).

El bajo número de nódulos formados en el tratamiento 2 se debe a una inhibición a causa del aporte de N por parte del fertilizante. La presencia de N en el suelo aportado por la fertilización afecta drásticamente los rendimientos de la fijación biológica debido a que la planta prefiere el N del suelo al N de la atmósfera aportado por la FBN, es decir estas dos fuentes aunque complementarias y necesarias para un máximo rendimiento, no son aditivas.

En particular, la simbiosis rizobios - leguminosa es la adaptación al desequilibrio de nitrógeno, por esa razón los suelos ricos en N dificultan la simbiosis y los suelos pobres en N la facilitan. Los suelos agrícolas, usualmente deficitarios en N posibilitan simbiosis muy eficientes. Las dos fuentes de N atmosférico y del suelo, como se mencionó, son complementarias para lograr un máximo rendimiento.

La FBN, muy económica para el hombre, es muy cara en términos de energía para la planta, es decir existe total dependencia entre el aprovisionamiento de energía y la reducción del N atmosférico a N amoniacal dentro de los nódulos, es por ello que la planta regula el número de nódulos que puede soportar. Así los nódulos de los rizobios actúan como simples bacteroides productores de NH_4 dejando a la planta pagar el costo de la asimilación.

Como la asimilación es energéticamente más cara que la absorción de N del suelo, las leguminosas desarrollaron mecanismos fisiológicos que permiten disminuir o anular la FBN ante suficiente N mineral en el suelo. Debido a estos mecanismos, cuando hay suficiente N disponible en el suelo, la FBN tiende a cero. En ausencia de N se produce el desbloqueo de estos mecanismos y se restablece la FBN.

En síntesis, mientras el sistema de cultivo es pobre en N, las leguminosas lo aportan a través de la FBN al mismo; por el contrario, en sistemas ricos en N, las leguminosas lo extraen del suelo.

En las figuras 7, 8, 9 y 10 se observa el número de nódulos en raíz primaria y raíces secundarias en cada planta y por superficie, donde ocurre un comportamiento similar al del análisis del número total de nódulos por planta, es decir hubo diferencias a favor de los tratamientos que tenían algún tipo de inoculación en la siembra (T3 a T10), no observándose diferencias entre estos y el testigo sin fertilizar (T1), en relación al tratamiento testigo con fertilización (T2).

Como se mencionó anteriormente el bajo número de nódulos formados en el tratamiento 2 se debe a una inhibición a causa del aporte de N por parte del fertilizante.

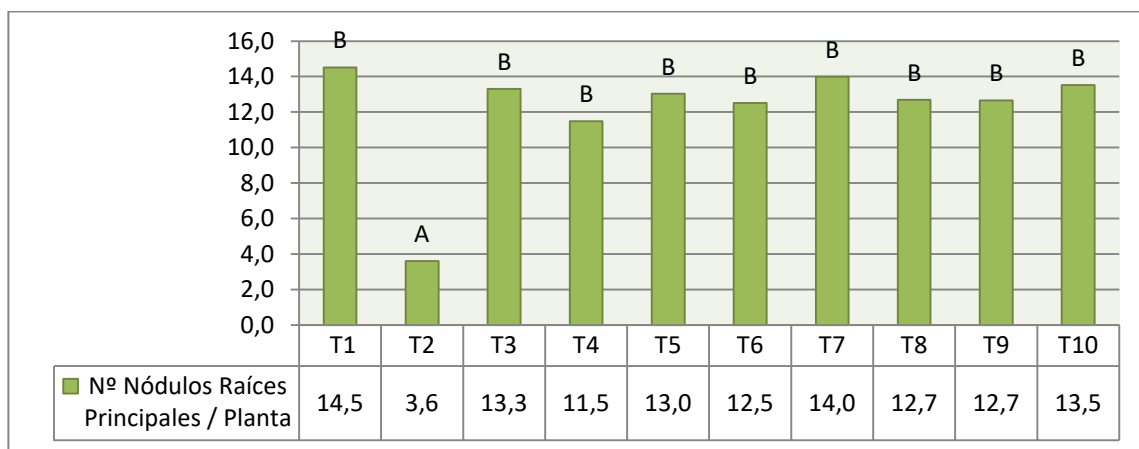


Figura 7: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

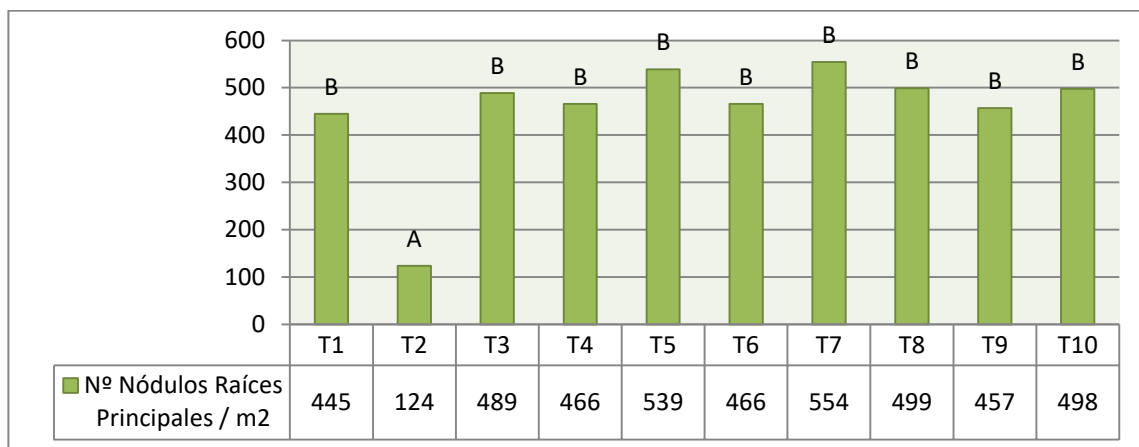


Figura 8: Número de nódulos en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

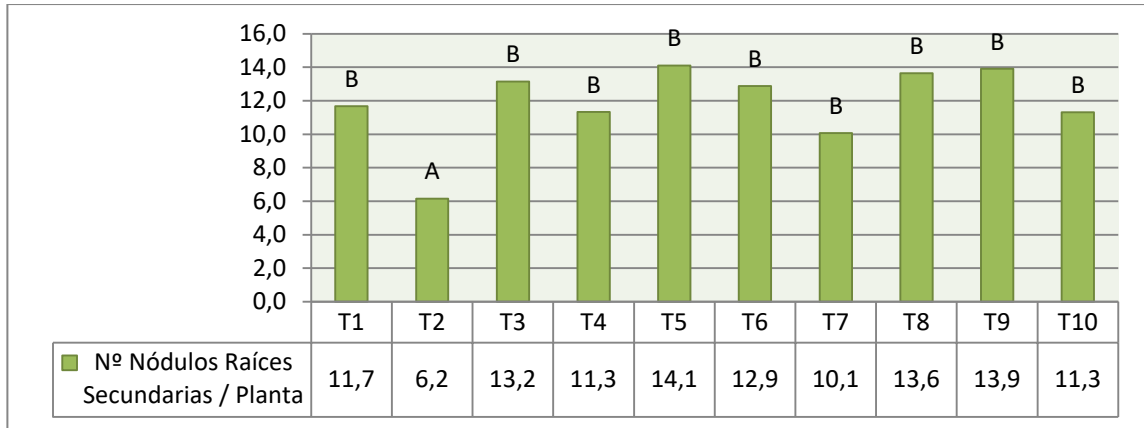


Figura 9: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

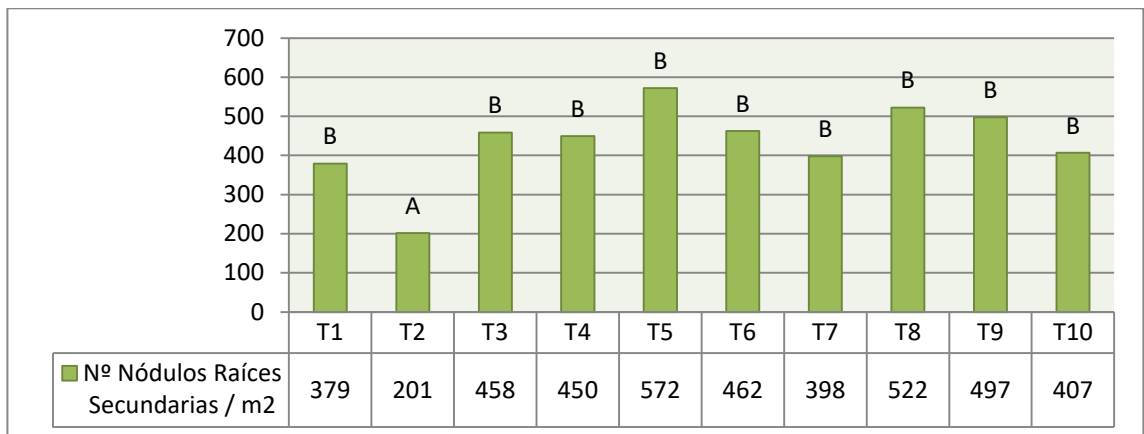


Figura 10: Número de nódulos en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Es importante realizar un análisis diferencial de los nódulos ya que la capacidad de fijación de los mismos también lo es. Aquellos de la raíz primaria fijan más N que los situados en la raíz secundaria. Para la soja en particular, ante condiciones no estresantes, los nódulos se ubican en la raíz primaria, mientras que en condiciones estresantes los nódulos se ubican en la raíz secundaria (Racca, 2002).

Como en el caso analizado los tratamientos estuvieron bajo similares condiciones la distribución de los nódulos entre la raíz primaria y las secundarias fue similar.

2 – PESO DE NODULOS

Es de suma importancia realizar un análisis de la biomasa nodular ya que se sabe que los nódulos de las leguminosas producen hasta 10 veces su propio peso de N por día.

Se puede ver que el peso de nódulos (figura 11) en esta primera evaluación, presentó valores mayores en los tratamientos con algún tipo de inoculación (T3 a T10) y en el testigo sin fertilización (T1) respecto del tratamiento testigo con fertilización (T2).

Esta diferencia se debe a la menor nodulación del tratamiento fertilizado explicada anteriormente.

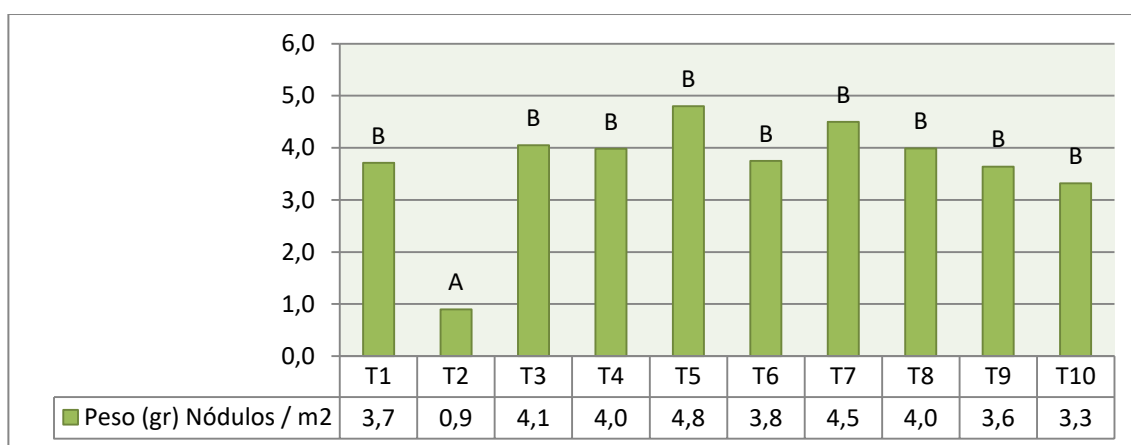


Figura 11: Peso de nódulos (gr) en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Al realizar un análisis de la biomasa nodular observando por separado aquella correspondiente a la raíz primaria (figura 12) y a las raíces secundarias (figura 13) se encontró un comportamiento similar al de la biomasa total.

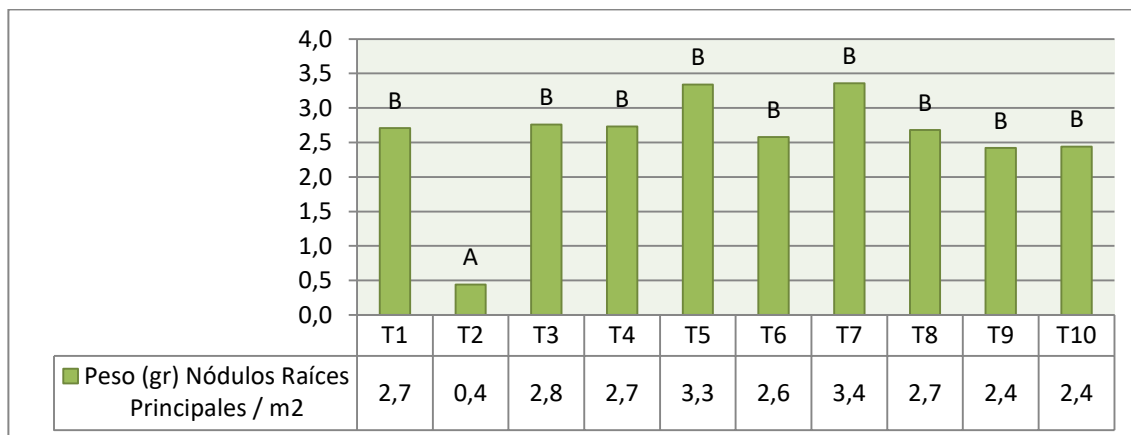


Figura 12: Peso de nódulos (gr) en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

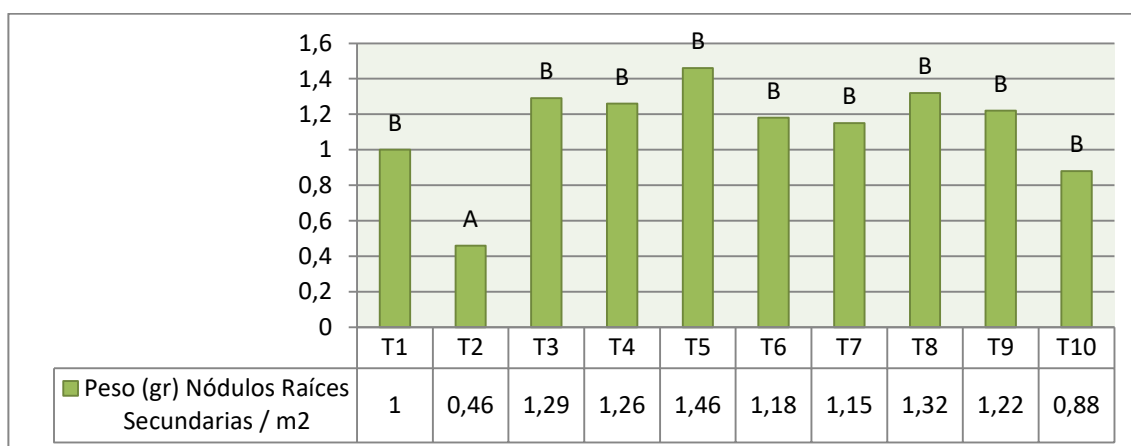


Figura 13: Peso de nódulos (gr) en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Es importante realizar este análisis ya que a igual peso de nódulos, los de la raíz primaria fijan 10 veces más N que los situados en la raíz secundaria (36.0 vs 2.9 mg/hora) (Racca, 2002).

Se observan diferencias en los valores de biomasa de nódulos primarios en relación a los de nódulos secundarios, en donde los primeros duplican en biomasa en todos los tratamientos, excepto el T2, a la biomasa de nódulos de raíces secundarias. En el tratamiento 2 los valores de biomasa para nódulos de raíces primarias y secundarias fueron similares (figura 12 y 13).

Al analizar el peso individual de los nódulos (figura 14 y 15) se observa que solo existen diferencias estadísticamente significativas en los nódulos de las raíces primarias, no observándose diferencias en el peso individual de los nódulos de las raíces secundarias.

El tratamiento testigo con fertilización tuvo los menores valores de peso individual por nódulo de la raíces primarias con diferencias significativas.

Se puede ver además que el peso de los nódulos de raíces primarias es superior al de los nódulos de raíces secundarios.

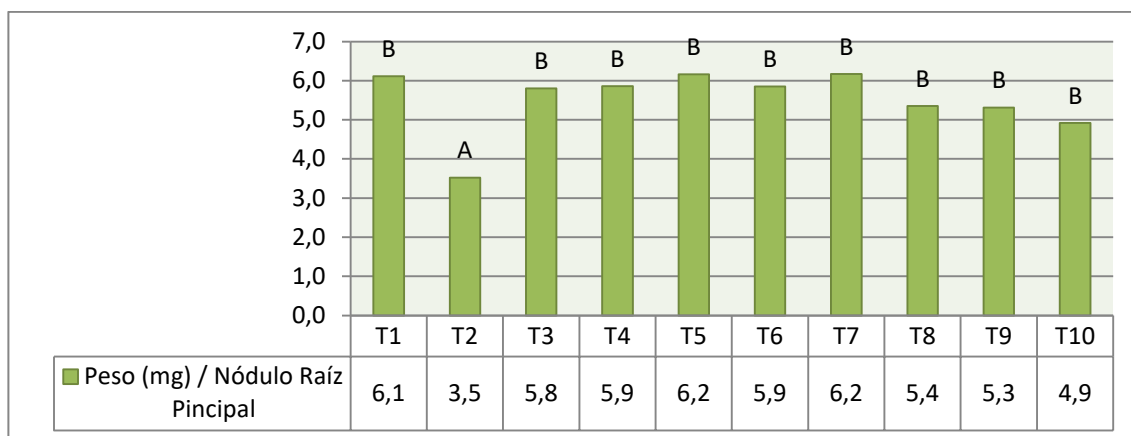


Figura 14: Peso por nódulo (mg) de las raíces principales en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

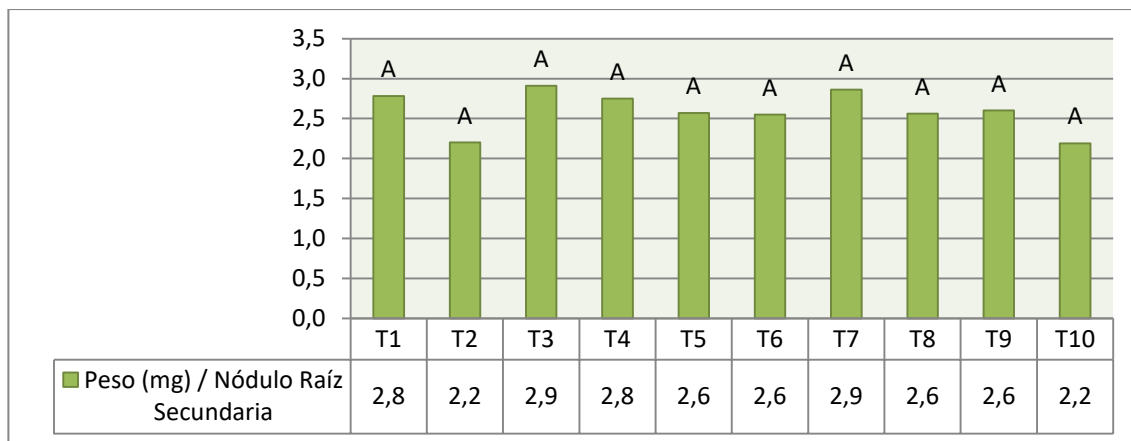


Figura 15: Peso por nódulo (mg) de las raíces secundarias en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Cuando se observa que sucede con el peso por nódulo promedio (figura 16), el tratamiento 2 posee el menor peso sin diferencias estadísticamente significativas a los demás tratamientos.

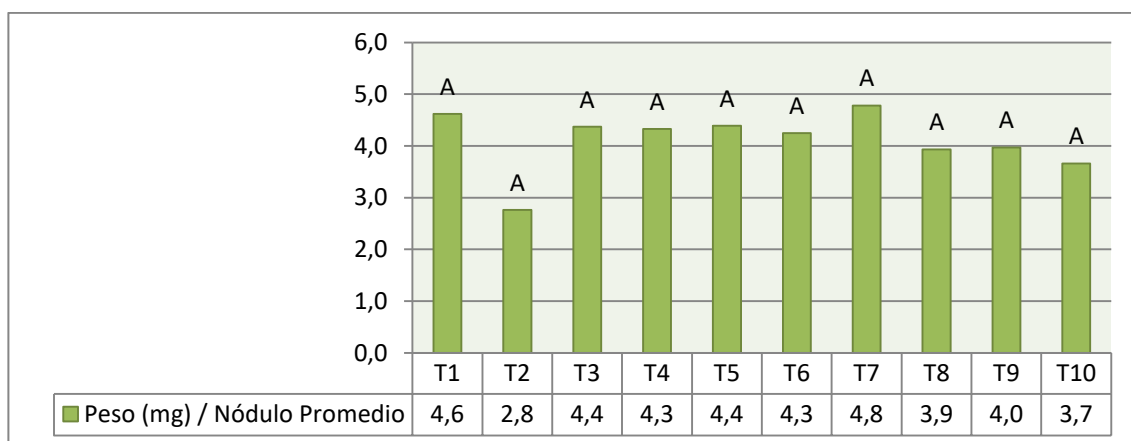


Figura 16: Peso por nódulo (mg) de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

Si bien las mediciones de peso y número de nódulos tienen una gran variabilidad, se observa un buen comportamiento de todos los tratamientos con alguna inoculación (T3 a T10) y del tratamiento testigo sin fertilizar (T1), no destacándose ninguna cepa, mezcla de cepas ni la presencia o no de protector bacteriano.

El tratamiento testigo con fertilización nitrogenada (T2) posee los valores mas bajos con diferencias estadísticas para todas las variables analizadas excepto en la de peso individual por nódulo de la raíz secundaria y por nódulo promedio (figuras 15 y 16), esto se debe a que como se explicó anteriormente ante la presencia de N en el suelo proveniente de la fertilización la nodulación es inhibida.

3 - PESO SECO AEREO Y RADICAL

Al analizar el peso seco total, aéreo y radical (figura 17, 18 y 19 respectivamente) en el estadio fenológico R2 no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos para ninguna de las variables.

En valores absolutos solo un tratamiento con inoculación (T10) tuvo menor peso seco que el tratamiento testigo sin inocular (T1)

A pesar de que la bibliografía consultada indica que la inoculación con *Azospirillum* sp. produce un aumento de la masa radical, debido a la capacidad de producir fitohormonas, como auxinas, citoquininas y giberelinas que promueven la elongación radical e incrementan las ramificaciones laterales por lo que aumenta el área radical, en el presente ensayo no se observó el efecto de aumento de masa radical en estadio fenológico R2.

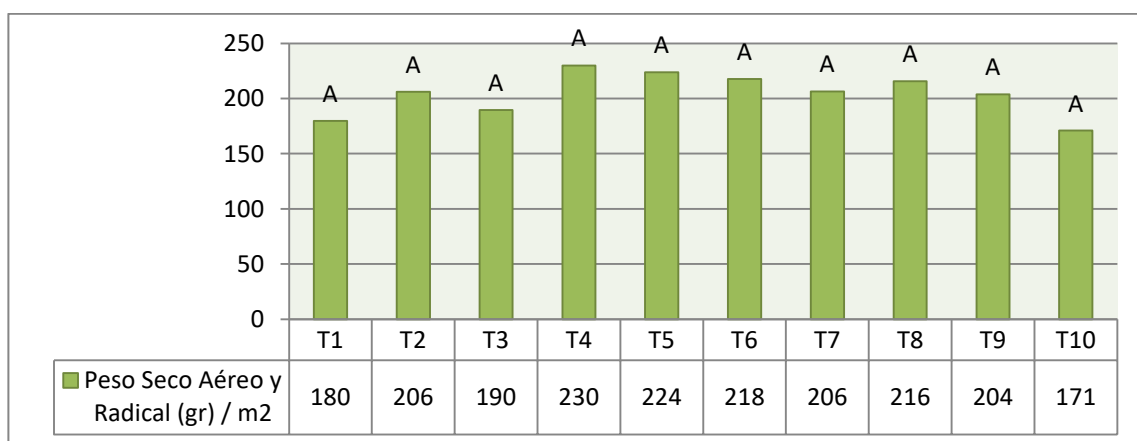


Figura 17: Peso seco aéreo y radical (gr) por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

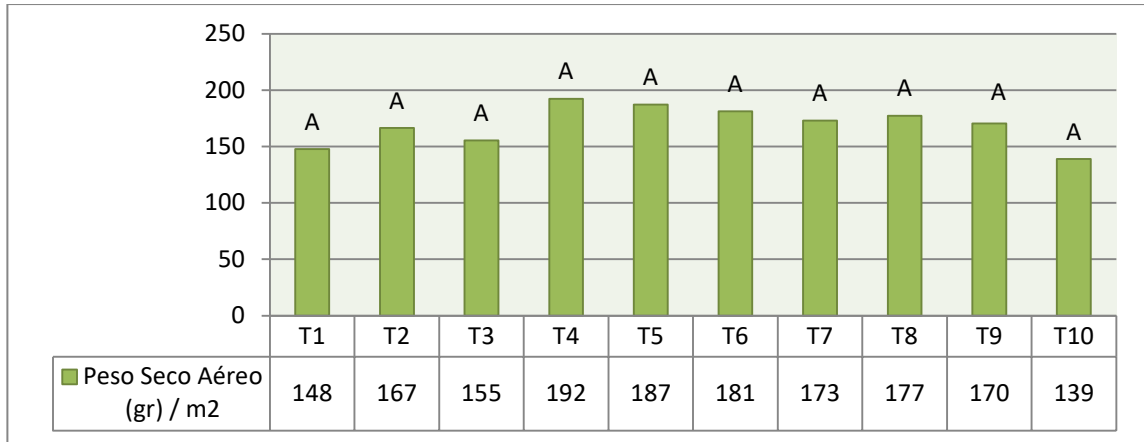


Figura 18: Peso seco aéreo (gr) por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

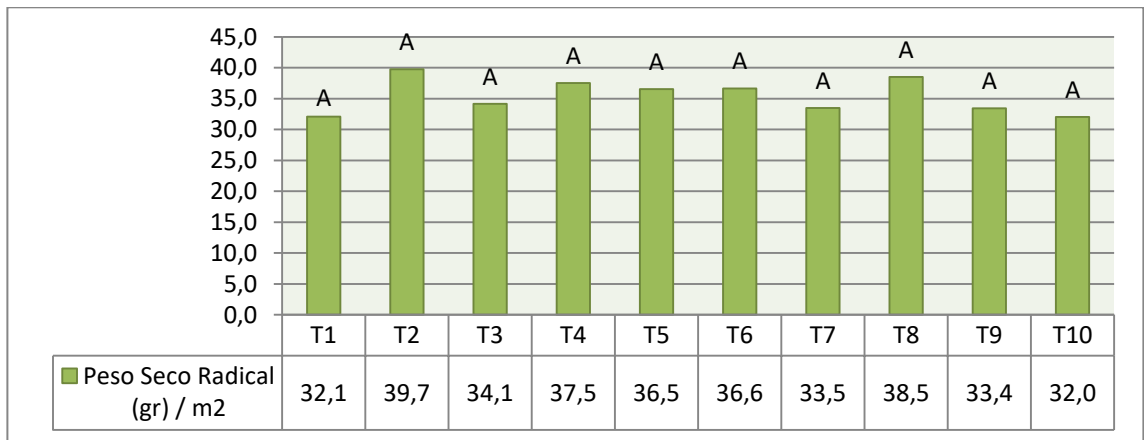


Figura 19: Peso seco radical (gr) por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

DETERMINACIONES EN ESTADIO FENOLOGICO R6

Las determinaciones en el estadio fenológico R6 se realizaron el día 7 de marzo del año 2012.

1 – NUMERO DE NODULOS

Al realizar un análisis del número de nódulos totales por planta en estadio R6 (figura 20) se ve que no existen diferencias estadísticas entre tratamientos. Se observa que en valores absolutos existe una ventaja a favor del tratamiento con coinoculación con *Azospirillum brasilense* (T6). A pesar de ello no podemos concluir en tal efecto de *Azospirillum brasilense* ya que los demás tratamientos inoculados con esta cepa no mostraron ventajas sobre el testigo.

El incremento en el número de nódulos por la aplicación del *Azospirillum* sp. puede ser explicado por Yahalom *et al.* (1987) quienes señalan que la infección por *Bradyrhizobium* sp. se desarrolla por formación de cordones infectivos en los pelos radicales, *Azospirillum* sp. estimula la formación de un mayor número de células epidérmicas que se diferencian en pelos radicales, los que son susceptibles de infección por *Bradyrhizobium* sp. Esto explica porque la coinoculación con *Azospirillum* sp. incrementaría el potencial de formación de nódulos.

A pesar de no existir diferencias estadísticas entre los demás tratamientos se puede ver que todos aquellos con inoculación con uso de protectores bacterianos (T7 a T10) tienen un número de nódulos por planta menor que los tratamientos sin uso de protectores (T3 a T6). Este resultado difiere con el obtenido por Ferraris y Couretot (2007) donde superaron en el número y peso seco de nódulos en el estado reproductivo los tratamientos con protectores bacterianos a aquellos sin uso del mismo.

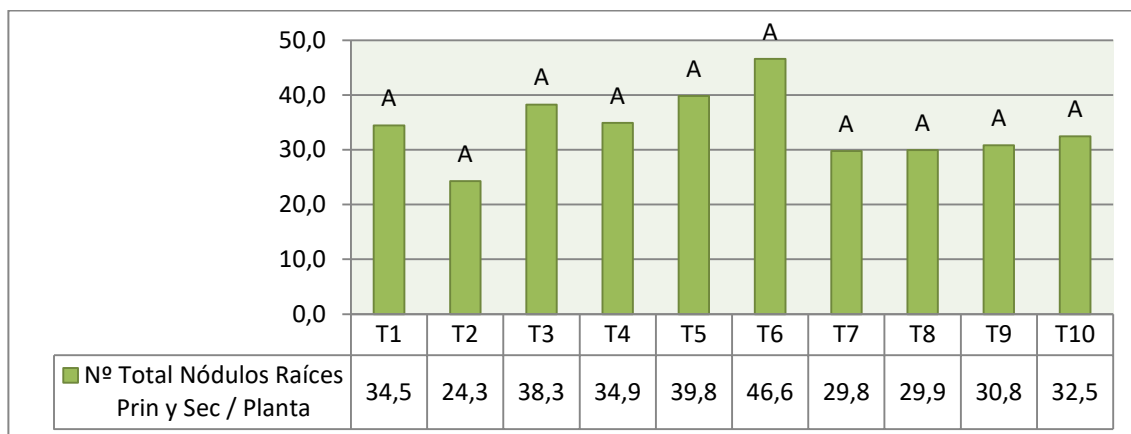


Figura 20: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

Perticari (2005 b) observó que el perfil de nodulación adecuado en R5-R6 es de 40-50 nódulos por planta, en el presente ensayo ningún tratamiento pudo lograr esos valores, esto se puede deber al estrés hídrico que sufrió el cultivo durante su desarrollo.

Al analizar la misma variable pero por superficie (figura 21) se observa una tendencia similar a la observada en R2, donde el testigo con fertilización (T2) tuvo en valores absolutos el menor número de nódulos totales por planta y por superficie, la razón es la explicada anteriormente.

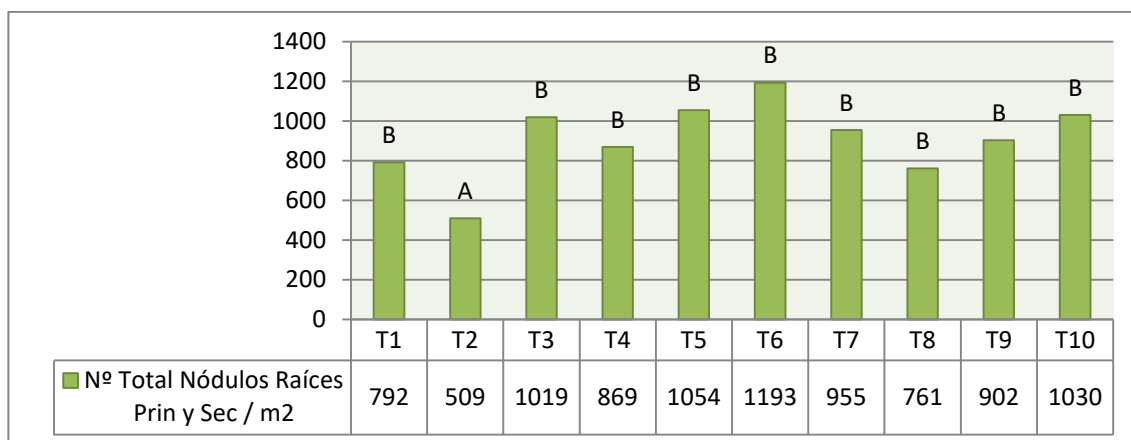


Figura 21: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

En conclusión el tratamiento testigo con fertilización (T2) tuvo en valores absolutos el menor número de nódulos totales por planta y por superficie, siendo esta diferencia solo significativa en la variable medida por superficie (figura 20 y 21).

En el estadio R6, la variable número de nódulos de raíces principales por planta (figura 22) tuvo un comportamiento similar a lo ocurrido en el estadio fenológico R2. Se puede observar que 3 de los 4 tratamientos con uso de protectores (T7 a T10) tuvieron en valores absolutos menor número de nódulos en raíces principales por planta que aquellos inoculados sin uso de protectores (T3 a T6), aunque no es una diferencia significativa.

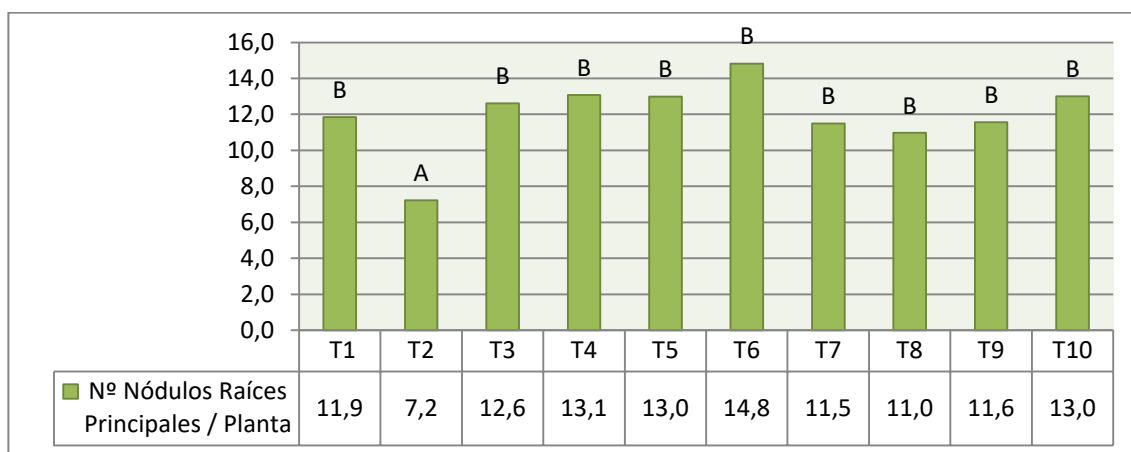


Figura 22: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

En cuanto al número de nódulos en raíces principales por superficie (figura 23) se puede observar que ambos tratamiento testigos (T1 y T2) tuvieron los valores menores con diferencias significativas. El tratamiento con coinoculación con *Azospirillum brasilense* y uso de protector bacteriano (T10) tuvo los valores mayores de nódulos en raíces principales por superficie con diferencia significativa. Los restantes tratamientos (T3 a T9) tuvieron un comportamiento intermedio.

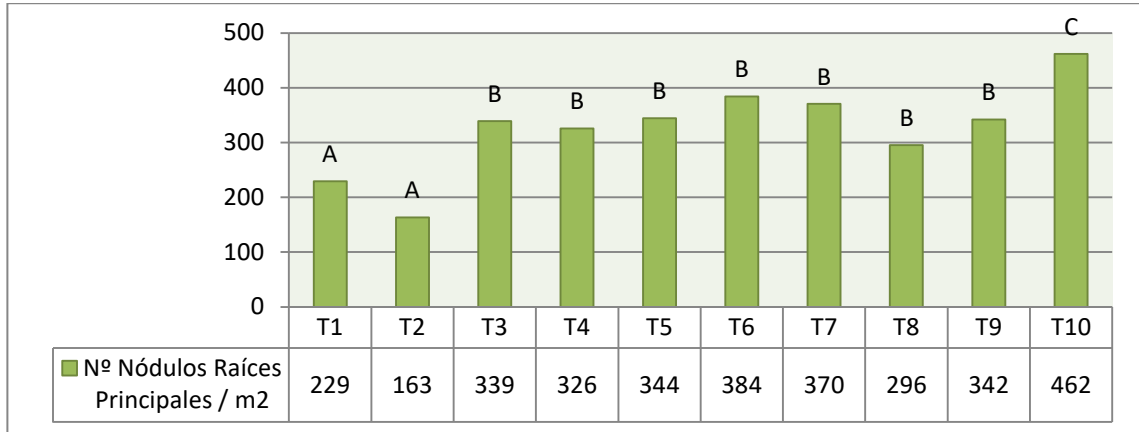


Figura 23: Número de nódulos en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Al observar los resultados en las variables número de nódulos de raíces secundarias por planta y por superficie (Figuras 24 y 25 respectivamente) no se vieron diferencias significativas entre tratamientos.

Se puede decir que se observa un menor valor absoluto de estas variables en los tratamientos con inoculaciones con uso de protectores (T7 a T10) respecto a aquellos con inoculaciones sin uso de los mismos (T3 a T6)

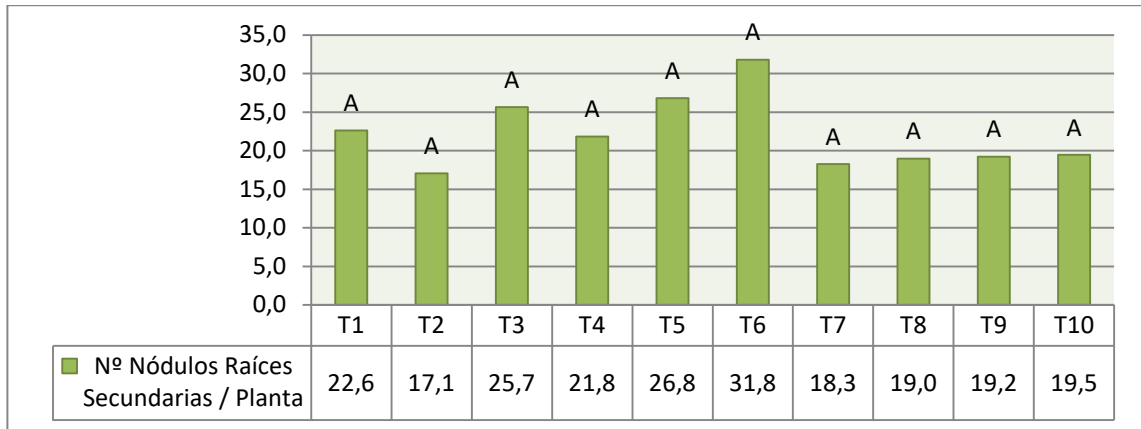


Figura 24: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

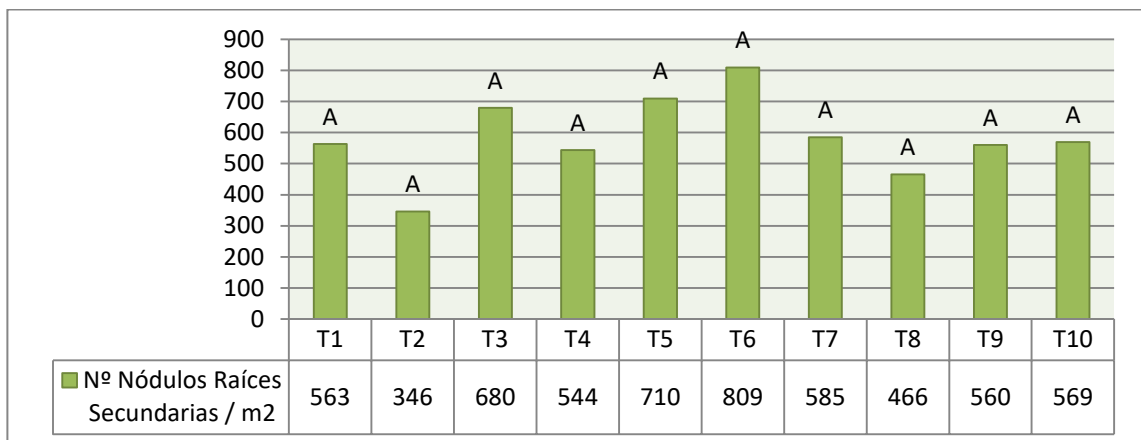


Figura 25: Número de nódulos en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

2 – PESO DE NODULOS

En el estadio R6, la variable peso de nódulos de raíces principales y secundarias por superficie (figura 26) tuvo un comportamiento similar a lo ocurrido en el estadio fenológico R2, presentó valores mayores en los tratamientos con algún tipo de inoculación (T3 a T10) y en el testigo sin fertilización (T1) respecto del tratamiento testigo con fertilización (T2).

Si promediamos los valores de aquellos tratamientos inoculados sin uso de protectores y lo comparamos con los en que si se uso dicho protector (6,07 gr/m² y 5,69 gr/m² respectivamente), observamos una pequeña ventaja a favor de los primeros.

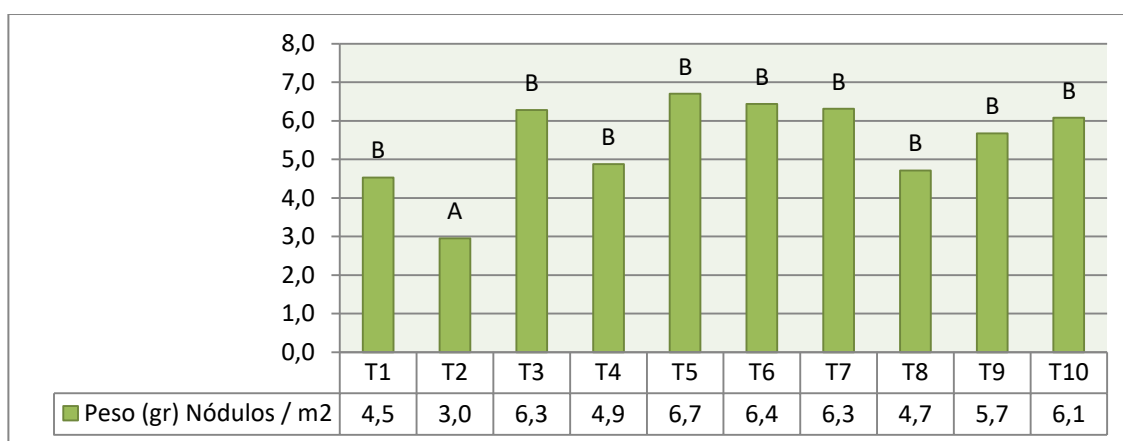


Figura 26: Peso de nódulos (gr) en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

En el estadio R6, la variable peso de nódulos de raíces principales por superficie (figura 27) tuvo un comportamiento similar a lo ocurrido en el estadio fenológico R2, presentó valores mayores en los tratamientos con algún tipo de inoculación (T3 a T10) y en el testigo sin fertilización (T1) respecto del tratamiento testigo con fertilización (T2).

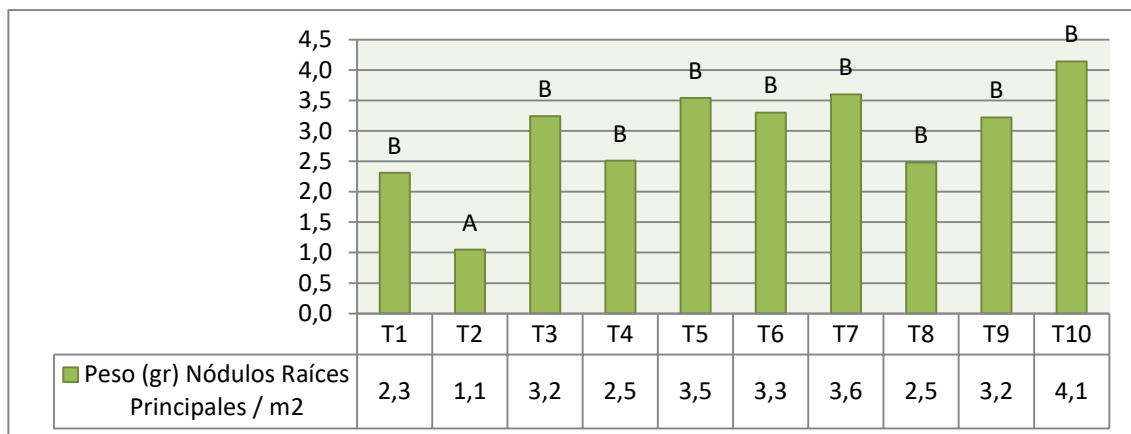


Figura 27: Peso de nódulos (gr) en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

No se observaron diferencias entre tratamientos para la variable peso de nódulos de raíces secundarias por superficie (figura 28).

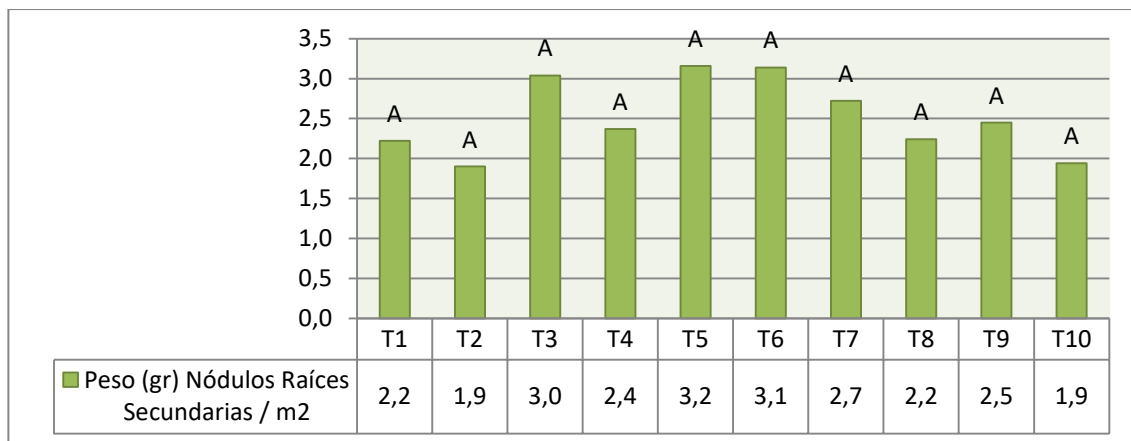


Figura 28: Peso de nódulos (gr) en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Para las variables peso por nódulo de las raíces principales, secundarias y promedio (figura 29, 30 y 31) no se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

Algo para observar es que el tratamiento testigo con fertilización (T2) tuvo los nódulos de raíces principales de menor peso individual, y los nódulos de raíces secundarias con el mayor peso individual. Aunque esto no se reflejó con diferencias estadísticas.

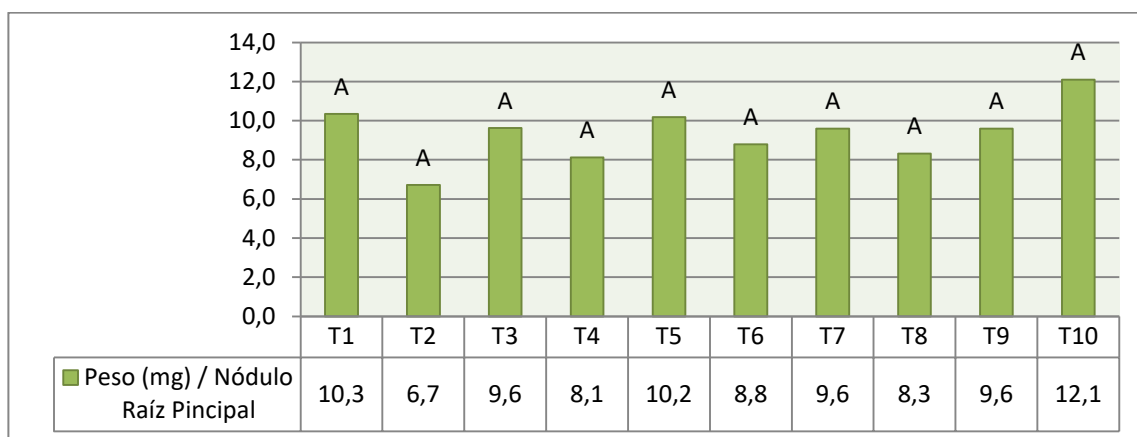


Figura 29: Peso por nódulo (mg) de las raíces principales en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

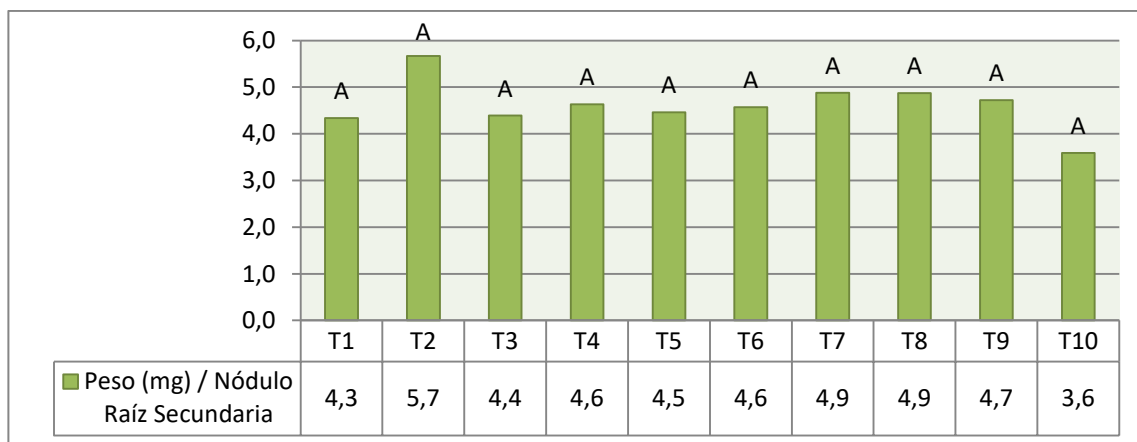


Figura 30: Peso por nódulo (mg) de las raíces secundarias en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

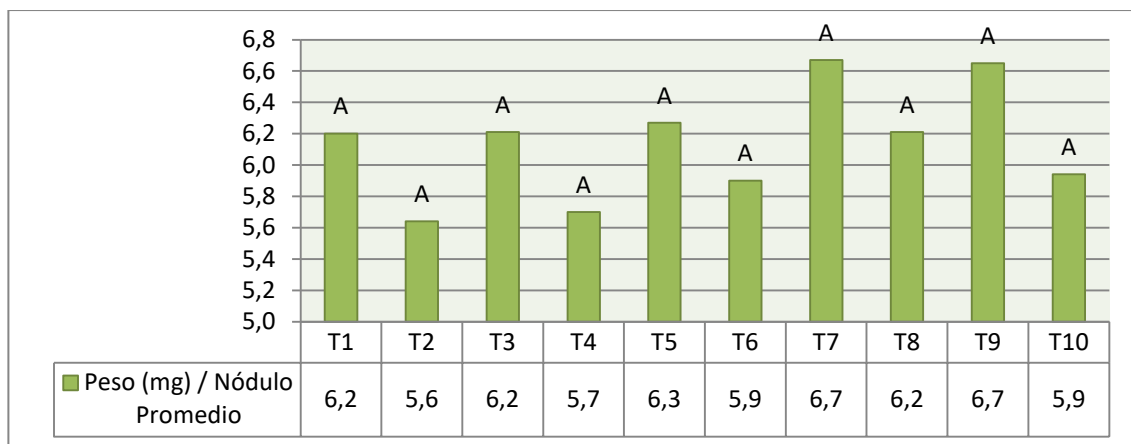


Figura 31: Peso por nódulo (mg) de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

Al comparar los resultados de la figura 31 con los citados por Peticari (2005 b), quien dice que el perfil de nodulación adecuado en R5-R6 es de 40-50 nódulos por planta con un peso individual de 7 a 9 mg. , se observa que ningún tratamiento del ensayo pudo lograr esos valores, esto se puede deber al estrés hídrico que sufrió el cultivo durante su desarrollo, y al efecto de tal estrés sobre la nodulación y FBN, tal como informan Peticari *et al.* (2003) y Racca (2003).

Resultados similares se obtuvieron en un ensayo realizado por Pietrarelli *et al.* (2008) donde el peso seco de nódulos totales por planta en una campaña con déficit hídrico representaron sólo 40% de los óptimos informados por Peticari *et al.* (2003).

3 - PESO SECO AEREO Y RADICAL

Al analizar las variables peso seco aéreo y radical, y sus componentes (figura 32, 33 y 34), no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Se puede decir que el tratamiento testigo con fertilización nitrogenada (T2) es aquel que posee mayor peso seco total, este tratamiento se podría considerar como la condición ideal para el cultivo, ya que el nutriente no sería limitante para su desarrollo y no dependería de la fijación de nitrógeno mediante la simbiosis específica.

A pesar de no haber diferencias significativas todos los tratamientos inoculados (T3 a T10) presentaron valores de peso seco total, aéreo y radical superiores al testigo sin inocular (T1).

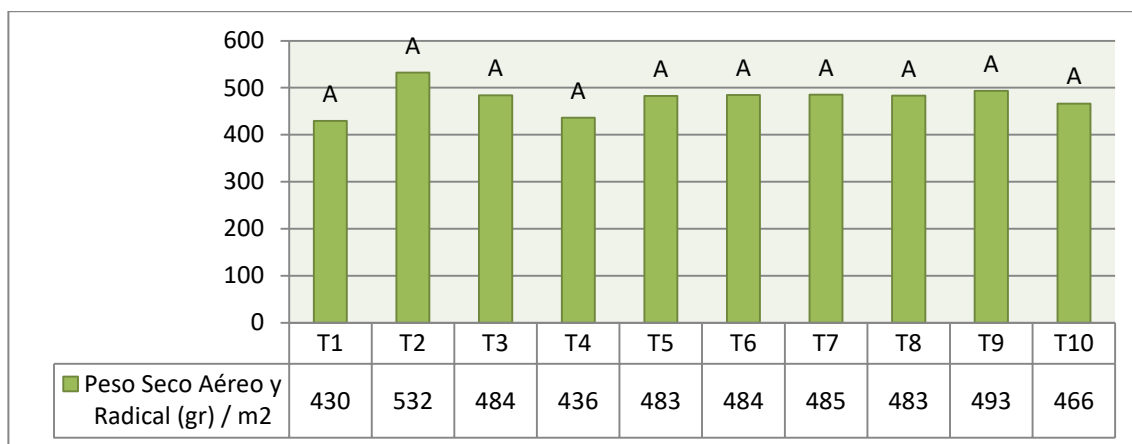


Figura 32: Peso seco aéreo y radical (gr) por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

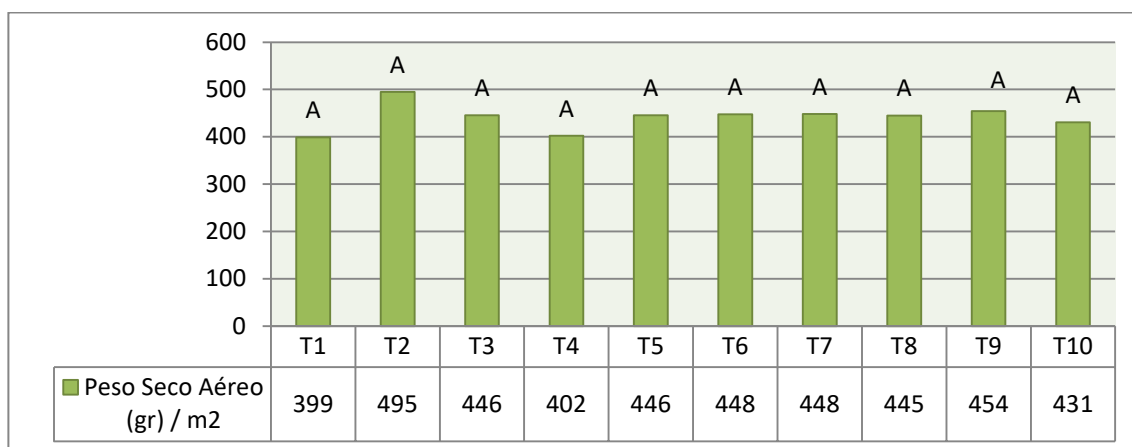


Figura 33: Peso seco aéreo (gr) por m² de superficie en estadio fenológico R6 del cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

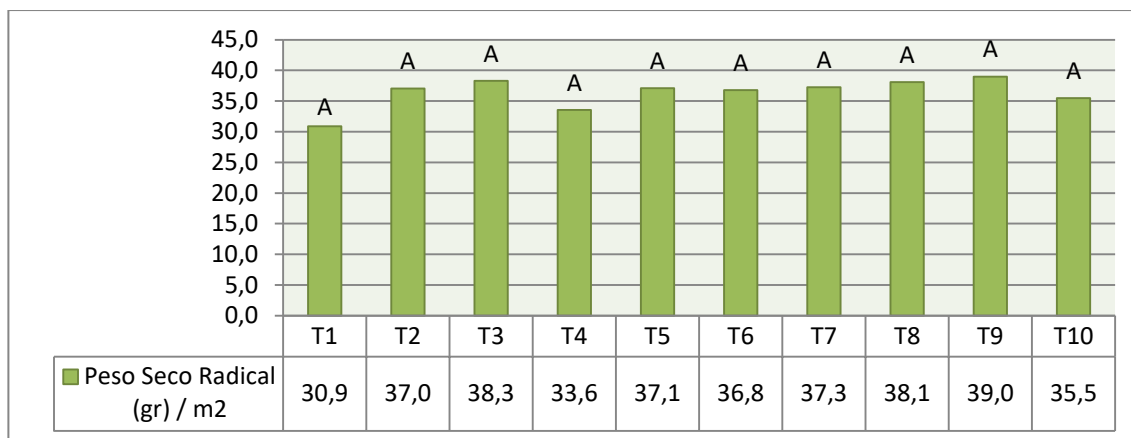


Figura 34: Peso seco radical (gr) por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

COMPARACIONES ENTRE LAS MEDICIONES REALIZADAS EN LOS ESTADIOS FENOLOGICOS R2 Y R6

En la figura 35 y 36 se puede observar como en el estadio fenológico R2 la distribución del número de nódulos entre raíces primarias y secundarias es similar, mientras que en R6 la mayoría de los nódulos corresponden a raíces secundarias.

Además se puede observar que el número total de nódulos por superficie no aumentó como aumentó el número total de nódulos por planta, esto nos está indicando que hubo una disminución de stand de plantas, esto se debe a la sequía sufrida por el cultivo.

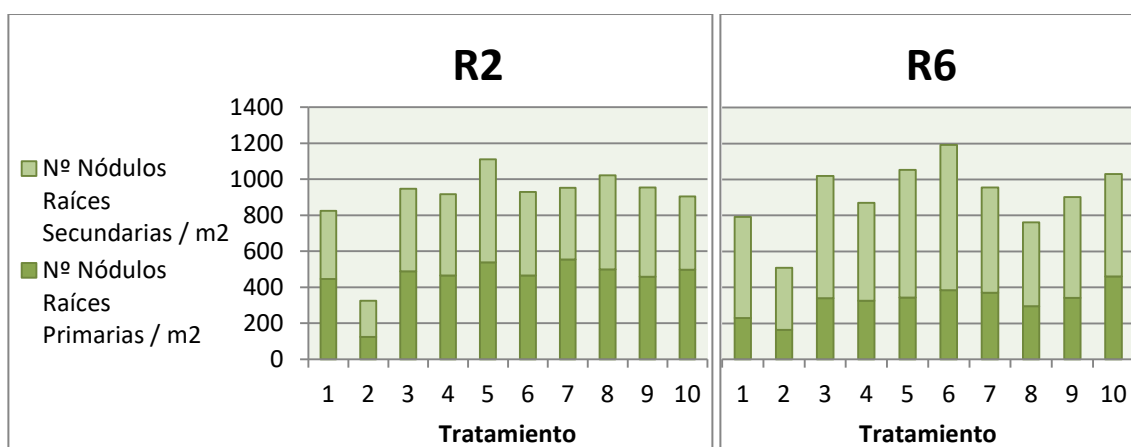


Figura 35: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 (izquierda) y R6 (derecha) en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

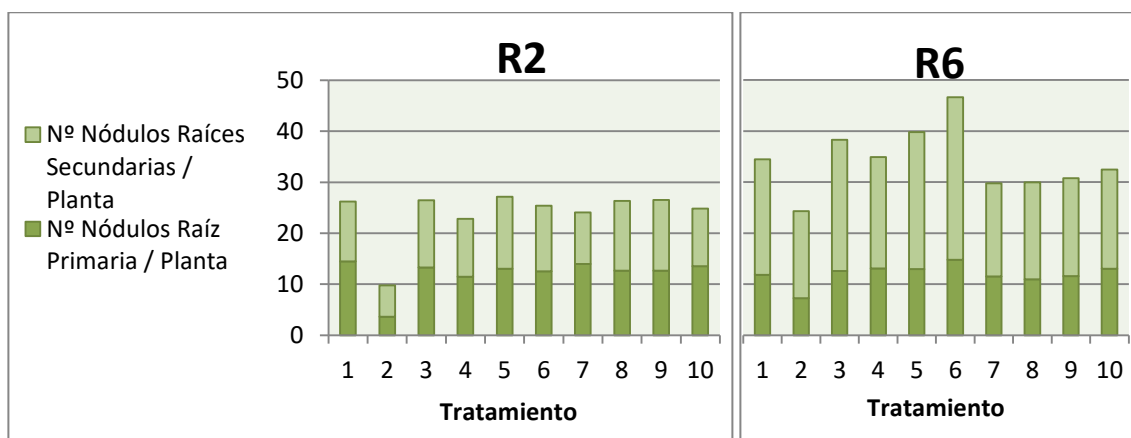


Figura 36: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R2 (izquierda) y R6 (derecha) en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

En la figura 37 se puede observar que en el estadio fenológico R6 la biomasa nodular aumento con respecto a la biomasa en el estadio R2, este aumento corresponde principalmente a aumentos en el peso de nódulos de raíces secundarias.

En el estadio R2 la biomasa nodular correspondía en su mayoría a nódulos de raíces primarias, mientras que en el estadio fenológico R6 no es así.

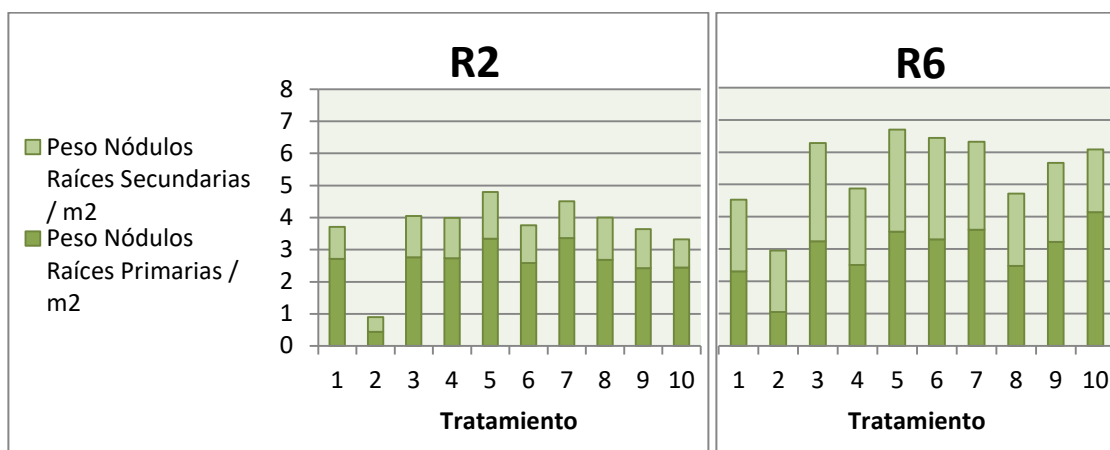


Figura 37: Peso de nódulos (gr) en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 (izquierda) y R6 (derecha) en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

En la figura 38 se puede observar que tanto en el estadio fenológico R2 como en el R6 los nódulos de raíces primarias tuvieron aproximadamente el doble peso que aquellos de las raíces secundarias, salvo en el tratamiento 2 donde no se observa tal diferencia. También se ve como se produjo un aumento del peso por nódulo, es decir hubo crecimiento nodular, tanto en nódulos primarios como secundarios.

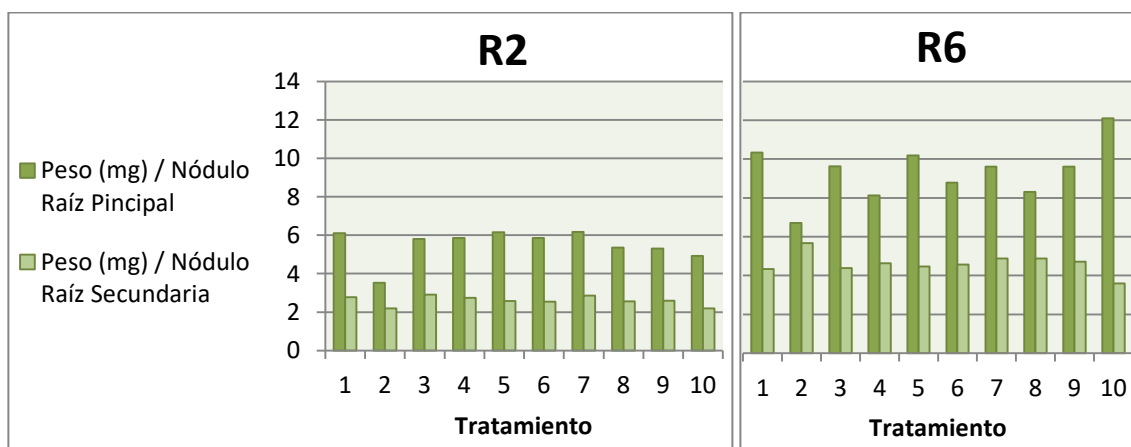


Figura 38: Peso por nódulo (mg) de raíces principales y secundarias en estadio fenológico R2 (izquierda) y R6 (derecha) en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

DETERMINACIONES EN ESTADÍO FENOLÓGICO R8

Las determinaciones en el estadio fenológico R8 se realizaron el día 4 de abril del año 2012.

1 – RENDIMIENTO

La producción media de granos varió entre 2113 y 2794 kg/ha mostrando diferencias entre tratamientos con distinta inoculación y uso o no de protectores bacterianos (figura 39).

Considerando los rendimientos promedio de cada tratamiento, se puede apreciar que todos los tratamientos con microorganismos rindieron, en valores absolutos, más que el testigo sin inocular.

Las variaciones en rendimiento se deben fundamentalmente a cambios en el número de granos (Figura 40) y en menor medida al peso de los mismos (Figura 41), los desvíos estándar son 135 y 0,56 respectivamente. Esto sucede ya que el componente peso de granos tiene menor dependencia ambiental que el componente número de granos, dicho de otra forma el peso de los granos está controlado principalmente por la genética, mientras el número de granos por superficie por el ambiente. Esto concuerda con Kantolic (2007) quien dice que a pesar de existir compensación entre número y peso de granos, en un amplio rango de condiciones agronómicas el número de granos por superficie es el componente que mejor explica las variaciones en el rendimiento.

En la figura 39 podemos observar que 7 de los tratamientos marcaron diferencias estadísticamente significativas.

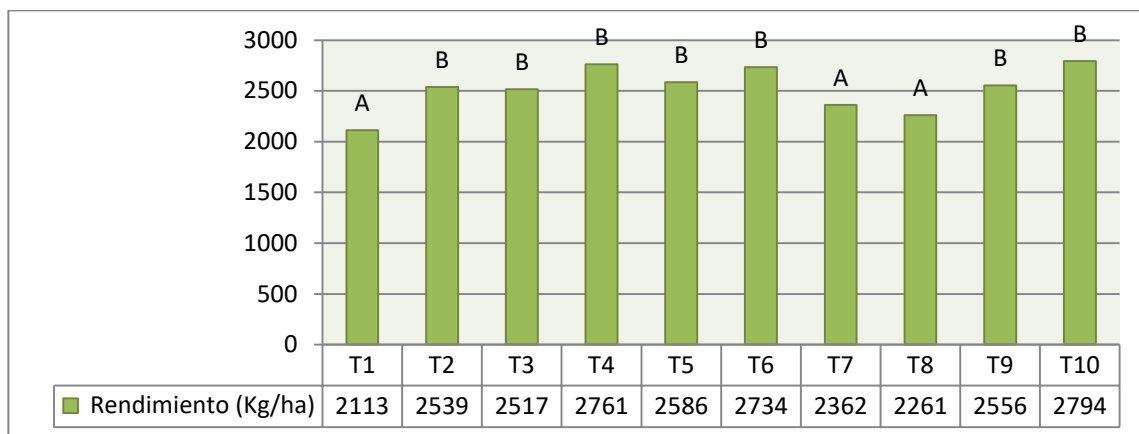


Figura 39: Rendimiento en grano (kg/ha) en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

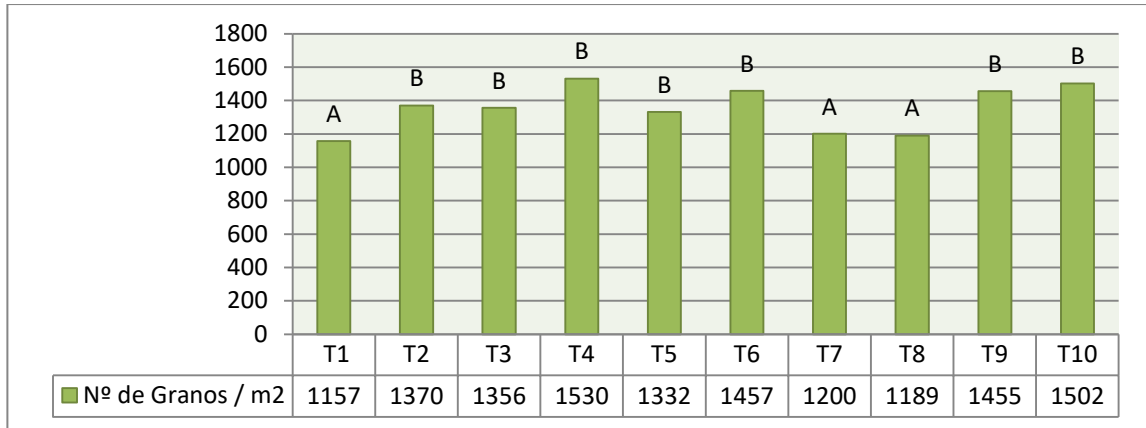


Figura 40: Número de granos por m² de superficie en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

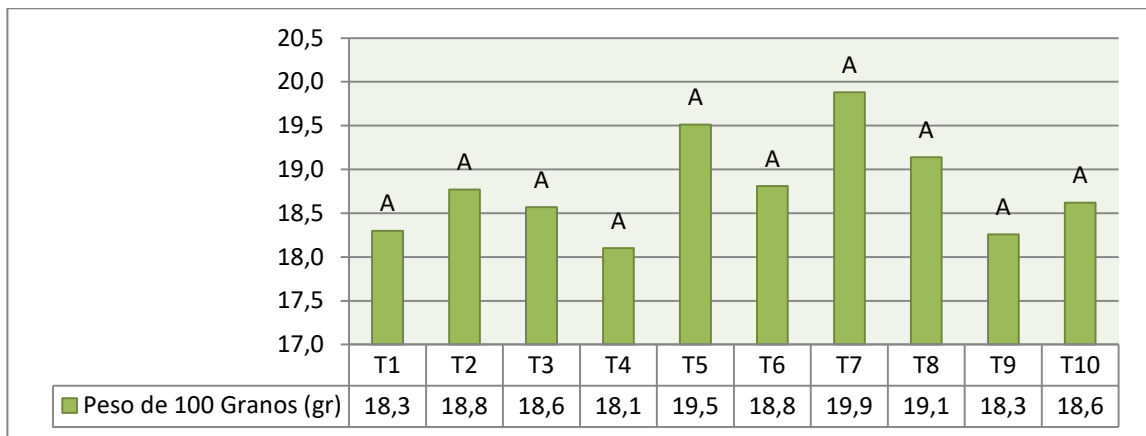


Figura 41: Peso de 100 granos (gr) en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum*:

- 6 de los 8 tratamientos de inoculación ensayados permitieron incrementar significativamente el rendimiento respecto al testigo no inoculado.

- Independientemente del tratamiento de inoculación la respuesta en producción se explicó por mejoras principalmente en el número de granos y en promedio fue del 21 % sobre el rendimiento del control sin inocular equivalentes a unos 458 kg/ha. Arias (2006) observó una respuesta a la inoculación del cultivo de soja en suelos con historia sojera de 337 kg/ha, promedio de 20 ensayos, sobre los testigos sin inocular. En suelos con historia sojera del este de Entre Ríos, en 18 ensayos la respuesta promedio a la inoculación fue de 426 kg/ha, lo que representó un 14 % sobre los testigos sin inocular (Arias, 2006). Estos resultados son coincidentes con los reportados por Peticari (2005 b) y González (2006) en otras zonas sojeras de la Argentina.

Efecto aditivo de la coinoculación con *Azospirillum brasilense*:

- Si analizamos la diferencia de rendimiento entre el tratamiento con inoculación simple (T3) y el tratamiento con coinoculación con *Azospirillum brasilense* (T6) se observa una diferencia de rendimiento de 8 % lo que equivale a 216 kg a favor del tratamiento coinoculado, aunque esta diferencia no fue significativa. En Entre Ríos se observaron incrementos de rendimiento a favor de la coinoculación con *A. brasilense* respecto de inoculación simple de 118 kg/ha para un año con déficit hídrico, y 259 kg/ha para un año sin déficit hídrico (Benintende et al 2010). Otro estudio demostró que es posible incrementar la producción de grano de soja bajo condiciones de campo, mediante la coinoculación con distintos géneros bacterianos junto a *B. japonicum*. Los mejores resultados se obtuvieron cuando se aplicó en forma conjunta *B. japonicum* y *Azospirillum*, registrándose un incremento de rendimiento del 15% respecto al tratamiento inoculado solamente con *B. japonicum* (Errecart et al., 2012).

- Si analizamos la diferencia de rendimiento entre el tratamiento con inoculación simple con uso de protector bacteriano (T7) y el tratamiento con coinoculación con *Azospirillum brasilense* y uso de protector bacteriano (T10) se observa una diferencia de rendimiento de 18 % lo que equivale a 432 kg/ha a favor del tratamiento coinoculado, la cual es estadísticamente significativa.

- El promedio de los tratamiento con inoculación simple (T3 y T7) es de 2439 kg/ha y el de los tratamientos coinoculados con *Azospirillum brasilense* (T6 y T10) es de 2764 kg/ha, es decir una diferencia de 324 kg/ha a favor de la coinoculación. El promedio de aumento de rendimiento es de 13 %.

- En la cosecha los tratamientos coinoculado con *Azospirillum* y con protector bacteriano (T10), coinoculado con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* sin protector (T4), coinoculado con *A. brasilense* sin protector (T6), y el tratamiento coinoculado con *P. fluorescens* sin uso de protector (T5) fueron los 4 que obtuvieron mayor rendimiento; 3 de estos estaban coinoculados con *A. brasilense*.

Efecto aditivo de la coinoculación con *Pseudomonas fluorescens*:

- Si analizamos la diferencia de rendimiento entre el tratamiento con inoculación simple (T3) y el tratamiento con coinoculación con *Pseudomonas fluorescens* (T5) se observa una diferencia de rendimiento de 2,7 % lo que equivale a 68 kg a favor del tratamiento coinoculado, aunque esta diferencia no fue significativa.

- Si analizamos la diferencia de rendimiento entre el tratamiento con inoculación simple con uso de protector bacteriano (T7) y el tratamiento con coinoculación con *Pseudomonas fluorescens* y uso de protector bacteriano (T9) se observa una diferencia de rendimiento de 8 % lo que equivale a 193 kg a favor del tratamiento coinoculado, la cual es estadísticamente significativa.

- El promedio de los tratamiento con inoculación simple (T3 y T7) es de 2439 kg/ha y el de los tratamientos coinoculados con *Pseudomonas fluorescens* (T5 y T9) es de 2764 kg/ha, es decir una diferencia de 131 kg/ha a favor de la coinoculación. El promedio de aumento de rendimiento es de 5,3 %.

Efecto aditivo de la coinoculación con *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum brasilense*:

- Si analizamos la diferencia de rendimiento entre el tratamiento con inoculación simple (T3) y el tratamiento con coinoculación con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* (T4) se observa una diferencia de rendimiento de 9 % lo que equivale a 244 kg a favor del tratamiento coinoculado, aunque esta diferencias no fue significativa.

- Si analizamos la diferencia de rendimiento entre el tratamiento con inoculación simple con uso de protector bacteriano (T7) y el tratamiento con coinoculación con *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum brasilense* y uso de protector bacteriano (T8) se observa una diferencia de rendimiento de 4,5 % lo que equivale a 100 kg a favor del tratamiento con inoculación simple, aunque esta diferencia no fue significativa.

Efecto aditivo del uso de protectores bacterianos:

- En cuanto al efecto del uso de protectores bacterianos no se observó diferencias a favor de aquellos; de los 4 tratamientos con uso de protectores, 2 de ellos (T7 y T8) tuvieron rendimientos inferiores estadísticamente con respecto a los 4 tratamientos inoculados sin uso de protectores (T3 a T6).

- Si promediamos los rendimientos de los tratamientos inoculados sin uso de protectores bacterianos y lo comparamos con el promedio de aquellos con uso de protectores vemos que obtuvieron un rendimiento de 2649 y de 2593 kg/ha respectivamente, es decir tuvieron una diferencia de 156 kg o 6,3 % a favor de aquellos sin uso de protectores.

- Solo en el tratamiento con coinoculación con *Azospirillum brasilense* se vio un efecto de 60 kg a favor del aquel con uso de protector bacteriano.

Inoculación VS fertilización:

- El tratamiento en que se realizó fertilización nitrogenada (T2) superó de forma significativa al testigo sin fertilización (T1).

- El tratamiento en que se realizó fertilización nitrogenada (T2) superó de forma significativa a solo 2 de los 8 tratamientos en que se realizó algún tipo de inoculación.

- El promedio de rendimiento de los tratamientos con algún tipo de inoculación (T3 a T10) es de 2571 kg/ha y el del tratamiento con fertilización nitrogenada (T2) es de 2539 kg/ha, es decir solo una diferencia de 32 kg/ha a favor de la inoculación, se puede concluir que la inoculación reemplaza a la fertilización en términos productivos.

- Si realizamos un análisis económico a valores actuales del ensayo observamos que el costo diferencial por la fertilización del tratamiento 2 fue de 100 U\$S/ha; mientras que el costo de inoculación de cualquier tipo no supera los 10 U\$S/ha, es decir una diferencia de más de 90 U\$S/ha que actualmente equivalen a 200 kg de grano de soja. Con esto concluimos que productivamente y económicamente la inoculación reemplaza a la fertilización nitrogenada.

Si bien la hipótesis del trabajo es que el uso de protectores bacterianos en la coinoculación en soja produce aumentos en la producción del cultivo, en el presente ensayo no se pudo observar.

Son muchos los experimentos que avalan la práctica de uso de protectores bacterianos, por ello se debería seguir realizando ensayos similares para avalar o no la hipótesis, se debe recordar que la condición climática de la campaña en que se realizó el ensayo fue de las peores de la historia para el desarrollo de los cultivos estivales a escala extensiva en secano.

Con respecto a lo anterior se puede decir que una vez que la bacteria se implantó y formó nódulos, la eficiencia de la FBN depende de las condiciones de crecimiento de la planta. Es decir la temperatura, radiación, tenor de oxígeno y muy especialmente la disponibilidad hídrica, condicionan el proceso. Esto último se debe a que la FBN es extremadamente sensible al estrés hídrico. La razón principal es que el estrés hídrico resulta en un gasto energético mayor, y la planta privilegia su economía del agua antes que alimentar a los nódulos.

Cada vez que el agua útil disminuye por debajo del 60 %, umbral crítico para la soja durante el llenado de granos, se compromete también la fijación de N, que es máxima en esta etapa disminuyendo el rinde potencial. Normalmente la capacidad de fijación de los nódulos se restablece si las condiciones de sequía no son tan severas ni duran muchos días, no obstante si la severidad continúa (menos del 10 % del agua útil) aunque los nódulos, y el cultivo, recuperen su humedad al llover o regarse, la capacidad de fijación de los nódulos, medida por la actividad de la nitrógenasa, no se recupera mas (Racca, 2008).

Como se puede apreciar la aplicación de diferentes microorganismos al cultivo de soja fue muy beneficioso, en todos los casos el rendimiento se incrementó respecto al testigo sin inocular, desde un valor mínimo de 7 % (T8) a un valor máximo de 32 % (T10).

Por la experiencia que deja este ensayo se debe recomendar la reinoculación anual debido a que se producen efectos visibles sobre el rendimiento, esto se debe a que las cepas utilizadas en la inoculación han sido seleccionadas y son más eficientes en la FBN que las naturalizadas. Esto se puede observar al analizar las variables que se midieron en el estadio R2 y R6, allí el tratamiento sin inoculación presentaba valores similares de número y peso de nódulos, tanto por planta como por superficie. Al observar la variable rendimiento medida en estadio R8 es evidente que aquellos nódulos del tratamiento 2 fueron menos eficientes ya que las cepas naturalizadas son más competitivas y más resistentes al estrés pero menos eficientes en la FBN que las recientemente introducidas, claro está al observar las variaciones en el rendimiento.

2 - CONTENIDO DE PROTEINA

La calidad del grano de soja está determinada tanto por su composición química como por sus atributos físicos. La composición química está definida por el contenido cuanti y cualitativo del aceite y la proteína acumulada en la semilla. El contenido proteico tiene variación por las condiciones prevalecientes durante el llenado de los granos, no difiriendo considerablemente entre las variedades comerciales.

Tabla 4: Contenido de nitrógeno y proteína en grano de soja por el método de Kjeldahl modificado (Nelson y Sommers, 1973).

Tratamiento	% de Nitrógeno	% de Proteína
T1	6,256	39,10
T2	6,078	37,99
T3	6,25	39,06
T4	5,7575	35,98
T5	6,1605	38,50
T6	6,127	38,29
T7	6,2395	39,00
T8	6,2315	38,95
T9	6,1505	38,44
T10	6,015	37,59

El contenido de proteína en grano varió entre 35,98 y 39,1 %, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (figura 42).

El tratamiento con coinoculación con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas brasilense* tuvo el menor contenido proteico con diferencias significativas. No se puede concluir que existen efectos entre las diferentes cepas utilizadas y uso de protectores bacterianos sobre el contenido proteico.

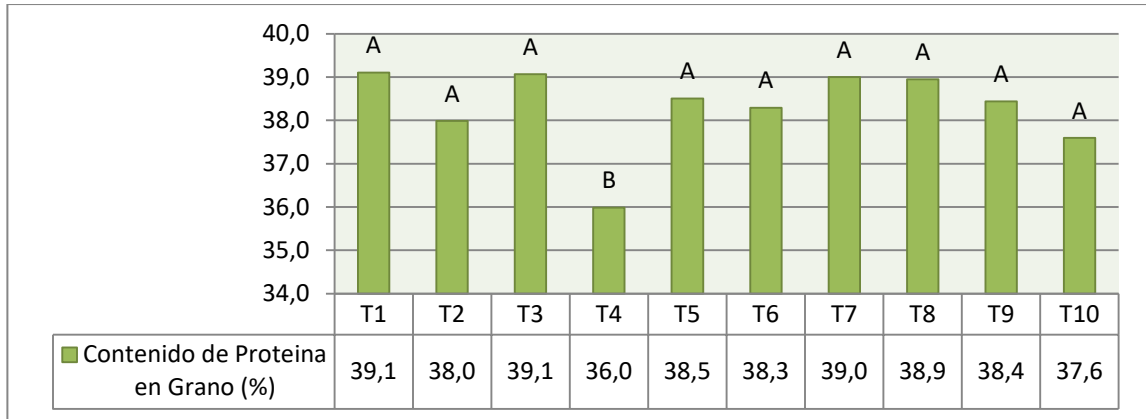


Figura 42: Contenido de proteína en granos (%) en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P=0,05$) según test de DGC.

Se observó que el contenido de proteína en granos estaba inversamente relacionado con el rendimiento con un R^2 de 0,51. Es frecuente encontrar una relación negativa entre el porcentaje de proteína y el rendimiento del cultivo (Hanson *et al.*, 1961; Hartwig y Kilen, 1991; Leffel, 1988)

CONCLUSION

- Los tratamientos inoculados y sin inocular superaron en el número y peso seco de nódulos en estado fenológico R2 y R6 al tratamiento con fertilización nitrogenada, esto se debe a la inhibición de la simbiosis cuando el cultivo posee suficiente nivel de nitrógeno en el suelo.

- En suelos con historia de inoculación en soja no se observan diferencias entre los tratamientos que se inoculan y aquellos que no se inoculan en las variables referidas a nodulación, como número y peso de nódulos.

- La mayoría de los tratamientos con inoculación incrementaron significativamente los rendimientos. Todos los tratamientos inoculados superaron al testigo sin inocular en cuanto a valores absolutos de rendimiento, 6 de 8 lo hicieron de forma significativa, esto se debe a la eficiencia de las bacterias que forman la simbiosis en cada caso.

- El estudio demostró que es posible incrementar la producción de grano de soja bajo condiciones de campo, mediante la coinoculación de distintos géneros bacterianos junto a *B. japonicum*. Los mejores resultados se obtuvieron cuando se aplicó en forma conjunta *B. japonicum* y *Azospirillum*, registrándose un incremento de rendimiento del 13% respecto al tratamiento inoculado solamente con *B. japonicum*.

- El uso de protectores bacterianos no demostró ser efectivo en el presente ensayo. Por ello esta técnica de uso de protectores en la coinoculación con *Azospirillum* y *Pseudomonas* se considera de interés experimentarla en más campañas con ambientes climáticos diferentes.

- Al comparar los resultados de rendimiento y de nodulación en el estadio fenológico R6, se desprende que los tratamientos inoculados sin uso de protectores de mayor productividad presentaron mayor cantidad y peso de nódulos efectivos comparados con aquellos en los que se uso protector bacteriano. Si asociamos peso y número de nódulos con FBN, podría decirse que los tratamientos con mayor tasa de FBN fueron después los de mayor rendimiento, esto es así siempre y cuando el nitrógeno presente en el suelo sea deficitario para cubrir las demandas del cultivo.

- Además se detectó que el rendimiento de soja estaba directamente relacionada con el número de nódulos por superficie en estadio fenológico R6 con un R^2 de 0,44. En este análisis solo intervinieron los tratamiento inoculados, ya que poseían similar contenido de N en el suelo y estaban inoculados con la misma cepa de *Bradyrhizobium japonicum*.

- No se observó efecto de la coinoculación y el uso de protectores bacterianos sobre el contenido de proteína. Existe una correlación inversa entre el rendimiento en grano y contenido de proteína con un R^2 de 0,51.

BIBLIOGRAFIA

ACHAKZAI, A. K. K.; S. A. KAYANI; M. YAQOUB; A. NABI. 2002. **Effect of fertilizer, inoculation and sowing time on the uptake of phosphorus, potassium and sodium content of field grown mature soybean seeds.** J. Biol. Sci. 2: 789-792.

ARIAS, N. 2006. **Inoculación de soja en el este de Entre Ríos.** En: Cultivo de soja en el centro este de Entre Ríos. Resultados 2005/06. INTA EEA C. del Uruguay. Bol. Téc. Serie Prod. Veg. N° 47. Pág. 91-95.

ARIAS, N. 2010. **Novedades sobre la Inoculación de soja en el este de Entre Ríos.** INTA EEA Concepción del Uruguay.

ATLAS DE SUELOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA. 2006. Agencia Córdoba Ambiente. Área Subcoordinación Suelos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Manfredi, Córdoba. 2006

BALIÑA, R.; F. G. MICUCCI; M. DÍAZ-ZORITA. 2006. **Inoculación en el surco de siembra.** AGROMERCADO. Cuadernillo clásico de soja N° 125. Septiembre 2006

BALIÑA, R. M; M. DÍAZ-ZORITA, 2006. **Aporte de la fertilización fosfatada a la fijación biológica de nitrógeno en soja.** En: XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo y I Reunión de Suelos de la Región Andina, 2006, Salta-Jujuy.

BARBIERI, P.; E. GALLI. 1993. **Effect on wheat root development of inoculation with *Azospirillum brasilense* mutant with altered indole-3acetic acid production.** Res. Microbiol.144:69-75

BASHAN, Y.; G. HOLGUIN; L. E. DE BASHAN. 2004. ***Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003).** Can. J. Microbiol. 50: 521-527.

BENINTENDE, S.; C. A. SANCHEZ; J. BARBABIANCA; PACHECO BASURCO; A. PERTICARI. 1997. **Ensayos de campo de cepas de *Bradyrhizobium japonicum* de eficiente comportamiento en Argiudoles vérticos de Entre Ríos.** Revista Científica Agropecuaria 1: 9-14.

BENINTENDE, S.; W. UHRICH; M. HERRERA; F. GANGGE; M. STERREN; M. BENINTENDE. 2010. **Comparación entre coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja.** Agriscientia, 2010, vol. XXVI (2): 71-77

BOTTINI, R.; M. FULCHIERI; D. PEARCE; R. PHARIS. 1989. **Identification of gibberellins A1, A3, and Iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*.** Plant Physiol. 90: 45-47.

BRAY, R.; L. KURTZ. 1945. **Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil.** Soil Sci. 59: 9-45.

BREMNER, J.; C. MULVANEY. 1982. **Regular Kjeldahl Method.** En: Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Second Edition. Page AL (ed). American Society of Agronomy, Inc. Soil Science Society of America, Inc. Publisher. Madison. Wisconsin, USA.

BURDMAN, S.; D. VEDDER; M. GERMAN; R. ITZIGSHON; J. KIGEL; E. JURKEVITCH; Y. OKON. 1998. **Legume crop yield promotion by inoculation with *Azospirillum*.** En: Biological Nitrogen Fixation for the 21st. Century, Elmerich, C, Kondorosi, A. & Newton W, Eds. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands, pp. 609-612.

CABALLERO-MELLADO, J. 2004. **Uso de *Azospirillum* como alternativa tecnológica viable para cultivos de cereales.** En: M. A. Monzón de Asconegui; I. E. García de Salamone; S. Miyazaki (Eds.). Biología del Suelo. Transformación de la materia orgánica. Usos y biodiversidad de los organismos edáficos. Editorial Facultad de Agronomía (EFA).

CALVIÑO, P.; M. DÍAZ-ZORITA; G. DUARTE. 2004. **Modelo de producción de soja en la región sudeste de la provincia de Buenos Aires**. En: Manual práctico para la producción de soja. Ed. Hemisferio Sur. Bs As. p. 256.

CANTERO, A.; E. M. BRICCHI; V. H. BECERRA.; J. M. CISNEROS; H. A. GÍL. 1986. **Zonificación y descripción de las tierras del Departamento Río Cuarto**. Publicación realizada por el Dpto. de Imprenta y Publicaciones U.N.R.C., Argentina. 80 p.

CARDONE, G.; F. MARTÍNEZ. 2004. **El monocultivo de soja y el déficit de nitrógeno**. Informaciones agronómicas del Cono Sur, Buenos Aires, Argentina.

CASSÁN, F.; P. PICCOLI; R. BOTTINI. 2003. **Plant growth promotion by *Azospirillum* sp. through gibberellin production. An alternative model to increase crop yield?** Microbiología Agrícola: Un aporte de la Investigación Argentina para la Sociedad. (2003) pp: 143- 158. Editorial de la Universidad Nacional de Santiago del Estero. ISBN: 987-99083-5-1

CASSÁN, F. D.; I. E. GARCÍA DE SALAMONE. 2008. ***Azospirillum* sp.: Cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociación Argentina de Microbiología.

CASSÁN, F.; D. PERRIG; V. SGROY; O. MASCIARELLI; C. PENNA; V. LUNA, 2009. ***Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.)**. European Journal of soil Biology 45: 28-35.

CHANWAY, C. P.; R. K. HYNES; L. M. NELSON. 1989. **Plant growth-promoting rhizobacteria: effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens esculenta* Moench) and pea (*Pisum sativum* L.)**. Soil Biol. Biochem. 21: 511-517.

CHEBOTAR, V. K., C. A. ASIS, S. AKAO, 2001. **Production of growth-promoting substances and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when coinoculated with *Bradyrhizobium japonicum***. 24 September 2001.

CIAT. 1988. **Manual de Métodos de Evaluación, Selección y Manejo Agronómico**. Ed. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) , Cali, Colombia.

COLLINO, D. J., M. DE LUCA; A. PERTICARI; S. URQUIAGA CABALLERO; R. W. RACCA. 2007. **Aporte de la FBN a la nutrición de la soja y factores que la limitan, en diferentes regiones de Argentina**. XXIII RELAR, Los Cocos (Córdoba, Argentina), 175.

COYNE, M. 1999. **Soil microbiology. An exploratory approach**. Delmar Publishers. New York. USA. 462 pp.

DARDANELLI, M.; D. RODRIGUEZ NAVARRO; M. MEGÍAS GUIJO; Y. OKON, 2008. **Influencia de la coinoculación *Azospirillum*- rizobios sobre el crecimiento y la fijación de nitrógeno de leguminosas de interés agronómico**. En: Cassán & Garcia de Salamone, editores. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic reserch in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina, pp. 143 – 153.

DATE, R. A. 2000. **Inoculated legumes in cropping systems of the tropics**. Field Crops Research 65: 123-136.

DE FREITAS, J. R.; M. R. BANERJEE; J. J. GERMIDA. 1997. **Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.)**. Biol. & Fertil. Soils 24:358-364.

DE MOOY, C. J.; J. PESEK. 1966. **Nodulation responses of soybeans to added phosphorus, potassium and calcium salts**. Agron. J. 58:275-280.

DI RENZO, M. A.; M. A. IBAÑEZ; N. C. BONAMICO. 2012. **Diseño de Experimentos**. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

DÍAZ-ZORITA, M.; G. A. GROSSO; M. V. FERNANDEZ CANIGLIA; G.A. DUARTE. 1999. **Efectos de la ubicación de un fertilizante nitrógeno-fosfatado sobre la nodulación y la producción de soja en siembra directa en la región de la Pampa Arenosa, Argentina**. Ciencia del Suelo 17: 62-65

DÍAZ-ZORITA, M.; M. PUENTE; A. PERTICARI. 2004. **Inoculación de trigo con *Azospirillum brasilense*: II. Aplicación combinada con fungicidas.** En: M. A. Monzón de Asconegui; I. E. García de Salamone; S. Miyazaki (Eds.). Biología del Suelo. Transformación de la materia orgánica. Usos y biodiversidad de los organismos edáficos. Editorial Facultad de Agronomía (EFA).

DOBBELAERE, S.; J. VANDERLEYDEN; Y. OKON. 2003. **Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere.** Crit. Rev. Plant Sci., 22: 107-149

ERRECART, P. M.; F. A. MONTERO; M. A. SAGARDOY. 2012. **Inoculación de soja (*Glycine max* L. Merrill) con *Bradyrhizobium japonicum* junto a otras bacterias del suelo.** En: XIX Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo – XXIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Mar del Plata, Argentina. 2012

FEHR, W. R.; C. E. CAVINESS. 1971. **Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill.** Crop Science, Vol. 11 (6):929-931.

FERNÁNDEZ CANIGIA, M. V. 2003. **Factores determinantes de la nodulación.** Departamento de Investigación y Desarrollo Nitragin Argentina S.A. 46 pp.

FERRARIS, G.; G. GONZÁLEZ ANTA; M. DÍAZ-ZORITA. 2006. **Aportes actuales y futuros de tratamientos biológicos sobre la nutrición nitrogenada y producción de soja en el Cono Sur.** En: Mercosoja 2006 – 3° Congreso de Soja del MERCOSUR. Soja Sudamericana Liderando el Porvenir. Rosario, SF, 27-30 junio, “006. Argentina. Conferencias Plenarias-Foros-Workshops, pp. 85-88.

FERRARIS, G.; G. GONZÁLEZ ANTA. 2007. **Contribución del nitrógeno inorgánico y de la FBN a la nutrición de soja en la Argentina.** En: www.planetasoja.com.

FERRARIS, G.; L. COURETOT. 2007. **Evaluación de estrategias de inoculación en soja. Campaña 2006-07.** Proyecto Regional Agrícola, Área de Desarrollo Rural. INTA EEA Pergamino.

FERRARIS, G. 2009. **Microorganismos con efecto promotor de crecimiento (PGPM) en cultivos extensivos. Impacto sobre los rendimientos, la eficiencia de uso de los nutrientes y otros caracteres de interés agronómico.** En: II Jornada Bonaerenses Microbiología de los suelos para una agricultura sustentable. Facultad de Agronomía de Azul UNICEN. pp 8-10.

FERRARIS, G.; L. A. COURETOT; M. DIAZ ZORITA; F. MOUSEGNE. 2010. **Tecnologías en el uso de inoculantes para soja: Efectos sobre la nodulación, el rendimiento y su interacción con prácticas de manejo.** XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Rosario, Santa Fe, 2010.

GARCÍA DE SALAMONE, I. E.; N. CABALLOS; M. A. MONZÓN DE ASCONEGUI. 1990. **Respuesta a la Inoculación con *Azospirillum brasilense* de *Triticum aestivum* L. cv. Buck Pucara en condiciones de campo.** II Congreso Nacional de Trigo I (111-117). Pergamino, Buenos Aires.

GARETTO, E. G.; A. M. THUAR. 2012. **Efecto de la promoción con bacteria PGPR en el cultivo de maíz.** Tesis de Grado. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

GONZÁLEZ, N.; A. PERTICARI; B. STEGMAN DE GURFINKEL; E. RODRÍGUEZ CÁCERES. 1998. **Nutrición nitrogenada.** En L. Giorda y H. Baigorri (Eds.) El cultivo de soja en Argentina. SIN: 0329-007. INTA Editar, San Juan, Argentina. pp. 188-198

GONZÁLEZ, N. 2006. **Fijación de nitrógeno en soja.** Situación actual y perspectivas en la Argentina. En: 3º Congreso de Soja del Mercosur, Conferencia Plenaria, Rosario, Argentina. 376 pp.

GROPPIA, M. D.; M. S. ZAWOZNIK; M. L. TOMARO. 1998. **Effects of coinoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean plants.** Eur. J. Soil Biol. 34: 75-80.

HANSON, W. D.; R. C. LEFFEL; R. W. HOWELL. 1961. **Genetic analysis of energy production in the soybean.** *Crop Sci.* 1:121-126

HARTWIG, E. E.; T. C. KILEN. 1991. **Yield and composition of soybean seed from parents with different protein, similar yield.** *Crop Sci.* 31:290-292

HUNGRÍA, M.; R. J. CAMPO. 2004. **Economical and environmental benefits of inoculation and biological nitrogen fixation with the soybean: situation in South America.** In: Moscardi et al (eds), VII World Soybean Research Conference, Foz do Iguassu (PR, Brazil), Proceedings 488-498.

HUNGRÍA, M.; R. J. CAMPO. 2005. **Fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas.** In: Congresso brasileiro de ciência do solo, 30., Recife.

HUNGRÍA, M.; R. J. CAMPO; I. C. MENDES; P. H. GRAHAM. 2006. **Contribution of biological nitrogen fixation to the nitrogen nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max L. Merr*) in South America.** En: Singh, R.P., N Shankar y P.K. Jaiwal (eds), Nitrogen nutrition in plant productivity. Stadium Press, LLCC, Houston (TX, USA), 43-93.

HYMOWITZ, T. 1970. **On the domestication of the soybean.** *Economic Botany* 24, 408-421. En: De la biología del suelo a la agricultura. Thuar, A., Cassán, F., Olmedo, C. (compiladores). 1ª Ed. Rio Cuarto: Universidad Nacional de Río Cuarto. Pp 53-64.

INFOSTAT. 2010. **Grupo InfoStat.** Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

KANTOLIC, A. G. 2007. **Ecofisiología del cultivo de soja: Bases para el manejo y para el aumento del rendimiento potencial.** Cátedra de Cultivos Industriales, departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

KLOEPPER, J. 1993. **Plant growth- promoting rhizobacteria as biological control agents.** In: Soil Microbial Ecology(Ed) F. B. Metting Jr. 254-274. Springer Verlag. Germany. . En: De la biología del suelo a la agricultura. Thuar, A., Cassán, F., Omedo, C. (compiladores). 1ª Ed. Rio Cuarto: Universidad Nacional de Río Cuarto. Pp 53-64.

LAMBERT, R.; R. J. DUBOIS. 1971. **Spectrophotometric determination of nitrate in the presence of chloride.** Anal. Chem. 43: 955-957.

LEFFEL, R. C. 1988. High protein lines and chemical constituent pricing in soybean. *J. Prod. Agric.* 1:111-115

LETT, L; W. DRAGHI; A. PERTICARI; J. PACHECO BASURCO; CÁCERES. 1998. **Tolerancia de la simbiosis *Bradyrhizobium japonicum*- *Glycine max* L. Merrill bajo diferentes condiciones de fertilización nitrogenada en la zona centro de la provincia de Buenos Aires (República Argentina).** Memorias de la XIX RELAR, Venezuela. pp 98-100.

MADDONNI, G. A.; R. A. RUIZ; P. VILARIÑO; I. E. GARCÍA DE SALAMONE. 2004. **Fertilización en los cultivos para grano.** En: E Satorre; R Benech Arnold; GA Slafer; EB de la Fuente; DJ Miralles; ME Otegui; R (Eds.). Producción de Granos, Bases funcionales para su manejo. Eds. Editorial Facultad de Agronomía.

MARKO, C. J.; M. C. IGLESIAS. 2003. **Co-inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum Az 39* INTA en el cultivo de soja (*Glycine max* L.) fertilizado.** UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE Comunicaciones Científicas y Tecnológicas.

MARTÍNEZ LALIS, R. 2000. **Nitrógeno, inoculación y fijación biológica.** Fertilizar 17, 17-19.

MC LEAN, E. O. 1982. **Soil pH and lime requirement.** In **Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Second Edition.** Page AL (ed) American Society of Agronomy, Inc. Soil Science Society of America, Inc. Publisher. Madison. Wisconsin, USA.

MELGAR, R. 2005. **El mercado de fertilizantes en la Argentina y su relación con el sector agropecuario.** En Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. Echeverría H.E & F García. (eds.). INTA. 485-502.

MICUCCI, F. G.; J. AMIGO; F. LEDESMA; M. DIAZ-ZORITA. 2009. **Tratamientos biológicos de semillas en cultivos de soja (*Glycine max* L. Merr.) en el Norte Argentina.** Sexta Reunión de. Producción Vegetal y Cuarta de. Producción Animal del NOA, 2009.

MICUCCI, F. G.; J. AMIGO; F. LEDESMA; M. DÍAZ-ZORITA. 2010. **Aportes de tratamientos biológicos de semillas de soja (*Glycine max* L. Merr.) en lotes con antecedentes del cultivo en la Región del NOA.** XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Rosario, Santa Fe, 2010.

MONTERO, F. A.; M. A. SAGARDOY. 2003. **Supervivencia de *Bradyrhizobium japonicum* sobre semilla de soja tratada sin fungicida, inoculante líquido y protector.** IV Reunión Nacional Científico Técnica de Biología de Suelo-IV Encuentro de Fijación Biológica de Nitrógeno Las Termas de Río Hondo. Santiago del Estero. Argentina.

MONTERO, F. A.; M. A. SAGARDOY. 2005. **Resultados del uso de un protector bacteriano sobre la nodulación de plantas de soja tratadas con inoculante líquido, insecticidas, fungicida y micronutrientes.** V Reunión Nacional Científico Técnica de Biología de suelo-V Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno. San Salvador de Jujuy. Jujuy. Argentina.

MORGENSTERN, E.; Y. OKON. 1987. **The effect of *Azospirillum brasilense* on root morphology in seedlings of *Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense*.** Ari. Soil Res. Rehábil. 1:115-127.

NELSON, D.; SOMMERS, L. 1973. **Determination of total nitrogen in plant material.** Agron. J. 65:109-112

NITRAGIN ARGENTINA. 2011 **Importancia del uso de protector bacteriano en el tratamiento biológico de semillas de soja.**

OKON, Y.; C. LABANDERA-GONZALEZ. 1994. **Agronomic applications of *Azospirillum*.** An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. Soil Biol. Biochem. 26: 1591-1601.

OKON, Y.; R. ITZIGSOHN. 1995. The **development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields**. *Biotechnology Advances* 13 (3): 415-424.

PANDEY, A.; L. PALNI; K. HEBBAR; A. PANDEY. 2001. **Suppression of damping-off in maize seedlings by *Pseudomonas sorrugata***. *Microb. Research* 156: 191-194.

PERRIG, D.; L. BOIERO; O. MASCIARELLI; C. PENNA; F. CASSÁN; V. LUNA. 2007. **Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation**. *Applied Microbiology and Biotechnology* (2007). 75: 1143-1150.

PERTICARI, A.; N. ARIAS; H. BAIGORRI; J. DE BATTISTA; L. LETT; M. MONTECCHIA; J. PACHECO BASURCO; A. SIMONELLA; S. TORESANI; L. VENTIMIGLIA; R. VICENTINI, 2003. **Inoculación y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja**. Capítulo 7. *El libro de la soja*. Ed. SEMA. pp. 69-76.

PERTICARI, A. 2005 a. **Inoculación de calidad para un máximo aprovechamiento de la FBN**. *Actas del Congreso Mundo Soja, Buenos Aires, Argentina*, 111-120.

PERTICARI, A. 2005 b. **Uso de Biofertilizantes. Inoculación y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja**. IMYZA INTA CASTELAR. Castelar, Buenos Aires, Argentina.

PERTICARI, A. 2007. **Fijación biológica de nitrógeno=beneficios para la producción**. I Jornada Bonaerense de Microbiología, Universidad nacional de Luján (UNLU), Marzo 2007.

PERTICARI, A.; R. PUENTE; A. ECHEGARAY; C. PICCINETTI. 2007. **Uso eficiente de los inoculantes y de la fijación biológica de nitrógeno**. *En: De la Biología del Suelo a la Agricultura*. UNRC. pp 75-291.

PIETRARELLI, L.; J. L. ZAMAR; H. L. LEGUÍA; E. E. ALESSANDRIA; J. SÁNCHEZ; M. ARBORNO; S. M. LUQUE. 2008. **Efectos de diferentes prácticas de manejo en la nodulación y en el rendimiento del cultivo de soja**. *AGRISCIENTIA*, 2008, VOL. XXV (2): 81-87

RACCA. 2002. **Inoculación en soja: una herramienta para maximizar la productividad.** INTA – IFIVE En: www.fertilizar.org.ar/articulos/articulos.asp. Consultado el día 7-10-2011

RACCA, R. 2003. **Algunos conceptos sobre la fijación biológica del nitrógeno en cultivos.** IV Reunión Nacional Científico Técnica de Biología de Suelo y IV Encuentro de Fijación Biológica del Nitrógeno. Termas de Río Hondo, Santiago del Estero.

RACCA, R. W.; D.J.COLLINO. 2005. **Bases fisiológicas para el manejo de la fijación biológica del nitrógeno en soja.** Actas del Congreso Mundo Soja, Buenos Aires (Argentina), 111-120.

RACCA, R. W. 2008. **Inoculación en soja: una herramienta fundamental para maximizar la productividad.** INTA - IFIVE

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. Pág. 213-215.

RIZOBACTER ARGENTINA S.A. 2008. **Acción de Protectores Bacterianos sobre la viabilidad de inoculantes y respuesta a la nodulación.** Ing. Fabio A. Montero. En: www.rizobacter.com.ar. Consultado el día 5-10-2011

RODRIGUEZ CÁCERES, E.; C. DI CIOCCO; S. CARLETTI, 2008. **25 años de Investigaciones de *Azospirillum brasilense* AZ39 en Argentina.** En: Cassán & Garcia de Salamone, editors. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic reserch in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina, pp. 179-188.

SAGPyA. 2011. Estimaciones y Estadísticas – Sistema Integrado de Información Agropecuaria. En: <http://www.sii.gov.ar/index.php/series-por-tema/agricultura>. Consultado el día 29-06-2011.

SALVAGIOTTI, F.; K. G. CASSMAN; J. E. SPECHT; D. T. WALTERS; A. WEISS; A. DOBERMANN. 2008 **Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review**, *Field Crops Res.* (2008) Volume 108, Issue 1, 11, Pages 1-13

SARIG, S; Y. OKON; A. BLUM. 1990. **Promotion of leaf area development and yield in *Sorghum bicolor* inoculated with *Azospirillum brasilense***. *Symbiosis* 9:235-245.

SEILER, R. A.; V. H. ROTONDO; R. A. FABRICIUS; M. G. VINOCUR; C. BONACCI. 1995. **Agroclimatología de Río Cuarto- 1974/93**. Volumen I. Publicación realizada por el Dpto. de Imprenta y Publicaciones U.N.R.C., Argentina. 66 p.

SEILER, R. A. 2012. **La sequía 2011.2012: Una combinación devastadora causada por dos fenómenos simultáneos**. Informe técnico. Agrometeorología FAV UNRC. 10 p.

SERVICIO DE AGROMETEREOLOGÍA. 2012. **Banco de datos. Serie datos climáticos Río Cuarto: 1974-2010**. Cátedra de Agrometeorología. FAV – UNRC, Río Cuarto, Argentina.

STRZELCZYK, E.; M. KAMPER; C. LI. 1994. **Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources**. *Microbiol. Res.* 149:55-60

THUAR, A. M.; C. BRUNO; S. CASTRO. 2012 **Respuesta de la simbiosis *Bradyrhizobium japonicum* – soja a la fertilización con nitrato**. Facultad de Agronomía y Veterinaria. UNRC. Río Cuarto, Córdoba.

TIEN, T. M.; M. H. GASKINS; D. H. HUBBELL. 1979. **Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.)**. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:1016-1024.

TORESANI, S.; A. PERTICARI; M. E. SANCHEZ; G. GIUBILEO. 2006. **Evaluación de cepas de rizobios para inocular soja en Zaballa, Santa Fe**. Cátedra de Microbiología Agrícola y Estadística. Facultad de Cs. Agrarias, UNR. Zaballa, Santa Fe, Argentina. En: www.acsoja.org.ar/mercosaoja2006/trabajos. Consultado: 3/09/2011

UHRICH, W.; S. BENINTENDE. 2005. **Aplicación de *Azospirillum brasilense* en cultivo de soja en coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum***. Revista Científica Agropecuaria 9(1): 71-75.

VANCE, C. P. 2001. **Symbiotic Nitrogen Fixation and Phosphorous Acquisition**. Plant nutrition in a World of Declining Renewal resources. Plant Physiology 127, 390-397.

WALKLE, A.; I. BLACK. 1934. **An examination of the Degtjareff method and a proposed modification of the chromic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method**. *Soil Sci.* 34: 29-38.

YAHALOM, E.; Y. OKON; A. DOVRAT. 1987. ***Azospirillum* effects on susceptibility to *Rhizobium* nodulation and on nitrogen fixation of several forage legumes**. Can J. Microbiol. 33: 510-514.

ZHANG, F.; N. DASHTI; H. HYNES; D. L. SMITH. 1996. **Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures**. Ann. Bot. 77: 453-459.

ZHANG, F.; D. L. SMITH. 2002. **Interorganismal signaling in suboptimum environments: The legume-rhizobia symbiosis**. Adv. Agron. 76: 125-161.

ZAPATA, F; S. DANSO; S. HARDARSON; M. FRIED. 1987. **Time course of nitrogen fixation in field-grown soybean using ¹⁵nitrogen- methodology**. *Agron. J.* 79:173-176.

ANEXOS

A CONTINUACION SE MUESTRAN LAS SALIDAS DE LOS ANALISIS DE VARIANZA REALIZADOS

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R2

Anexo 1: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0001
Coefficiente de variación (CV)	23,64

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 2: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	C
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	<0,0001
Coefficiente de variación (CV)	25,58

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 3: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	<0,0001
Coefficiente de variación (CV)	23,37

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 4: Número de nódulos en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	<0,0001
Coefficiente de variación (CV)	29,80

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 5: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0482
Coefficiente de variación (CV)	38,72

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 6: Número de nódulos en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0024
Coefficiente de variación (CV)	35,84

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 7: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0004
Coefficiente de variación (CV)	23,55

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 8: Peso de nódulos en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0004
Coefficiente de variación (CV)	29,33

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 9: Peso de nódulos en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0132
Coefficiente de variación (CV)	37,56

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 10: Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R2
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0335
Coefficiente de variación (CV)	19,95

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 11: Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R2
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,4227
Coefficiente de variación (CV)	22,29

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 12: Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R2
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,0505
Coefficiente de variación (CV)	20,09

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 13: Peso seco aéreo y radical por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso seco aéreo y radical por m ² de superficie en estadio fenológico R2
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,5354
Coefficiente de variación (CV)	23,53

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 14: Peso seco aéreo por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso seco aéreo por m² de superficie en estadio fenológico R2
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,5685
Coefficiente de variación (CV)	26,17

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 15: Peso seco radical por m² de superficie en estadio fenológico R2 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso seco radical por m² de superficie en estadio fenológico R2
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,1875
Coefficiente de variación (CV)	16,80

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R6

Anexo 16: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales y secundarias por planta en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,0832
Coefficiente de variación (CV)	24,44

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 17: Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0310
Coefficiente de variación (CV)	25,57

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 18: Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales por planta en estadio fenológico R6
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0164
Coefficiente de variación (CV)	31,98

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 19: Número de nódulos en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	C
Valor de P	0,0018
Coefficiente de variación (CV)	35,97

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 20: Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces secundarias por planta en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,2886
Coefficiente de variación (CV)	38,05

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 21: Número de nódulos en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,1937
Coefficiente de variación (CV)	31,42

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 22: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Anexo 22: Peso de nódulos en raíces principales y secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0211
Coefficiente de variación (CV)	23,61

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 23: Peso de nódulos en raíces principales por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Anexo 23: Peso de nódulos en raíces principales por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	B
T2	A
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	B
T8	B
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0034
Coefficiente de variación (CV)	30,53

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 24: Peso de nódulos en raíces secundarias por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Anexo 24: Peso de nódulos en raíces secundarias por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,3758
Coefficiente de variación (CV)	32,77

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 25: Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso por nódulo de las raíces principales en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,4605
Coefficiente de variación (CV)	40,09

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 26: Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso por nódulo de las raíces secundarias en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,9559
Coefficiente de variación (CV)	45,18

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 27: Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso por nódulo de las raíces principales y secundarias en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,9760
Coefficiente de variación (CV)	18,76

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 28: Peso seco aéreo y radical por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso seco aéreo y radical por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,4708
Coefficiente de variación (CV)	10,67

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 29: Peso seco aéreo por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso seco aéreo por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,4575
Coefficiente de variación (CV)	11,04

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 30: Peso seco radical por m² de superficie en estadio fenológico R6 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso seco radical por m ² de superficie en estadio fenológico R6
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,5846
Coefficiente de variación (CV)	11,47

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

EVALUACIONES REALIZADAS EN ESTADIO FENOLOGICO R8

Anexo 31: Rendimiento en grano en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Rendimiento en grano en estadio fenológico R8
T1	A
T2	B
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	A
T8	A
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0074
Coefficiente de variación (CV)	13,50

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 32: Número de granos por m² de superficie en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Número de granos por m ² de superficie en estadio fenológico R8
T1	A
T2	B
T3	B
T4	B
T5	B
T6	B
T7	A
T8	A
T9	B
T10	B
Valor de P	0,0041
Coefficiente de variación (CV)	17,84

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 33: Peso de 100 granos en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Peso de 100 granos en estadio fenológico R8
T1	A
T2	A
T3	A
T4	A
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,1304
Coefficiente de variación (CV)	7,58

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.

Anexo 34: Contenido de proteína en granos en estadio fenológico R8 en el cultivo de soja, campaña 2011-2012, Río Cuarto.

Tratamiento	Contenido de proteína en granos en estadio fenológico R8
T1	A
T2	A
T3	A
T4	B
T5	A
T6	A
T7	A
T8	A
T9	A
T10	A
Valor de P	0,0030
Coefficiente de variación (CV)	1,35

Letras distintas indican diferencias significativas (P=0,05) según test de DGC.