



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final presentado para optar al
Grado de Ingeniero Agrónomo
Modalidad: Proyecto

RESPUESTA DE LA SOJA A LA INOCULACIÓN
CON DIFERENTES DOSIS EN SUELO CON
ANTECEDENTES DEL CULTIVO

Autor: Nicola Carolina

DNI: 36864973

Director: Giayetto Oscar

Río Cuarto – Córdoba

Abril 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final:

**Respuesta de la soja a la inoculación con diferentes dosis
de inoculante en suelo con antecedentes de este cultivo**

Autor: Carolina Melina Nicola

DNI: 36864973

Director: Oscar Giayetto

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

Elena Fernandez _____

Alfredo Ohanian _____

Oscar Giayetto _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

ÍNDICE GENERAL

	Página
Certificado de aprobación	II
Índice general	III
Índice de cuadros	IV
Índice de figuras	V
Índice de fotos	VI
Resumen	VII
Summary	VIII
Introducción	9
Antecedentes	12
Hipótesis	15
Objetivos	15
Materiales y Métodos	16
Resultados y discusión	20
Conclusiones	30
Bibliografía	31

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Evaluación de la infectividad (planta infectada aquella con más de tres nódulos activos) y número de nudos por planta (raíz principal + raíces secundarias) en la etapa fenológica V3	22
Cuadro 2. Número de nódulos totales por planta y número de nódulos activos por planta en la etapa fenológica R5. Este último, discriminado por su ubicación en raíz principal (RP) y raíces secundarias (RS)	22
Cuadro 3. Peso seco de nódulos totales por planta y peso seco de nódulos activos por planta en la etapa fenológica R5. Este último, discriminado por su ubicación en raíz principal (RP) y raíces secundarias (RS)	24
Cuadro 4. Balance relativo de N para los tres tratamientos (valores expresados kg ha^{-1})	25
Cuadro 5. Rendimiento en granos y sus componentes directos, número de grano (NG) por superficie y peso de 100 semillas. (PG 100)	26

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Valores decádicos de precipitaciones durante el ciclo del cultivo de soja (2015/16) en el establecimiento Don Mario, (provincia de San Luis).	20
Figura 2. Relaciones entre FBN y el N° total de nódulos por planta (izquierda), y entre la FBN y la biomasa nodular por planta (derecha) del cultivo de soja (2015/16).	28
Figura 3. Relación entre la FBN y el número de semillas m ⁻² del cultivo de soja (2015/16).	28
Figura 4. Relación entre la FBN y el rendimiento en granos del cultivo de soja (2015/2016).	29

ÍNDICE DE FOTOS

	Página
Foto 1. Nódulos seccionados transversalmente para determinar su funcionalidad en la etapa V3 del cultivo de soja según su coloración interna.	17
Foto 2. Plántulas de soja mostrando detalles del daño producido por granizo.	21

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto de la inoculación en el rendimiento del cultivo de soja en suelo con antecedentes de este cultivo. Durante la campaña 2015/16 se realizó el ensayo en el establecimiento Don Mario localizado en la provincia de San Luis. Los tratamientos realizados fueron el testigo, dosis comercial de inoculante y doble dosis de inoculante. El diseño experimental que se utilizó fue de bloques al azar con 3 repeticiones. En la etapa fenológica V3 se determinó infectividad de rizobios, en R5 se cuantificó el número y biomasa de nódulos totales y activos discriminados en raíces primarias y secundarias, y en R9 se determinó el rendimiento y sus componentes directos. Se calculó un Balance Relativo de Nitrógeno (N) para estimar el aporte de N proveniente de la fijación biológica de nitrógeno (FBN). En la nodulación se encontró que tanto el número de nódulos totales como activos por planta discriminados en raíz principal como secundaria y su respectiva biomasa aumentaron en los tratamientos inoculados respecto al testigo, pero sin diferencias entre las dosis aplicadas (comercial y doble dosis). Los aportes por FBN representaron en promedio para el testigo un 65.7% de los requerimientos de nitrógeno ($83,26 \text{ kg N ha}^{-1}$), para dosis comercial un 73.86 % ($119,92 \text{ kg N ha}^{-1}$) y para doble dosis un 76,9 % ($138,83 \text{ kg N ha}^{-1}$). El rendimiento varió significativamente en respuesta a los tratamientos con diferencias entre los dos tratamientos inoculados respecto al testigo, pero sin diferencias entre ellos. Se cuantificaron relaciones funcionales entre la nodulación (número y biomasa de nódulos por planta) y la FBN y, entre ésta y el rendimiento de granos y sus componentes directos (número de granos por superficie y su peso individual). Hubo un ajuste lineal y positivo para esas relaciones con excepción de la relación entre peso de 100 semillas y FBN.

Palabras clave: soja, nodulación, fijación de N, rendimiento

SUMMARY

Response of soybean to inoculation with different doses of inoculant in soil with soybean in crop rotation

The aim of this work was to evaluate the effect of the inoculation on the yield of soybean crop on a soil with a rotation of soybean. In 2015/16 was carried the test out at the Don Mario establishment located in the province of San Luis. The treatments were the control, commercial dose of inoculant and double dose of inoculant. The experimental design was random blocks with three replicates. In development stage V3, rhizobium infectivity was determined, in R5, the number and biomass of total and active nodules discriminated in primary and secondary roots were quantified, and in R9 the yield and its direct components were determined. Was calculated the Nitrogen relative balance to estimate the N contribution by nitrogen biological fixation. In the nodulation, it was found that both the number of total and active nodules per plant discriminated in main and secondary roots and their respective biomass increased in the treatments inoculated with respect to the control, but without differences between the applied doses (commercial and double doses). The contributions by nitrogen biological fixation represented, on average, 65,77% of nitrogen requirements ($83,26 \text{ kg N ha}^{-1}$), for commercial dose 73,77% ($119,92 \text{ kg N ha}^{-1}$) and for double dose was 76,88% ($138,83 \text{ kg N ha}^{-1}$). The yield varied significantly in response to treatments with differences between the two treatments inoculated with respect to the control, but without differences between them. Functional relationships between nodulation (number and biomass of nodules per plant) and nitrogen biological fixation and, between this and yield and their direct components (number of grains per surface and their individual weight) were quantified. All of them gave a linear and positive adjustment with the exception of the relation between weight of 100 seeds and nitrogen biological fixation.

Key words: soybean, nodulation, nitrogen biological fixation, yield

INTRODUCCIÓN

El cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) es uno de los principales cultivos que se realiza en Argentina. Es una leguminosa cultivada por sus semillas con alto contenido de proteína y aceite, utilizada para la alimentación humana y animal (Solivérez, 2006).

A nivel mundial esta leguminosa se produce en tres grandes países Estados Unidos, Argentina y Brasil. Argentina ocupa el tercer lugar a esa escala de producción, con una participación del 19% (Agrofy News, 2016).

En la última campaña agrícola 2015/16 la superficie sembrada en el país fue de 20,2 millones de hectáreas con un rendimiento promedio de 29,1 quintales por hectárea siendo la producción total de 55,3 millones de toneladas (Bolsa Comercio Rosario, 2016). El mayor volumen de soja en Argentina se produce en la provincia de Buenos Aires con 19 millones de toneladas, le sigue Córdoba con una producción de 18,6 millones y luego Santa Fe con 11,8 millones de toneladas, el resto de las provincias producen soja, pero en menor escala (Agrofy News, 2016).

Como todos los cultivos de grano, el rendimiento de la soja resulta de dos componentes numéricos principales que no son plenamente independientes entre sí. El número de granos que se establece por unidad de área y el peso unitario que alcanzan las semillas. A su vez, el número de granos depende del número de nudos por unidad de área de cultivo los que representan la cantidad de sitios potenciales para el establecimiento de los frutos, el número de vainas por nudo que representan la fertilidad de esos sitios y el número de granos por vaina que representan la fertilidad de los frutos (Kantolic *et al.*, 2003).

La disponibilidad de nutrientes durante el ciclo del cultivo, principalmente de nitrógeno (N), fosforo, azufre y potasio, afecta los procesos que regulan el crecimiento, la generación del rendimiento y la calidad de los cultivos de granos (Kantolic *et al.*, 2003).

El N forma parte de toda la célula viva; en las plantas es constituyente de la clorofila, de todas las proteínas incluyendo las enzimas y de muchos otros compuestos. Además, el N al ser un componente de la clorofila e intervenir en su síntesis, participa en la fotosíntesis. El síntoma visual característico de la deficiencia de este mineral es el color amarillento de las hojas basales de la planta (Maddonni *et al.*, 2008b).

El cultivo de soja tiene requerimientos de N muy altos. Para producir una tonelada de grano requiere absorber 80 kg de N (IPNI, 2002). La provisión de N en soja se da por dos mecanismos, la absorción desde el suelo y la fijación biológica del nitrógeno atmosférico (FBN) mediante la simbiosis con microorganismos del genero *Bradyrhizobium japonicum*. El cultivo de soja obtiene entre el 25 y 75 % de sus requerimientos nitrogenados a través del mecanismo de FBN (Fontanneto y Keller, 2006).

El aporte de N por el proceso de FBN depende de la disponibilidad de nitratos (NO_3) en el suelo, de los factores edafo-climáticos, de la demanda de N por parte del cultivo, de la capacidad competitiva, eficiencia y persistencia de la cepa de *Bradyrhizobium japonicum* (Maddoni *et al.*, 2008a).

La FBN es llevada a cabo por organismos procariotas, que poseen el complejo multienzimático nitrogenasa. Dicho complejo cataliza la reducción altamente endergónica de N_2 atmosférico a amonio en presencia de Mg, ATP y un donador de electrones, la enzima nitrogenasa es muy sensible al O_2 . El inicio de la simbiosis entre la bacteria y la planta implica el intercambio de señales entre ellas, que culmina con la formación de una estructura localizada en la raíz denominada nódulo, donde se localizan los simbiosomas que albergan los bacteroides. El nódulo proporciona a la nitrogenasa un entorno donde la concentración de O_2 está regulada por una resistencia variable en el córtex y la presencia de leghemoglobina en la zona central. El funcionamiento del nódulo depende del suministro de carbono, en forma de sacarosa, por parte de la planta. La sacarosa es metabolizada en ácidos dicarboxílicos que sirven de fuente energética a los bacteroides. El amonio fijado por éstos, es excretado al citosol de la célula huésped que lo incorpora en forma de amidas o ureidos, los cuales son exportados al resto de la planta (Pedro *et al.*, 2000).

La acumulación de nitrógeno es lenta en las primeras etapas de desarrollo del cultivo y se incrementa a partir de los 30 días después de la emergencia (coincidente con el inicio de la floración) hasta aproximadamente la finalización del llenado del grano. En los primeros 30 días del ciclo del cultivo el aporte de N por FBN es muy bajo debido a que los nódulos se están desarrollando y tiene baja funcionalidad. En esta etapa la absorción de N del cultivo depende en gran medida del aporte de N del suelo. A partir de los 30 días el sistema nodular ya es capaz de trabajar a la máxima tasa y es donde mayor importancia cobra la FBN para la acumulación de N del cultivo. Cualquier factor que afecte la actividad del cultivo durante este período afectará el aporte de FBN, ya que este proceso depende de la provisión de fotoasimilados. En el comienzo del llenado de granos en el cultivo, los granos se convierten en el principal destino del carbono y nutrientes dentro de la planta y, por lo tanto, los nódulos pasan a ser un destino secundario y las tasas de FBN decaen en este período (Salvagiotti *et al.*, 2009).

La FBN tiene un alto costo energético para la planta, mucho mayor que el de tomar N del suelo. La planta debe destinar entre 6 y 12 gramos de compuestos carbonados por cada gramo de N fijado. La asimilación de N a partir de nitratos en el suelo es entre 6 y 8 veces energéticamente más eficiente para el cultivo. La simbiosis leguminosa-rizobio es la adaptación a un medio deficitario en N; en suelos ricos en N, las leguminosas prefieren utilizar el N inorgánico del suelo, independientemente de la presencia de las bacterias. Por el contrario, si la bacteria está presente y los niveles de N del suelo son bajos y/o los

requerimientos de la planta son elevados, la planta estimula el ingreso de los rizobios a la raíz. Como la planta debe producir los fotoasimilados, existe una relación directa entre fotosíntesis y FBN. Por ende, la FBN se relaciona estrechamente con la producción de biomasa aérea y rendimiento: cuanto mayor sea la biomasa aérea, mayor será la fotosíntesis, y mayor será la FBN (Fernández Canigia, 2003).

La práctica más recomendable para lograr que la FBN sea una fuente importante de N para el cultivo, es la inoculación de la semilla de soja con cepas de *Bradyrhizobium japonicum* específicas, e inoculantes de alta calidad. La respuesta a la inoculación es mayor cuando los lotes no cuentan con antecedentes de soja. No obstante, también se ha observado respuesta a la reinoculación en lotes con historia sojera (Díaz Zorita *et al.*, 2004).

Con la aplicación de inoculante en la superficie de la semilla de soja, se busca lograr la adherencia efectiva de un alto número de bacterias fijadoras de nitrógeno previo a la siembra. Una vez germinada la semilla, las bacterias infectan las raíces y se forman los nódulos, dentro de los cuales se desarrollan las bacterias y comienzan a fijar N₂ (Biagro, 2000).

En el Proyecto Inocular (Convenio de asistencia técnica entre INTA y 25 empresas fabricantes de inoculantes), con la colaboración de productores y técnicos, se llevan a cabo (desde 1994) numerosas experiencias con el objetivo de evaluar los efectos de la inoculación en diferentes ambientes de producción. En lotes sin historia sojera, observaron una respuesta a la inoculación de 823 kg más de semillas por hectárea frente al testigo sin inocular. Mientras que, en lotes con historia sojera, la respuesta a la inoculación fue de 291 kg más por hectárea (Heymo, 2014).

En lotes sin antecedentes de soja, no existe población de rizobios específicos para esta leguminosa, o bien el contenido de bacterias está por debajo de los niveles adecuados para lograr una buena nodulación. Una vez que se sembró soja inoculada en un lote los rizobios del inoculante colonizan el suelo y, aquellos que sobreviven, infectan nuevamente al cultivo en la siguiente siembra. Las poblaciones de rizobios naturalizadas, modifican sus características para poder permanecer en el suelo, son más resistentes a condiciones de estrés, se alimentan e infectan material no vivo, se vuelven saprófitos, y pierden eficiencia en la FBN. En cambio, los rizobios introducidos con el inoculante no pueden alimentarse e infectar material muerto y buscan hacerlo con material vivo; siendo su función principal fijar N₂, no sobrevivir, siendo mucho más eficientes en el proceso de FBN (Heymo, 2014). Los rizobios naturalizados en el suelo producen en las plantas nódulos más pequeños, ubicados principalmente en las raíces secundarias, la infección es más tardía y tienden a detener la FBN en etapas tempranas (anteriores a la floración). Las cepas que se introducen con los inoculantes son más eficientes, producen en las plantas mayor cantidad de nódulos medianos

y grandes, ubicados principalmente en raíz primaria y tienen rápida y prolongada fijación (desde etapas V2-V3 hasta R6) (Peticari, 2006).

Nódulos ubicados en la raíz principal indican una infección temprana. Su importancia consiste en que cuando más temprana sea la nodulación mayor será el tiempo total de fijación (Maddonna *et al.*, 2008a). Los nódulos que se encuentran ubicados sobre raíz principal, y cercanos a la zona del cuello de la planta, pueden fijar hasta 10 veces más N que aquellos desarrollados sobre raíces laterales (Biagro, 2000).

Si no hay limitaciones ambientales, se puede observar en estados vegetativos V4-V5 del cultivo 10-12 nódulos por planta, ubicados la mayoría en la parte superior de la raíz primaria, con un peso por planta superior a 80 mg y un peso individual de nódulo de 4 a 5 mg. En el estado reproductivo R5-R6 la nodulación adecuada es aquella que presenta más de 40-50 nódulos por planta, de los cuáles por lo menos 12 se encuentran en la parte superior de la raíz primaria, de tamaño mediano a grande, 6-8 mm de diámetro. El peso seco de nódulos por planta óptimo ronda los 800-1000 mg y el peso individual de nódulo de 7 a 10 mg (Peticari, 2006).

Comparando el rendimiento entre cultivos inoculados con cultivos no inoculados, es factible observar diferencias en el caso que el cultivo inoculado haya nodulado en forma más temprana, con mayor biomasa (peso seco de nódulos), o que las cepas del inoculante hayan logrado producir una elevada proporción del total de nódulos formados (Maddonna *et al.*, 2008a).

El cultivo de soja es dependiente del nitrógeno. Esto significa que cuanto más N pueda incorporar en el rendimiento biológico, mayor será el rendimiento de grano (Ventimiglia y Carta, 2006).

ANTECEDENTES

En el INTA EEA de Pergamino, Ferraris y Couretot (2011) evaluaron los efectos sobre la nodulación y el rendimiento en tratamientos basados en la dosis de inoculante (dosis recomendada comercialmente versus doble dosis de la recomendada), método de inoculación (método seco (tradicional) versus método húmedo), y empleo de curasemilla; y se cuantificó la interacción que existió entre los tratamientos mencionados con la fertilización fósforo-azufrada, en la campaña 2010/2011. Los tratamientos de inoculación se realizaron aportando bacterias fijadoras del género *Bradyrhizobium japonicum* junto a micorrizas y la fertilización fósforo-azufrada se realizó en una dosis de 100 kg ha⁻¹ de una mezcla física de composición (0:17:7). En el estado fenológico V3 se evaluó la infectividad de rizobios (considerándose infectiva cuando había más de tres nódulos activos y fisiológicamente normales). En R4 se cuantificó el número de nódulos efectivos en raíz primaria y raíces secundarias y el peso

seco de nódulos en ambos tipos de raíces. En la cosecha se determinaron los componentes numéricos del rendimiento, número de grano y peso de grano. En V3 y en todos los tratamientos, la totalidad de las plantas evaluadas estaban infectadas con rizobios, incluyendo el testigo (sin inocular). Con respecto al número de nódulos efectivos en la raíz primaria, observaron una tendencia a favor de los tratamientos inoculados bajo el método húmedo y con doble dosis. En el testigo el valor promedio del número de nódulos efectivos en raíz primaria por planta fue de 5,2; en el tratamiento método seco con dosis de marbete fue de 9,5 nódulos efectivos en la raíz primaria por planta, y en el tratamiento método seco con doble dosis de marbete fue de 19 nódulos activos en raíz primaria por planta. Con respecto a las raíces secundarias, el número de nódulos efectivos no tuvo diferencias entre los tratamientos. En el ensayo obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los rendimientos de los tratamientos de inoculación ($p=0,04$) y de fertilización fósforo-azufrada ($p=0,02$). La respuesta a la inoculación no fue afectada por el nivel de inoculante ($p>0,10$). Los tratamientos inoculados no difirieron entre sí; todos, con excepción del tratamiento que se le aplicó curasemilla, superaron significativamente el rendimiento del testigo. El principal componente del rendimiento afectado por los tratamientos fue el número de granos, explicando el 84% de las variaciones en los rendimientos ($R^2=0,90$). El peso de los granos fue poco afectado, y sin una tendencia definida.

A través del Proyecto Inocular, Peticari (2004) evaluó los efectos de la inoculación sobre diferentes parámetros de rendimiento en áreas de producción de soja. Los ensayos se realizaron en la campaña 2003/04 en diferentes lugares del país. Los resultados que obtuvieron fue que, en suelos sin antecedentes de soja, resultante de 30 ensayos el rendimiento promedio fue de 1808 kg ha⁻¹ en el testigo (sin inocular) y un rendimiento de 2756 kg ha⁻¹ en los tratamientos inoculados con *Bradyrhizobium japonicum* y en suelos con antecedentes de soja, resultante de 46 ensayos obtuvieron un rendimiento promedio de 2894 kg ha⁻¹ en el testigo y un rendimiento de 3258 kg ha⁻¹ en los tratamientos inoculados. Concluyeron que en suelos sin antecedentes de soja la respuesta a la inoculación, si no hay limitaciones hídricas y nutricionales se esperan aumentos de rendimientos mínimos del 50 %. Las respuestas en suelos con antecedentes de soja fueron positivas a favor de la inoculación en el 80 % de los casos con un incremento medio del 12% y un aumento de rinde superior a los 350 kg ha⁻¹. La mayor respuesta a la inoculación se detectó en los ambientes con mayor producción.

El Departamento de agronomía de Nitragin (2016) cuantificó el incremento de rendimiento por el aporte de las diferentes tecnologías de inoculación de la empresa que están disponibles en el mercado para el tratamiento de semillas de soja a campo. Los ensayos se realizaron en diferentes regiones productivas del país con una totalidad de 408 sitios evaluados a lo largo de las últimas 13 campañas (2002/03 a 2014/15). Los tratamientos

consistieron en el testigo, en el inoculante Nitragin CellTech, que contiene cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, en el inoculante Optimize II, que contiene cepas de *Bradyrhizobium japonicum* más LCO, y el inoculante Nitragin Triple que contienen lo mismo que Optimize II más un solubilizador de nutrientes. Los resultados que arrojaron los ensayos es que hay respuesta a la inoculación de soja; obteniendo con Nitragin CellTech un incremento del rendimiento 6,2 % o 205 kg ha⁻¹ y con Nitragin Optimize II el rendimiento se incrementó un 10 % o 331 kg ha⁻¹ en comparación con el testigo.

HIPÓTESIS

- La inoculación de semillas con cepas de *Bradyrhizobium japonicum* incrementa el rendimiento del cultivo en suelos con antecedentes de soja.
- La dosis doble de inoculante aplicado a la semilla aumenta el rendimiento en comparación con la dosis normal indicada comercialmente.

OBJETIVO

General:

- Evaluar la respuesta del cultivo de soja a la inoculación con diferentes dosis de cepas de *Bradyrhizobium japonicum* en suelos con antecedentes de este cultivo.

Específicos:

- Evaluar la respuesta del cultivo de soja a la doble dosis de inoculante.
- Evaluar el retorno económico con la utilización de inoculante para comprobar si el tratamiento es económicamente factible.
- Evaluar el aporte de N mediante la fijación biológica al cultivo de soja.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en el establecimiento Don Mario ubicado al Noreste de la provincia de San Luis, en el departamento Pedernera, a 18 km de la ciudad de la Toma y 7 km de Juan Llerena; en un lote de 42 hectáreas ($33^{\circ}13'34.33''S$ y $65^{\circ}36'50.36''O$), que presenta un suelo Haplustol entico de textura franca gruesa. La rotación del lote en los últimos 5 años fue soja-sorgo-soja-maíz-maíz, y en su historial de uso se sembró soja en dos oportunidades, campañas 2010/11 y 2012/13.

Antes de la siembra, se inoculó la semilla de soja en un ambiente fresco y a la sombra, para evitar mortandad de rizobios y lograr una buena infección. El proceso de inoculación se hizo con una mezcladora de cemento, respetando las dosis de los diferentes tratamientos.

El inoculante empleado fue de la marca comercial Nitragin Optimize II[®] que contiene cepas de *Bradyrhizobium japonicum* y LCO (lipo-quito oligosacáridos) moléculas de señal específica que mejoran la comunicación inicial entre raíces y bacterias, y promueve el crecimiento de las raíces de soja.

El diseño experimental que se utilizó fue de bloques al azar con 3 repeticiones y los tratamientos fueron los siguientes:

- A. Testigo sin inocular.
- B. Inoculación con la dosis recomendada por marbete: dosis de 3 ml de inoculante/kg de semilla.
- C. Inoculación con la dosis doble de la recomendada por marbete: dosis de 6 ml de inoculante/kg de semilla.

La fecha de siembra fue el 8 de noviembre de 2015, se realizó con una sembradora directa de 18 surcos distanciados a 52 cm, con una densidad de siembra de 30 semillas por m^2 y la variedad de soja utilizada fue Dalia 485 producida por el semillero AG SEED.

El área que se destinó al ensayo fue de 100 metros de largo y tres pasadas de la sembradora (9,36 m de ancho cada una), donde cada pasada, representaba un tratamiento.

Para el control de malezas previo a la siembra (barbecho químico), el 5 de octubre se aplicó diflufenican (270 g ha^{-1}) en conjunto con glifosato (2 lt ha^{-1}) y 2-4 D éster ($800\text{ cm}^3\text{ ha}^{-1}$). Posteriormente, cuando la soja estaba en el estado fenológico V2, se le aplicó glifosato ($1,6\text{ lt ha}^{-1}$) más metolaclor ($800\text{ cm}^3\text{ ha}^{-1}$) y haloxifop ($120\text{ cm}^3\text{ ha}^{-1}$). La última pulverización para controlar malezas fue realizada con glifosato ($1,3\text{ lt ha}^{-1}$) cuando la soja estaba en el estado fenológico R2.

Respecto al control de plagas, se hizo una aplicación en el estado fenológico R5 con el insecticida lambdacialotrina + lufenuron, para controlar *Nezara viridula*, *Piezodorus guildini*, *Dichelops furcatus* y *Rachiplusia nu*.

Evaluaciones:

Las etapas fenológicas vegetativas y reproductivas V3, R5, R7 y R8 se identificaron mediante el uso de la escala desarrollada por Fehr y Caviness 1977 (Kantolic *et al.*, 2003). Las mismas se consideraron cumplidas cuando el 50% o más de las plantas de cada parcela estaban en la respectiva etapa.

Nodulación

En la etapa fenológica V3 de la soja, se evaluó la infectividad de rizobios determinando como planta infectada aquella que presentaba más de tres nódulos activos y morfológicamente normales. Para ello, se muestrearon las plantas presentes en un 1 m², en los 3 tratamientos y sus repeticiones, en esta etapa fenológica también se contabilizó el número total de nódulos por planta. Se extrajeron cuidadosamente las plantas, luego se lavaron las raíces con agua corriente para facilitar la observación y recuento de nódulos. La funcionalidad del nódulo se determinó a través del color interno, que es rojizo cuando está activo, y verde o blanco que indican ausencia de actividad. Para ello, se practicó un corte transversal a cada nódulo y se observó la coloración interna (Foto 1).



Foto 1: Nódulos seccionados transversalmente para determinar su funcionalidad en la etapa V3 del cultivo de soja según su coloración interna.

En el estado fenológico R5 se cuantificó el número de nódulos activos en la raíz principal y en las raíces secundarias y las respectivas biomásas (pesos secos de nódulos) en ambas raíces, empleando el mismo procesamiento mencionado anteriormente.

Balance de N

Se realizó un Balance Relativo de N (Cholaky *et al.*, 1986) para cuantificar las variaciones del contenido de N en el sistema suelo-planta resultante de los cambios en las entradas y salidas del sistema y de las transformaciones internas durante el ciclo del cultivo. Dicho balance permitió estimar el aporte de N por FBN al cultivo, mediante la siguiente ecuación:

$$\mathbf{FBN} = N_{pc} - [(N_{ss} + N_m + N_{ll}) - N_{sc}] \quad (1)$$

donde:

FBN= Fijación biológica del nitrógeno

N_{pc}= Contenido total de N en planta a la cosecha

N_{ss}= Contenido de N-NO₃ en el suelo a la siembra

N_m= N derivado de la mineralización de la materia orgánica del suelo

N_{ll}= N aportado por las lluvias registradas durante el ciclo

N_{sc}= Contenido de N-NO₃ en el suelo a la cosecha

Para cuantificar los parámetros de la ecuación (1), se realizaron análisis de suelo (contenido de MO y N-NO₃) a la siembra y cosecha del cultivo en un laboratorio de suelos especializado. A tal efecto, se tomaron muestras compuestas (formadas por 10 submuestras) en dos estratos del perfil (0-20 y 20-40 cm de profundidad). El dato de densidad aparente utilizado fue de 1,4 g cm⁻³, (Kirby *et al.*, 2001) para expresar los resultados en kg ha⁻¹. El factor de mineralización para estimar el N mineralizado durante el ciclo del cultivo fue del 2%, proporcionado por especialistas del área suelo (INTA, Villa Mercedes). Además, se registraron las precipitaciones que ocurrieron durante el ciclo del cultivo en el lugar del ensayo, para luego determinar el N aportado por la lluvia, estimándose 2,5 ppm de N por cada mm de lluvia precipitado (Harpaz, 1975).

En R7 se midió biomasa y contenido de N en hojas, tallo+ramas, vainas y semillas para calcular el N extraído por el cultivo necesario para el balance relativo de N. Para ello, se recolectaron muestras de plantas de 1 m² en cada tratamiento y repetición. Luego, se las separó en hoja, tallo+ramas, vainas y semillas, se las secó en estufa con circulación de aire forzado a 40 °C para posteriormente determinar el contenido de N por el método de Kjeldahl (Laboratorio de Nutrición Animal, FAV-UNRC) y calcular la cantidad total del nutriente extraído por el cultivo de soja en cada tratamiento.

Componentes del rendimiento

En madurez de cosecha (R8) se tomaron tres muestras de 1m² por tratamiento y repetición y se realizaron las siguientes mediciones:

- Número de plantas por m²
- Altura de las plantas
- Número de nudos por planta
- Número de frutos por planta
- Número de semillas por fruto
- Numero de granos por m²
- Peso de 100 semillas

Con estos datos se calculó el rendimiento en granos por hectárea.

Análisis Estadísticos

Se aplicó un ANAVA para detectar diferencias debidas a los tratamientos estudiados y las medias se contrastaron según test DGS ($p \leq 0,05$) utilizando el programa estadístico INFOSTAT versión 2011 (Di Renzo *et al.*, 2012). Se cuantificaron relaciones funcionales calculadas como regresiones lineales entre la nodulación (número y biomasa de nódulos por planta) y la FBN y, entre ésta y el rendimiento de soja y sus componentes directos (número de granos por superficie y su peso individual).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones meteorológicas

En la figura 1 se observan las precipitaciones registradas en el sitio experimental durante la campaña 2015/16.

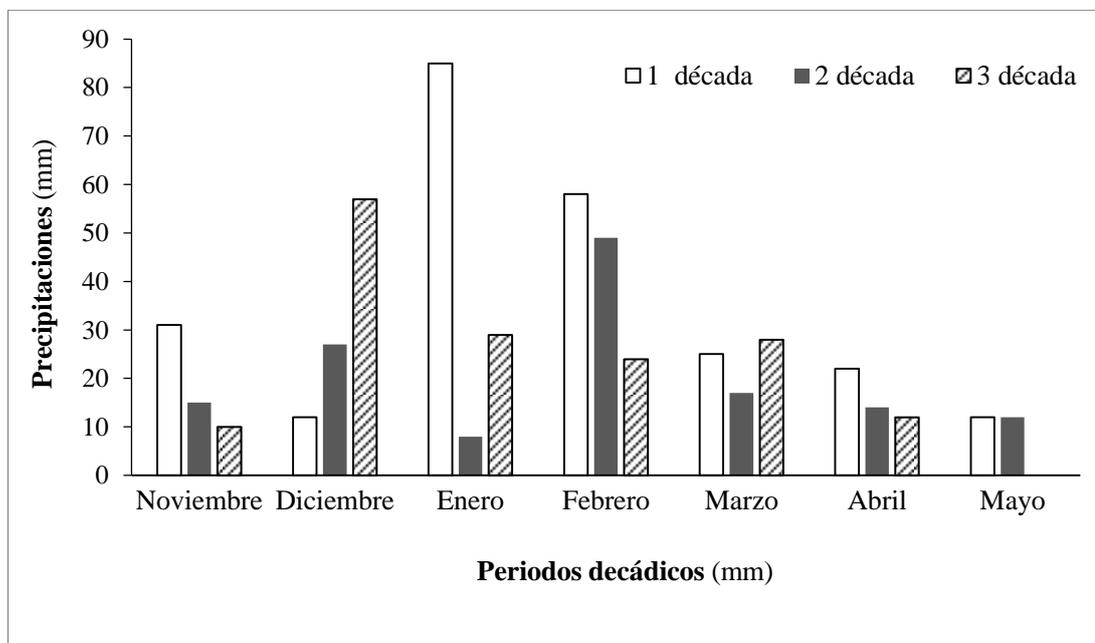


Figura 1: Valores decádicos de precipitaciones durante el ciclo del cultivo de soja (2015/16) en el establecimiento Don Mario (provincia de San Luis).

Las precipitaciones durante el ciclo del cultivo fueron abundantes, con un valor acumulado de 547 milímetros (mm). El periodo en el cual ocurrieron las precipitaciones más bajas, fue en la segunda década del mes de enero con un valor acumulado de 8 mm, y el periodo con más lluvias acumuladas fue la primera década del mismo mes con un valor de 85 mm. El 19 de noviembre, cuando la soja estaba en el estado fenológico V1, se registró una caída de granizo, que redujo el stand de plantas en un 6,5% (Foto 2).



Foto 2: Plántulas de soja mostrando detalles del daño producido por granizo

Nodulación

El cuadro 1 muestra el resultado del ANAVA y de la comparación de medias aplicados a los datos de infectividad y número de nódulos por planta obtenidos en la etapa fenológica V3. La infectividad se expresó como porcentaje de plantas infectadas, siendo una planta infectada aquella con más de 3 nódulos activos y morfológicamente normales. El número de nódulos por planta comprende los valores de nódulos contabilizados en raíz principal y raíces secundarias.

La evaluación de infectividad mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p=0,0040$), observándose un incremento en el porcentaje de plantas infectadas en los tratamientos inoculados respecto al testigo sin inocular, pero sin diferencias entre las dosis aplicadas (comercial y doble dosis).

El número de nódulos totales por planta en V3 varió significativamente en respuesta a los tratamientos ($p=0,0329$) con diferencias entre las plantas inoculadas, respecto a las plantas sin inocular, pero sin diferir entre las dosis de inoculante (comercial y doble dosis).

Cuadro 1. Evaluación de la infectividad (planta infectada aquella con más de tres nódulos activos) y número de nódulos por planta (raíz principal + raíces secundarias) en la etapa fenológica V3

Fuente de Variación	Factores	% plantas infectadas		Número de nódulos planta ⁻¹	
Inoculación	Sin Inocular	8,44	B	12,31	B
	Dosis comercial	77,62	A	29,96	A
	Dosis doble	77,72	A	32,03	A
Valor de <i>p</i>		0,0040		0,0329	
CV (%)		23,34		25,22	

Letras distintas indican diferencias significativas según test DGS ($p < 0,05$)

Con la práctica de la inoculación los primeros nódulos en formarse se ubican en la raíz primaria, indicando una infección temprana y, con ello, un mayor tiempo total de fijación (Maddoni *et al.*, 2008a). Además, los nódulos ubicados en la raíz principal pueden fijar hasta 10 veces más N que aquellos desarrollados sobre raíces laterales (Biagro, 2000). Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que con la inoculación de las semillas se logró un mayor porcentaje de plantas infectada en V3, producto de una nodulación temprana de las mismas respecto al testigo sin inocular.

El cuadro 2 muestra el resultado del ANAVA y comparación de medias aplicados al número de nódulos totales por planta y al número de nódulos activos por planta en la etapa fenológica R5, este último discriminado por su ubicación en raíz principal y raíces secundarias.

Cuadro 2. Número de nódulos totales por planta y número de nódulos activos por planta en la etapa fenológica R5. Este último, discriminado por su ubicación en raíz principal (RP) y raíces secundarias (RS)

Fuente de Variación	Factores	Número total de nódulos por planta		Número de nódulos activos por planta			
		RP+RS		RP		RS	
Inoculación	Sin Inocular	21,17	B	1,44	B	14,38	B
	Dosis comercial	66,57	A	16,71	A	40,43	A
	Dosis doble	69,12	A	17,25	A	41,28	A
Valor de <i>p</i>		0,005		0,0030		0,0153	
CV (%)		17,43		22,33		21,98	

Letras distintas indican diferencias significativas según test DGS ($p < 0,05$)

El número total de nódulos por planta, contabiliza la suma de los nódulos sobre raíces primarias y raíces secundarias sin considerar su actividad. Los resultados mostraron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados ($p = 0,005$), y el testigo sin

inocular, pero sin diferencias significativas entre las plantas inoculadas con dosis comercial y aquéllas que recibieron una doble dosis de inoculante.

El número de nódulos activos por planta también varió significativamente en respuesta a los tratamientos, tanto en raíz principal ($p=0,0030$) como en las raíces secundarias ($p=0,0153$). Las diferencias sólo fueron significativas entre las plantas inoculadas (dosis comercial y doble dosis) y las plantas sin inocular (testigo). Así, las plantas inoculadas presentaron en promedio la mayor cantidad de nódulos activos tanto en raíz principal (16,9) como en raíces secundarias (40,8). Mientras que las plantas sin inocular tuvieron valores promedio de 1,4 y 14,4 nódulos activos por planta en RP y RS, respectivamente.

Según Peticari (2006) en la etapa reproductiva R5-R6 de la soja, una nodulación adecuada presenta 40-50 nódulos por planta, de los cuáles al menos 12 se encuentran en la parte superior de la raíz primaria y son de tamaño mediano a grande (4-6 mm de diámetro). Esta condición se cumplió en ambos tratamientos inoculados en este trabajo, con 66,57 nódulos totales planta⁻¹ en el tratamiento con dosis comercial y 69,12 nódulos totales planta⁻¹ en el tratamiento con doble dosis de inoculante. No se alcanzó esa condición en el tratamiento testigo con 21,17 nódulos totales planta⁻¹.

El efecto que produce la inoculación sobre la nodulación en el cultivo de soja fue observado por Ferraris y Couretot (2011). Estos autores encontraron que al inocular semillas de soja con cepas de *Bradyrhizobium japonicum* aumentó el número de nódulos efectivos en raíces primarias; con una tendencia a incrementar la cantidad de nódulos efectivos en esas raíces con una dosis doble de la recomendada por marbete. Con respecto a los nódulos efectivos en las raíces secundarias, no obtuvieron diferencias. En el presente estudio, se produjo un efecto similar en la RP, pero no en las RS donde el número de nódulos activos se diferenció estadísticamente entre los tratamientos inoculados y el testigo.

La distribución de los nódulos en raíz principal y raíces secundarias está relacionada con el momento en que se produce la infección. Así, cuanto mayor sea la proporción de nódulos en raíz principal, más temprana habrá sido la infección y posterior formación de los nódulos, siendo mayor el aporte de N por FBN (Maddonni *et al.*, 2008a). En este estudio se encontró que el número de nódulos en raíces primarias fue mayor con la inoculación, indicando una infección temprana.

El cuadro 3 muestra el resultado del ANAVA y comparación de medias aplicados al peso seco total de nódulos por planta y al peso seco de nódulos activos por planta en la etapa R5, este último discriminado por su ubicación en raíz principal y raíces secundarias. El peso total de nódulos por planta contabiliza la suma de los nódulos en raíz primaria y raíces secundarias, tanto activos como inactivos.

El peso total de nódulos por planta varió significativamente en respuesta a los tratamientos inoculados ($p=0,0477$) respecto al testigo sin inocular; pero sin diferencias significativas entre las plantas inoculadas con dosis comercial y doble dosis.

El peso seco de nódulos activos por planta también varió significativamente en respuesta a los tratamientos, tanto los ubicados en la raíz primaria ($p=0,0073$) como en las raíces secundarias ($p=0,030$) siguiendo un patrón de respuesta similar al descripto para el número total de nódulos por planta. Es decir, las diferencias debidas a la inoculación se produjeron entre los dos tratamientos inoculados respecto al testigo sin inocular, tanto para los ubicados sobre la raíz principal como los desarrollados en las raíces secundarias.

Cuadro 3. Peso seco de nódulos totales por planta y peso seco de nódulos activos por planta en la etapa fenológica R5. Este último, discriminado por su ubicación en raíz principal (RP) y raíces secundarias (RS)

Fuente de Variación	Factores	Peso seco de nódulos totales, g pl ⁻¹		Peso seco nódulos activos, g pl ⁻¹			
		RP + RS		RP		RS	
Inoculación	Sin Inocular	0,16	B	0,01	B	0,06	B
	Dosis comercial	0,30	A	0,08	A	0,16	A
	Dosis doble	0,35	A	0,10	A	0,21	A
Valor de p		0,0477		0,0073		0,030	
CV (%)		24,22		28,14		28,57	

Letras distintas indican diferencias significativas según test DGS ($p<0,05$)

Según Peticari (2006) el peso seco de nódulos por planta óptimo ronda los 800 mg y el peso individual de 7 a 9 mg nódulo⁻¹. En este estudio, los valores de peso seco total por planta fueron inferiores a esos valores, ubicándose en un rango de 160 mg (tratamiento sin inocular) a 350 mg en el tratamiento con doble dosis de inoculante. Estos valores fueron aún menores si se considera la biomasa de nódulos activos por planta (70 mg en el testigo y 310 mg en el tratamiento con doble dosis comercial).

Balance de Nitrógeno

En el cuadro 4, se presenta el balance relativo de N calculado para cada uno de los tratamientos evaluados en el estudio.

El contenido de N-NO₃ en los primeros 40 cm del suelo a la siembra fue de 21,28 kg ha⁻¹; mientras que a la cosecha del cultivo el valor se redujo a 17,89 kg ha⁻¹ en el tratamiento de doble dosis, a 17,02 kg ha⁻¹ en el tratamiento de dosis comercial y a 16,32 kg ha⁻¹ en el tratamiento testigo sin inocular. El contenido de MO en los primeros 20 cm del perfil del suelo, medido a la siembra, fue de 0,97%. Para calcular el aporte por mineralización de la MO, se aplicó un índice estimado del 2% que arrojó un valor de 27,16 kg ha⁻¹ de N adicional

al determinado en el suelo a la siembra. El aporte de N por lluvias entre la siembra y R8 fue de 11,2 kg ha⁻¹, en promedio.

La cantidad de N extraído por el cultivo al final del ciclo se obtuvo afectando la biomasa aérea acumulada por cada órgano de las plantas hasta R7, por su respectivo contenido de N. Se obtuvo un valor promedio de 180,58 kg ha⁻¹ en la soja inoculada con la doble dosis comercial, de 162,54 kg ha⁻¹ en la soja inoculada con la dosis comercial recomendada y de 126,58 kg ha⁻¹ en la soja sin inocular.

Los requerimientos de N del cultivo de soja son abastecidos con el aporte del nutriente proveniente del suelo (cantidad disponible al inicio del ciclo, más el N generado por mineralización de la MO durante el ciclo del cultivo), el aportado por la FBN y, en menor proporción, por el N atmosférico que se incorpora con las lluvias. En este caso, el tratamiento con doble dosis comercial de inoculante recibió el mayor aporte de la FBN, con un valor de 138,83 kg ha⁻¹ representando el 76,9% del N total absorbido por el cultivo. Le siguió el tratamiento con la dosis comercial recomendada donde el aporte por FBN fue de 119,92 kg ha⁻¹ (73,8% del N total absorbido por el cultivo), y el menor valor fue para el tratamiento testigo sin inocular con un aporte de 83,26 kg ha⁻¹ de FBN (65,7% del N total absorbido por el cultivo).

Los resultados obtenidos del aporte de N por FBN coinciden con lo planteado por Fontanetto y Keller (2006) quienes señalan que el cultivo de soja obtiene entre 25 y 75% de sus requerimientos nitrogenados a través de la FBN.

El aporte de N por el proceso de FBN depende de la disponibilidad de N-NO₃ en el suelo, de los factores edafo-climáticos, de la demanda de N por parte del cultivo, de la capacidad competitiva, eficiencia y persistencia de la cepa *Bradyrhizobium japonicum* (Maddonni *et al.*, 2008b).

Cuadro 4. Balance relativo de N para los tres tratamientos (valores expresados en kg ha⁻¹)

Tratamiento	N-NO ₃ en el suelo		Aportes de N		N extraído por el cultivo	FBN	Aporte por FBN %
	a la siembra	a cosecha	Lluvias	Mineralización			
Sin inocular	21,28	16,32	11,2	27,16	126,58	83,26	65,77
Dosis comercial	21,28	17,02	11,2	27,16	162,54	119,92	73,77
Doble dosis	21,28	17,89	11,2	27,16	180,58	138,83	76,88

Estos resultados demuestran que el suelo del sitio experimental posee una buena población de rizobios específicos para la soja ya que el tratamiento sin inocular (testigo) tuvo un aporte de N por el proceso de FBN siendo un valor alto (~66% del total extraído). Es muy probable que la presencia de estas cepas naturalizadas se deba a la inclusión de soja en ciclos agrícolas anteriores (2 oportunidades en los 5 años previos a este estudio). Por el contrario, si

no hubiese habido antecesor soja, la población de rizobios no sería la misma y, en ese caso, el aporte de N de la FBN debiera haberse suplido con aportes externos (fertilización). En estas condiciones de baja productividad del suelo, pero con presencia de bacterias fijadoras de N, las plantas estimulan el proceso de nodulación para cubrir una proporción de N elevada.

Componentes del rendimiento

Los datos de rendimiento en granos y sus componentes directos (número de semillas m⁻² y peso de 100 semillas), se presentan en el cuadro 5.

Los resultados del ANAVA muestran que el rendimiento varió significativamente en respuesta a los tratamientos ($p=0,0094$) con diferencias entre los dos tratamientos inoculados respecto al testigo sin inocular, pero sin diferencias entre ellos.

Con respecto a los componentes directos del rendimiento, el número de granos m⁻² difirió significativamente ($p=0,0103$) entre los diferentes tratamientos. El modelo de respuesta fue similar al descripto para el rendimiento de semillas, donde los dos tratamientos inoculados fueron similares entre sí, y ambos superaron al testigo sin inocular. El peso de la 100 semillas no presentó diferencias estadísticamente ($p=0,0923$) significativas entre los tratamientos (valor promedio de 12,7 g las 100 semillas).

Cuadro 5. Rendimiento en granos y sus componentes directos, número de grano (NG) por superficie y peso de 100 semillas (PG 100)

Fuente de Variación	Factores	Semillas				
		NG m ⁻²		PG 100 g	Rendimiento kg ha ⁻¹	
Inoculación	Sin Inocular	1014	B	12,7	1278,3	B
	Dosis comercial	1341	A	12,6	1685,6	A
	Dosis doble	1658	A	12,6	2075,8	A
Valor de <i>p</i>		0,0103		0,0923	0,0094	
CV (%)		29,58		2,75	28,79	

Letras distintas indican diferencias significativas según test DGS ($p<0,05$)

El efecto de la FBN sobre el rendimiento fue documentado por Ferraris y Couretot (2011) quienes obtuvieron resultados similares a los hallados en el presente trabajo. El rendimiento fue mayor con la inoculación, habiendo diferencias significativas entre el rendimiento de soja sin inocular y el de la soja inoculada con la dosis de marbete. Tampoco se produjeron aumentos significativos del rendimiento cuando se inoculó con doble dosis. Estos autores determinaron que el principal componente del rendimiento afectado por los tratamientos de inoculación fue el número de granos, tal como se encontró en este trabajo.

Numerosos ensayos realizados en el marco del proyecto Inocular (desde 1994), muestran que en lotes con historia sojera la respuesta a la inoculación produjo un incremento

del rendimiento de 291 kg ha⁻¹. De manera similar, Peticari (2004) obtuvo aumentos promedio de rendimiento de 364 kg ha⁻¹ en suelos con antecedentes de soja; y en el Departamento de Agricultura de Nitrugin (2016) obtuvieron aumentos de rendimiento de 331 kg ha⁻¹ en soja inoculadas con Nitrugin Optimize II en comparación con un testigo sin inocular. En el presente estudio el aumento promedio de rendimiento en respuesta a la inoculación con la dosis de marbete respecto al testigo (sin inocular pero con antecedente sojero) fue 407 kg ha⁻¹; diferencia que aumenta a 798 kg ha⁻¹ si se compara el testigo con el tratamiento de doble dosis de inoculante.

Maddonni *et al.* (2008a) concluyeron que el rendimiento de los cultivos inoculados se puede incrementar, con respecto al rendimiento de cultivos no inoculados, sólo cuando el cultivo inoculado produzca nódulos en forma temprana, en cantidad (mayor peso seco de nódulos), y/o las cepas del inoculante hayan logrado producir una elevada proporción del total de nódulos formados, en comparación con los cultivos no inoculados. En este estudio, las plantas inoculadas con la dosis comercial recomendada tuvieron una infectividad más temprana, mayor cantidad de nódulos activos, mayor cantidad de nódulos localizados en raíz principal y una mayor biomasa nodular en comparación con el testigo; todo lo cual se puede relacionar con el aumento del componente número de granos por m² y del rendimiento de semillas.

Relaciones funcionales

A continuación, se presentan algunas relaciones funcionales calculadas como regresiones lineales entre la nodulación (número y biomasa de nódulos por planta) y la FBN y, entre ésta y el rendimiento de soja y sus componentes directos (número de granos por superficie y su peso individual).

Las relaciones entre el número y peso de nódulos totales por planta y la FBN, ajustaron a un modelo lineal y positivo, con un elevado grado de ajuste de las mismas (R² de 0,948 y 0,999, respectivamente) (Figura 4).

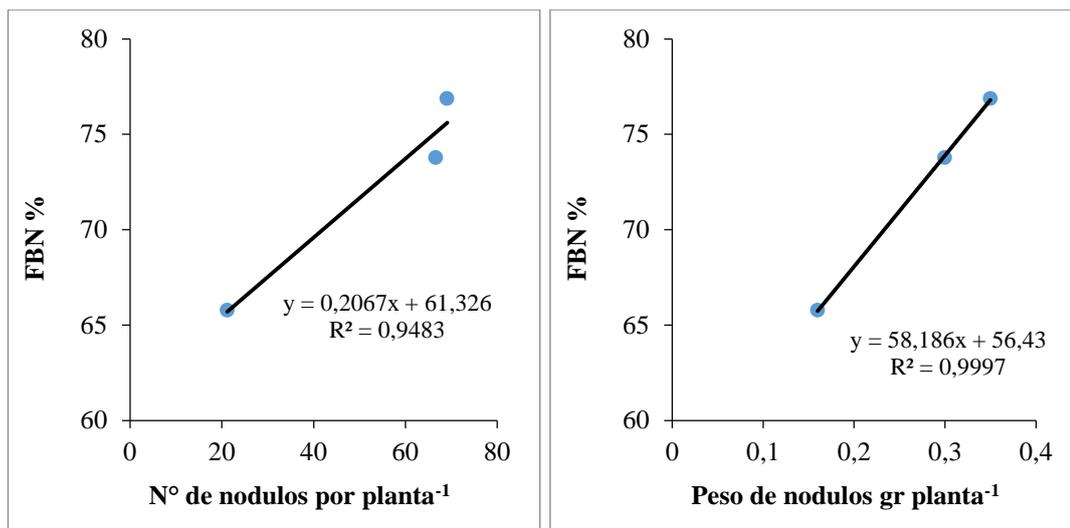


Figura 2: Relaciones entre FBN y el N° total de nódulos por planta (izquierda), y entre la FBN y la biomasa nodular total por planta (derecha) del cultivo de soja (2015/16). Cada punto de la relación es un promedio de 3 repeticiones.

La relación entre la FBN y los componentes del rendimiento de la soja fue lineal y positiva sólo para el número de semilla por m² (Figura 5), con un grado de ajuste importante ($R^2 = 0,943$). Mientras que, el peso de 100 semillas no se relacionó con la FBN (valor de la pendiente: -0,0097).

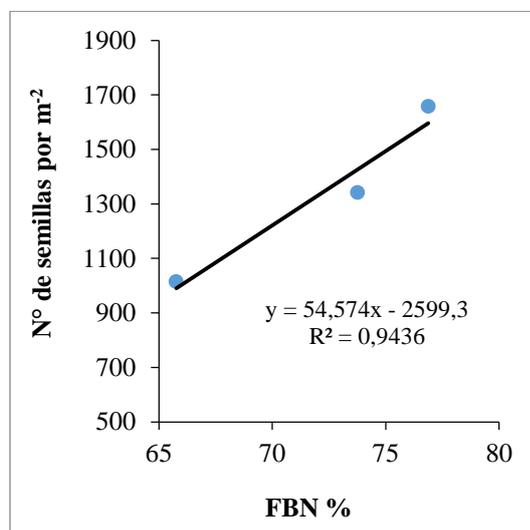


Figura 3: Relación entre la FBN y el número de semillas m⁻² del cultivo de soja (2015/16). Cada punto de la relación es un promedio de 3 repeticiones.

Finalmente, la relación entre la FBN y el rendimiento en granos resultó ser positiva y con un elevado grado de ajuste ($R^2 = 0,945$) (Figura 6).

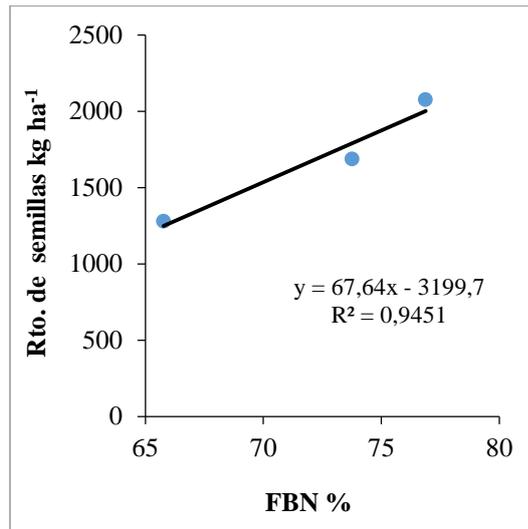


Figura 4: Relación entre la FBN y el rendimiento en granos del cultivo de soja (2015/16). Cada punto de la relación es un promedio de 3 repeticiones.

Margen Bruto

Se realizó una estimación del margen bruto para comparar el tratamiento inoculado con la dosis de marbete y el testigo sin inocular, en un suelo con antecedentes de soja.

El tratamiento testigo sin inocular produjo un rendimiento promedio de 1278 kg ha⁻¹ que afectado por el precio de la soja (4.145 \$ tn⁻¹), resultó en un ingreso bruto de 5.297 \$ ha⁻¹. En el tratamiento inoculado con la dosis de marbete (rendimiento promedio de 1685 kg ha⁻¹), el ingreso bruto fue 6984 \$ ha⁻¹. En este caso, se debe descontar a los costos totales el monto del inoculante (\$ 61 ha⁻¹), resultando un valor de ingreso bruto de 6923 \$ ha⁻¹. De la comparación entre ambos tratamientos, resultó una diferencia del margen bruto de 1.626 \$ ha⁻¹ a favor de la práctica de inocular la semilla de soja. Los valores calculados se obtuvieron aplicando las cotizaciones de la soja y el dólar correspondientes el día 6 de diciembre de 2016.

CONCLUSIONES

El estudio permitió validar la primera parte de la hipótesis planteada, es decir el rendimiento del cultivo en suelos con antecedentes de soja se incrementó con la inoculación. Sin embargo, no fue así para la segunda parte, ya que la dosis doble de inoculante no produjo un aumento significativo del rendimiento comparado con la dosis comercial indicada en el marbete, como se planteó.

La infectividad y el número de nódulos totales por planta respondieron significativamente a la inoculación en etapas tempranas de desarrollo (V3), con diferencias entre las plantas inoculadas y el testigo sin inocular.

La nodulación evaluada en la etapa R5 difirió significativamente en los dos parámetros que la determinan: número total de nódulos por planta y peso total de nódulos por planta, con diferencias entre las plantas inoculadas y sin inocular.

El cálculo del Balance Relativo de Nitrógeno permitió cuantificar los aportes relativos de la FBN a la nutrición nitrogenada del cultivo, con valores promedio de 134 kg ha⁻¹ en el tratamiento de doble dosis, 120 kg ha⁻¹ en el tratamiento de dosis comercial y 83 kg ha⁻¹ en el testigo. Datos que representan una contribución por FBN del 77, 74 y 66%, respectivamente. Estos resultados confirman la respuesta positiva a la inoculación aún en situaciones con antecedentes de soja en el lote.

El rendimiento de semillas varió en respuesta a los tratamientos, con una diferencia significativa de 407 kg ha⁻¹ en promedio, entre la inoculación simple (dosis de marbete) y el testigo sin inocular. Diferencia que casi se duplicó (798 kg ha⁻¹) entre el testigo y el tratamiento con doble dosis de inoculante, aunque sin diferir estadísticamente.

Las diferencias en el rendimiento resultaron de un mayor número de granos por superficie, componente que se relacionó positivamente con el aumento de biomasa nodular (número y peso de nódulos activos en raíz primaria y secundaria); a consecuencia de una infectividad temprana de las plantas de soja que impactó positivamente en la FBN.

Las relaciones funcionales entre los parámetros que definen la nodulación (número y biomasa nodular/planta) y la FBN; y entre ésta y el rendimiento en granos fueron lineales y positivas con un elevado grado de ajuste.

Finalmente, la inoculación con la dosis recomendada produjo un aumento del margen bruto de 1626 \$ ha⁻¹, aún en suelos con antecedentes de soja en la rotación de cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

- AGROFY NEWS, 2016. Especial soja 2015/2016-siembra de soja. En: <http://news.agrofy.com.ar/especiales/soja15-16/siembra-soja>. Consultado: 07-11-2016.
- BIAGRO, 2000. Ensayos-bajar revista N°2 En: <http://www.biagrosa.com.ar/esp/pdf/gacetillas/revista2.pdf> . Consultado: 18-04-2015
- BOLSA COMERCIO DE ROSARIO. Estimaciones de producción-soja. En: <https://www.bcr.com.ar/Pages/gea/estimaProd.aspx>. Consultado: 07-11-2016.
- CHOLAKY S., L., A. CANTERO GUTIERREZ; O. GIAYETTO, E. BONADEO y E.C. NEUMAN, 1986. Fertilización nitrogenada y modelos de siembra en soja de hábito determinado. Rev. UNRC 6 (2):133-166.
- DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DE NITRAGIN. Boletín de resultados cultivo soja campaña 2014/2015. En: <http://www.monsantobioag.com/global/las/Products/Documents/Boletines%20de%20Resultados/BoletinSoja2015.pdf> . Consultado: 15-11-2016.
- DIAZ ZORITA, M; R. BALIÑA y M. FERNANDEZ CANIGIA. 2004. Inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en cultivos de Soja. pp 7-12. En: Campaña 2003-04. Resumen de resultados de investigación y desarrollo aplicado. Nitragin Argentina S.A.
- DI RIENZO, J.A., F. CASANOVES, M.G. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA y C.W. ROBLEDO, 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- FERNANDEZ CANIGIA, M.V. 2003. Boletín de resultados cultivo soja campaña 2014/2015. En: <http://www.monsantobioag.com/global/las/Products/Documents/Boletines%20de%20Resultados/BoletinSoja2015.pdf> . Consultado: 15-11-2016.
- FERRARIS, G. y L.COURETOT. 2011. *Tecnología de inoculación en soja: dosis, método de inoculación y fungicidas curasemillas*. Proyecto Regional Agrícola-CRBAN. UCT Agrícola -Área de Desarrollo Rural INTA EEA Pergamino, Argentina.1-6 p.
- FONTANETTO, H. y O. KELLER 2006. Consideraciones sobre el manejo de la fertilización de la soja. En: <http://www.agrolluvia.com/wp-content/uploads/2009/09/r-consideraciones-manejo-fertilizacion-soja.pdf>. Consultado: 07-11-2016
- HARPAZ, Y. 1975. Simulation of the nitrogen balance in semi-arid regions. Thesis for the Degree Doctor of Philosophy, Hebrew University, Jerusalem, Israel.
- HEYMO, A. 2014. Inoculación: la forma más económica de fertilizar de soja. En: <http://www.cooperativalehmann.coop/agroinsumos/notas-tecnicas/272/inoculacion-la-forma-mas-economica-de-fertilizar-soja>. Consultado: 07-11-2016.

- IPNI, 2002. Requerimientos nutricionales de los cultivos requerimientos nutricionales de soja. En: [http://lacs.ipni.net/ipniweb/region/lacs.nsf/0/0B4CDA48FABB666503257967007DD076/\\$FILE/AA%203.pdf](http://lacs.ipni.net/ipniweb/region/lacs.nsf/0/0B4CDA48FABB666503257967007DD076/$FILE/AA%203.pdf). Consultado: 26-03-2015.
- KANTOLIC, A.G., P.I. GIMENEZ y E.B. de la FUENTE 2003. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en soja. En: *Producción de granos. Bases funcionales para su manejo*. Editorial facultad de agronomía. UBA. Cap: 9. p:169 y 181.
- KIRBY, J.M., R. KINGHAM y M. CORTES 2001. Texture, density and hydraulic conductivity of some soils in San Luis province, Argentina. *Ciencia del suelo* 2001 en San luis, Argentina.p:22.
- MADDONNI, G.A., R.A. RUIZ, P. VILARINO e I. GARCIA DE SALAMONE 2008a.Fertilización en los cultivos para grano. En: *Producción de granos. Bases funcionales para su manejo*. Editorial facultad de agronomía. UBA. Cap:19. p:546 – 550.
- MADDONNI, G. A., P. VILARINO e I. GARCIA DE SALAMONE. 2008b. Dinámica de los nutrientes en el sistema suelo-planta. En: *Producción de granos. Bases funcionales para su manejo*. Editorial facultad de agronomía. UBA. Cap:17. p: 464 – 468.
- PEDRO, M., A. TEJO, C. ARRESE-IGOR, y M. BECANA. 2000. Fijación biológica del nitrógeno. En: J. Azcon-Vieto y M. Talón. *Fundamentos de la Fisiología Vegetal*. 1ra ed. Ed. McGRAW-HILL, Barcelona, España. 259 p.
- PERTICARI, A. 2004. Efectos de la inoculación sobre los parámetros del rendimiento. En: <http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2010/05/Efectos-de-la-Inoculaci%C3%B3n-de-soja-sobre-los-par%C3%A1metros-de-rendimiento.pdf> . Consultado 10-11-2016.
- PERTICARI, A. 2006.Impacto de la fijación biológica del nitrógeno en la producción de la soja. En: <http://www.fertilizando.com/articulos/Impacto%20Fijacion%20Biologica%20Nitrogeno%20en%20Produccion%20de%20Soja.asp>. Consultado 25-11-2016.
- SALVAGIOTTI, F., J. CAPURRO y J.M. ENRICO. 2009. El manejo de la nutrición nitrogenada en soja. EEA Oliveros INTA. p: 45-47. En: <http://inta.gob.ar/documentos/el-manejo-de-la-nutricion-nitrogenada-en-soja/>. Consultado: 08-11-2016
- SOLIVEREZ. 2006. La revolución de la soja. En: http://cyt-ar.com.ar/cyt-ar/images/7/78/Revoluci%C3%B3n_de_la_soja.pdf Consultado: 10-10-2016
- VENTIMIGLIA. L y H. CARTA. 2006. Inoculación en soja: un nuevo sistema que permite mejorar la captura de nitrógeno. En:

<http://www.engormix.com/MA-agricultura/soja/articulos/inoculacion-soja-nuevo-sistema-t877/415-p0.htm>

Consultado: 10 -10-2016