

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO FACULTAD DE  
AGRONOMÍA Y VETERINARIA**



**TRABAJO FINAL PRESENTADO PARA OPTAR AL GRADO DE  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**COMPORTAMIENTO DE DIFERENTES CEPAS DE *Bradyrhizobium* spp. EN EL  
CULTIVO DE SOJA.**

**Palermo Franco Nicolás**

**DNI: 38.281.279**

**Director: Dra. Thuar, Alicia María.**

**Co-director: Dra. Bruno, Carla Valeria.**

**Río Cuarto – Córdoba**

**Agosto 2019**

## ÍNDICE

	Página
Dedicatoria	IV
Resumen	V
Summary	VI
Introducción	1
Hipótesis y Objetivos	8
Materiales y métodos	9
Resultados y discusión	17
Conclusión	27
Bibliografía	28
Anexos	32

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Acumulación de nitrógeno (N) en soja inoculada y sin inocular-campaña 1988/89-	5
Figura 2. Precipitaciones y temperaturas registradas durante el ciclo del cultivo de Glycine max.	11
Figura 3. Comparación de medias del número de plántulas emergidas	17
Figura 4. Comparación de medias del número de nódulos en raíz principal.	18
Figura 5. Comparación de medias del número de nódulos en raíces secundarias.	19
Figura 6. Comparación de medias del peso seco de nódulos.	20
Figura 7. Comparación de medias del peso seco biomasa aérea.	21
Figura 8. Comparación de medias del número de vainas por planta.	22
Figura 9. Comparación de medias del número de granos por planta.	23
Figura 10. Comparación de medias del Peso de mil granos.	24
Figura 11. Comparación de medias de rendimiento.	25

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Características generales del sitio experimental (2017-2018).	10
Tabla 2. Características de las cepas de <i>Bradyrhizobium</i> spp.	12
Tabla 3. Características del cultivar de Glycine max.	13
Tabla 4. Perfil sanitario del cultivar de Glycine max.	13

## **Dedicatoria**

El presente trabajo se lo dedico a mis padres, Fabián y Rosa Ana, por haberme dado la posibilidad de estudiar, por haberme formado y dedicado todo su tiempo. A mis hermanas, Tamara y Jimena por su compañía. A mis compañeros Mayco Arnosio y Nahuel Carranza por haber colaborado en las tareas de campo. A la Universidad Nacional de Rio Cuarto por haberme brindado la educación de grado. A mi Directora y Co-Directora de tesis, que aceptaron dirigirme, brindándome todo sus conocimientos y ayuda. A mis evaluadores, por brindarme sus sugerencias y ayuda.

## Resumen

El cultivo de *Glycine max* (soja) es uno de los de mayor importancia en Argentina y de la región agrícola de la provincia de Córdoba. Esta leguminosa tiene la propiedad de asociarse con bacterias, las cuales poseen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, siendo una importante fuente de este nutriente. En la asociación simbiótica *Bradyrhizobium- Glycine max*, la fijación biológica de nitrógeno (FBN) resulta ser una herramienta muy útil para mantener una agricultura sustentable. Existen diferentes cepas de *Bradyrhizobium* que poseen diferentes características y eficiencias en la FBN.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de distintas cepas de *Bradyrhizobium* que fijan nitrógeno y algunas desnitrifican (Per 3.64, Per 3.61 y Per 1.12), en el cultivo de *Glycine max*, analizando diferentes componentes del rendimiento. El ensayo se realizó en la localidad de Río Cuarto, Córdoba, en un diseño completamente al azar con 7 tratamientos. Los resultados obtenidos muestran que, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para las variables: Plántulas emergidas, número de nódulos en raíz principal, número de nódulos en raíces secundarias, número de vainas por planta y número de granos por planta. Para la variable peso seco de nódulos, los tratamientos con cepas desnitrificantes Per 3.61 y Per 1.12 fueron inferiores, diferenciándose estadísticamente de los demás tratamientos, pero no entre sí. En el peso seco de biomasa aérea, el tratamiento Per 1.12 fue inferior, diferenciándose estadísticamente de los demás tratamientos. En cuanto al peso de mil granos, los tratamientos E109, Per 3.61 y Per 3.64, fueron los de mayor rendimiento, no diferenciándose significativamente entre sí, pero sí con los demás tratamientos. Finalmente el mayor rendimiento se obtuvo con la cepa E109, diferenciándose significativamente de todos los tratamientos, seguido las cepas desnitrificantes Per 3.61 y Per 3.64 no diferenciándose entre sí, pero sí con los demás tratamientos. En conclusión, quedó en evidencia la eficiencia en la FBN de la cepa E109 con respecto a las demás y a los testigos, por esto es la elegida en la actualidad y desde hace unos años, para la fabricación de inoculantes por su alta capacidad de fijación en diferentes ambientes y condiciones climáticas.

Palabras claves: *Glycine max*, *Bradyrhizobium* spp., rendimiento.

## Summary

The crop *Glycine max* is one of the most important in Argentina and in the agricultural region of the province of Córdoba. This legume has the property of associating with bacteria, which have the ability to fix atmospheric nitrogen, being an important source of nutrients. In the *Bradyrhizobium-Glycine max* symbiotic association, biological nitrogen fixation (BNF) is a very useful tool to maintain sustainable agriculture. There are different strains of *Bradyrhizobium* that have different characteristics and efficiencies in the BNF.

The aim of this work was to evaluate the behavior of different *Bradyrhizobium* strains that fix nitrogen and some denitrify (Per 3.64, Per 3.61 and Per 1.12), in the crop *Glycine max*, analyzing different yield components. The assay was in the town of Río Cuarto, Córdoba, in a completely randomized design with seven treatments. The results obtained show that no statistically significant differences were found between treatments for variables: emerged seedlings, number of nodules in the main root, number of nodules in secondary roots, number of pods per plant and number of grain per plant. For the variable dry weight of nodules, treatments with denitrifying strains Per 3.61 and Per 1.12 were lower, statistically differentiating themselves from the other treatments, but not among themselves. In the dry weight of aerial biomass, the Per 1.12 treatment was lower, statistically differing from the other treatments. As for the weight of a thousand grains, the treatments E109, Per 3.61 and Per 3.64, were the highest yield, not significantly differentiating each other but with the other treatments. Finally, the highest yield was obtained with E109 strain, differentiating significantly from all treatments, followed by denitrifying strains Per 3.61 and Per 3.64 not differentiating each other, but with the other treatments. In conclusion, it was evident the efficiency in the BNF of E109 strain with respect to the others and to the control that is why it is currently chosen and for a few years for the manufacture of inoculants due to its high fixing capacity in different environments and weather conditions.

Key Word: *Glycine max*, *Bradyrhizobium* spp., yield

## **Introducción**

La soja (*Glycine max* L. Merril) es una especie estival de la familia de las Leguminosas (Fabaceae) cultivada por sus semillas, de alto contenido proteico y contenido medio en aceite. El procesamiento del grano de soja conduce a la obtención de dos productos principales: aceite y harina. El aceite, luego de ser refinado, es destinado principalmente a aceites comestibles. Mientras que la harina es utilizada para la alimentación humana y animal, principalmente en forma de “pellets” (Satorre et al., 2010).

Es una especie originaria de China, siendo éste el principal país consumidor del mundo, destinándola principalmente a la alimentación de cerdos y aves (INTA, 2015). En cuanto a la producción mundial, este país se posiciona cuarto (12 millones de toneladas), siendo los principales productores: Estados Unidos (106,9 millones de toneladas), Brasil (100 millones de toneladas) y Argentina (58,5 millones de toneladas) (Calzada y Corina, 2017).

Hasta principios del siglo XX, el cultivo y la alimentación con grano de soja y sus derivados, se reducía a los territorios de las actuales China, Taiwán, Corea, Japón y Vietnam. El cultivo masivo en occidente comienza en 1970 y alcanza el máximo auge en 1990, sustituyendo en muchos casos, territorios antes dedicados a los cereales (trigo y maíz), a la ganadería e incluso áreas forestales (Infoagro, 2013).

En Argentina la soja es el principal cultivo sembrado, habiendo superado en producción al maíz, trigo y girasol. La mayor parte de la producción se exporta ya sea como grano, aceite o sus derivados, esto convirtiéndolo en el primer exportador mundial de aceites y harinas, y el tercer exportador de grano del mundo (CEPA, 2014).

El USDA estima, para la campaña 2018/ 2019 en Argentina, una producción de 55 millones de toneladas. Este dato se posiciona por encima de la estimación de la bolsa de cereales de Buenos Aires, que la estipuló en 53 millones de toneladas. Si bien se considera que habrá pérdida de superficie por el exceso de lluvias, una parte se verá compensada por rendimientos superiores a la media histórica, justamente por la buena disposición de humedad para los cultivos (Télam, 2019).

La importancia de este cultivo no solo radica en los ingresos que genera a los productores, sino que también es una importante fuente proteica de bajo costo, tanto para la nutrición animal como humana, con lo cual surge la necesidad de aumentar la producción de la misma a nivel mundial, teniendo en cuenta un manejo sustentable de los sistemas productivos y las mejores prácticas que se adapten a cada tipo de sistema (Todo el Campo, 2013).

Para lograr el máximo rendimiento, en un ambiente determinado, es necesario que ciertos factores estén en un óptimo nivel. Cuando cualquiera de estos factores se encuentra en un nivel sub óptimo, se generará una disminución del rendimiento. Estos factores se pueden dividir en controlables (fertilización, fecha de siembra, elección del cultivar, densidad de siembra, control de plagas, malezas

y enfermedades) e incontrolables (duración del día, radiación, temperatura y precipitación en el caso de sistemas en secano) (García *et al.*; 2009).

La temperatura y fotoperiodo regulan la duración de las fases de desarrollo del cultivo de soja, ambos actuando simultáneamente. Las temperaturas cardinales difieren a lo largo de las fases, para la fase germinación- emergencia, la temperatura base se encuentra entre 6°C y 9°C, óptimas entre 25°C y 30°C y máximas de 40°C. El tiempo térmico requerido para que se cumpla la fase siembra-emergencia se ha estimado entre 120-200 °C día (Tb: 6°C). La temperatura modifica la tasa de desarrollo, disminuyendo cuando la temperatura se encuentra por debajo o por encima de la óptima, para cada estadio fenológico particular (Satorre *et al.*, 2010).

La soja es una especie con respuesta fotoperiódica cuantitativa, a días cortos. Presenta un período juvenil corto, en el que no responde al fotoperiodo, de 8 días desde la emergencia. A partir de allí, éste afecta todas las etapas de desarrollo del cultivo. Las diferencias en fotoperiodo crítico entre cultivares ha permitido agruparlos en Grupos de Maduración. Cada cultivar tiene un fotoperiodo crítico y una sensibilidad específica, cultivares de grupos inferiores presentan umbrales elevados y baja sensibilidad, mientras que grupos superiores presentan umbrales menores pero mayor sensibilidad (Satorre *et al.*, 2010).

La radiación solar determina el crecimiento del cultivo y es un recurso que se debe aprovechar en forma completa. Una mayor radiación incidente resulta en mayor fotosíntesis, esta última afectando el crecimiento del cultivo y el rendimiento (García *et al.*; 2009).

La disponibilidad hídrica también controla el crecimiento y desarrollo, y es el factor más limitante del rendimiento en las producciones de secano, con lo cual, se debe tener en cuenta las prácticas que hacen a un manejo más eficiente del agua para maximizar el rendimiento. La etapa más susceptible a estrés hídrico es el llenado de granos, porque se afecta el número de vainas, el número de semillas por vaina y el peso individual de las semillas. El consumo de agua del cultivo resulta de la evapotranspiración acumulada a lo largo de su ciclo de crecimiento y desarrollo (García *et al.*; 2009).

En función de las condiciones ambientales particulares, se debe definir el cultivar más adaptado, teniendo en cuenta su grupo de madurez, hábito de crecimiento y fecha de siembra. El adelantamiento en la fecha de siembra incrementa la longitud del ciclo y el rendimiento. La combinación de grupo de madurez y fecha de siembra permite gobernar el crecimiento y desarrollo del cultivo, y es la práctica de manejo más importante del cultivo de soja (García *et al.*; 2009).

La densidad de plantas afecta la radiación interceptada, con mayor cobertura se alcanza mayores valores totales de intercepción. Las reducciones en la densidad producen efectos leves, debido a la capacidad de compensación que posee el cultivo (ramificación). La elección de la densidad de siembra debe buscar el máximo aprovechamiento de los recursos, para asegurar una mayor productividad. El rendimiento por unidad de superficie es similar en un amplio rango de densidades, debido a que la tasa de crecimiento del cultivo resulta muy similar (García *et al.*; 2009).

Para lograr un adecuado crecimiento y rendimiento, el cultivo de soja, necesita absorber una cantidad considerable de nutrientes (García *et al.*; 2009).

La soja presenta un elevado contenido de nitrógeno en el grano, y acumula nitrógeno en la planta en forma sostenida desde la emergencia hasta el inicio de llenado de granos, observándose en este último estadio, la máxima tasa de absorción de este nutriente (Satorre *et al.*, 2010).

El nitrógeno es el nutriente más importante. Es el constituyente esencial de los aminoácidos, nucleoproteínas y nucleótidos, esencial para la división y expansión celular y por lo tanto para el crecimiento de las plantas (Francis *et al.*, 2007).

En relación al fósforo, la máxima tasa de absorción de fósforo se desplaza quince días más tarde a la de nitrógeno, decayendo recién a finales del período de llenado de granos (Satorre *et al.*, 2010).

En cuanto al azufre, este sigue una dinámica similar al nitrógeno y también está asociado a la expansión foliar y crecimiento vegetativo. El grano de soja es rico en aminoácidos azufrados (Satorre *et al.*, 2010).

Al nitrógeno, la soja puede obtenerlo del suelo o puede asociarse simbióticamente a bacterias del género *Bradyrhizobium* y formar nódulos en las raíces de la planta capaces de fijar nitrógeno atmosférico (García *et al.*; 2009). Esto les permite obtener nitrógeno, para su crecimiento y desarrollo, a partir de una fuente en la que no puede ser aprovechada directamente. De aquí la importancia de este proceso, denominado “fijación biológica del nitrógeno” (FBN). En el caso de que este fenómeno no ocurra, las plantas se ven obligadas a tomar formas combinadas de nitrógeno que se encuentran en el suelo, en cantidades insuficientes (Olivares-Pascual, 2008).

La FBN es llevada a cabo por un escaso grupo de microorganismos procariotas, conocidos comúnmente con el nombre de “rizobios”, cuya característica principal es la de poseer el complejo enzimático “nitrogenasa”, encargado de transformar el nitrógeno atmosférico en amonio, forma asimilable por las plantas (Balatti, 2007).

Este tipo de asociación es altamente benéfica para ambos miembros del par simbiótico (planta-microorganismo) ya que la bacteria fija nitrógeno atmosférico y cede gran parte a la planta, permitiendo su crecimiento. Por otro lado, la planta fija carbono por medio de la fotosíntesis y aporta gran cantidad de compuestos carbonados a la bacteria, tratándose de un proceso altamente consumidor de energía, llevado a cabo por ese complejo nitrogenasa, que consume 16 moléculas de ATP, por molécula de nitrógeno atmosférico reducido. La ecuación global es:



(Olivares Pascual, 2008).

La simbiosis *Rhizobium*- leguminosa es resultado de una interacción muy específica entre la bacteria y la planta. La formación del nódulo es un proceso inducido por un “intercambio de señales” entre los dos participantes de la interacción, el microsimbionte (bacteria) y el marco simbiote

(planta). Es esencial la unión del microorganismo a los pelos radicales de la planta. Sustancias con efecto mitógeno (factores de nodulación) son sintetizadas por productos de los llamados genes de nodulación del microsimbionte (genes NOD), en respuesta a la excreción por parte de la planta, de sustancias de tipo Flavonoide. La bacteria infecta la raíz en la extremidad de los pelos radicales provocando la curvatura de estos. Se promueve la penetración de la bacteria, formando el llamado “hilo de infección”, en el interior del cual se desarrollan los microorganismos, estos continúan hasta llegar al cortex radical. La infección conduce a la formación del meristemo nodular. La producción de los factores de nodulación induce la división celular a nivel del cortex (Elementos, 2000).

Todos los microorganismos que convierten en nitrógeno atmosférico en amoníaco lo hacen gracias a la actividad del complejo enzimático nitrogenasa. Esta enzima requiere de la colaboración de otras dos proteínas llamadas ferredoxina y flavodoxina, que actúan como donadores de electrones y reductores naturales de la nitrogenasa (Elemento, 2000).

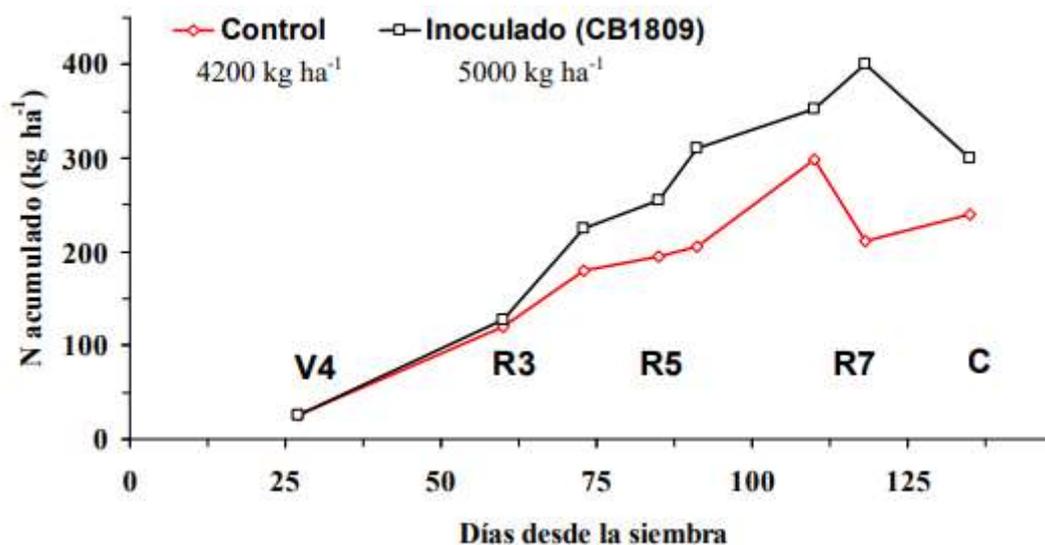
Durante el establecimiento de la asociación simbiótica, la planta expresa proteínas específicas llamadas nodulinas. Entre ellas, la leghemoglobina la cual tiene como función aportar y controlar los niveles de oxígeno en los bacteroides (ya que el complejo nitrogenasa es altamente sensible al oxígeno). Esta proteína se localiza en el citosol de las células de la planta infectada por bacteroides y es la que da el típico color rosado de los nódulos funcionales (Becana y Klucas, 1992).

Los nódulos exportan el N asimilado en forma de amidas o ureidos a la parte aérea de la planta. Los ureidos (alantoína, ácido alantoico, citrulina) se sintetizan a partir de las amidas y precisan síntesis de novo de purinas que deben ser oxidadas. La glutamina y glutamato, son los compuestos primarios de asimilación del nitrógeno, los cuales son usados para sintetizar otros aminoácidos y compuestos nitrogenados por transaminación (Okumoto y Pilot, 2011).

Para poder establecerse este proceso (si bien el mismo se produce naturalmente a partir de las cepas naturalizadas del suelo) en la planta, se debe realizar la técnica de inoculación de la semilla con las cepas bacterianas más eficientes, siendo *Bradyrhizobium japonicum* una de estas, ya que en relación a otras cepas como *Azotobacter*, consume menos unidades de ATP por unidad de nitrógeno atmosférico fijado (Olivares Pascual 2008).

Las bacterias de los nódulos pueden fijar entre el 25% y el 80% del nitrógeno requerido, debiéndose esta variabilidad, a factores ambientales, edáficos y a diferentes cepas (Echeverría y García, 2014). Estimaciones de la tasa de fijación de nitrógeno en la región centro y norte productora de soja del país, indican que entre el 26% y 71% del nitrógeno acumulado, con una media de 50%, procede de la fijación biológica (Collino et al., 2007).

La siguiente figura muestra el aporte de nitrógeno vía fijación biológica considerando la acumulación de nitrógeno total en un cultivo de soja inoculado y su control sin nodulación, los rendimientos fueron de 5060 y 4222 kg/ha para el tratamiento inoculado y el control, respectivamente (González, 1994).



**Figura 1.** Acumulación de nitrógeno (N) en soja inoculada y sin inocular- campaña 1988/89- EEA INTA Balcarce (Buenos Aires, Argentina) (González, 1994).

La fertilización con nitrógeno a la siembra no ha mostrado respuestas en rendimiento, mientras que en aplicaciones en estadíos reproductivos avanzados, han mostrado resultados muy variables. Por esta razón y para evitar afectar la fijación biológica, no se recomienda la fertilización nitrogenada en soja (García *et al.*; 2009).

Existen diferentes factores que limitan el proceso de simbiosis, como por ejemplo, presencia de formas combinadas de nitrógeno en el suelo (para la planta es más económico tomar nitrógeno del suelo y/o del fertilizante que de la fijación biológica, debido al alto costo energético del proceso), carencias de fósforo, potasio, calcio, azufre y micronutrientes (disminuyen la formación de nódulos), anegamiento (mortalidad de nódulos), déficit hídrico (mortalidad de las bacterias) (García *et al.*; 2009).

En suelos sin antecedentes de cultivo de leguminosas los efectos de la inoculación son de alta significancia cuando los niveles de nitrógeno provenientes del suelo son bajos. En estos casos, la inoculación puede resultar en aumentos de rendimiento mínimos del 50% (Peticari *et al.*; 2003).

En suelos con antecedentes, los efectos son menores. En 183 ensayos realizados en Argentina, la respuesta promedio fue de aproximadamente 300 kg/ha, equivalentes al 11% (Peticari *et al.*; 2003).

Más allá de los menores efectos en lotes con antecedentes de soja, la inoculación debe realizarse siempre en cada cultivo que se implante para contribuir a una mayor fijación biológica y así reducir la demanda de nitrógeno del suelo (García *et al.*; 2009).

La fijación biológica del nitrógeno no solo es importante por la contribución a la nutrición de las plantas a partir de una fuente que no puede ser aprovechada directamente, como se mencionó al principio, sino también, por contrarrestar el nitrógeno combinado que pasa a la atmósfera por desnitrificación, y que produce efectos contaminantes en el ambiente. Todos los procesos del ciclo del

nitrógeno actúan de forma tal que, en condiciones normales, las diferentes actividades microbianas están equilibradas, y las pérdidas son compensadas por las ganancias (Olivares Pascual, 2008).

La masiva utilización de fertilizantes nitrogenados está actuando sobre el ciclo del nitrógeno con resultados negativos, entre ellos, contribuyendo al cambio climático (Olivares Pascual, 2008).

La reducción anaeróbica de nitrato es un proceso crucial en el ciclo del N en la biosfera y su transformación en nitrógeno atmosférico, mediante la desnitrificación, permite la eliminación del exceso de nitrato que contamina los ecosistemas terrestres y acuáticos, principalmente como consecuencia del abuso de fertilizantes nitrogenados en la práctica agrícola. La desnitrificación tiene un gran impacto en la agricultura, el medioambiente y la salud humana (Delgado y Bedmar, 2006).

La desnitrificación es una forma alternativa de la respiración, por lo que, en condiciones limitantes de oxígeno, los microorganismos pueden utilizar el nitrato y sus óxidos de nitrógeno derivados, como aceptores de electrones en una cadena de transporte hasta la formación de nitrógeno atmosférico. La capacidad de desnitrificar es de gran interés en las asociaciones simbióticas que se establecen entre los rizobios y sus leguminosas específicas, ya que esta habilidad permite a los bacteroides sobrevivir durante períodos de anoxia, es decir, una elevada actividad nitrato reductasa (enzima encargada de la desnitrificación), permite reducir los efectos limitantes del ambiente (Sánchez, 2009).

Las bacterias desnitrificantes son microorganismos capaces de utilizar los óxidos de nitrógeno como aceptores de electrones (proceso anóxico), en lugar del oxígeno.

La capacidad de desnitrificar no está muy extendida entre los rizobios, ya que sólo *Bradyrhizobium japonicum* y *Azorhizobium caulinodans* son los únicos capaces de crecer cuando se cultivan en condiciones limitantes de oxígeno, con nitrato como aceptor final de electrones para la producción de ATP. Entre los rizobios, se han caracterizado genes que codifican enzimas de la desnitrificación en *R. sultae*, *R. etli*, *S. meliloti* y *B. japonicum* (Bedmar et al., 2005).

*Bradyrhizobium japonicum* es el único rizobio donde se ha aislado y caracterizado los genes de la desnitrificación, implicados en la síntesis de las enzimas nitrato reductasa periplásmica, nitrito reductasa, óxido nítrico reductasa y óxido nitroso reductasa. (Robles et al., 2007).

Fernández et al., (2008) aislaron cepas desnitrificantes de los suelos donde se cultiva soja en el país, en Pergamino (Buenos Aires) y Manfredi (Córdoba), las cuales han sido diferenciadas en tres categorías, de acuerdo a la producción de N<sub>2</sub>O:

**Grupo I:** cepas de referencia *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 y MSDG-G49 producen 7,06 y 7,30 nmol N<sub>2</sub>O µg<sup>-1</sup> proteína, respectivamente.

**Grupo II:** cuatro aislamientos de *Bradyrhizobium spp.* de suelos de Pergamino que producen entre 2 y 5 nmol N<sub>2</sub>O µg<sup>-1</sup> proteína.

**Grupo III:** cuatro *Bradyrhizobium spp.* que producen < 1 nmol N<sub>2</sub>O µg<sup>-1</sup> proteína.

Esta clasificación indica que hay una actividad desnitrificante diferente en las cepas de *Bradyrhizobium* sp. indígena de los suelos cultivados con soja.

Las características relevantes de los aislamientos y los genes descritos vinculados a la capacidad desnitrificante de las cepas que se utilizaron son:

- Per 3.64 grupo II; 3,26 nmol N<sub>2</sub>O μg<sup>-1</sup> proteína; napA, nirK, norC, nosZ.
- Per 1.12 grupo II; 4,20 nmol N<sub>2</sub>O μg<sup>-1</sup> proteína; napA, nirK, norC.
- Per 3. 61 grupo III; 1,03 nmol N<sub>2</sub>O μg<sup>-1</sup> proteína; napA, nirK, norC, nosZ.

Por lo tanto, la fijación de nitrógeno y la desnitrificación, dos procesos que son antagonistas en el ciclo del nitrógeno, pueden actuar en forma complementaria y permitir la sobrevivencia de la bacteria en el interior de los nódulos de las raíces (Lucinski et al., 2002).

La base fundamental del manejo del N en el cultivo de soja, es la optimización del proceso de fijación biológica. El manejo del cultivo debe estar dirigido a optimizar el aporte de esta fuente de N, principalmente a través de la inoculación con cepas de alta efectividad y utilizando productos que tengan calidad en cuanto al número de bacterias y las condiciones de conservación. El éxito de esta práctica se verá potenciada si el manejo del cultivo y del suelo están dirigidos a optimizar el ambiente para la simbiosis rhizobio-soja (Salvagiotti et al, 2009).

### **Hipótesis**

El uso de cepas de *Bradyrhizobium* spp. incrementa el número de nódulos y el rendimiento del cultivo de soja.

### **Objetivo general**

Evaluar el comportamiento de distintas cepas de *Bradyrhizobium* spp. que fijan nitrógeno y desnitrifican, en el cultivo de soja.

### **Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de la inoculación en el peso seco de nódulos, en estadio fenológico R5.
- Cuantificar el número de nódulos en raíz principal y raíces secundarias en estadio fenológico R5.
- Analizar el efecto de la inoculación sobre peso seco aéreo en estadio fenológico R5.
- Determinar el rendimiento en estadio fenológico R8.

## Materiales y métodos

### **Caracterización del sitio experimental**

La experiencia se desarrolló en el campo experimental (CAMDOCEX) de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto (33° 07' S, 64° 14' O, 421 m s.n.m), que se encuentra ubicado 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 (Cátedra de Agrometeorología U.N.R.C., 2018).

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 (Cátedra de Agrometeorología U.N.R.C., 2018). La fecha media de la primera helada es el 25 de mayo y la de última es el 12 de septiembre, siendo el período libre de heladas 255 días en promedio (Seiler et al., 1995).

El suelo sobre el cual se realizó el ensayo está clasificado como Hapludol típico, franco arenoso muy fino, presenta relieve normal, es profundo, bien drenado, desarrollado a partir del material loésico, con baja diferenciación horizontal y características de buen suelo agrícola (Uberto, 2008). Para establecer los requerimientos de fertilización se realizó un análisis de suelo que consistió en la toma de una muestra compuesta representativa en los estratos 0-20 y 20-40 cm para analizar las propiedades físico-químicas del suelo midiendo los siguientes parámetros: pH (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), y contenido de humedad.

También, previo a la siembra, se determinó el número de rizobios naturalizados por gramo de suelo mediante la técnica del Número Más Probable (NMP) (Somasegaran y Hoben, 1994). Se utilizó la siguiente formula:

$$NMP = \frac{m \times d}{v \times n}$$

Donde:

m: número más probable (por ml) en la primera dilución considerada.

d: dilución de la primera dilución considerada .

v: volumen inoculado (1 ml) .

n: peso del suelo (10 g).

## **Establecimiento de las condiciones edáficas y climáticas para el desarrollo del cultivo de *Glycine max***

Los ensayos se realizaron en el campo experimental de la universidad durante la campaña 2017-2018. Previo a la siembra, se evaluaron las propiedades físico-químicas del suelo mostrando una buena condición de fertilidad por el contenido de N disponible para el cultivo (48,02 kg/ha), calculado a partir de la DAp y el Npc. En la tabla 1 se observan los resultados del análisis del suelo que se realizó previo a la siembra.

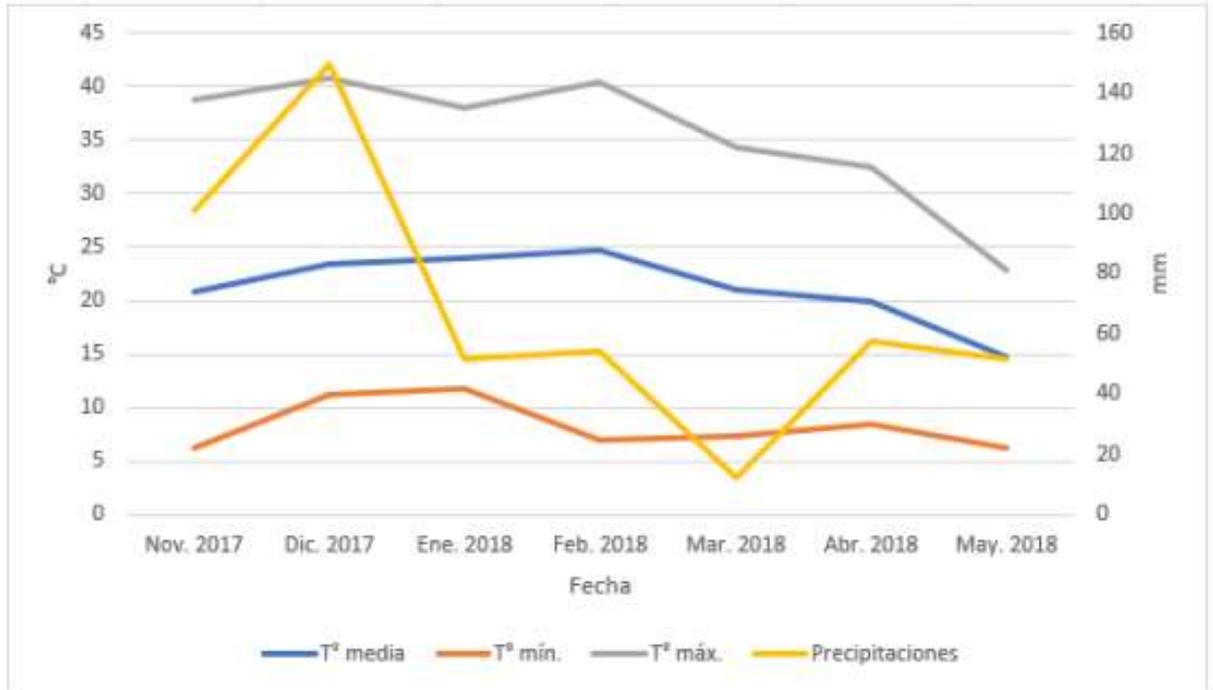
**Tabla 1.** Características generales del sitio experimental (2017-2018).

PROPIEDADES	0-20 Cm	20-40 Cm
Materia Orgánica (%)	1,4	-
Nitrógeno de nitratos (ppm)	9,22	8,97
Nitratos (ppm)	40,84	39,72
Fósforo (ppm)	17,8	-
Humedad (%)	17,44	22,92
pH	6,57	-

Los resultados obtenidos del análisis del suelo, mostraron una disponibilidad de fósforo (P) de 47 kg/ha, siendo su requerimiento de 7 kg/tn de grano (García y Correndo, 2012). Numerosos ensayos de fertilización fosforada realizados en la región pampeana desde fines de los '70, mostraron una mayor respuesta cuando el suelo tenía menos de 9 ppm de P (Melgar et al., 1995). Se considera que la disponibilidad de P es óptima a pH 6-7. El pH óptimo del suelo para la mayoría de los cultivos es el que se encuentra entre 5,5 y 8,3, cabe destacar que el valor hallado en el ensayo, se encuentra dentro del rango establecido (Picone, 2014).

Por otra parte, se estimó la población naturalizada de rizobios nodulantes de *Glycine max* con valores de  $6,9 \times 10^3$  rizobios g. suelo<sup>-1</sup>. En suelos de nuestro país se ha encontrado que los rizobios alóctonos fluctúan entre 102 y 105 rizobios g. suelo<sup>-1</sup> (González et al., 1997). La presencia de dichos rizobios en el suelo es considerada una barrera para el éxito de la inoculación, estos microorganismos están bien adaptados en condiciones del suelo, sin embargo, con una baja tasa de fijación. Los valores de población naturalizada superiores al orden de  $10^3$  g. suelo<sup>-1</sup>, provocan el fenómeno de competencia por la ocupación de los nódulos y menores beneficios en la inoculación con las cepas introducidas (Toresani et al., 2007).

En la figura 2 queda representada de manera gráfica las precipitaciones y temperaturas máximas, mínimas y medias registradas en el período de evaluación del cultivo, correspondiente a partir del mes de noviembre del 2017 a mayo del 2018 (Cátedra de Agrometeorología, 2018).



**Figura 2. Precipitaciones y temperaturas registradas durante el ciclo del cultivo de Glycine max. Fuente: Cátedra de Agrometeorología, 2018.**

## Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó el modelo de diseño completamente al azar (DCA) con siete tratamientos. El tamaño de las parcelas fue de 15 m de largo y 5 surcos de ancho distanciados a 0,52 m, con una densidad de siembra de 24 semillas por metro lineal de surco. El sistema de labranza utilizado fue siembra directa, sobre un rastrojo de Maíz, y el desarrollo fue bajo condiciones de secano. Previo a la siembra del cultivo se aplicó glifosato, en una formulación estándar líquida soluble de la sal isopropilamina a una concentración del 48% (1200 g i.a/ha). La fecha de siembra fue el 18 de diciembre de 2017. La inoculación de las semillas de Soja se hizo al momento de la siembra, aplicando la suspensión de las diferentes cepas de *Bradyrhizobium* spp., para alcanzar una densidad estimada de 105 células por semilla. La cosecha se realizó manualmente el día 15 de mayo de 2018.

Se realizaron los siguientes tratamientos:

1. Testigo sin inocular y sin fertilizar.
2. Testigo fertilizado (180 kg/ha de urea).
3. Inoculado con *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110.
4. Inoculado con *Bradyrhizobium* spp. Per 3.64.
5. Inoculado con *Bradyrhizobium japonicum* E 109.
6. Inoculado con *Bradyrhizobium* spp. Per 3.61.
7. Inoculado con *Bradyrhizobium* spp. Per 1.12.

**Tabla 2.** Características de las cepas de *Bradyrhizobium* spp.

<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Descripción	Referencia
<b>USDA 110</b>	Cepa de referencia	Belstville, USDA, Estados Unidos
<b>E 109</b>	Cepa de referencia	INTA, Argentina
<b>Per 3.64</b> <b>Per 3.61</b> <b>Per 1.12</b>	Aislamientos nativos de suelos de Pergamino	Cedida por la Dra. Leticia Fernández, UNS-Bahía Blanca

Fuente: Efectos del nitrato sobre la siombiosis *bradyrhizobium japonicum*- soja: rol de la nitrato reductasa en la fijación de nitrógeno. Bruno, 2017.

### **Cultivar utilizado**

La variedad de Glycine max empleada fue NIDERA A 5009 RG (Tabla 3). Presenta gran adaptabilidad a distintas zonas, con un excelente perfil sanitario (Tabla 4) y buen potencial de rendimiento. Posee el evento RG con lo cual le confiere genes de resistencia al herbicida glifosato.

**Tabla 3.** Características del cultivar de Glycine max.

Posicionamiento	Zona núcleo sojera y ambientes de alta productividad del Centro de Córdoba, Santa Fé y Entre Ríos.
Grupo de madurez	V corto
Hábito de crecimiento	Indeterminado
Ciclo (días a R1)	49
Ciclo (días a R8)	147
Color de flor	Blanca
Color de pubescencia	Castaña oscuro
Peso de 1000 semillas (gr).	200
Altura	100
Comportamiento a vuelco	Muy bueno
Ramificación	Alta
Porte	Medio

**Tabla 4.** Perfil sanitario del cultivar de Glycine max.

Cancro de tallo	R
Phytopthorasojae	MR
Mancha ojo de rana	MS

### **Determinaciones realizadas**

**En la etapa vegetativa VE (emergencia) se midió:**

- **Número de plántulas emergidas**

Finalizada la emergencia del cultivo, se procedió a la medición del número de plántulas emergidas en una superficie de 1 m<sup>2</sup>, con 3 muestras por tratamiento.

**En la etapa reproductiva R5, se midió:**

- **Número de nódulos en raíz principal**

Se contabilizó el número de nódulos ubicados en la raíz principal sobre 4 muestras por tratamiento, cada muestra compuesta por 4 plantas.

- **Número de nódulos en raíces secundarias.**

Se contabilizó el número de nódulos ubicados en raíces secundarias sobre 4 muestras por tratamiento, cada muestra compuesta por 4 plantas.

- **Peso seco de nódulos.**

Se extrajeron los nódulos de la raíz principal y raíces secundarias de 4 muestras por tratamiento, cada muestra compuesta por 4 plantas.

- **Peso seco de biomasa vegetal aérea (g/planta).**

Se extrajo la biomasa aérea de 4 muestras por tratamiento, cada muestra compuesta por 4 plantas, y se secaron en estufa a 70° C hasta peso constante.

**En la etapa reproductiva R8, se midió:**

- **Número de vainas por planta**

Se contabilizaron el número de vainas por planta, en un total de 5 plantas elegidas al azar por tratamiento.

- **Número de granos por planta**

Se contabilizaron el número de granos por planta, en un total de 5 plantas elegidas al azar por tratamiento.

- **Peso de 1000 granos.**

Se cuantificó el peso de 1000 granos en un total de 3 muestras de 1m<sup>2</sup> por tratamiento.

• **Rendimiento**

Para la determinación del rendimiento en kg/ha, se tomaron 3 muestras de 1m<sup>2</sup> por tratamiento. La cosecha se realizó en forma mecánica, empleando una cosechadora experimental.

### **Análisis estadístico**

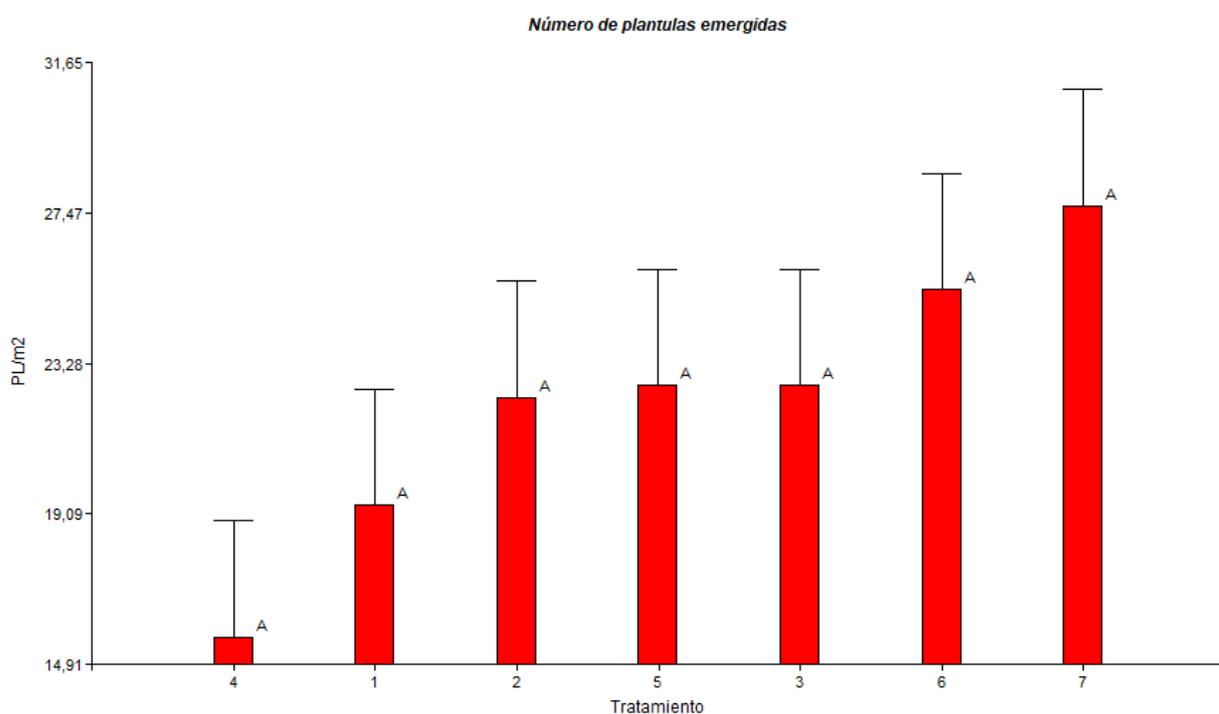
Una vez obtenidos los resultados de cada tratamiento con sus repeticiones, se compararon entre sí, utilizando el análisis de varianza (ANOVA) y el test de DGS con un nivel de significación del 5%. El análisis estadístico se realizó usando el programa Infostat (Di Rienzo et al., 2013).

## Resultados y discusión

### Número de plántulas emergidas

En el siguiente gráfico se observa el número de plántulas emergidas por m<sup>2</sup> promedio, en orden decreciente, de cada tratamiento, en el eje X el número de tratamiento y en el eje Y la cantidad de plantas por m<sup>2</sup> promedio de cada tratamiento. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Esta determinación se realizó posterior a la emergencia del cultivo (fecha de siembra: 18 de Diciembre de 2017).



**Figura 3. Comparación de medias del número de plántulas emergidas.**

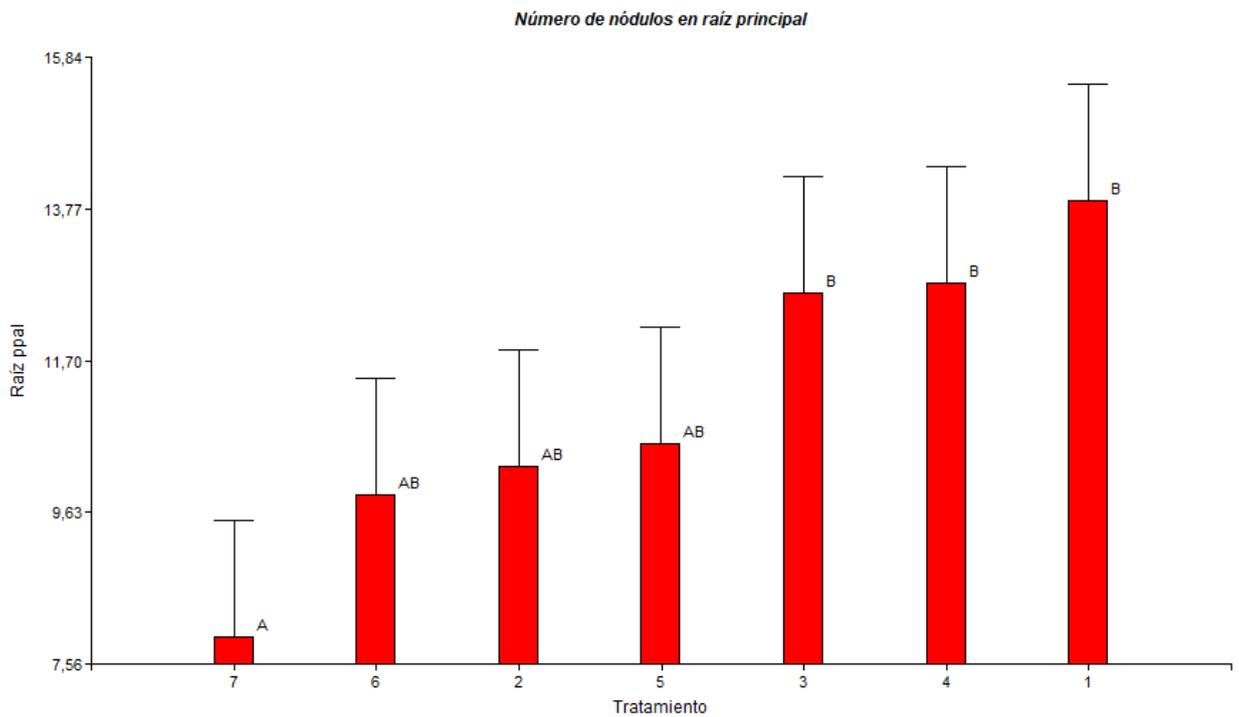
Si bien no existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ), se observó que el tratamiento 7 fue el que mayor número de plántulas emergidas tuvo, con un valor promedio de 27,67 plántulas por metro cuadrado. Le sigue el tratamiento 6 con un 8,46% menos de plántulas emergidas. Los tratamientos 5, 3 y 2 fueron similares, siendo el tratamiento 2 un 1,499% inferior a los dos anteriores. Todos los tratamientos, con excepción del 4, fueron superiores al testigo.

Ferraris y Courerot (2014), en ensayos realizados en Colón y Pergamino, encontraron que el tratamiento inoculado con la cepa E 109, recomendada por IMYZA (INTA), presentó mayor número de plántulas emergidas.

### Número de nódulos en raíz principal

En el siguiente gráfico podemos observar el número de nódulos en raíz principal promedio para cada tratamiento. En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y la cantidad de nódulos en raíz principal que obtuvo cada tratamiento. Letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05.

Esta determinación se realizó en la etapa reproductiva R5, se extrajeron las plantas, se contabilizó el número de nódulos en raíz principal y en raíces secundarias. Luego se procedió a separar los nódulos de la raíz para poder determinar el peso seco de nódulos y también se separó la parte aérea de la raíz, para poder determinar el peso seco de la parte aérea.



**Figura 4. Comparación de medias del número de nódulos en raíz principal.**

De acuerdo al análisis, el tratamiento 1 fue el que mayor número de nódulos en raíz principal tuvo, siendo un 9,38% superior a los tratamientos 4 y 3, que fueron similares entre sí, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ).

Bruno (2017), obtuvo resultados diferentes en ensayos realizados en Río Cuarto. Los tratamientos USDA 110 y Per 3.61, se caracterizaron por tener mayor número de nódulos en raíz primaria.

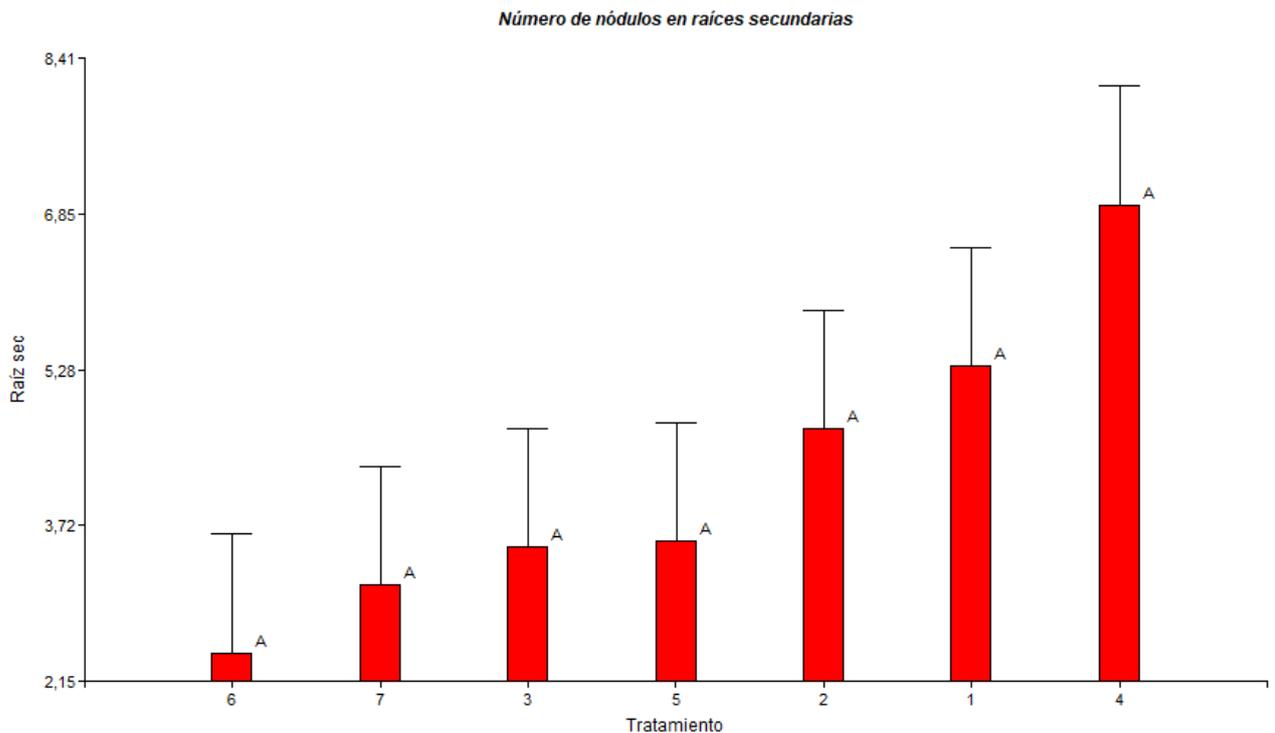
En el cultivo de soja, el desarrollo de nódulos en la raíz principal, es una característica cualitativa útil como un índice del nivel de eficiencia y de la actividad bacteriana en la interacción planta-rizobio en el momento del desarrollo de la plántula. Estos nódulos contribuirán en mayor

medida al pool de N en la planta derivado de la FBN ya que tendrán mayor actividad entre R1 y R5, etapas en la cuales las tasas de FBN son más altas. Por otra parte, la actividad de los nódulos ubicados en las raíces laterales tendría una mayor importancia durante el llenado de granos, cuando las tasas de FBN decrecen (Mc Dermott *et al.*; 1989).

### Número de nódulos raíces secundarias

En el siguiente gráfico se observa el número de nódulos en raíces secundarias promedio de cada tratamiento, en orden decreciente. En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y el número de nódulos de las raíces secundarias promedio de cada tratamiento. Letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05.

La determinación se realizó en el estadio fenológico R5 y se procedió como se explicó en la determinación anterior.



**Figura 5. Comparación de medias del número de nódulos en raíces secundarias.**

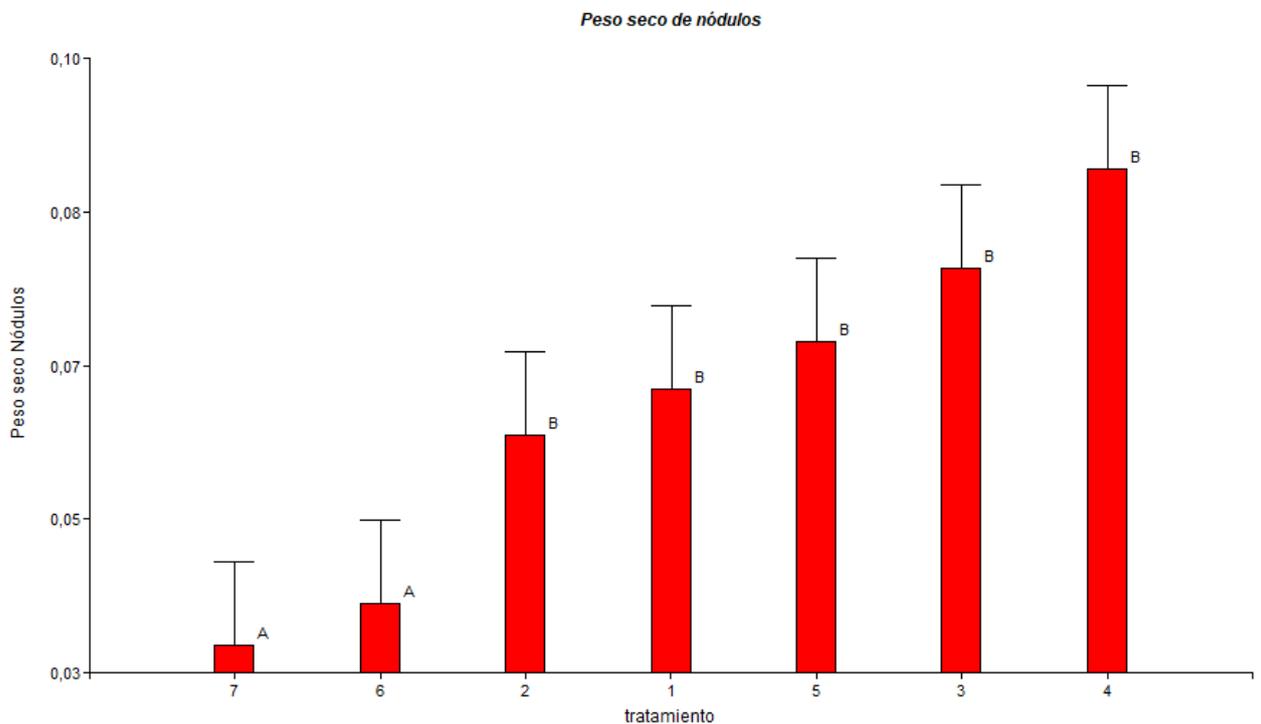
El tratamiento de mayor número de nódulos en raíces secundarias fue el 4, siendo un 21,18% superior al tratamiento 1 y un 32,42% superior al 2, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Los tratamientos 5,3 y 7 fueron similares, y el tratamiento 6 fue el de menor valor, siendo inferior en un 64,84% al tratamiento 4.

Bruno (2017) observó en ensayos realizados en la localidad de Río Cuarto, que los tratamientos Per 3.61 y USDA 110, presentaron mayor número de nódulos en raíces secundarias.

### Peso seco de nódulos

En el siguiente gráfico se observa el peso seco de nódulos promedio de cada tratamiento, en orden decreciente. En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y el peso seco de los nódulos de raíz principal y secundarias promedio de cada tratamiento medido en gramos. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05. Los tratamientos con letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas para el peso seco de nódulos entre los tratamientos, letras diferentes indican que si hubo diferencias estadísticamente significativas.

Esta determinación se realizó en el estadio reproductivo R5 y se procedió como se explicó anteriormente.



**Figura 6. Comparación de medias del peso seco de nódulos.**

En cuanto a peso seco de nódulos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos 1, 2, 3, 4 y 5 ( $p > 0,05$ ), pero si difirieron de los tratamientos 6 y 7, no encontrándose diferencias entre sí, en estos dos últimos. El tratamiento de mayor peso fue el 4, siendo superior al tratamiento 1.

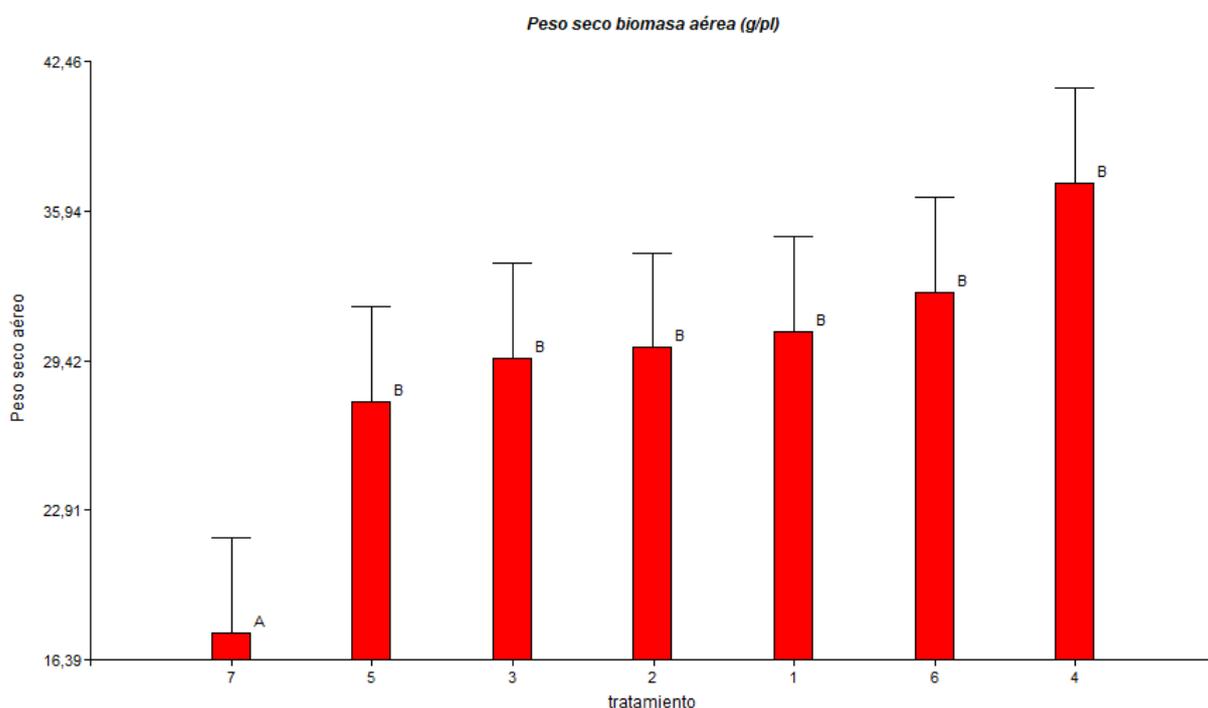
Bruno (2017) observó que el mayor peso seco de nódulos en raíz primaria y raíces secundarias pertenecieron al tratamiento con la cepa Per 3.61 y USDA 110.

En un ensayo de dos campañas de Soja en la provincia de Entre Ríos, realizado por Benintende et al., (1997), se observó diferencia en el peso seco de nódulos a favor del tratamiento con la cepa E 109, con respecto al testigo, en la segunda campaña. Durante la primera campaña no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, caracterizada ésta, por un marcado déficit hídrico.

### **Peso seco biomasa aérea, en gramos/ planta**

En el siguiente gráfico se puede observar el peso seco de la biomasa aérea por planta promedio de cada tratamiento (cada tratamiento se compone de 4 muestras y cada muestra se compone de 4 plantas). En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y el peso seco aéreo en gramos por planta correspondiente a cada tratamiento. Letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamiento. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05.

La determinación se realizó en el estadio fenológico R5 como se explicó en las determinaciones anteriores.



**Figura 7. Comparación de medias del peso seco biomasa aérea.**

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 con respecto al tratamiento 7, que fue el que menos peso seco aéreo tuvo, siendo un 43,7% inferior al promedio de los demás tratamientos.

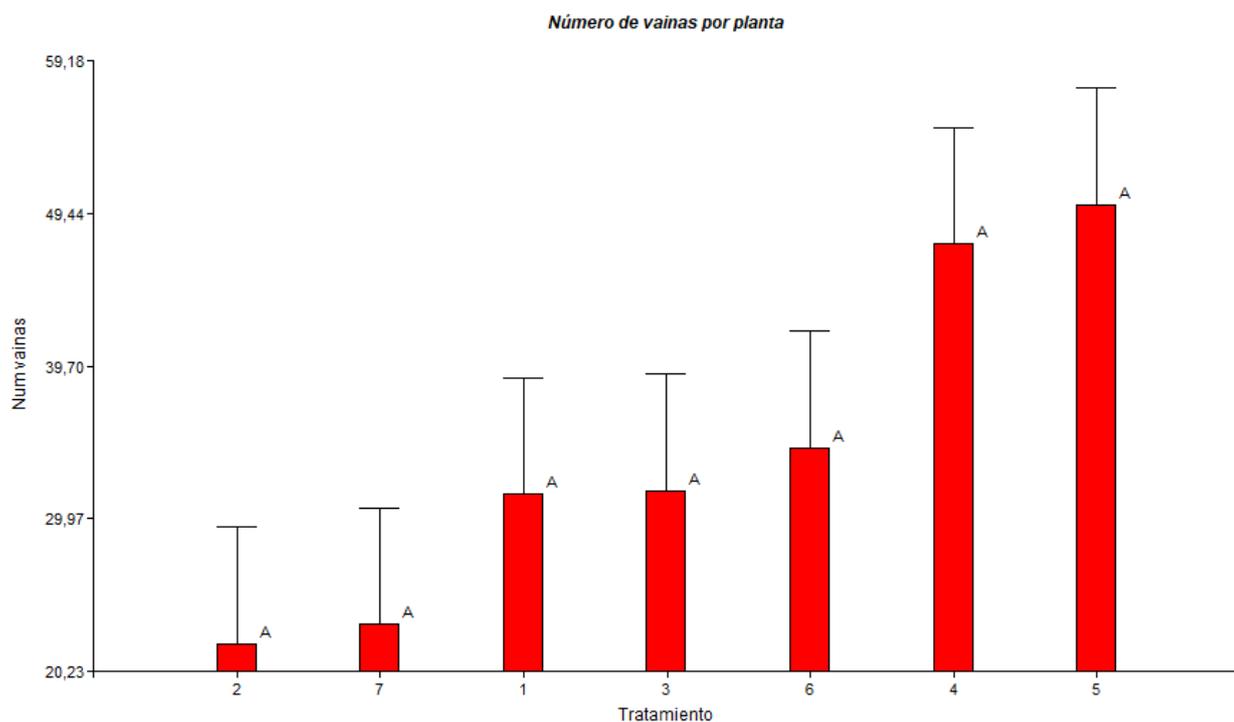
Berisso (2014), en ensayos realizados en la localidad de Aldea Asunción (Entre Ríos), observó que el tratamiento inoculado presentó un aumento del 11% de biomasa aérea, con respecto al testigo.

Veronesi (2014) en la localidad de Gualeguaychú, al medir la biomasa aérea en el estadio fenológico V4 del cultivo de Soja, no encontró diferencias significativas entre el tratamiento inoculado con la cepa E 109 y el testigo.

### Número de vainas/ planta

En el siguiente grafico se observa el número de vainas por planta promedio de cada tratamiento. En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y el número de vainas por planta promedio (5 plantas elegidas al azar por tratamiento) para cada tratamiento. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

La determinación se realizó en el estadio fenológico R8 y se procedió extrayendo las plantas en forma manual y luego se realizó el conteo.



**Figura 8. Comparación de medias del número de vainas por planta.**

El tratamiento 5 fue el de mayor número de vainas por planta y el tratamiento 2 fue el de menor valor, siendo inferior en un 56% con respecto al primero, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ).

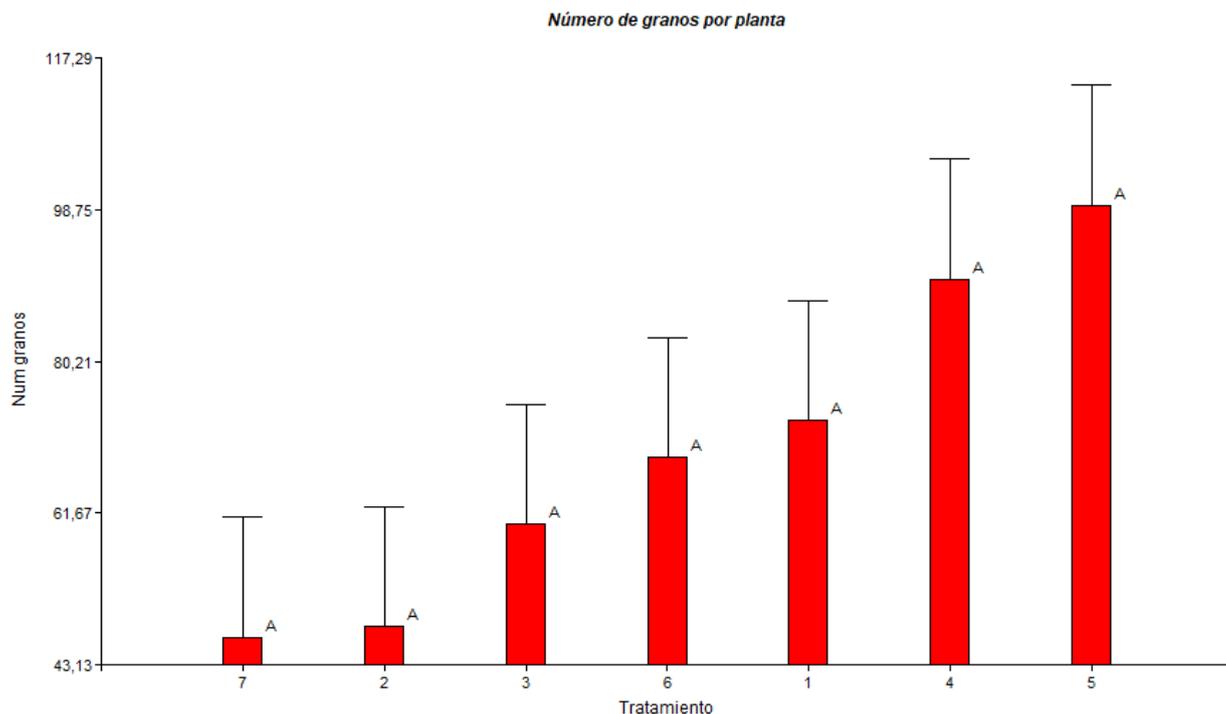
Ventimiglia y Torrens Baudrix (2012), en un ensayo realizado en el INTA 9 de Julio, no encontraron evidencias significativas en el número de vainas por planta, entre el tratamiento inoculado con la cepa E 109 y el testigo.

### Número de granos/ planta

En el siguiente gráfico se observa el número de granos por planta promedio de cada tratamiento.

En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y el número de granos por planta promedio para cada tratamiento correspondiente. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Esta determinación se realizó en el estadio fenológico R8 junto a la determinación anterior.



**Figura 9. Comparación de medias del número de granos por planta.**

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el número de granos por planta entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). El tratamiento de mayor valor fue el 5, superando en un 23% al tratamiento 1. El tratamiento 4 fue el segundo de mayor valor, superando al 1 en un 19,18%. Los demás tratamientos fueron todos inferiores al testigo (tratamiento 1).

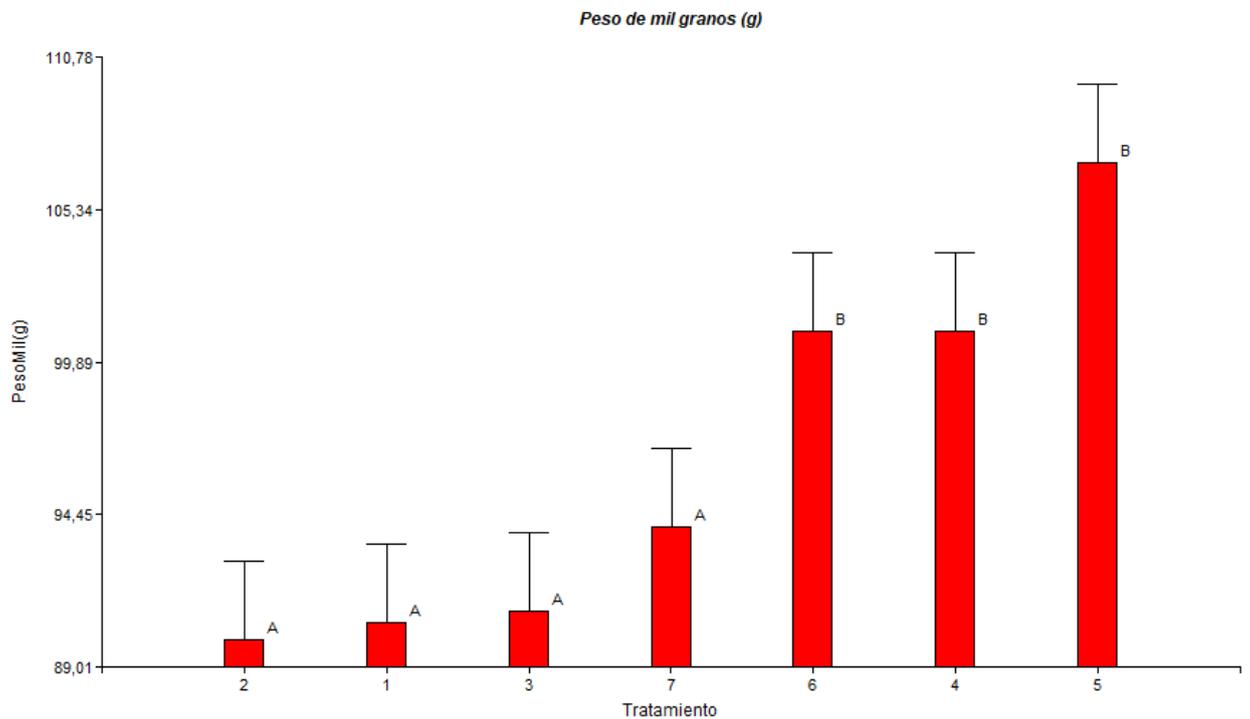
Resultados similares obtuvieron Piatti y Ferreyra (2015) en ensayos realizados en la E.E.A. Manfredi, no encontrando diferencias en el número de granos por planta, entre el tratamiento inoculado con la cepa E 109 y el testigo.

### **Peso de Mil granos (g)**

En el siguiente gráfico se observa el peso de mil granos promedio de cada tratamiento.

En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y el peso de mil granos promedio medido en gramos para cada tratamiento. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05. Para los tratamientos que poseen letra A significa que se diferenciaron significativamente de los tratamientos con letra B.

Esta determinación se realizó en el estadio fenológico R8, extrayendo manualmente plantas en 1 m<sup>2</sup> de superficie en tres muestras diferentes por tratamiento. Se extrajeron todos los granos de cada muestra y se pesaron 100 de los mismos.



**Figura 10. Comparación de medias del Peso de mil granos.**

Los tratamientos 5,6 y 4 fueron superiores a los demás, existiendo diferencias significativas. El promedio de los tratamientos 5,6 y 4 superó al promedio de los demás en un 11,26%.

En un ensayo realizado en Gualaguaychú por Veronesi (2014), no encontró diferencias entre el tratamiento inoculado y el testigo.

## Rendimiento (Kg/Ha)

Existen diferentes factores que determinan el rendimiento del cultivo en un determinado ambiente. Estos factores se pueden dividir en controlables (fertilización, fecha de siembra, elección del cultivar, densidad de siembra, control de plagas, malezas y enfermedades) e incontrolables (duración del día, radiación, temperatura y precipitación en el caso de sistemas en secano). Dependiendo de cuan óptimos se encuentren estos factores, quedará determinado el rendimiento del cultivo (García *et al.*; 2009).

De acuerdo a las precipitaciones y distribución de las mismas registradas durante el ciclo del cultivo, se podría destacar que éste se desarrolló en un ambiente con un marcado déficit hídrico en los primeros dos meses de su ciclo ontogénico.

En el siguiente gráfico se puede observar el rendimiento promedio de cada tratamiento en orden decreciente. En el eje X el número de tratamiento y en el eje Y el rendimiento promedio de cada tratamiento. Se utilizó el método de comparación de medias DGC con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales significan que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Esta determinación se realizó también en estadio fenológico R8, extrayendo manualmente plantas de 1 m<sup>2</sup> de superficie, en 3 muestras diferentes por tratamiento. Luego a las plantas de cada muestra se las procesó en una máquina trilladora experimental de la universidad y se recolectaron los granos para luego ser pesada cada muestra.

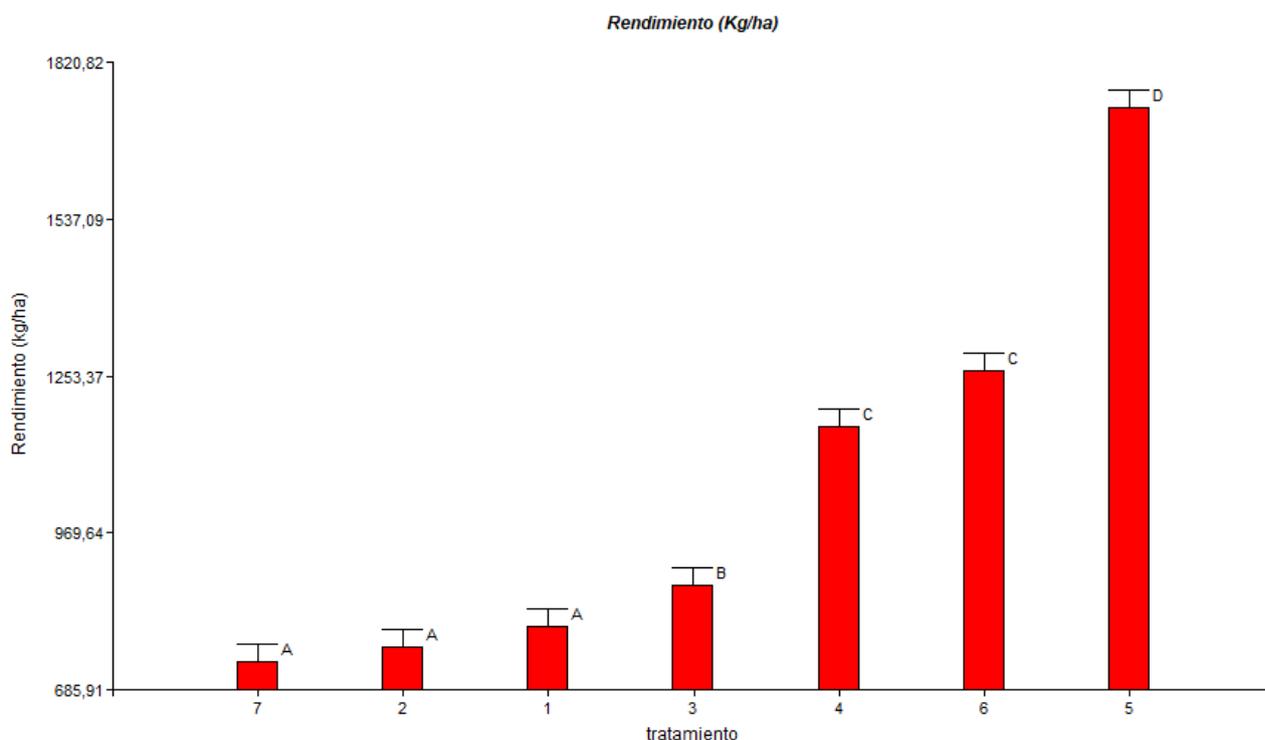


Figura 11. Comparación de medias de rendimiento.

El tratamiento 5 fue el de mayor rendimiento, superando en un 30% (existiendo diferencias significativas) al promedio de los tratamientos 4 y 6 (no habiendo diferencias significativas entre ambos), un 49,64% al tratamiento 3 (existiendo diferencias significativas) y un 55,87% al promedio de los tratamientos 1,2 y 7 (no habiendo diferencias significativas entre estos tres).

Benintende et al., (1997) en un ensayo en suelos argiudoles vérticos de Entre Ríos durante dos campañas, obtuvo, para la primera, diferencias significativas en rendimiento, siendo la cepa E110 (cepa 5019) la de mayor rendimiento. Para la segunda campaña las cepas E109 y E111 (USDA 110) fueron las que presentaron los mayores rendimientos, difiriendo estadísticamente del testigo.

Durante la campaña 2016/2017, el INTA Rafaela, realizó una experiencia en la que se compararon diferentes inoculantes con respecto al tratamiento control sin inocular. Todos los tratamientos superaron al testigo, y el tratamiento solo con *Bradyrhizobium japonicum* superó en 127,4 Kg/ ha al tratamiento control.

## Conclusión

El estrés hídrico, la temperatura y la radiación, son factores que pueden haber generado una disminución en la eficiencia de la FBN, y el crecimiento de la planta.

El rendimiento del cultivo de *Glycine max* inoculado con la cepa E109 fue superior a todos los tratamientos, habiendo diferencias estadísticamente significativas. Las cepas desnitrificantes Per 3.61 y Per 3.64 fueron superiores a la otra cepa desnitrificante Per 1.12 y superiores a los tratamientos testigos.

Por otro lado, entre los tratamientos testigos no hubo diferencias estadísticamente significativas, por lo que la fertilización tampoco tuvo efectos positivos sobre el rendimiento debido a las condiciones climáticas en las que se desarrolló el cultivo.

El mayor rendimiento de la cepa E109 se debe a su gran capacidad de fijación de nitrógeno en diferentes ambientes y condiciones climáticas, por esto, es la más elegida para la fabricación de inoculantes para el cultivo de *Glycine max*.

Debido a la importancia, que toma en la actualidad, la producción sustentable de alimentos, es imprescindible el desarrollo de diferentes herramientas para poder cumplir con este objetivo y contribuir al equilibrio y sostenibilidad el medio ambiente.

De aquí surge la importancia de este trabajo, el estudio de una de las herramientas: La FBN, que permite reemplazar, en el cultivo de oleaginosas, la utilización de fertilizantes nitrogenados, causantes de alteraciones en el ciclo del nitrógeno con resultados negativos para el ambiente.

*El uso exitoso del N en sistemas agropecuarios a través de la FBN resulta en prácticas económicamente viables para el medio ambiente. Sobre la base de estos antecedentes, la FBN en el cultivo de Glycine max resulta ser una herramienta muy útil para mantener una agricultura sustentable.*

## **Bibliografía**

- BALATTI, P. (2007). De la biología del Suelos a la Agricultura. (Thuar, A., Cassan, F., y Olmedo, C., eds). La diversidad de los rizobios que nodulan soja. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina. pp: 53-62.

- BECANA, M., y KLUCAS, R. (1992). Transitionmetals in legumeroot-nodules. Irondependent free radical production increases during nodule senescence. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 89: 8958-8962.

- BEDMAR E., ROBLES, E., y DELGADO, M. (2005). The complete denitrification pathway of the symbiotic, nitrogen fixing bacterium Bradyrhizobium japonicum. Biochemical Society 33:141-144.

- BENINTENDE, S.; SANCHEZ, C.; BARBABIANCA, A.; PACHECO BASURCO, J. Y PERTICARI, A. 1997. Ensayos de campo de cepas de bradyrhizobium japonicum de eficiente comportamiento en argiudoles vérticos de entre ríos. Facultad Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos.

- BERISSO, C. E. 2014. Evaluación de inoculantes y promotores de crecimiento en un cultivo de soja en Aldea Asunción, provincia de Entre Ríos. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina.

- BRAY, R., Y KURTZ, L. (1945). Determination of total, organic and availableforms of phosphorus in soil. SoilScience 59:9-45.

- BRUNO, CARLA V., THUAR, ALICIA M., CASTRO, STELLA M. 2017. Bradyrhizobiumsp. Per 3.61: un aporte promisorio para su uso como inoculante en el cultivo de soja. Ciclos biogeoquímicos y fertilidad del suelo. XI Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos- Corrientes (Argentina). Departamento de Biología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

- CALZADA, J. y S. CORINA. 2017. Argentina en el mercado mundial de granos y subproductos. En: Argentina. Tercer productor mundial de poroto de soja. BOLSA DE COMERCIO DE ROSARIO.

- CÁTEDRA AGRO METEOROLIGIA, Universidad Nacional de Río Cuarto. 2018. Material Inédito.

- CEPA (Centro de economía política Argentina). 2014. La producción de soja en la Argentina. En: [www.centrocepa.com.ar/la-producción-de-soja-en-la-argentina/](http://www.centrocepa.com.ar/la-producción-de-soja-en-la-argentina/).

Consultado: 08/10/2017.

- COLLINO, D., DE LUCA, M., PERTICARI, A., URQUIAGA CABALLERO, S. y R. RACCA. 2007. Aporte de la FBN a la nutrición de la soja y factores que la limitan en diferentes

regiones del país. XXIII Reunión latinoamericana de rizobiología. Los Cocos, Córdoba, Argentina. 25-29 de marzo de 2007. Libro de resúmenes

- DELGADO, M., y BEDMAR, E. (2006). Metabolismo anaeróbico del nitrato en bacterias simbióticas: respiración y desnitrificación. Fijación de Nitrógeno: Fundamentos y Aplicaciones. Universidad de Granada. ISBN: 84-611-1198-5. pp: 93-101.

- DI RIENZO, J. A., F. CASANOVES, M. BALZARINI, L. GONZALES, M. TABLADA, C. ROBELADO. 2013. Infostat versión. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>. Consultado: 4/03/2019.

- ECHEVERRÍA, HERNÁN. GARCÍA, FERNANDO. 2014. Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. Ediciones INTA. Colección investigación, desarrollo e innovación. Buenos Aires.

- ELEMENTOS, REVISTA DE CIENCIA Y CULTURA. 2000. BACA, B.E., SOTO URZUA, L., PARDO RUIZ, P.A. Fijación biológica de nitrógeno. En: <https://elementos.buap.mx/num38/htm/43.htm>.

Consultado: 18/03/2019.

- FERRARIS, G., Y COUREROT, L. 2014. Respuesta de la soja a la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en lotes con antecedentes de soja previa. Publicado por la estación experimental INTA Pergamino.

- FERNÁNDEZ, L., PEROTTI, E., SAGARDOY, M., Y GÓMEZ, M. (2008). Denitrification activity of *Bradyrhizobium* sp. Isolated from argentine soybean cultivated soils. *World Journal Microbiology Biotechnology* 24:2577-2585.

- FRANCIS, C., BEMAN, J., Y MARCEL, M. (2007). New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *International Society for Microbial Ecology* 1: 19-27.

- GARCÍA, F.O., CIAMPITTI, I.A., BAIGORRI, H.E. 2009. Manual de manejo del cultivo de Soja. 1ra edición, abril 2009. International plant nutrition institute (IPNI).

- GARCÍA, F., Y CORRENDO, A. (2012). Cálculo de requerimientos nutricionales. IPNI. Programa Latinoamérica. Cono Sur. <http://lacs.ipni.net/article/LACS-2014>.

- GONZÁLEZ N. 1994. Dinámica de la fijación de nitrógeno en soja, en suelos con alta fertilidad nitrogenada. Tesis MSc. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.

- GONZÁLEZ, N.; PERTICARI, A.; STEGMAN, B. Y RODRÍGUEZ CÁCERES E. 1997. Nutrición nitrogenada. En: Giorda L.M. y Baigorri, H.E.J. (Eds.). El cultivo de la soja en Argentina. INTA, Centro Regional Córdoba. EEA Marcos Juárez- EEA. p. 188- 198.

- INFOAGRO. 2013. El cultivo de la soja. En: [www.infoagro.com/herbáceos/industriales/soja.htm](http://www.infoagro.com/herbáceos/industriales/soja.htm).

Consultado: 08/10/2017.

- INTA. 2015. Informe estadístico mercado de la soja. En: [www.inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_informe\\_estadistico\\_del\\_mercado\\_de\\_soja.pdf](http://www.inta.gob.ar/sites/default/files/inta_informe_estadistico_del_mercado_de_soja.pdf).
- LAMBERT, R., Y DUBOIS, R. (1971). Spectrophotometric determination of nitrate in the presence of chloride. *International Journal of Analytical Chemistry* 43:955-957.
- LUCINSKI, R., POLCYN, W., Y RATAJCZAK, L. (2002). Nitrate reduction and nitrogen fixation in symbiotic association Rhizobium-legumes. *Acta Biochimica Polonica* 49:537-546.
- MC DERMOTT, T., Y GRAHAM, P. (1989). Bradyrhizobium japonicum inoculant mobility, nodule occupancy, and acetylene reduction in the soybean root system. *Applied Environmental Microbiology* 55: 2493-2498.
- MC LEAN, E. (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. SoilScience Society of America, Inc. Publisher. Madison. Wisconsin, USA.*
- MELGAR, R., E. FRUTOS, M.L. GALETTO, H. VIVAS. 1995. El análisis de suelos como predictor de la respuesta de la soja a la fertilización fosfatada. En: AIANBA, 1er Congreso Nacional de Soja y 2da Reunión Nacional de Oleaginosas, Pergamino (Bs.As., Argentina), I: 167-174.
- NIDERA SEMILLAS. Catálogo de semillas. Soja Nidera A 5009 RG. En: <https://niderasemillas.com.ar/argentina/productos/soja/nidera-a-5009-rg>. Consultado: 21/03/2019.
- OKUMOTO, S., Y PILOT, G. (2011). Amino acid export in plants: a missing link in nitrogen cycling. *Molecular Plant* 4:453-463.
- OLIVARES PASCUAL, J. 2008. Fijación biológica del nitrógeno. Estación experimental del Zaidín, Granada.
- PERTICARI, A., ARIAS, N., BAIGORRI, H., DE BATTISTA, J., MONTECCHIA, M., PACHECO-BASRCO, J., SIMONELLA, A., TORESANI, S., VENTIMIGLIA, L., Y VICENTE, R. (2003). Inoculación y fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de soja. (Satorre, E., ed). *El libro de la soja*. Buenos Aires. Servicios y Marketing Agropecuario. pp: 69-76.
- PIATTI, F. Y L. FERREYRA., 2015. Evaluación de rendimiento al usar diferentes inoculantes y fungicidas en semillas de soja. Publicado por la estación experimental INTA Manfredi.
- PICONE, L. (2014). El ambiente físico-químico del suelo relacionado con la fertilidad. Capítulo 1. Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos. (Echeverría, H., y García, F.). INTA ediciones. (Segunda Edición). Buenos Aires. Argentina. ISBN: 978-987-521- 565-8. pp: 3151.
- ROBLES, E., DELGADO, M., Y BEDMAR, E. (2007). Desnitrificación: de los genes a la agricultura y al medio ambiente. De la Biología del suelo a la Agricultura. (Thuar, A., Cassan, F y Olmedo, C. eds) ISBN: 978-950-665-439-9. pp: 15-24.

- SALVAGIOTTI, F., J. CAPURRO, JM. ENRICO. 2009. El manejo de la nutrición nitrogenada en soja.

- SÁNCHEZ, C. (2009). Producción de óxido nítrico en nódulos de soja. Implicación de la desnitrificación. Tesis Doctoral. Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos. Estación Experimental del Zaidín. Universidad de Granada. España.

- SATORRE, E. H., R. L. BENECH ARNOLD, G. A. SLAFER, E. B. DE LA FUENTE, D. J. MIRALLES, M. E. OTEGUI y R. SAVIN. 2010. Producción de Granos, Bases funcionales para su manejo. 2da reimpresión. Ed Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. 783p.

- SEILER, R., FABRICIUS, R., ROTONDO, V., VINOCUR, M., Y BONACCI, B. (1995). Agroclimatología de Río Cuarto 1974/1993. Volumen: 1. Cátedra de Agrometeorología Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina.

- SOMASEGARAN, P., Y HOBEN, H. (1994). Hand book for Rhizobia: methods in legume Rhizobium technology. Spring-Verlag. New York. Inc. Sección III. pp: 382.

- TÉLAM. 2019. “ESTIMAN LA COSECHA DE SOJA EN 55 MILLONES DE TONELADAS Y LA DE MAÍZ EN 46 MILLONES”. En: [www.telam.com.ar/notas/201902/331020-el-usda-estimo-la-cosecha-de-soja-en-55-millones-de-toneladas-y-la-de-maiz-en-46-millones.html](http://www.telam.com.ar/notas/201902/331020-el-usda-estimo-la-cosecha-de-soja-en-55-millones-de-toneladas-y-la-de-maiz-en-46-millones.html).

Consultado: 18/03/2019.

- TODO EL CAMPO. 2013. IMPORTANCIA DE LA SOJA EN EL MUNDO. En: [www.todoelcampo.com.uy/espanol/importancia-de-la-soja-en-el-mundo-15?nid=6290](http://www.todoelcampo.com.uy/espanol/importancia-de-la-soja-en-el-mundo-15?nid=6290).

Consultado: 18/03/2019.

- TORESANI, S., BODRERO, M., Y ENRICO, J. (2007). Comportamiento de inoculantes para soja en la zona sur de la provincia de Santa Fe, Argentina. Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNR. Año VII-Nº 11. pp: 35-40.

- UBERTO, M. (2008). Adaptación de un modelo de simulación para el cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.) en las condiciones edafoclimáticas de Río Cuarto. Tesis MSc. Ingeniero Agrónomo. FAV-UNRC. Río Cuarto. Córdoba, Argentina. pp: 123.

- VENTIMIGLIA, L. Y L. TORRENS BAUDRIX. 2012. Inoculación en soja: Dosis de inoculante y complementación de Bradyrhizobium con PGPR. Agromercado. 171:14-15.

- VERONESI, M. (2014). Evaluación de inoculantes y promotores de crecimiento en un cultivo de soja en Gualeguaychú, provincia de Entre Ríos. Trabajo final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina.

- WALKLEY A. Y BLACK A. 1934. An examination of then Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acidtitration method. SoilSci. 37:29-38

## Anexo

### Número de plántulas emergidas

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PL/m2	21	0,47	0,12	25,12

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	335,24	8	41,90	1,34	0,3114
Tratamiento	273,14	6	45,52	1,46	0,2717
Muestra	62,10	2	31,05	0,99	0,3984
Error	374,57	12	31,21		
Total	709,81	20			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=10,6414

Error: 31,2143 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.
7	27,67	3	3,23 A
6	25,33	3	3,23 A
5	22,67	3	3,23 A
3	22,67	3	3,23 A
2	22,33	3	3,23 A
1	19,33	3	3,23 A
4	15,67	3	3,23 A

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

## Número de nódulos en raíz principal

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Raíz ppal	111	0,14	0,04	57,09

Datos desbalanceados en celdas.

Para otra descomposición de la SC

especifique los contrastes apropiados.. !!

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	668,48	12	55,71	1,38	0,1880
Tratamiento	412,93	6	68,82	1,71	0,1276
Muestra	195,65	3	65,22	1,62	0,1905
Planta	59,90	3	19,97	0,49	0,6866
Error	3953,75	98	40,34		
Total	4622,23	110			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=4,6241

Error: 40,3444 gl: 98

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1	14,07	15	1,64 A
4	12,75	16	1,59 A
3	12,63	16	1,59 A
5	10,56	16	1,59 A
2	10,25	16	1,59 A
6	9,88	16	1,59 A
7	7,94	16	1,59 A

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

## Número de nódulos raíces secundarias:

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Raíz sec	111	0,12	0,02	112,61

Datos desbalanceados en celdas.

Para otra descomposición de la SC

especifique los contrastes apropiados.. !!

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	315,77	12	26,31	1,16	0,3245
Tratamiento	230,18	6	38,36	1,69	0,1321
Muestra	70,17	3	23,39	1,03	0,3833
Planta	15,42	3	5,14	0,23	0,8781
Error	2228,14	98	22,74		
Total	2543,91	110			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=3,4713

Error: 22,7361 gl: 98

Tratamiento	Medias	n	E.E.
4	6,94	16	1,19 A
1	5,47	15	1,23 A
2	4,69	16	1,19 A
5	3,56	16	1,19 A
3	3,50	16	1,19 A
7	3,13	16	1,19 A
6	2,44	16	1,19 A

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

## Peso seco de nódulos

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Peso seco Nódulos	112	0,24	0,15	65,69

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,05	12	4,1E-03	2,59	0,0049
tratamiento	0,04	6	0,01	4,20	0,0008
muestra	0,01	3	1,9E-03	1,17	0,3261
Planta	3,8E-03	3	1,3E-03	0,79	0,5001
Error	0,16	99	1,6E-03		
Total	0,21	111			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=0,0291

Error: 0,0016 gl: 99

tratamiento	Medias	n	E.E.	
4	0,09	16	0,01	A
3	0,08	16	0,01	A
5	0,07	16	0,01	A
1	0,06	16	0,01	A
2	0,06	16	0,01	A
6	0,04	16	0,01	B
7	0,03	16	0,01	B

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

## Peso seco biomasa aérea, en gramos/ planta

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Peso seco aéreo	112	0,19	0,09	56,47

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6398,11	12	533,18	1,95	0,0371
tratamiento	3420,08	6	570,01	2,08	0,0617
muestra	2661,25	3	887,08	3,24	0,0252
Planta	316,78	3	105,59	0,39	0,7632
Error	27070,84	99	273,44		
Total	33468,94	111			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=12,0383

Error: 273,4428 gl: 99

tratamiento	Medias	n	E.E.	
4	37,14	16	4,13	A
6	32,41	16	4,13	A
1	30,70	16	4,13	A
2	29,98	16	4,13	A
3	29,54	16	4,13	A
5	27,65	16	4,13	A
7	17,58	16	4,13	B

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

## Número de vainas/ planta

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Num vainas	28	0,42	0,14	43,12

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2903,79	9	322,64	1,47	0,2322
Tratamiento	2833,93	6	472,32	2,15	0,0971
Planta	69,86	3	23,29	0,11	0,9554
Error	3950,64	18	219,48		
Total	6854,43	27			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=23,2964

Error: 219,4802 gl: 18

Tratamiento	Medias	n	E.E.
5	50,00	4	7,41 A
4	47,50	4	7,41 A
6	34,50	4	7,41 A
3	31,75	4	7,41 A
1	31,50	4	7,41 A
7	23,25	4	7,41 A
2	22,00	4	7,41 A

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

## Número de granos/ planta:

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Num granos	28	0,40	0,10	42,33

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10327,74	9	1147,53	1,33	0,2882
Tratamiento	9654,61	6	1609,10	1,87	0,1421
Planta	673,12	3	224,37	0,26	0,8529
Error	15507,65	18	861,54		
Total	25835,39	27			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=46,1559

Error: 861,5363 gl: 18

Tratamiento	Medias	n	E.E.
5	99,24	4	14,68 A
4	90,23	4	14,68 A
1	72,92	4	14,68 A
6	68,48	4	14,68 A
3	60,24	4	14,68 A
2	47,77	4	14,68 A
7	46,50	4	14,68 A

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

## Peso de Mil granos (g)

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PesoMil(g)	21	0,71	0,58	5,01

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	792,58	6	132,10	5,67	0,0036
Tratamiento	792,58	6	132,10	5,67	0,0036
Error	326,38	14	23,31		
Total	1118,96	20			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=9,1965

Error: 23,3130 gl: 14

Tratamiento	Medias	n	E.E.
5	107,00	3	2,79 A
6	101,00	3	2,79 A
4	101,00	3	2,79 A
7	94,00	3	2,79 B
3	91,00	3	2,79 B
1	90,60	3	2,79 B
2	90,00	3	2,79 B

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

## Rendimiento (Kg/ha)

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Rto	21	0,98	0,98	5,24

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2412080,64	6	402013,44	133,09	<0,0001
tratamiento	2412080,64	6	402013,44	133,09	<0,0001
Error	42289,17	14	3020,65		
Total	2454369,81	20			

Test:DGC Alfa=0,05 PCALT=104,6821

Error: 3020,6548 gl: 14

tratamiento	Medias	n	E.E.	
5	1737,50	3	31,73	A
6	1262,83	3	31,73	B
4	1162,50	3	31,73	B
3	875,00	3	31,73	C
1	800,00	3	31,73	D
2	762,50	3	31,73	D
7	737,50	3	31,73	D

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