



**UNIVERSIDAD ESTATAL  
PENÍNSULA DE SANTA ELENA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGROPECUARIA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**“EFECTO DE INOCULACIÓN DE *RHIZOBIUM* EN EL  
CRECIMIENTO Y NUTRICIÓN DE PLÁNTULAS DE SOYA,  
EN LA ZONA DE MANGLARALTO, CANTÓN SANTA  
ELENA”**

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del Título de:  
**INGENIERO AGROPECUARIO**

**ANDREA CATUTO SUÁREZ**

**LA LIBERTAD – ECUADOR**

2013

**UNIVERSIDAD ESTATAL  
PENÍNSULA DE SANTA ELENA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGROPECUARIA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**“EFECTO DE INOCULACIÓN DE *RHIZOBIUM* EN EL  
CRECIMIENTO Y NUTRICIÓN DE PLÁNTULAS DE SOYA,  
EN LA ZONA DE MANGLARALTO, CANTÓN SANTA  
ELENA”**

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del Título de:  
**INGENIERO AGROPECUARIO**

**TUTOR: Blgo. JAVIER SOTO VALENZUELA**

**ANDREA AMARILIS CATUTO SUÁREZ**

**LA LIBERTAD – ECUADOR**

2013

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios por ser quien ha estado a mi lado brindándome su amor en todo momento y fuerzas necesarias para concluir con mi carrera.*

***A mis padre Andrés y Julia.***

*Por haberme apoyado en todo momento, con sus consejos, valores, y la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor.*

*Agradezco infinitamente al Blgo. **Javier Soto Valenzuela** por haber confiado en mí, por la paciencia y por la orientación de esta tesis.*

*Al Ing. **Néstor Orrala** por los consejos, el apoyo y el ánimo que me brindó.*

*También a mis amigos a esos amigos que siempre me han acompañado y con los cuales he contado desde que los conocí.*

*A la Universidad Estatal Península de Santa Elena, Facultad de Ciencias Agrarias, por acogerme hacia mi formación profesional y personal.*

*Por último quiero agradecer a todos los que de una forma u otra aportaron un granito de conocimiento y apoyo a la realización de esta tesis.*

*Andrea Catuto Suárez*

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, porque creyeron en mí y me sacaron adelante, dándome ejemplos de superación y entrega, para alcanzar mi meta, impulsándome en los momentos más difíciles al transmitir el orgullo que sienten por mí, hizo ir hasta el final. Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos a lo largo de mi vida.*

*A mis hermanos, Raúl, Rosa, Silvia, Hugo y Ashley, por formar parte de lo más hermoso que tengo mi familia, gracias por comprenderme y por todo su amor.*

*De manera especial dedico este trabajo a Hugo, un amigo incondicional por sus sabios consejos y motivaciones diarias.*

*A todos los profesores de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por los conocimientos brindados.*

*Andrea Catuto Suárez*

## **TRIBUNAL DE GRADO**

---

**Ing. Antonio Mora Alcívar, M.Sc.**  
PRESIDENTE TRIBUNAL DE GRADO

---

**Ing. Andrés Drouet Candell**  
DIRECTOR DE ESCUELA

---

**Ing. Lourdes Ortega Maldonado, M.Sc**  
PROFESORA DEL ÁREA

---

**Bigo. Javier Soto Valenzuela**  
PROFESOR TUTOR

---

**Abg. Milton Zambrano Coronado, M.Sc.**  
SECRETARIO GENERAL - PROCURADOR

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Justificación.....	3
1.3 Objetivos.....	4
1.3.1 Objetivo General.....	4
1.3.2 Objetivo Específicos.....	4
1.4 Hipótesis.....	5
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	6
2.1 Ciclo del nitrógeno.....	6
2.1.1 El nitrógeno atmosférico.....	6
2.1.2 Fijación biológica del nitrógeno.....	7
2.1.3 Importancia de la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas.....	8
2.1.4 Bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico.....	8
2.2 La soya ( <i>Glycine max, L</i> ).....	9
2.2.1 Rendimiento de la soya en el mundo.....	10
2.2.2 Importancia de la soya en el Ecuador.....	11
2.2.3 Cultivo de soya con inoculantes.....	11
2.2.4 Bacterias <i>Rhizobium</i> .....	12
2.2.5 Características de los <i>Rhizobium</i> .....	13
2.2.6 Importancia de los <i>Rhizobium</i> y <i>leguminosas</i> .....	14
2.2.7 Simbiosis <i>Rhizobium</i> -leguminosa.....	14
2.2.8 Potencial de la asociación <i>Rhizobium</i> –leguminosa.....	15
2.2.9 Inoculantes.....	16
2.3 Nódulos.....	17
2.3.1 Infección.....	18

2.3.2 Formación de nódulos.....	18
2.3.3 Factores que afectan la nodulación.....	20
2.3.4 Requerimientos nutricionales y edáficos del cultivo de soya.....	21
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
3.1 Localización y descripción del lugar de ensayo.....	24
3.2 Materiales y equipos.....	26
3.2.1 Materiales de campo.....	26
3.2.2 Materiales de laboratorio.....	26
3.2.3 Equipos.....	26
3.2.4 Material vegetal.....	27
3.2.5 Biofertilizantes empleados.....	30
3.3 Tratamiento y diseño experimental.....	31
3.3.1 Delineamiento experimental.....	32
3.4 Manejo del experimento .....	35
3.4.1 Preparación área de trabajo.....	35
3.4.2 Inoculación de semillas de soya.....	35
3.4.3 Siembra.....	36
3.4.4. Evaluación a los 30 y 60 días.....	36
3.4.5 Riego.....	36
3.4.6 Fertilización y labores culturales.....	36
3.5 Datos experimentales.....	37
3.5.1 Variables.....	37
3.5.1.1 Altura de planta.....	37
3.5.1.2 Peso de la planta (g).....	37
3.5.1.3 Número de hojas.....	37
3.5.1.4 Peso fresco de la raíz.....	37
3.5.1.5 Peso seco de la raíz .....	37

3.5.1.6 Número de nódulos.....	38
3.5.1.7 Número de vainas.....	38
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
4.1 Resultados .....	39
4.1.1 Altura de planta a los 30 días .....	39
4.1.2 Altura de planta a los 60 días.....	40
4.1.3 Peso de la planta en estado fresco a los 30 días.....	41
4.1.4 Peso de la planta fresco a los 60 días.....	42
4.1.5 Número de hojas a los 30 días.....	43
4.1.6 Número de hojas a los 60 días.....	44
4.1.7 Peso fresco de la raíz 30 días.....	45
4.1.8 Peso fresco de la raíz 60 días.....	46
4.1.9 Peso seco de la raíz a los 60 días.....	47
4.1.10 Número de nódulos a los 30 días.....	48
4.1.11 Número de nódulos a los 60 días.....	49
4.1.12 Número de vainas a los 60 días.....	50
4.2 Discusión.....	51
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>53</b>
5.1 Conclusiones.....	53
5.2 Recomendaciones.....	54
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXO</b>	



## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
Cuadro 1. Características geográficas del sitio experimental.....	25
Cuadro 2a. Características de la variedad INIAP 307.....	27
Cuadro 2b. Características de la variedad INIAP 308.....	28
Cuadro 2c. Características de la variedad SSK.....	29
Cuadro 3. ANDEVA.....	31
Cuadro 4. Cuadro de tratamientos.....	32
Cuadro 5. Delineamiento experimental.....	33
Cuadro 6a. Análisis de la varianza, altura de planta a los 30 días.....	39
Cuadro 6b. Análisis de la varianza, altura de planta a los 60 días.....	40
Cuadro 7a. Análisis de la varianza, peso de la planta 30 días.....	41
Cuadro 7b. Análisis de la varianza, peso de la planta 60 días.....	42
Cuadro 8a. Análisis de la varianza, número de hojas 30 días.....	43
Cuadro 8b. Análisis de la varianza, número de hojas 60 días.....	44
Cuadro 9a. Análisis de la varianza, peso fresco de la raíz a los 30 días.....	45
Cuadro 9b. Análisis de la varianza, peso fresco de la raíz a los 60 días.....	46
Cuadro 10. Análisis de la varianza, peso seco de la raíz a los 60 días.....	47
Cuadro 11a. Análisis de la varianza, número de nódulos a los 30 días.....	48
Cuadro 11b. Análisis de la varianza, número de nódulos a los 60 días.....	49
Cuadro 12. Análisis de la varianza, número de vainas.....	50
Figuras 1. Localización del lugar.....	25
Figuras 2. Distribución de Unidades Experimentales en el campo.....	34

## ÍNDICE DE ANEXOS

Figura 1 A.	Preparación del área total del ensayo
Figura 2 A.	Bioinoculantes
Figura 3 A.	Semillas inoculadas
Figura 4 A.	Semillas germinadas e inoculadas
Figura 5 A.	Siembra de semillas inoculadas
Figura 6 A.	Crecimiento de plántulas a los 10 días
Figura 7 A.	Crecimiento de soya a los 30 días
Figura 8 A.	Crecimiento de soya a los 60 días
Figura 9 A.	Evaluación de raíces
Figura 10 A.	Presencia de nódulos y mayor masa radicular



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 ANTECEDENTES

La soya (*Glycine max* L.), es una planta de origen chino, considerada nutricionalmente a nivel mundial como una especie estratégica por su alto contenido de proteínas (38 a 42%) y de aceite (18 a 22%) con fines comerciales. El grano de soja y sus subproductos (aceite y harina de soja, principalmente) se utilizan en la alimentación humana y del ganado.

La FAO ha considerado a la soya como uno de los alimentos que servirán para garantizar la seguridad alimentaria en el planeta. En el mundo se producen un promedio de 202` 621 534 t de soya al año; Estados Unidos, Argentina y Brasil producen el 80% de este volumen. Ecuador produce un promedio de 77 441 t, y su participación en el mundo es de tan solo 0,04%, con un área cosechada promedio de 46 618 Ha. (INEC, 2009).

Una importante condición de la soya es su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico al asociarse con bacterias del género *Rhizobium*, razón por la cual se la incluye en rotación con cultivos como recuperadoras de fertilidad.

WEBER C (2001), afirma que el cultivo de soja se caracteriza por generar nódulos en sus raíces como consecuencia de una asociación simbiótica con bacterias específicas como *Rhizobium*. Dicha característica le permite al cultivo abastecerse de nitrógeno proveniente del aire cubriendo hasta un 70% las necesidades de ese nutriente.

La importancia de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa radica en la capacidad del nuevo órgano formado, el nódulo; para transformar el nitrógeno atmosférico en nitrógeno asimilable para la planta, con lo que se incorpora a la cadena nutritiva.

La interacción simbiótica entre las bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) y las leguminosas, se establece a través de un intenso intercambio de señales entre ambos simbios, donde se destaca la liberación de compuestos iso flavonoides por la raíz que inducen la síntesis de los factores de la nodulación en la bacteria.

En los últimos años, varias investigaciones han aportado múltiples resultados alentadores sobre los beneficios que los rizobios aportan a las plantas, tanto en leguminosas como en no leguminosas, en cuanto al crecimiento, control de patógenos y aporte de nutrientes al hospedero.

CRESPO L y JULIO A. (2012) demostraron que las cepas nativas VAI RV, FP MG2 y FP MG4 (colección CIAP UPSE) presentaron los resultados más altos en seis de las ocho variables en semillas de maíz, evaluadas en el laboratorio de biología de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Por lo tanto, el empleo de bionóculos con capacidad infectiva y efectiva de origen nativo, serán la base para la fabricación de productos biotecnológicos, conocidos como biofertilizantes; que permitirán aportar a la sostenibilidad de los sistemas agropecuarios, disminuir los costos de producción, el exceso de nutrientes al suelo y la consiguiente contaminación del agua.

Finalmente este trabajo con soya inoculada con rizobios, contribuirá al desarrollo y diversificación de los sistemas agrícolas de la provincia de Santa Elena; en varios campos como la producción vegetal, microbiología, bioquímica del suelo, fisiología vegetal y productos con valor agregado generados del cultivo.

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

La necesidad de disminuir la dependencia de productos químicos artificiales en los cultivos, obligan a la búsqueda de alternativas fiables y sostenibles, como la agricultura ecológica que ha dado gran importancia a los biofertilizantes, en cultivos intensivos, y la importancia que tienen al mejorar las características físicas, químicas y biológicas del suelo, mejorando la capacidad de absorber los distintos elementos nutritivos.

En nuestro país, la producción interna del cultivo de soya no es suficiente para suplir la demanda del país, por lo que la compra en el exterior del grano representa el 90%. Además, durante el último trimestre del año 2012; según la Bolsa Nacional de Productos Agropecuarios, la leguminosa pasó de \$ 29,43 a \$ 31,24. A nivel internacional, el quintal del grano de soya subió 6,3%.

Según el Programa Nacional de Oleaginosas del INIAP en su Manual No. 60 de la Estación Experimental Boliche (2005), existen algunas zonas potenciales para la siembra de soya, las más importantes están situadas en las provincias de Esmeraldas (Timbre, San Mateo, Tachina y Montalvo), Manabí (Rocafuerte, Tosagua, Chone), El Oro (El Cambio, Pasaje, Machala) y Guayas, donde menciona a la península de Santa Elena.

Ante esta situación, es necesario brindar soluciones aplicables a los problemas críticos que afectan la productividad de la soya en la península de Santa Elena; mediante el empleo de rizobios nativos que contribuyan a la aportación de nitrógeno en el suelo, y de nutrientes esenciales para mejorar la producción y disminuir los ciclos de cultivo, como la alternativa más adecuada ecológica y económica.

Este trabajo forma parte de la investigación “Estudio del género *Rhizobium* para la producción de inoculante de uso agrícola en la provincia de Santa Elena.”, que realiza el Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UPSE.

Una de las expectativas del documento es que se utilice como estrategia de innovación tecnológica, encaminada al estudio del comportamiento de estas bacterias fijadoras de nitrógeno, en cultivos de alta demanda e importancia nacional e internacional.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 GENERAL**

Evaluar el efecto de la inoculación de *Rhizobium* en el crecimiento y nutrición de las plántulas de soya, mediante la aplicación de tres biofertilizantes en la zona de Manglaralto, cantón Santa Elena.

### **1.3.2 ESPECÍFICOS**

- Aplicar dosis de biofertilizantes para el efecto de inoculación de *Rhizobium* en el crecimiento y nutrición de las plántulas de soya.
- Inocular 3 materiales genéticos de soya INIAP 307, INIAP 308 y SSK INTEROC con los 3 biofertilizantes, sin el empleo de fertilización convencional.
- Comparar el efecto de la nodulación con los bioinoculantes, que permitan establecer la especificidad simbiótica entre planta-*Rhizobium*.

## **1.4 HIPÓTESIS**

Al menos uno de los tratamientos causará el efecto de inoculación, crecimiento, nutrición y nodulación de las plántulas de soya, en la zona de Manglaralto, provincia de Santa Elena.



## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. CICLO DEL NITRÓGENO

CAMPUS TECNOLÓGICO DE LA UNIVERSIDAD DE NAVARRA. (1995) menciona la gran cantidad de nitrógeno en la atmósfera, se contraponen a la escasez de nitrógeno en el suelo, lo cual constituye un factor limitante para el crecimiento de los vegetales.

Los seres vivos cuentan con una gran proporción de nitrógeno en su composición química. El nitrógeno oxidado que reciben como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) es transformado a grupos aminoácidos (asimilación). Para volver a contar con nitrato hace falta que los descomponedores lo extraigan de la biomasa dejándolo en la forma reducida de ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), proceso que se llama amonificación; y que luego el amonio sea oxidado a nitrato, proceso llamado nitrificación.

Así parece que se cierra el ciclo biológico esencial. Pero el amonio y el nitrato son sustancias extremadamente solubles, que son arrastradas fácilmente por la escorrentía y la infiltración, lo que tiende a llevarlas al mar. Al final todo el nitrógeno atmosférico habría terminado, tras su conversión, disuelto en el mar.

Los océanos serían ricos en nitrógeno, pero los continentes estarían prácticamente desprovistos de él, convertidos en desiertos biológicos, si no existieran otros dos procesos, mutuamente simétricos, en los que está implicado el nitrógeno atmosférico ( $\text{N}_2$ ). Se trata de la fijación de nitrógeno, que origina compuestos solubles a partir del  $\text{N}_2$ , y la desnitrificación, una forma de respiración anaerobia que devuelve  $\text{N}_2$  a la atmósfera. De esta manera se mantiene un importante depósito de nitrógeno en el aire (donde representa un 78 % en volumen).

### **2.1.1 EL NITRÓGENO ATMOSFÉRICO**

Según BACA B. *et al.*, (2000), el nitrógeno molecular es el principal constituyente de la atmósfera. La concentración de nitrógeno es resultado del balance entre la fijación del nitrógeno atmosférico por acción bacteriana, eléctrica y química, y su liberación se realiza a través de la descomposición de materias orgánicas por bacterias o por combustión. Es un constituyente esencial de moléculas fundamentales de todos los seres vivos: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos y vitaminas.

SALISBURY B. y ROSS C. (1992) mencionan que el nitrógeno en la naturaleza es de vital importancia para el desarrollo de las plantas y animales, este elemento es parte de moléculas esenciales para la vida como los ácidos nucleicos (ADN y ARN), vitaminas y en las moléculas de almacenaje de energía; es parte de aminoácidos, enzimas y coenzimas, base de glifosatos y lipoproteínas que son constituyentes de todas las células vivas así como de la clorofila e interviniendo en la fotosíntesis, respiración, multiplicación y diferenciación celular.

### **2.1.2 FIJACIÓN BIOLÓGICA DEL NITRÓGENO**

SOTO L. *et al.*, (2000) señalan que la fijación biológica del nitrógeno (FBN), es el nombre que se da en agricultura a la acción de reducir, hacer disponible o fijar el nitrógeno atmosférico, que naturalmente no puede ser asimilado por las plantas. Para que sea asimilable el N, la enzima nitrogenasa debe estar presente en todas las bacterias fijadoras de N reduciendo el N<sub>2</sub> (Nitrógeno libre) a NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Amonio).

Según OLIVARES J. (2005) el nitrógeno es el factor limitante más importante en la producción vegetal cuando las necesidades de los cultivos por el agua están cubiertas. Un grupo de bacterias del suelo es capaz de proporcionar directa o indirectamente a las plantas este nutriente transformando en asimilable el nitrógeno del aire. Las bacterias conocidas como *Rhizobium*, pasan ese nitrógeno

inerte a las plantas a través de sus raíces donde forman unas tumoraciones, que se llaman nódulos, cuyas células están ocupadas por estos microorganismos. Funcionan como auténticas fábricas biológicas de amoníaco. Realizan la misma labor que la industria utilizando los productos de la fotosíntesis que llegan a la raíz desde las hojas en lugar de combustibles fósiles. Es una forma limpia y barata de suministrar a las plantas el nitrógeno que requieren. Sin embargo, hay una gran limitación, pues esta simbiosis sólo ocurre entre rizobios y leguminosas.

ZHANG F. y SMITH D. (2002) indican que el proceso de FBN es altamente demandante en energía (16 a 18 moléculas de ATP por molécula de N fijado) y carbohidratos. Por este motivo, la soja utiliza el nitrógeno proveniente de los fertilizantes o del suelo como fuente de abastecimiento. Los fertilizantes químicos en el suelo, pueden inhibir tanto la formación de nuevos nódulos como la actividad de los nódulos ya formados.

### **2.1.3 IMPORTANCIA DE LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO (FBN) EN LEGUMINOSAS**

WILLEMS A. (2006) demuestra que el proceso de FBN es utilizado en la naturaleza por diferentes géneros bacterianos. Las plantas se benefician de este proceso cuando las bacterias mueren y liberan el nitrógeno al suelo o cuando las bacterias viven en estrecha asociación con las plantas. Esta asociación simbiótica se presenta en leguminosas con microorganismos denominados rizobios, que viven en los nódulos de las plantas fijando el nitrógeno en forma de amonio, el cual es absorbido por las plantas.

PEOPLES M (1995) y CHIANU J *et al.*, (2011) coinciden en mencionar que existe una amplia gama de organismos y asociaciones vegetales que son capaces de fijar nitrógeno de la atmósfera, la relación simbiótica entre rizobios y leguminosas es responsable de contribuir con la mayor cantidad de nitrógeno fijado en especies agrícolas.

#### **2.1.4 BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO ATMOSFÉRICO**

TAIRUAN T. *et al.*, (2002) manifiestan que las bacterias fijadoras de nitrógeno pueden dividirse en dos grupos: a) las de vida libre, como por ejemplo las pertenecientes a los géneros *Azospirillum*, *Beijerinchia*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, etc. y b) las que fijan nitrógeno a partir del establecimiento de una simbiosis con las plantas leguminosas, las cuales pertenecen a los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Mesorhizobium* y *Sinorhizobium*, que comúnmente se denominan “*Rhizobium*”.

MARTINEZ V. (2002) indica que entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están: su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas.

#### **2.2 LA SOYA (*Glycine max* L.)**

MAGAP (2006) cita que la soya, cuyo nombre científico es *Glycine max* L., se cultiva mediante semillas que contienen aceite y proteínas. Los granos de soya son considerados muy versátiles, ya que pueden ser consumidas como semillas de soya, brotes de soya, y asimismo pueden ser procesados para obtener derivados como leche de soya, tofu, salsa de soya y harina. Además, la soya puede ser insumo de productos no comestibles, tales como cera para velas y biodiesel.

INIAP (2008), indica que la soya pertenece a la familia de las papilionáceas y es una planta de ciclo anual que tiene una altura de 20 centímetros a 2 metros. Las hojas son trifoliadas con hasta 4 folíolos por hoja, finos pelos de color gris y

marrón cubren vainas, tallos y hojas de esta planta, y su fruto está compuesto por una vaina que contiene de una a cuatro semillas.

La misma fuente señala que las condiciones agroecológicas necesarias para el cultivo de soya en Ecuador son: entre 400 a 600 mm de lluvia durante el ciclo de la planta, 12 horas de luz por día, una temperatura de 22 a 30 °C, y un suelo de franco arenoso o franco arcilloso con un pH que oscile entre 5,5 a 7,0.

La cosecha de esta planta puede ser utilizada como vegetal o como oleaginosa. La soya como vegetal tiene las propiedades de ser de fácil cocción, mejor textura, mayor tamaño, mayor contenido proteínas y poco aceite, este tipo de soya es el más demandado como insumo para la producción de queso y leche de soya. Por otra parte, la soya como oleaginosa tiene un alto contenido de aceite de aproximadamente el 20%, su la cantidad de proteínas bordea del 38 al 45%, y su uso apunta a la producción de biocombustibles.

### **2.2.1. RENDIMIENTO DE LA SOYA EN EL MUNDO**

Según AGROBIOMEXICO (2012) los países que lideran la producción de soya son: Estados Unidos con 83,17 millones de t, Brasil 74 millones de t, Argentina 50,5 millones de t, China 13,5 millones de t e India con 11 millones de t.

El Departamento de Agricultura de Estados Unidos determinó que la producción mundial de soya fue de 257 000 millones de toneladas durante el año 2012.

El INEC (2012) menciona que, en el mundo se produce un promedio de 202`621.534 TM de soya al año; Estados Unidos, Argentina y Brasil conforman el 80% de este volumen, y esto explica que América sea el continente con mayor producción a nivel mundial con el 85,32%, seguido por Asia que representa el 12,78%.

### **2.2.2 IMPORTANCIA DE LA SOYA EN EL ECUADOR**

GUAMÁN R. (2000) menciona que la soya, cultivada por sus semillas, de alto valor proteico que son utilizadas en alimentación y para la producción de aceite, es usada para una infinidad de productos que pueden reemplazar a otros de origen animal, algunos países utilizan el grano de soya en una gran cantidad de industrias de alimentos como ingrediente en: embutidos, chocolates y repostería. La soya es utilizada también como alimento para animales, área en la que compete internacionalmente con la harina de pescado, como subproducto de la producción de aceites, la torta de soya resultante es destinada para la producción de harinas.

El cultivo de soya se realiza casi en su totalidad en la provincia de Los Ríos en las zonas de Quevedo, Mocache y Babahoyo y un 5% en la provincia del Guayas, se puede verificar en el mapa de zonificación del cultivo en el Ecuador el 95% de la producción nacional proviene de las siembras de verano, para lo que se aprovecha la humedad en el suelo es Los Ríos la que posee el 95% de la superficie nacional. Según el censo agropecuario realizado el 2001 la superficie cultivada de soya en el país fue de 45000 hectáreas con una cosecha de 77 772 t. de frijol de soya

### **2.2.3 CULTIVO DE SOYA CON INOCULANTES**

HUNGRIA M. *et al.*, (2001) menciona que la inoculación de semillas de soya con bacterias del género *Bradyrhizobium* (comúnmente conocidas como *Rhizobium*), es una práctica agrícola común y muy utilizada por los productores de diversas zonas soyeras de Argentina y del mundo, debido a que obtienen importantes incrementos de rendimiento con respecto a la no inoculación.

ALFONSO E. *et al.*, (2005) indican que en los últimos años, los biofertilizantes se han convertido en una alternativa para mejorar el rendimiento de los cultivos a través de un mejor suministro de nutrientes en el medio ambiente favoreciendo el desarrollo de una agricultura ecológicamente sostenible, permitiendo una

producción a bajo costo, amigable con el medio ambiente, garantizando la conservación del suelo respecto a su fertilidad y biodiversidad.

JEREZ M. (2004) menciona que la interacción entre las bacterias y la planta comienza con una colonización de los *Rhizobium* en las raíces. La leguminosa permite que la bacteria invada sus raíces mediante la formación de hilos de infección u otras vías de acceso. Simultáneamente, las células corticales son activadas mitóticamente llevando a la formación del primordio nodular. Una vez que el *Rhizobium* llega al primordio, éste es liberado al citoplasma de sus células envuelto por una membrana peribacteroide de origen vegetal.

RESSIA J. *et al.*, (2003) mencionan que el incremento en el rendimiento producido por la biofertilización del cultivo de soya fue el doble que bajo sistemas de labranza con remoción de suelo. En este caso, el aporte de nitrógeno biológico, sumado a una mejor condición hídrica en siembra directa, permitirá aumentar la tasa de crecimiento del cultivo en las etapas críticas para la determinación del rendimiento, incrementando también el número de semillas.

#### **2.2.4 BACTERIAS RHIZOBIUM.**

WANG T. *et al.*, (2001) declaran que las bacterias denominadas comúnmente *Rhizobium* presentan varias formas de vida; pueden comportarse como saprófitos en el suelo, establecer una asociación simbiótica y formar nódulos con las raíces y tallos de las leguminosas, donde tiene lugar la reducción del nitrógeno atmosférico en amonio, el cual es transportado a la planta y convertido en biomoléculas esenciales, o bien estar presentes como endófito en raíces de diferentes especies vegetales, donde ejercen efectos promotores del crecimiento.

### 2.2.5 CARACTERÍSTICAS DE LOS *RHIZOBIUM*

WILLEMS A. (2003), LINDSTRÖM K. y MARTÍNEZ R. (2007) coinciden al afirmar que la taxonomía de los *Rhizobium* ha cambiado considerablemente en los últimos 20 años; el género *Rhizobium*, un miembro de  $\alpha$ -Proteobacteria, ahora se divide en varios géneros. Mediante el estudio de plantas promiscuas hospederas dispersas geográficamente se ha constatado que son fuente de muchas especies nuevas. Recientemente, una serie de aislamientos se han registrado en los nódulos de las leguminosas, con capacidad de fijación de nitrógeno, pero filogenéticamente ubicados fuera de los grupos tradicionales de rizobios en  $\alpha$ -proteobacterias.

RAMÍREZ M. (1995) manifiesta que dentro de las características fenotípicas, los aspectos más importantes en la fisiología de la célula bacteriana, dependiendo de su nivel de tolerancia o resistencia, el microorganismo es capaz de sobrevivir cuando existe una interacción antagonista con otras especies bajo condiciones naturales.

HUGHES H. (1981) sugiere que los *Rhizobium* son miembros del mundo microscópico conocidos con el nombre de bacterias. Bajo el microscopio aparecen generalmente como delgadas varillas de una longitud aproximada de 1-500  $\mu$ m. Poco después de ser extraídos del nódulo, se presentan en formas peculiares en X, Y o T, o en racimos. Cuando viven en estado libre en el suelo no son capaces de fijar el nitrógeno del aire. Y que no todos los *Rhizobium* son iguales. Unos producen numerosos nódulos pequeños y blancos, diseminados sobre las raíces laterales. Estos *Rhizobium* no son convenientes porque fijan poco o ningún nitrógeno libre. Incluso la pérdida de las cosechas pueden deberse a una nodulación de las raíces realiza por tipos poco convenientes de *Rhizobium*.



### **2.2.6 IMPORTANCIA DE LOS *RHIZOBIUM*- LEGUMINOSAS**

GRAHAM P (2004) manifiesta que los "rizobios" son responsables del 80 % de la fijación biológica del nitrógeno, y tienen la capacidad de convivir simbióticamente con la leguminosa en los nódulos radiculares, que son 16 órganos especiales de las raíces, en los que tiene lugar el proceso biológico de la fijación del nitrógeno atmosférico.

MUSLERA E. y RATERA C. (1991) señalan que el grado de efectividad en las simbiosis es variable, y puede oscilar desde asociaciones altamente efectivas hasta una inefectividad total (parasitismo), con toda una gama de situaciones intermedias. Aunque existen muchos factores externos afectando la efectividad o eficiencia de la simbiosis el más importante de todos reside en el hecho de que no todos los *Rhizobium* son capaces de formar nódulos con las diversas especies de leguminosas.

### **2.2.7 SIMBIÓISIS *RHIZOBIUM*-LEGUMINOSA**

COYNE M. (2000) indica que el *Rhizobium* induce en la leguminosa el nódulos en su raíz, los dos organismos establecen una cooperación metabólica, las bacterias reducen  $N_2$  a amonio el cual exportan a el tejido vegetal para su asimilación en proteínas y otros compuestos nitrogenados complejos, las hojas reducen el  $CO_2$  en azúcares y lo transporta a la raíz donde los bacteriodes de *Rhizobium* lo usan como fuente de energía para proveer ATP al proceso de inmovilizar  $N_2$ .

HUBELL D., y KIDDER G. (2003) argumentan que la más importante contribución de la fijación biológica del nitrógeno viene desde la asociación simbiótica de microorganismos con las raíces de plantas mayores. Un clásico ejemplo es de la Bacteria *Rhizobium* quien característicamente infecta las raíces de las leguminosas, como soya, garbanzo, fréjol, maní, etc., con un alto grado de

especificidad de hospedaje. Pequeños nódulos son formados en las raíces y estos están llenos con una forma alterada de la bacteria (bacteriodes) quien fija apreciables montos de nitrógeno. Esta sola simbiosis es el 20 % del nitrógeno biológico global fijado anualmente. Las leguminosas representan el mayor recurso directo de alimento para el hombre y en todo caso en la seguridad alimentaria en proteínas.

MOYANO S. et al., (2004) manifiestan que la simbiosis es una relación biológica que se establece entre dos o más individuos que se encuentran en contacto directo, obteniendo un beneficio mutuo entre los partícipes de la asociación. Para el caso de la simbiosis Rizobios-leguminosa, son dos los organismos que intervienen en la relación y esta interacción puede verse influenciada por factores químicos, físicos, bióticos y abióticos en cada individuo por separado, así como en el complejo establecido entre ellos, determinando el éxito o fracaso de la simbiosis con el aprovechamiento.

### **2.2.8 POTENCIAL DE LA ASOCIACIÓN RHIZOBIUM–LEGUMINOSA**

CARRERA O. et al, (2004) indica que en trabajos realizados con *Rhizobium leguminosarum* en haba, lenteja y soya se incrementó significativamente la nodulación, el peso seco de las leguminosas, su contenido en nitrógeno y su rendimiento.

SÁNCHEZ D. y YÁÑEZ R. (1997) manifiestan que bajo condiciones favorables, leguminosas como habas y chícharo pueden utilizar el 80-90% de sus rendimientos de nitrógeno a través de la fijación simbiótica, mientras que la soya obtiene del 40 al 60%.

BAUER T. (2001) señala que otros grupos de microorganismos que se convierten en fijadores de N<sub>2</sub> cuando viven en asociaciones simbióticas con organismos

superiores de vida son las bacterias pertenecientes al género *Rhizobium*, las cuales establecen relaciones simbióticas con plantas leguminosas.

### **2.2.9 INOCULANTES**

DREVON A. (2009) indica que en la actualidad existen varios tipos de inoculantes obtenidos con base en bacterias diazotróficas referenciados como inoculantes líquidos e inoculantes con soporte sólido con presentaciones en polvo, granulado o líquido, en medios de agar. Sin embargo, el más común y ampliamente utilizado es el inoculante en polvo el cual es elaborado con un soporte en base a turba impregnada con un cultivo líquido mediante un proceso de fermentación. La turba es utilizada para estabilizar el número de bacterias y protegerlas durante el período de almacenamiento así como proveer mejor adhesión a la semilla.

MORETTI I. (2006) define a la inoculación como práctica fundamental sobre todo en áreas donde antes no se ha cultivado soya, la ventaja de una buena inoculación es proveer a cada semilla de una cantidad adecuada y suficiente de bacterias, para lograr una buena nodulación.

GÓMEZ M. *et al.*, (1997) evaluaron inoculantes comerciales provenientes de diversas compañías de Argentina y señalaron que la calidad promedio era pobre, dado que la cantidad de *Rhizobium* que estos productos aportarían por semilla no sería la adecuada para lograr una nodulación eficiente en soya. Sin embargo, afirmaron que la tecnología de producción de inoculantes de calidad estaba disponible y que el control de calidad sería una herramienta necesaria para mejorar los inoculantes que se ofrecen en el mercado.

CATROUX G. (1996) indica que el 30 % de los inoculantes evaluados presentaron contaminantes. Esto podría provocar problemas en la conservación de

estos productos, ya que los microorganismos extraños compiten sobre el soporte con las bacterias capaces de hacer simbiosis con la leguminosa.

### **2.3 NÓDULOS.**

GONZÁLEZ N. (2002) indica que las células de los nódulos infectadas de bacterias pasan a las células no infectadas, donde se transforma principalmente en ureidos, que son a su vez, exportados hacia los tejidos vegetales formando los nódulos.

GILES E. *et al.*, (2008) mencionan que el *Rhizobium* entra a la planta a través de los pelos radiculares, formando una estructura llamada hilo de infección e infecta intracelularmente a las células corticales de la raíz. Una vez dentro de la célula, las bacterias se diferencian en bacteroides y comienza el proceso de la fijación de nitrógeno. Durante los eventos iniciales de la interacción, se expresan los genes de las nodulinas tempranas de la planta, que participan principalmente en el desarrollo o formación del nódulo, cuando se da la unión de los rizobios a los pelos radicales, se induce un cambio en la dirección de crecimiento apical, generándose una deformación y curvatura de los pelos radicales o “*curling*” donde quedan atrapadas las bacterias. Se forma un canal de infección por donde entran los rizobios al citoplasma de las células vegetales por un mecanismo similar a la endocitosis.

HIRSCH A. *et al.*, (2001) manifiesta que la nodulación es un proceso muy complejo en el que intervienen varias moléculas. En las primeras fases de la nodulación (cobertura del pelo radical y entrada de los *Rhizobium*) estas señales son los flavonoides y los factores Nod. Las proteínas NodD son las interlocutoras del tráfico molecular en la rizósfera.

LIE T. (1995) indica que la soya como toda leguminosa, tiene la facultad de asociarse simbióticamente con bacterias *Rhizobium*, para aprovechar el nitrógeno

atmosférico, éste proceso permite incrementar la cantidad de nitrógeno en la producción y así elevar el rendimiento del mismo.

### **2.3.1 INFECCIÓN**

YOUNG J (2005) afirma que la infección empieza en la formación de los pelos radicales es el prelude para la infección. La infección comienza con un acumulo de metabolitos en la bacteria, paso primordial en esta etapa. En este punto intervienen enzimas proteolíticas de pared, que se encargan de abrir en la planta un hueco, lo que significa la entrada de la "invasión". Normalmente la infección crece centripetamente hacia la estela, atravesando las células, corticales.

### **2.3.2 FORMACIÓN DE NÓDULOS**

FERNÁNDEZ C. (2003) indica que el reconocimiento mutuo planta-*Rhizobium* es específico mediante señales bioquímicas: La leguminosa secreta sustancias químicas (ej. flavonoides) a través de las células de la raíz. En respuesta a ellos, los *Rhizobium* activan una serie de genes implicados en la nodulación. Estas sustancias estimulan la multiplicación de la población bacteriana alrededor de las raíces (rizósfera) y la adhesión a los pelos radicales (o pelos absorbentes de la raíz). El proceso de formación de nódulos en las leguminosas implica lo siguiente:

1. Adherencia de los rizobios a los pelos absorbentes: Los rizobios secretan polisacáridos que se unen a ciertas proteínas de la planta (lectinas), encontradas en los extremos de los pelos radicales sobre los que se adhieren.
2. Enroscamiento de los pelos absorbentes: Una vez adheridos a los pelos radicales, los *Rhizobium* secretan sustancias que desencadenan la formación del nódulo (factores Nod). Se detiene el crecimiento celular de los pelos, y se enroscan formando una estructura que por su forma, es conocida como cayado de pastor.

3. Invasión del pelo radical y formación de un cordón infeccioso: A medida que el cayado se forma, los rizobios inducen a la formación por parte de la planta, de un conducto en el interior del pelo absorbente. Este es un tubo vacío recubierto de celulosa y mucopolisacáridos, en el que se multiplican los rizobios.
4. Desplazamiento de las bacterias hacia la raíz principal a través del canal de infección: Los rizobios penetran a las células adyacentes a los pelos radicales y los factores Nod estimulan la división de las células vegetales, produciendo finalmente el nódulo.
5. Ingreso de las bacterias a las células de la raíz y diferenciación de los bacteroides: Simultáneamente con la división de las células vegetales que formarán el nódulo, los rizobios son liberados en el interior de las células corticales y rodeadas por una membrana producida por la planta. Dentro de esta membrana, los rizobios se multiplican activamente. Finalizada la multiplicación, las bacterias se vuelven deformes, hinchadas y ramificadas. Son hasta 40 veces más grandes que los *Rhizobium* que los originaron y se las conoce como bacteroides. Se pueden encontrar hasta 10 000 bacteroides por célula vegetal. Las bacterias de crecimiento rápido (ej. *Rhizobium leguminosarum*) cesan rápidamente de dividirse, mientras que los de crecimiento lento (ej. *Bradyrhizobium japonicum*) continúan dividiéndose dentro del saco de secuestro.
6. Establecimiento del nódulo funcional maduro: El nódulo comienza a fijar nitrógeno sólo cuando terminó el desarrollo de los bacteroides. El sistema vascular de la planta se extiende dentro del nódulo y transporta nutrientes hacia y desde el nódulo. Se sintetizan sustancias básicas para la fijación de nitrógeno, como la le hemoglobina que regula el nivel de oxígeno dentro del

nódulo, y la enzima nitrogenasa, responsable de la ruptura de la molécula de N<sub>2</sub>.

Según BALLONES C.(2000), el proceso de nodulación de las leguminosas, exudan a través del sistema radical, o a través de las semillas, compuestos químicos llamados flavonoides, que en el caso de la soya son específicos para géneros y especies de *Rhizobium*. Estos compuestos son potentes iniciadores de todo el proceso de nodulación y fijación. El flavonoide, exudado por la raíz de la planta, entra en contacto con la bacteria presente en el suelo; es asimilado por ésta y desencadena una serie de procesos que determinan la producción de 40 proteínas diferentes, que van a salir de la célula bacteriana cuando ésta se pone en contacto con la raíz. Estas proteínas son las encargadas de enrutar el pelo (si es que el ingreso se produce a través del pelo radical), o de dar la orden a la bacteria para que penetre por heridas o lenticelas radicales, producir la formación del cordón de infección, y comenzar con la formación del nódulo. Cada leguminosa tiene un flavonoide distinto, y esta característica es la que determina la especificidad o no especificidad entre la bacteria y la planta, a nivel de género o a nivel de especies. En el caso de soya, los flavonoides que ésta genera responden a tres tipos distintos.

### **2.3.3 FACTORES QUE AFECTAN LA NODULACIÓN**

ALTAMIRANO F. (2003) testifica que la raíz es una zona de intensa actividad, donde ocurre gran parte del ciclaje de los nutrientes. La densidad de población es mayor en la superficie de la raíz que se magnifica cuando está involucrada una asociación simbiótica. La rizósfera presenta un nicho ecológico donde las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas desarrollando diversos mecanismos de promoción, a través de agentes biológico, posibilitando indirectamente un mejor crecimiento de las plantas

CABA et al., (2001) señalan que los nódulos radicales de las leguminosas son estructuras complejas, como ponen de manifiesto los estudios histológicos y fisiológicos, cuyo desarrollo y funcionamiento están regulados principalmente por la planta, la cual controla el número de nódulos mediante un mecanismo endógeno de retro inhibición o inhibición y que se ha llamado de autorregulación.

Según MATÍAS G. (2012), la humedad del suelo es uno de los factores que limitan la simbiosis ya que excesos de agua, temporal o continuos, afectan el rendimiento de las leguminosas y su interacción con los rizobios, mientras que el déficit hídrico inhibe la formación de nódulos, su tamaño y el proceso de fijación. Otro de los factores que afectan este complejo proceso es la acidez de los suelos pues se conoce que limitan la simbiosis ya que disminuye la sobrevivencia de las bacterias y reduce la nodulación. Si bien la simbiosis que se establece entre las leguminosas y los *Rhizobium* es el resultado de múltiples eventos y señales moleculares entre ambos simbioses, diversos factores bióticos y abióticos influyen en su establecimiento y éxito final.

#### **2.3.4 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES Y EDÁFICOS DEL CULTIVO DE SOYA**

BAIGORRI H. (2000) indica que para contribuir a optimizar la producción de los cultivos es necesario conocer la fertilidad de los suelos, requerimientos nutricionales de cada especie y los niveles a partir de los cuales se obtiene respuesta a la aplicación de cada nutriente. Debido a su contenido de proteínas, el cultivo de soya es uno de los más extractivos en nutrientes y se destaca por su consumo no sólo de fósforo (P) sino de los otros elementos principales, potasio (K), azufre (S), magnesio (Mg) y nitrógeno (N).

GRAHAM P. (2000) indica que el papel de las leguminosas en la agricultura es vital no solo por la capacidad de proveer nitrógeno, elemento esencial de las proteínas, sino también como un componente de prácticas de manejo de suelos



tendientes a mejorar las condiciones físicas, químicas y biológicas, previniendo la degradación.

FUNDACRUZ. (2004) menciona que existen 18 elementos que se consideran esenciales para la soya y se los divide en:

- Nutrientes no minerales: carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O) constituyen los principales componentes de la materia seca de la planta, representando aproximadamente entre el 91 % a 93 % de la misma. Se obtienen como CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub> libre atmosférico.
- Nutrientes minerales: Son obtenidos del suelo y en el caso del N, también del aire por el proceso de fijación; representan aproximadamente entre 7 al 9% de la materia seca de la planta siendo los macro nutrientes: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre; y como micronutrientes: hierro, manganeso, molibdeno, cobre, boro, zinc y cloro.

Según INIAP (1992), la demanda nutritiva de la soya es relativamente pequeña en las fases iniciales del cultivo, incrementándose en forma notable a partir de los 30 días de siembra. Un cultivo de soya con un rendimiento de 3 t utiliza aproximadamente 205 kg de N, 25 kg de P y 115 kg de K /ha. Se observa que la demanda nitrogenada es alta, pero la mayor parte es satisfecha mediante la fijación simbiótica del N atmosférico. Los granos de soya a la madurez han almacenado el 75% del N y P, y el 60% del K, tomado por la planta durante el ciclo. Concentraciones foliares de 5.5% de N, 0.45% de P, 2.3% de K, 1.2% de Ca, 0.70% de Mg, 0.45% de S, 40 ppm de B, 180 ppm de Fe, 65 ppm de Mn, 25 ppm de Cu y 46 ppm de Zn se asocian con rendimientos máximos en este cultivo.

\*\*\*\*\*

En resumen, la bibliografía consultada muestra amplia información en lo que se refiere a la soya, nodulación, biofertilizantes, bacterias *Rhizobium*, etc. Mencionando las necesidades e importancia del cultivo de soya y la necesidad de inocular, para generar mayor cantidad de nutrientes en los suelos aplicando biofertilizantes a base de *Rhizobium*.

En cuanto al crecimiento y nutrición de la soya se menciona que, a más de ser una de las plantas que aporta mayor cantidad de nitrógeno al suelo; también sintetiza ciertos reguladores de crecimiento y sustancias inhibidoras de patógenos; y, a través de las raíces son formados en los nódulos.

Dado que el cultivo de soya es una leguminosa se buscan mejorar el rendimiento y calidad de la producción, por medio de la biofertilización con *Rhizobium*. Que permitirá diversificar e incrementar la producción agrícola de los agricultores en la península de Santa Elena.

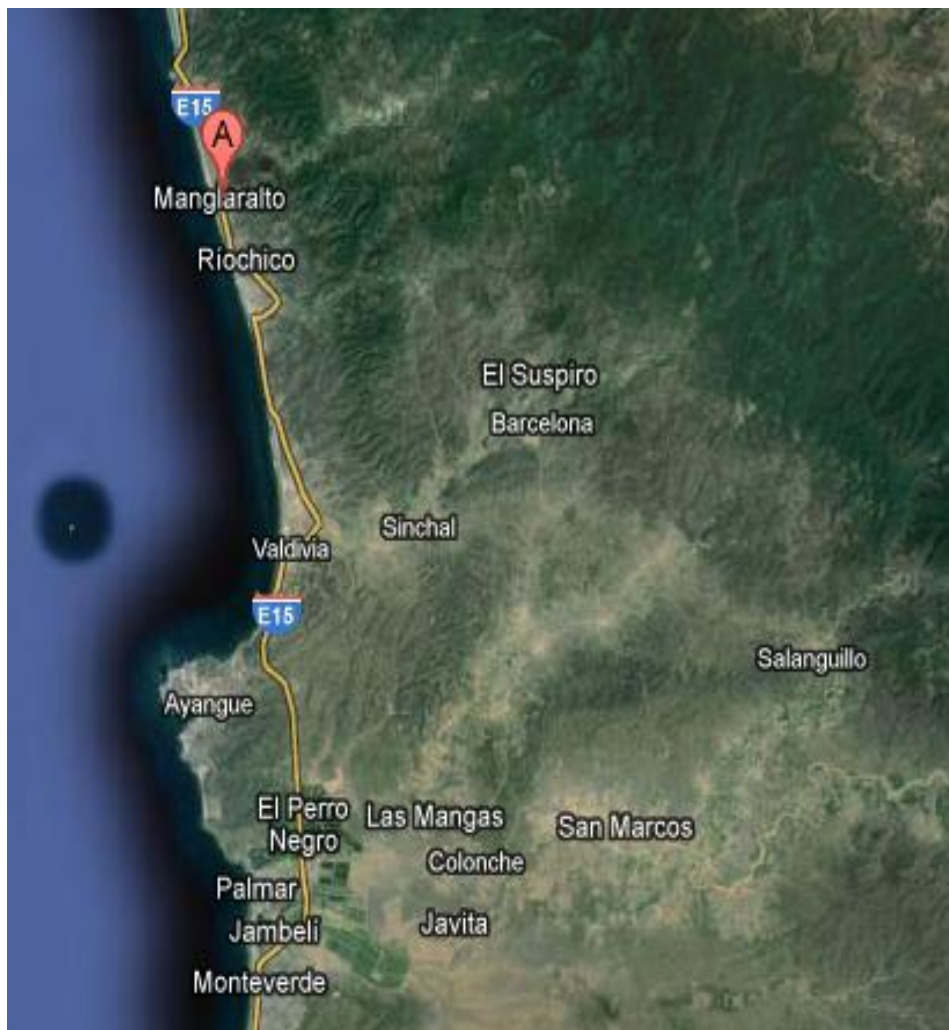
Así como también, se ha verificado que los *Rhizobium* aplicados a no leguminosas estimulan el crecimiento de la planta mediante la elaboración de hormonas reguladoras del crecimiento tales como citoquininas, giberelinas, ácido indol acético, otorgándole salud y vigor a las plantas.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LOCALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL LUGAR DE ENSAYO

La presente investigación se desarrolló en el Centro de Producción y Prácticas Manglaralto de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, ubicado en la parroquia Manglaralto, a 55 km al norte del cantón Santa Elena, Provincia de Santa Elena, que comprende la vía del Pacífico E-15, en el corredor turístico denominado Ruta del Spondylus. Las características de la zona se detallan en el cuadro 1.

**Figura 1. Localización del lugar.**



**Cuadro 1. Características geográficas del sitio experimental**

<b>Parámetros</b>	<b>Valores</b>
Latitud sur	01° 50' 36"
Latitud oeste	80° 44' 31"
Altitud	12 msnm
Precipitación	300 – 400 mm / año
Temperatura media/anual	18 – 24 °C
Topografía	plana con una pendiente menor al 1 %
pH	6,5

**Fuente: Fundación Natura – Manglaralto 2000**

## **3.2 MATERIALES Y EQUIPOS**

### **3.2.1 MATERIALES DE CAMPO**

- Cinta métrica
- Palas
- Libreta de apuntes
- Lápiz
- Letreros de identificación.
- Macetas
- Arena de río

### **3.2.2 MATERIALES DE LABORATORIO**

- Cajas Petri
- Agua destilada
- Tubo de ensayos
- Pipetas
- Beackers
- Alcohol 95%

### **3.2.3 EQUIPOS**

- Esterilizador
- Balanzas
- Cámara fotográfica
- Computadora
- Calculadora

### 3.2.4 MATERIAL VEGETAL

Las semillas de soya fueron obtenidas del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Litoral Sur (INIAP). Las variedades empleadas fueron INIAP 307 e INIAP 308 y la variedad SSK distribuida por la empresa INTEROC. Las características del material vegetal se detallan en los cuadros 2a, 2b y 2c.

**Cuadro 2a. Características de la variedad Iniap 307**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>INIAP – 307</b>
Adaptación:	-
Floración:	43 a 48 días
Período vegetativo:	105 a 120 días.
Hábito de crecimiento:	determinado
Altura de planta a madurez:	60 - 78
Altura de inserción primeras vainas:	14 - 18
Secamiento:	Uniforme
Desgrane:	-
Peso de 100 semillas:	16 – 20 g.
Color de la semilla:	Amarillo claro
Color del hilio:	-
Vainas x planta	40 – 60
Semilla por vaina:	1 – 3
Proteína:	36.50 %
Aceite:	22.74 %
Rendimiento comercial:	-

**Fuente:** Guía Técnica de Cultivos INIAP 307 (2008).

**Cuadro 2b. Características de la variedad INIAP 308**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>INIAP- 308</b>
Adaptación:	-
Floración:	40 -48 días
Período vegetativo:	104 – 116 días
Hábito de crecimiento:	determinado
Altura de planta a madurez:	55 - 99
Altura de inserción primeras vainas:	15 - 20
Forma de la hoja:	-
Color de la flor:	Lila
Color de la pubescencia:	Café cobrizo
Secamiento:	Uniforme
Desgrane:	-
Peso de 100 semillas:	18 – 25 g.
Color de la semilla:	Amarillo claro
Color del hilio:	Negro
Vainas x planta	35 - 70
Semilla por vaina:	1 – 3
Proteína:	36 %
Aceite:	18 %
Rendimiento comercial:	2709 – 3832 Kg./Ha

**Fuente: INIAP 308 (2011).**

**Cuadro 2c. Características de la variedad SSK**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>VARIEDAD SSK</b>
Adaptación:	300 - 1.200 msnm
Floración:	40-43 días
Período vegetativo:	115 – 120 días
Hábito de crecimiento:	Indeterminado
Altura de planta a madurez:	113 - 140 cm.
Altura de inserción primeras vainas:	15 – 17
Forma de la hoja:	Ovalada Verde claro
Color de la flor:	Blanca
Color de la Pubescencia:	Blanca
Secamiento:	Uniforme
Desgrane:	Resistente
Peso de 100 semillas:	20 g.
Color de la semilla:	Amarilla
Color del hilio:	Café
Vainas x planta	-
Semilla por vaina:	2 – 4
Proteína:	37.1 %
Aceite:	23.4 %
Rendimiento comercial:	2400 - 2700 Kg/ha

**Fuente: INTEROC (2011)**



### 3.2.5 BIOFERTILIZANTES EMPLEADOS

Para probar los efectos de infección y efectividad, requeridas por las raíces de la soya, se emplearon los siguientes biofertilizantes:

1. Cepa de *Bradyrhizobium japonicum*, identificada y caracterizada por el Instituto de Investigación y Transferencia de Tecnología de la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo de la Universidad Católica Santiago de Guayaquil.
2. Biofertilizante *Rhizobium* inoculum N-Dure, de Carolina Science, distribuido por Sumilab Guayaquil-Ecuador.
3. Tres cepas de *Rhizobium sp.* (VAI RV, FPMG2 y FPMG4), identificados y caracterizados por el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad península de Santa Elena, CRESPO L. y JULIO A. (2012).

### 3.3 TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño utilizado fue bloques completamente al azar con 12 tratamientos y 4 repeticiones, incluyendo los testigos sin inocular. Cada unidad experimental estuvo conformada por una maceta con 4 plantas sembradas. Los tratamientos y repeticiones se evaluaron a los 30 y 60 días de cultivo, tomando 2 plantas al azar en cada evaluación. Siendo 9 tratamientos con inoculantes y 3 testigos sin inoculante, con un total de 12 tratamientos con 4 repeticiones.

Los datos fueron tabulados y sometidos al programa estadístico INFOSTAT. Para el análisis de la varianza se empleó la prueba de Duncan al 5% de probabilidad de error. Los grados de libertad del experimento se detallan en el cuadro 4.

Los tratamientos evaluados varían en las variedades del cultivo de soya, los biofertilizantes y dosis aplicadas, las cuales se detallan en el cuadro 3:

**Cuadro 3. ANDEVA**

<b>FV</b>	<b>G°L</b>
Tratamientos (t-1)	11
Bloques (r-1)	3
Error t (r-1)	33
Total	47

### 3.3.1 DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL

Cada unidad experimental estuvo compuesta por una maceta conteniendo el sustrato (arena), en la cual se colocaron 4 semillas de soya (*Glycine max* L.) desinfectadas e inoculadas con los biofertilizantes. El experimento comprende 12 tratamientos y 4 repeticiones con un total de 48 unidades experimentales, a una distancia de 20 cm entre maceta y 50 cm entre unidades experimentales, detallado en la figura 2 y en el Cuadro 4 los Tratamientos.

**Cuadro 4.** Cuadro de Tratamientos

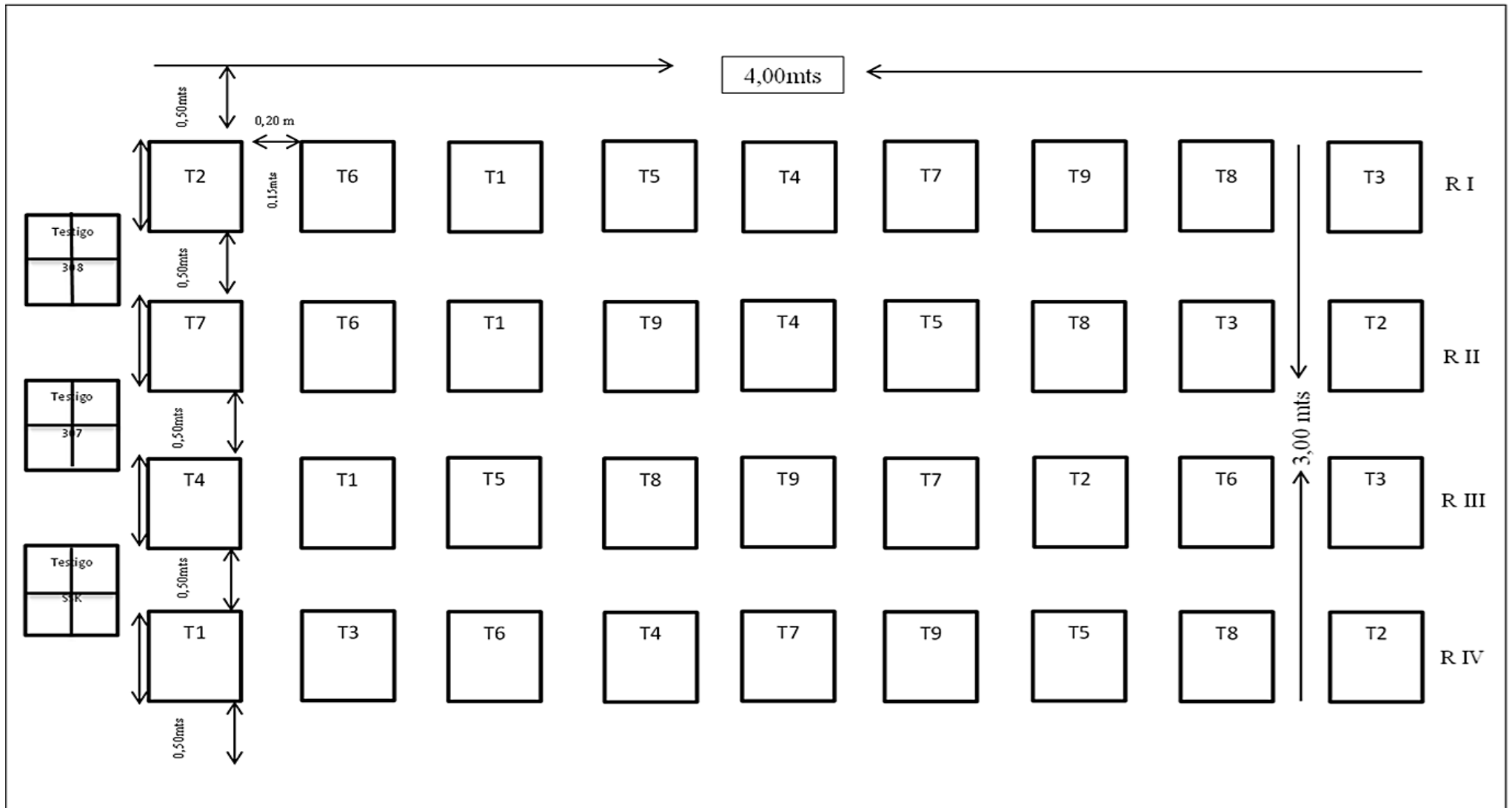
Nº de Tratamientos	Variedades	Bioinoculantes	Dosis de inoculantes
T 1	Soya 307	Brad Católica	0,024 gr
T 2	Soya 307	N-dure	0,0122 gr
T 3	Soya 307	Ciap-Upse	1ml/planta
T 4	Soya 308	Brad Católica	0,027 gr
T 5	Soya 308	N-dure	0,0195 gr
T 6	Soya 308	Ciap-Upse	1ml/planta
T 7	Soya SSK	Brad Católica	0,026 gr
T 8	Soya SSK	N-dure	0,0187 gr
T 9	Soya SSK	Ciap-Upse	1ml/planta
T 10	soya 307	sin inoculante	-
T 11	soya 308	sin inoculante	-
T 12	soya SSK	sin inoculante	-

El delineamiento experimental se detalla en el cuadro 5

**Cuadro 5.** Delineamiento Experimental

a.	<b>Diseño experimental</b>	<b>DBCA</b>
b.	Tratamientos	9
c.	Repeticiones	4
d.	Testigos	3
e.	Total de unidades experimentales	36
f.	Plantas por sitio	4
g.	Distancias entre hilera	0,50 m
h.	Distancias entre macetas	0,20 m
i.	Área de la parcela	12 m <sup>2</sup>
j.	Área útil de la parcela	10 m
k.	Nº de plantas por sitios	1
l.	Nº de hileras	4

Figura 2. Distribuciones de Unidades Experimentales en el campo



### **3.4 MANEJO DEL EXPERIMENTO**

#### **3.4.1. PREPARACIÓN DEL ÁREA DE TRABAJO**

Para el manejo de las plántulas de soya se diseñó un área con cubierta de sarán, con la finalidad de crear un vivero para proteger de las lluvias y exceso de luminosidad. Se llenaron las macetas con un kg de arena de río previamente esterilizada a 120 °C.

#### **3.4.2. INOCULACIÓN DE LAS SEMILLAS DE SOYA**

Las semillas de soya fueron pesadas, lavadas tres veces con abundante agua corriente y destilada respectivamente, luego desinfectadas con solución de cloro al 10% por 5 minutos y con alcohol al 95% por tres minutos. Luego fueron embebidas en una solución azucarada de glucosa al 25% para impregnar el *Rhizobium* a la superficie de las semillas. Finalmente se inocularon tomando en cuenta el peso de las semillas. Para los biofertilizantes *Bradyrhizobium* Católica y *Rhizobium* N-DURE, se diluyó el polvo negruzco en 250 ml de agua destilada, de acuerdo a las especificaciones técnicas del fabricante y el biofertilizante CIAP-UPSE diluido al 10% del peso de las semillas en solución con agua destilada.

Se pesó 0,024 g de biofertilizante *Bradyrhizobium sp.* Católica para las semillas del tratamiento 1 con INIAP 307; 0,027 g para el tratamiento 2 con la variedad 308, y 0,026 g para el tratamiento 3, variedad SSK. Para los tratamientos 4, 5 y 6 INIAP307 se pesaron 0,0122 g/semillas.

En el caso del biofertilizante *Rhizobium* inoculum N-Dure, se pesó 0,0195 g para las semillas de soya INIAP307 y 308; y, para las semillasSSK0, 0187 g.

Esta dosis fue repetida a los 10 días de cultivo sobre las semillas germinadas con los biofertilizantes sólidos (*Bradyrhizobium* Católica y N-DURE); y en el caso del

biofertilizante CIAP-UPSE, a razón de 1ml/semilla germinada. En las semillas testigo, no se realizó ninguno de los pasos descritos anteriormente.

### **3.4.3. SIEMBRA**

Se escogieron cuatro semillas prominentes previamente germinadas en bandejas, para sembrarlas en cada maceta con arena e inmediatamente colocadas bajo el vivero a una temperatura de 15 -24 °C y con una humedad relativa de 45-50%.

### **3.4.4. EVALUACIÓN A LOS 30 Y 60 DÍAS.**

La primera evaluación se realizó a los 30 días del cultivo, tomando al azar 2 plantas por cada unidad experimental cuidando de no dañar las raíces y nódulos en formación; para la evaluación de altura y peso de las plantas, peso fresco de la raíz, número de hojas y nódulos por planta. De igual manera, a los 60 días se tomó de cada tratamiento los datos de las variables: altura y peso de la planta, peso fresco y seco de la raíz, número de hojas, número de vainas y nódulos.

### **3.4.5 RIEGO**

Se regó todos los días con 1000 ml de agua por cada maceta. El requerimiento diario de agua se debió a la absorción de este tipo de sustrato.

### **3.4.6 FERTILIZACIÓN Y LABORES CULTURALES**

Para efecto de verificar la capacidad de incrementar el crecimiento vegetal, nutricional e inducir la nodulación en las raíces de las plántulas de soya de los biofertilizantes empleados, no se efectuó ninguna fertilización química. El deshierbe y limpieza de las plantas se realizó manualmente. No se aplicó ningún insumo químico u orgánico para el control de plagas o enfermedades en el cultivo.

## **3.5. DATOS EXPERIMENTALES**

### **3.5.1 VARIABLES**

#### **3.5.1.1 Altura de planta**

Medida en centímetros a los 30 y 60 días de cultivo, se utilizaron 2 plantas en cada evaluación, considerando la medición desde la raíz hasta la yema terminal más sobresaliente.

#### **3.5.1.2. Peso de la planta**

Expresada en gramos a los 30 y 60 días de cultivo, se obtuvo el peso en fresco total de 2 plantas en cada una de las evaluaciones, empleando una balanza analítica.

#### **3.5.1.3. Número de hojas**

Se contabilizó el número de hojas que presentaron las plántulas de soya a los 30 y 60 días.

#### **3.5.1.4. Peso fresco de la raíz**

Las raíces fueron lavadas, seccionadas con bisturí y luego pesadas en gramos, en estado fresco a los 30 y 60 días, usando una balanza analítica.

#### **3.5.1.5. Peso seco de raíz**

Las raíces de cada planta fueron secadas en estufa a 120°C por 72 horas, y pesadas en gramos de forma individual a los 60 días.



#### **3.5.1.6. Número de nódulos**

El número de nódulos fue contabilizado en cada una de las plantas a los 30 y 60 días, considerando el número de nódulos en las raíces secundarias y raíz principal, para finalmente considerar la suma de ambas como número de nódulos totales por planta.

#### **3.5.1.7. Número de vainas**

Se recolectaron y se contaron las vainas encontradas en cada una de las plantas evaluadas a los 60 días.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADOS

#### 4.1.1 ALTURA DE PLANTA A LOS 30 DÍAS

La mayor altura a los 30 días la alcanzó el Tratamiento 9 (SSK CIAP-UPSE) con una media de 47,78 cm; mientras que la media más baja fue el Tratamiento 11 (INIAP 308 sin inoculante) con 30,55 cm. La prueba de Duncan al 5 % indicó que los tratamientos tienen diferencia significativa formando 5 grupos. El coeficiente de variación fue de 15,85 %. El análisis de la varianza en el cuadro 6a.

**Cuadro 6a. Análisis de la varianza altura de planta a los 30 días**

<b>Análisis de la Varianza (SC Tipo I)</b>				
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamientos	951,84	86,53	2,13	0,0462
Repeticiones	155,22	51,74	1,27	0,2995
Error	1340,71	40,63		
Total	2447,77			

CV=15,85 %

#### **Medias de los tratamientos.**

<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>			
T11 Soya 308 Sin inoculante.	30,55	4	a		
T 12 Soya SSK sin inoculante.	32,85	4	a	b	
T 7 Soya 307 CIAP-UPSE.	38,25	4	a	b	c
T 1 Soya 307 Brad Católica.	39,65	4	a	b	c
T 4 Soya 307 N-DURE.	40,11	4	a	b	c
T 8 Soya 308 CIAP-UPSE.	40,86	4		b	c
T 3 Soya SSK Brad Católica.	41,69	4		b	c
T 10 Soya 307 Sin inoculante.	41,91	4		b	c
T 2 Soya 308 Brad Católica.	42,15	4		b	c
T 6 Soya SSK N-DURE.	42,88	4		b	c
T 5 Soya 308 N-DURE.	43,78	4			c
T 9 Soya SSK CIAP-UPSE.	47,78	4			c

#### 4.1.2 ALTURA DE PLANTA A LOS 60 DÍAS

A los 60 días el mejor Tratamiento fue el T4 (INIAP 308 *Bradyrhizobium* Católica) con una media de 95,19 cm; seguido por el T7 y T1 (SSK e INIAP 307 también con *Bradyrhizobium* Católica) con una media de 90,56 y 90,16 cm respectivamente. La prueba de Duncan al 5 % indicó que los tratamientos tienen alta diferencia significativa formando 7 grupos estadísticos. El coeficiente de variación fue de 11,42 %. El análisis de la varianza en el cuadro 6b.

**Cuadro 6b. Análisis de la varianza altura de planta altura a los 60 días**

<b>Análisis de la Varianza (SC Tipo I)</b>				
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamientos	4518,65	410,79	5,13	0,0001
Repeticiones	266,94	88,98	1,11	0,3581
Error	2640,01	80,00		
Total	7425,60			

CV=11,42 %

<b>Medias de los tratamientos.</b>				
<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>		
T11 Soya 308 Sin inoculante.	63,00	4	a	
T12 Soya SSK sin inoculante.	67,19	4	a	b
T5 Soya 308 N-DURE	69,75	4	a	b
T6 Soya SSK N-DURE	71,53	4	a	b c
T3 Soya SSK Brad Católica.	74,94	4	a	b c
T9 Soya SSK CIAP-UPSE.	75,44	4	a	b c
T8 Soya 308 CIAP-UPSE.	76,25	4	a	b c
T2 Soya 308 Brad Católica.	80,24	4		b c d
T10 Soya 307 Sin inoculante.	85,33	4		c d e
T1 Soya 307 Brad Católica.	90,16	4		d e
T7 Soya 307 CIAP-UPSE.	90,56	4		d e
T4 Soya 307 N-DURE	95,19	4		e

### 4.1.3 PESO DE LA PLANTA EN ESTADO FRESCO A LOS 30 DÍAS

En cuanto al peso de la planta en estado fresco a los 30 días, el mayor peso de la planta se encontró en el tratamiento 5 (INIAP 308 + N-DURE) con una media de 6,85 g. No se encontraron diferencias significativas en esta variable.

**Cuadro 7a. Análisis de la varianza, peso de la planta en estado fresco a los 30 días**

**Análisis de la varianza (SC Tipo I)**

F.V.	SC	CM	F	Valor P
Tratamientos	27,40	2,49	0,94	0,5125
Repeticiones	5,90	1,97	0,75	0,5325
Error	87,04	2,64		
Total	120,34			

CV=30,93 %

#### Medias de los tratamientos

Tratamientos	Medias	n	
T 12 Soya SSK sin inoculante.	4,43	4	a
T 7 Soya 307 CIAP-UPSE.	4,46	4	a
T11 Soya 308 Sin inoculante.	4,60	4	a
T 1 Soya 307 Brad Católica.	4,61	4	a
T 3Soya SSK Brad Católica.	4,80	4	a
T 6 Soya SSK N-DURE	5,13	4	a
T 10 Soya 307 Sin inoculante.	5,15	4	a
T4 Soya 307 N-DURE	5,26	4	a
T 8 Soya 308 CIAP-UPSE.	5,31	4	a
T 9 Soya SSK CIAP-UPSE.	6,13	4	a
T 2Soya 308 Brad Católica.	6,32	4	a
T 5 Soya 308 N-DURE	6,85	4	a

#### 4.1.4 PESO DE LA PLANTA EN ESTADO FRESCO A LOS 60 DÍAS

A los 60 días el peso en estado fresco presenta en un solo grupo estadístico los tratamientos 4, 3 y 9 INIAP 308 con *Bradyrhizobium* Católica, INIAP 307 y SSK con CIAP-UPSE, con medias de 23,70; 22,63 y 22,44 g respectivamente. La prueba de Duncan al 5% indica que existe alta diferencia significativa. El análisis de la varianza se muestra en el cuadro 7b.

**Cuadro 7b. Análisis de la varianza peso de la planta en estado fresco a los 60 días**

**Análisis de la varianza (SC Tipo I)**

F.V.	SC	CM	F	Valor P
Tratamientos	896,40	81,49	2,59	0,0169
Repeticiones	112,90	37,63	1,20	0,3259
Error	1037,07	31,43		
Total	2046,38			

CV=31,13 %

**Medias de los tratamientos**

Tratamientos	Medias	n				
T 12 Soya SSK sin inoculante.	10,65	4	a			
T11 Soya 308 Sin inoculante.	11,05	4	a	b		
T 10 Soya 307 Sin inoculante	12,25	4	a	b	c	
T 5 Soya 308 N-DURE	16,86	4	a	b	c	d
T 2Soya 308 Brad Católica	17,41	4	a	b	c	d
T 6 Soya SSK N-DURE	17,64	4	a	b	c	d
T 8Soya 308 CIAP-UPSE.	18,15	4	a	b	c	d
T 7 Soya 307 CIAP-UPSE.	20,01	4		b	c	d
T 1 Soya 307 Brad Católica.	21,11	4			c	d
T 9 Soya SSK CIAP-UPSE.	22,44	4				d
T 3Soya SSK Brad Católica.	22,63	4				d
T4 Soya 307 N-DURE	23,70	4				d

#### 4.1.5 NÚMERO DE HOJAS A LOS 30 DÍAS

Esta variable presentó el mayor número de hojas a los 30 días en el tratamiento 1, (INIAP 307 con *Bradyrhizobium* Católica) con una media de 15,50. La prueba de Duncan al 5 % indicó que los tratamientos tienen diferencia significativa. Con un coeficiente de variación de 18,79 %. El análisis de la varianza se muestra en el cuadro 8a.

**Cuadro 8a. Análisis de la varianza, numero de hojas a los 30 días**

**Análisis de la varianza (SC Tipo I)**

F.V.	SC	CM	F	Valor p
Tratamientos	304,73	27,70	5,67	<0,0001
Repetición	10,40	3,47	0,71	0,5537
Error	161,35	4,89		
Total	476,48			

CV=18,79 %

#### Medias de los tratamientos

Tratamientos	Medias	n		
T12 Soya SSK Sin inoculante.	6,75	4	a	
T10 Soya 307 Sin inoculante.	7,50	4	a	
T3 Soya 307 CIAP-UPSE..	9,00	4	a	b
T9 Soya SSK CIAP-UPSE..	12,00	4		b c
T6 Soya 308 CIAP-UPSE..	12,25	4		b c
T11 Soya 308 Sin inoculante.	12,50	4		c
T7 Soya SSK Brad Católica.	12,75	4		c
T2 Soya 307 N-DURE	12,75	4		c
T8 Soya SSK N-DURE	13,00	4		c
T4 Soya 308 Brad Católica.	13,50	4		c
T5 Soya 308 N-DURE	13,75	4		c
T1 Soya 307 Brad Católica.	15,50	4		c

#### 4.1.6 NÚMERO DE HOJAS A LOS 60 DÍAS

A los 60 días el mayor número de hojas lo obtuvo en el tratamiento 5 (INIAP 308 con N-DURE) con una media de 38,50. Y el resultado más bajo lo obtuvo el T12 (SSK sin inoculante) con 15,50. La prueba de Duncan al 5 % indicó que los tratamientos presentan alta diferencia significativa. Un coeficiente de variación de 26,56 %. El análisis de la varianza se muestra en el cuadro 8b.

**Cuadro 8b. Análisis de la varianza, numero de hojas a los 60 días**

**Análisis de la varianza (SC Tipo I)**

F.V.	SC	CM	F	Valor p
Tratamientos	2386,23	216,93	4,47	0,0004
Repetición	173,06	57,69	1,19	0,3290
Error	1601,19	48,52		
Total	4160,48			

CV=26,56 %

**Medias de los tratamientos**

Tratamientos	Medias	n			
T12 Soya SSK Sin inoculante.	15,25	4	a		
T10 Soya 307 Sin inoculante.	16,25	4	a	b	
T6 Soya 308 CIAP-UPSE..	22,00	4	a	b	
T9 Soya SSK CIAP-UPSE..	22,75	4	a	b	
T3 Soya 307 CIAP-UPSE..	23,50	4	a	b	
T7 Soya SSK Brad Católica.	25,25	4	a	b	c
T1 Soya 307 Brad Católica.	26,00	4	a	b	c
T11 Soya 308 Sin inoculante.	26,25	4	a	b	c
T4 Soya 308 Brad Católica.	27,25	4		b	c
T2 Soya 307 N-DURE	35,50	4			c d
T8 Soya SSK N-DURE	36,25	4			c d
T5 Soya 308 N-DURE	38,50	4			d

#### 4.1.7 PESO FRESCO DE LA RAÍZ A LOS 30 DÍAS

En el peso fresco de la raíz a los 30 días, el peso mayor lo obtuvo el tratamiento 5 (INIAP 308+N-DURE) con 6,86 g. La prueba de Duncan al 5 % indicó que los tratamientos no presentan diferencias significativas. El coeficiente de variación fue 28,57 %. El análisis de la varianza se muestra en el cuadro 9a.

**Cuadro 9a. Análisis de la varianza, peso fresco raíz a los 30 días**

<b>Análisis de la varianza (SC Tipo I)</b>				
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor P</b>
Tratamientos	23,94	2,18	0,94	0,5200
Repetición	4,48	1,49	0,64	0,5938
Error	76,77	2,33		
Total	105,19			

CV= 28,57 %

#### **Medias de los tratamientos**

Tratamientos	Medias	n	
T12 Soya SSK Sin inoculante.	4,43	4	a
T3 Soya 307 CIAP-UPSE..	4,46	4	a
T11 Soya 308 Sin inoculante.	4,79	4	a
T7 Soya SSK Brad Católica	5,05	4	a
T8 Soya SSK N-DURE	5,13	4	a
T10 Soya 307 Sin inoculante.	5,15	4	a
T1 Soya 307 Brad Católica	5,21	4	a
T2 Soya 307 N-DURE	5,26	4	a
T6 Soya 308 CIAP-UPSE.	5,31	4	a
T9 Soya SSK CIAP-UPSE.	6,13	4	a
T4 Soya 308 Brad Católica	6,32	4	a
T5 Soya 308 N-DURE	6,86	4	a



#### 4.1.8 PESO FRESCO DE LA RAÍZ A LOS 60 DÍAS

En el peso fresco de la raíz a los 60 días, el mayor peso lo obtuvo el tratamiento 3 (INIAP 307+CIAP-UPSE), con una media de 12,34 g. mientras que el menor peso fue el T10 (INIAP 307 sin inoculante) con 3,28 g. La prueba de Duncan al 5 % indicó que los tratamientos presentan diferencias significativas formando tres grupos estadísticos. El coeficiente de variación fue 19,03 %. El análisis de la varianza se muestra en el cuadro 9b.

**Cuadro 9b. Análisis de la varianza, peso fresco raíz a los 60 días**

<b>Análisis de la varianza (SC Tipo I)</b>				
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor P</b>
Tratamientos	302,08	27,46	14,52	<0,0001
Repetición	5,97	1,99	1,05	0,3825
Error	62,41	1,89		
Total	370,46			

CV=19,03 %

#### **Medias de los tratamientos**

<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	
T10 Soya 307 Sin inoculante.	3,28	4	a
T11 Soya 308 Sin inoculante.	4,08	4	a
T12 Soya SSK Sin inoculante.	4,20	4	a
T5 Soya 308 N-DURE	6,83	4	b
T8 Soya SSK N-DURE	7,01	4	b
T2 Soya 307 N-DURE	7,24	4	b
T1 Soya 307 Brad Católica.	7,25	4	b
T7 Soya SSK Brad Católica.	7,48	4	b
T6 Soya 308 CIAP-UPSE.	7,80	4	b
T4 Soya 308 Brad Cato.	8,49	4	b
T9 Soya SSK CIAP-UPSE.	10,76	4	c
T3 Soya 307 CIAP-UPSE.	12,34	4	c

#### 4.1.9 PESO SECO DE LA RAÍZ A LOS 60 DÍAS

El mayor peso seco de la raíz a los 60 días lo obtuvo el tratamiento 4 (INIAP 308+*Bradyrhizobium* Católica) con una media de 1,64 g. los tratamientos más bajos fueron los 3 testigos sin inoculante. La prueba de Duncan al 5 % indicó que los tratamientos presentan diferencias significativas formando 8 grupos estadísticos. El coeficiente de variación fue de 21,04 %. El análisis de la varianza se presenta en el cuadro 10.

**Cuadro 10. Análisis de la varianza del peso seco de la raíz**

**Análisis de la varianza (SC Tipo I)**

F.V.	SC	CM	F	Valor P
Tratamientos	3,93	0,36	5,99	<0,0001
Repetición	0,13	0,04	0,71	0,5555
Error	1,97	0,06		
Total	6,02			

CV=21,04 %

**Medias de los tratamientos.**

Tratamientos	Medias	n				
T12 Soya SSK Sin inoculante.	0,75	4	a			
T10 Soya 307 Sin inoculante.	0,84	4	a			
T11 Soya 308 Sin inoculante.	0,84	4	a			
T1 Soya 307 Brad Católica.	0,92	4	a	b		
T8 Soya SSK N-DURE	1,02	4	a	b		
T6 Soya 308 CIAP-UPSE.	1,10	4	a	b	c	
T2 Soya 307 N-DURE	1,24	4		b	c	d
T5 Soya 308 N-DURE	1,26	4		b	c	d e
T7 Soya SSK Brad Católica.	1,28	4		b	c	d e
T9 Soya SSK CIAP-UPSE.	1,49	4			c	d e
T3 Soya 307 CIAP-UPSE.	1,57	4				d e
T4 Soya 308 Brad Católica.	1,64	4				e

#### 4.1.10 NÚMERO DE NÓDULOS A LOS 30 DÍAS

El número de nódulos a los 30 días lo obtuvo el tratamiento 7 (SSK +*Bradyrhizobium* Católica) con una media de 1,21. La prueba de Duncan al 5 % indico 3 grupos estadísticos. Un coeficiente de variación de 8,58 %. El análisis de la varianza se presenta en el cuadro 11a.

**Cuadro 11a. Análisis de la varianza, peso seco de la raíz**

Análisis de la varianza (SC Tipo I)				
F.V.	SC	CM	F	Valor P
Tratamientos	0,18	0,02	2,10	0,0497
Repetición	0,04	0,01	1,66	0,1951
Error	0,26	0,01		
Total	0,47			

CV=8,58 %

#### Medias de los tratamientos.

Tratamientos	Medias	n		
T3 Soya 307 CIAP-UPSE.	1,00	4	a	
T4 Soya 308 Brad Católica.	1,00	4	a	
T5 Soya 308 N-DURE	1,00	4	a	
T6 Soya 308 CIAP-UPSE.	1,00	4	a	
T8 Soya SSK N-DURE	1,00	4	a	
T1 Soya 307 Brad Católica.	1,00	4	a	
T10 Soya 307 Sin inoculante	1,00	4	a	
T11 Soya 308 Sin inoculante.	1,00	4	a	
T12 Soya SSK Sin inoculante.	1,00	4	a	
T2 Soya 307 N-DURE	1,00	4	a	
T9 Soya SSK CIAP-UPSE.	1,10	4	a	b
T7 Soya SSK Brad Católica.	1,21	4		b

#### 4.1.11 NÚMERO DE NÓDULOS A LOS 60 DÍAS

A los 60 días, el tratamiento1 (INIAP 307+*Bradyrhizobium* Católica) con una media de 1,54 presenta el mayor número de nódulos, siendo estadísticamente diferente y superior a los demás. El coeficiente de variación fue de 20,76 %. El análisis de la varianza se muestra en el cuadro 11b.

**Cuadro 11b. Análisis de la varianza, número de nódulos**

**Análisis de la varianza (SC Tipo I)**

F.V.	SC	CM	F	Valor P
Tratamientos	1,34	0,12	2,21	0,0384
Repetición	0,68	0,23	4,10	0,0140
Error	1,81	0,05		
Total	3,82			

CV=20,76 %

**Medias de los tratamientos.**

Tratamientos	Medias	n			
T9 Soya SSK CIAP-UPSE.	1,00	4	a		
T12 Soya SSK Sin inoculante	1,00	4	a		
T4 Soya 308 Brad Católica.	1,00	4	a		
T11 Soya 308 Sin inoculante	1,00	4	a		
T10 Soya 307 Sin inoculante.	1,00	4	a		
T5 Soya 308 N-DURE	1,10	4	a	b	
T7 Soya SSK Brad Católica.	1,10	4	a	b	
T8 Soya SSK N-DURE	1,10	4	a	b	
T2 Soya 307 N-DURE	1,10	4	a	b	
T6 Soya 308 CIAP-UPSE.	1,18	4	a	b	c
T3 Soya 307 CIAP-UPSE.	1,41	4		b	c
T1 Soya 307 Brad Católica	1,54	4			c

#### 4.1.12 NÚMERO DE VAINAS A LOS 60 DÍAS

La media mayor de la variable número de vainas a los 60 días se registró en el tratamiento 5 (INIAP 308+N-DURE), con una media de 2,87 superior a los demás tratamientos. Con un coeficiente de variación de 30,14 %. El análisis de la varianza se muestra en el cuadro 12.

**Cuadro 12. Análisis de la varianza, número de vainas a los 60 días.**

<b>Análisis de la varianza (SC Tipo I)</b>				
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor P</b>
Tratamientos	18,43	1,68	5,95	<0,0001
Repetición	0,56	0,19	0,66	0,5834
Error	9,29	0,28		
Total	28,27			

CV=30,14 %

#### **Medias de los tratamientos.**

<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>			
T4 Soya 308 Brad Católica	1,00	4	a		
T1 Soya 307 Brad Católica.	1,00	4	a		
T7 Soya SSK Brad Católica.	1,00	4	a		
T12 Soya SSK Sin inoculante	1,29	4	a	b	
T10 Soya 307 Sin inoculante	1,36	4	a	b	
T2 Soya 307 N-DURE	1,74	4	a	b	c
T6 Soya 308 CIAP-UPSE.	1,78	4	a	b	c
T11 Soya 308 Sin inoculante	1,92	4		b	c
T3 Soya 307 CIAP-UPSE.	2,22	4			c d
T8 Soya SSK N-DURE	2,42	4			c d
T9 Soya SSK CIAP-UPSE.	2,53	4			c d
T5 Soya 308 N-DURE	2,87	4			d

## 4.2. DISCUSIÓN.

En el presente experimento se estudió el efecto y respuesta a la inoculación de dos biofertilizantes foráneos y uno de cepas nativas de la colección de *Rhizobium* CIAP-UPSE; obtenidos de leguminosas cultivadas en la península de Santa Elena.

Los mejores resultados de las variables altura y peso de planta a los 30 y 60 días, muestran la efectividad de los biofertilizantes empleados. Destacando el SSK + CIAP-UPSE e INIAP 308 + *Bradyrhizobium* Católica con 47,78 y 95,19 cm en altura de planta a los 30 y 60 días respectivamente. Mientras que en el peso de planta, los tratamientos INIAP 308 + N-DURE e INIAP 308 + *Bradyrhizobium* Católica con 6,85 y 23,70 g a los 30 y 60 días de cultivo respectivamente; demuestran que existe un considerable incremento en la masa vegetativa de la soya, comparado con los testigos sin inoculante; y que también el material vegetal genético jugaría un rol importante en la infección de las bacterias fijadoras de nitrógeno en las leguminosas.

En el peso fresco de la raíz a los 30 días, el mejor tratamiento es el T5 INIAP 308 +N-DURE con 6,86 g; seguido del T4 INIAP 308 + *Bradyrhizobium* Católica y T9 SSK CIAP-UPSE, con 6,32 y 6,13 respectivamente. A los 60 días destacan el T3 INIAP+CIAP-UPSE y T9 SSK+CIAP-UPSE con 12,34 y 10,76 g respectivamente.

En el peso seco de la raíz a los 60 días, los tratamiento que destacan son INIAP 308+ *Bradyrhizobium* Católica con 23,70 g; seguido de INIAP 307 y SSK+CIAP-UPSE en ambos casos con 22,63 y 22,44 g respectivamente.

En cuanto al número de nódulos a los 30 días, destaca el tratamiento 7 SSK+ *Bradyrhizobium* Católica con 1,21; y, a los 60 días el T1 INIAP 307+ *Bradyrhizobium* Católica con 1,54; seguido por los tratamientos T3 y T6 con INIAP 307 y 308 inoculado con el biofertilizante CIAP-UPSE. Varias

investigaciones, mencionan que a los 20 días después de la emergencia de la planta, se inicia la nodulación en las raíces. Mencionando la especificidad de las bacterias con su hospedero, en este caso en particular *Glycine max* L. se asocia con *Bradyrhizobium japonicum*.

Estos datos concuerdan con CARRERA O. (2004) y WANG T. (2001), quienes mencionan que en varios ensayos realizados con *Rhizobium leguminosarum* en haba, lenteja y soya se incrementó significativamente la nodulación, el peso seco y el contenido en nitrógeno, mejorando su rendimiento debido a que ejercen efectos promotores del crecimiento.

Con relación al número de hojas, los mejores tratamientos se dieron empleando el biofertilizante Rhizobium inoculum de N-DURE en los tres materiales vegetales a los 60 días. Y *Bradyrhizobium* Católica, empleado sobre los materiales INIAP 308 y 307 a los 30 días.

En el número de vainas, los tres mejores tratamiento fueron el T5 (INIAP 308+N-DURE, T9 (INIAP 307) y T8 (SSK) inoculados con CIAP-UPSE en ambos casos.

Lo cual demuestra la alta incidencia de los biofertilizantes sobre los procesos fisiológicos y vegetativos, cuyos resultados positivos podrían deberse a la fijación de nitrógeno mejorada, o bien simplemente a la producción de agentes estimulantes del crecimiento y la exclusión de agentes patógenos, mencionado por COYNE M. (2000).

En este último punto, es necesario mencionar que las plántulas de soya no presentaron incidencia de plagas o enfermedades durante los 60 días de cultivo.

La presente discusión, confirma la hipótesis planteada en esta investigación.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

- La inoculación de semillas de soya (*Glicine max* L.) con *Rhizobium*, evidencia un mayor crecimiento y nutrición en todos los tratamientos con biofertilizante de cepas foráneas y nativas, lo que permitiría contribuir con la producción del cultivo sin causar daño al ambiente.
- Las dosis de biofertilizantes aplicados lograron un incremento sobresaliente con respecto a los testigos sin inocular, lo cual demuestra el efecto de las bacterias *Rhizobium* sobre las plántulas de soya.
- Los 3 materiales genéticos de soya INIAP 307, INIAP 308 y SSK INTEROC inoculados con tres biofertilizantes ayudaron en el crecimiento y nutrición de esta leguminosa, sin usar ningún tipo de fertilización convencional.
- El efecto de la nodulación con los tres biofertilizantes empleados confirma la existencia de una especificidad infectiva y efectiva con *Bradyrhizobium japonicum*, en el material genético de soya INIAP 307. Concluyendo que existe una muy alta probabilidad que este género este presente entre las cepas componentes del biofertilizante CIAP-UPSE, lo cual será base de futuras investigaciones prioritariamente en las zonas que presentaren condiciones apropiadas para la producción de este cultivo en la península de Santa Elena.



## 5.2 RECOMENDACIONES

De acuerdo a las conclusiones expresadas se recomienda lo siguiente:

- Repetir el experimento a nivel de campo, en zonas productivas en condiciones que favorezcan al cultivo de soya y a la simbiosis con *Rhizobium*.
- Emplear materiales de soya recomendados para las condiciones edafoclimáticas de la península de Santa Elena.
- Emplear otras cepas de manera aislada o en combinación de la colección de *Rhizobium* del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP-UPSE), para usarlos como inóculos o biofertilizantes en los cultivos agrícolas de interés. Así como el empleo de leguminosas silvestres y muestreo de suelo circundante, empleando protocolos específicos para cada caso.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

AGROBIOMÉXICO. 2012 BASES DE LA 10<sup>a</sup> EDICIÓN B. Académicos en áreas científico-tecnológicas “¡Error! Referencia de hipervínculo no válida.dircientec@agrobiomexico.org.mx.

ALFONSO E., LEYVA A., y HERNÁNDEZ A. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo de tomate (*Lycopersicon sculetum*, Mill) Rev. Colombiana de Biotecnología, Vol. 2 (2):47-54 p.

ALTAMIRANO F. 2003. Eco fisiología de las rizobacterias. Microbiología Agrícola, Un aporte de la investigación Argentina. 1<sup>a</sup> Edición, Santiago del Estero. Universidad Nacional de Santiago del Estero. p. 113-118

BACA B., SOTO L., PARDO M. 2000. Fijación biológica de nitrógeno. Elementos. 38: 39-49 p.

BALBUENAH. 2003. Sistemas de labranza e inoculación en soja. Efectos sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo. Agro ciencia 37:167-176

BALLONE C. 2000 Decano y profesor de la Cátedra de Microbiología De la Facultad de Agronomía De la universidad Nacional de Tucumán. Revista Agromercado (Suplemento Soja) Año Exposición.

BAIGORRI H., 2000. Requerimientos nutricionales de la soja- INTA Argentina 1,2 p.

BAUER T. 2001. Microorganismos Fijadores de Nitrógeno: familia Rhizobiaceae.

BUENO C. M. 1994. Introducción de Nuevas Variedades de Soya (*Glycine max*

(L) Merrill) en Tingo María, Tesis Ing. Agron. Tingo María, Universidad Nacional Agraria de la Selva. 85 p.

CASTILLO J. 1998. Ensayo de rendimiento de 21 líneas promisorias de Soya y 4 variedades comerciales en la zona de Boliche, Provincia del Guayas. Tesis de Grado, Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrarias. Milagro, Ecuador. 57p.

CAMPUS TECNOLÓGICO DE LA UNIVERSIDAD DE NAVARRA. España1995. Ciclo del nitrógeno. <http://www.tecnun.com/asignaturas/ecología/Hipertexto/04Ecosis/135>

CAROLINA SCIENCIAS 2012 Catalogo.

COYNE M., 2000. Microbiología del Suelo un Enfoque Exploratorio. México.

CATROUX G., REVELLIN C., HARTMAN A., y LAICH F., ETCHEVERRÍA H, editores: Microorganismos útiles para la agricultura y la forestación. La Pampa. INTA/CERBAS, Balcarce, 1996, p.108-25.

CARRERA O., SÁNCHEZ - YÁÑEZ J et, (2004). Nodulación natural en leguminosas silvestres del estado de nuevo león. Editorial. Camillus pp.34-41.

CRESPO L. y JULIO A. (2012) Identificación y caracterización de *Rhizobium* nativo para la producción de biofertilizante en la provincia de Santa Elena.

CHIANU J., NKONYA E., MAIRURA F., AKINNIFESI F. (2011). Biological nitrogen fixation and socioeconomic factors for legume production in sub-Saharan Africa: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 31:139–154

DREVON.A 2009. Manual técnico de la fijación biológica del nitrógeno,

Leguminosa/Rhizobium. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma 1-5p. [En línea] [Consultado: 25 Marzo 2009].

FERNÁNDEZ CANIGIA. 2003. Factores determinantes de la nodulación. Departamento de Investigación y Desarrollo Nitragin Argentina S.A. 46 pp.+ Manual de nodulación. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. p 53.

FUNDACRUZ. 2004. Boletín de difusión técnica de soja, Santa Cruz de la Sierra – Bolivia septiembre 2004. Boletín 03 35p

GILES E., OLDROY G., DOWNIE A. 2008. Coordinating nodule morphogenesis with Rhizobium infection in legumes. *The Annual Review of Plant Biology*, 59: 519-546

GONZÁLEZ N. 2002. Algunos elementos de juicio para interpretar el fenómeno de la nodulación en soja. Publicación de las Jornadas de Cosecha Gruesa. INTA

GÓMEZ M, SILVA N, HARTMANN A, SAGARDOY M. EVALUATION in 1999 of commercial soybean inoculants from Argentina. *World J Microbiol Biotechnology*, 1997. 13: 167-73.

GUAMÁN R 2000. Libro de oleaginosas edición 21 pag 4.- Requerimientos ecológicos. Instituto Nacional Autónomo de Litoral sur.

GRAHAM P. 2000. Nodule formation in Legumes. *Encyclopedia of Microbiology*. 3:407-417.

HIRSCH A., LUM M., y DOWNIE A. 2001. what makes the rhizobia-legume symbiosis so special? *Plantphysiol*. 127: 1484-1492.

HUGHES H. 1981. forraje de ciencia de la agricultura basada en la producción de

pasto CIA editorial continental. México. Pp.56, 72.

HUNGRIA M., CAMPO Y., CARVALHO MENDEZ. 2001. Fixação biológica do nitrogênio na cultura de soja. Circular Técnica Embrapa Soja. 48 pp. Brasil.

INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. ECUADOR, Manual N° 32 P 27.

INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIAP), “Guía Técnica de Cultivos”, Editores: Aida Villavicencio y Wilson Vásquez, Quito, Ecuador, 2008-2011.

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. UNAM. Divulgación. Relación entre respiración y fijación de nitrógeno en *Rhizobium* [http://www.ibt.unam.mx/server/Relación\\_entre\\_respiración\\_y\\_fijación\\_de\\_nitrógeno](http://www.ibt.unam.mx/server/Relación_entre_respiración_y_fijación_de_nitrógeno_en_Rhizobium_phaseoli.) en *Rhizobium phaseoli*., tipo: doc., dir: div.capsula17.

JEREZ M. 2004. Evaluación de Biotipos de *Bradyrhizobium* sp. En el cultivo del Maní (*Arachis hypogaea* L.) en las provincias de Manabí y Loja. Tesis Ing. Agr. Quito. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas.

KUYKENDALL L., MARTÍNEZ-ROMERO E., KERR A. y SAWADA H. 2001. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al.. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *Rundicola* and *R. vitis*. *Int J Syst Evol Microbiol* 51, 89-103.

LIE T., 1995. Cepas nativas de *Bradyrhizobium*: Implicaciones para la inoculación. En memoria de la II Reunión Boliviana de Rhizobiología. Cochabamba – Bolivia. p 49.

LINDSTRÖM K y MARTÍNEZ R. 2007. International committee on systematics of prokaryotes subcommittee on the taxonomy of *Agrobacterium* and *Rhizobium*: minutes of the meeting, 26 July 2006, Toulouse, France. Int J of Systematic and Evolutionary Microbiology. Vol 57: 1365-1366. DOI 10.1099/ijs.0.63744-0

MAGAP (2006) Ministerio de Agricultura, Ganadería Acuacultura y Pesca.

MARTINS L., XAVIER G., NEVES M., RUMJANEK N. 2004. Características relativas a los crecimientos en medio de cultura y su morfología de colonias de rizobios. EMBRAPA 190: 1-14. ISSN 0104-8945. Comunicado técnico.

MORETTI. 2006 inoculación como práctica para lograr un buena nodulación.

MOYANO S., YAGUELA M., SALMERÓN J. 2004. Las leguminosas de grano en la agricultura moderna. Boletín N° 3. Publicado por Mundi Prensa. 31p.

MUSLERA E. y RATERA C. 1991. Pastos y forrajes. Málaga - España. Editorial Edmundo.pp.29-56.

RAMÍREZ M. 1995. Caracterización de cepas de *Rhizobium* leguminoso *arum.vtrifolii* utilizando perfiles de iso enzimas. Revista Suelos Ecuatorianos. Vol. 25: 118-126.

RESSIA J., LÁZARO L., LETT G., MENDIVIL G., PORTELA Y., OLIVARES J. (2004). Fijación Biológica de Nitrógeno. Granada (España): Estación Experimental del Zaidín.

PELCZAR M., REID R., CHAN P. 1993. Microbiología. 4 ediciones. México: McGraw-Hill. p. 8-36.

PEOPLE's M y LAHDA K. 2008. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? *Plant Soil*.174:3–28.

PEOPLES M (1995) y CHIANU J *et al.*, 2011 asociaciones vegetales que son capaces de fijar nitrógeno de la atmósfera, la relación simbiótica.

TAIRUAN T., AGUILAR O., y FABRA, A. 2002. Characterization of nodulation peanut rhizobia isolated from a native soil population in Cordoba, Argentina. *Balaban, Philadelphia. Symbiosis*. 33: 59-72.

SALISBURY B. y ROSS C. 1992. Fisiología vegetal. Editorial Iberoamericana. México. 759p.

YOUNG J. 2005 *Rhizobium*. 2009. International Committee on Systematic of Prokaryotes; Subcommittee on the taxonomy of Agrobacterium and Rhizobium: Minutes of the meetings, 31 August 2008, Gent, Belgium. *Int J SystEvolMicrobiol* 59, 921-922

VINUESA P. 1998. Genetic and phenotypic analysis of *Rhizobium etli* and *R. tropici* mutant's defective in typing methods. Tesis Doctoral. Marburg. Alemania. 132p.

WANG T., ROMERO J., MARTÍNEZ I., LÓPEZ L. 2001. *Rhizobium* y su destacada simbiosis, cap. 8. In E. Martínez-Romero & J. Martínez-Romero (eds.). *Microbios*. Centro de investigaciones sobre Fijación de Nitrógeno. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

WILLEMS A. 2003. Description of New Ensifer strains from nodules and proposal to transfer *Ensifer adhaerens* Cassida 1982 to *Sinorhizobium* *Sinorhizobium adhaerens* comb. Nov. Request for an Opinion. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 1207–1217.

WILLEMS A. 2006. The taxonomy of rhizobia: an overview. *Plant and Soil* 287:3–14.

WEBER C. 2000. Nodulation and no nodulation soybean isolines. *Agron.J.*58:43-49.

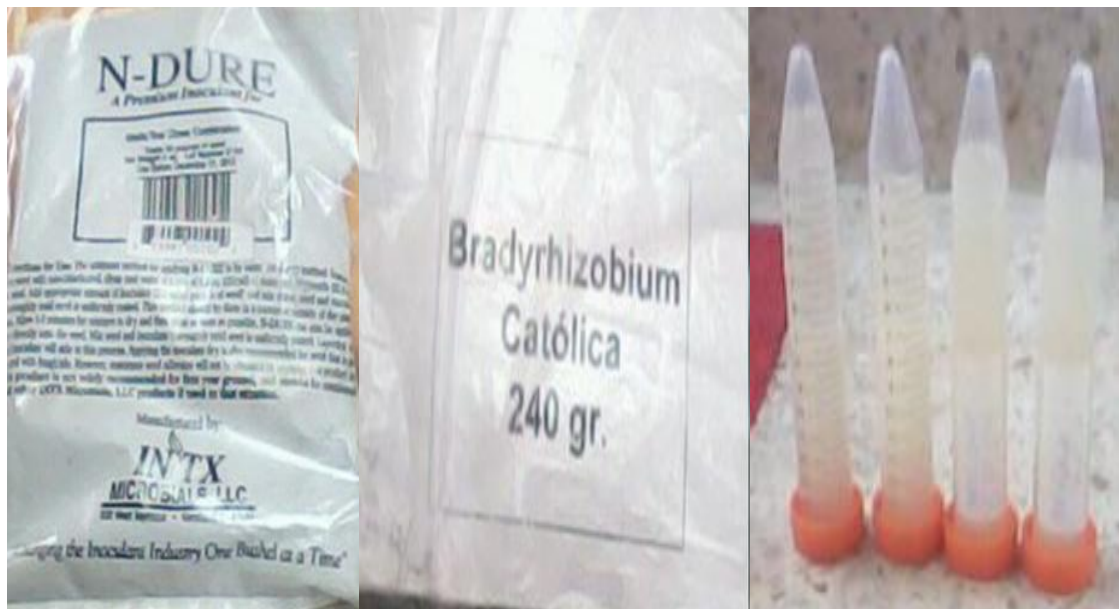
ZHANG F, y SMITH D. 2002. Interorganismal signaling in suboptimum environments: The legume-rhizobia symbiosis. *Adv. Agron.* 76: 125-161.



# ANEXOS



**Figura 1A. Preparación del área total del ensayo**



**Figura 2A. Bioinoculantes**



**Figura 3A. Semillas inoculadas**



**Figura 4A. Semillas germinadas e inoculadas**



**Figura 5A. Siembra de semillas inoculadas**



**Figura 6A. Crecimiento de plántulas a los 10 días**



**Figura 7A. Crecimiento de soya a los 30 días**



**Figura 8A. Crecimiento de soya a los 60 días**



**Figura 9A. Evaluación de raíces**



**Figura 10A. Presencia de nódulos y mayor masa radicular**