

A close-up photograph of a wooden scoop filled with light brown soybean seeds. The seeds are piled high, and the scoop is tilted, showing the texture of the wood and the individual seeds. The background is a soft-focus field of more soybean seeds.

Efecto de la inoculación combinada
de micorrizas y bradyrhizobium en
el crecimiento y absorción de
nutrientes de la soya (*glycine max l. merrill*)

Freddy Sabando Ávila
Gustavo Bernal

Efecto de la inoculación combinada
de micorrizas y bradyrhizobium en
el crecimiento y absorción de
nutrientes de la soya (*glycine max l. merrill*)

Efecto de la inoculación combinada
de micorrizas y bradyrhizobium en
el crecimiento y absorción de
nutrientes de la soya (*glycine max l. merrill*)

Freddy Sabando Ávila
Gustavo Bernal



Efecto de la inoculación combinada
de micorrizas y bradyrhizobium en
el crecimiento y absorción de
nutrientes de la soya (glycine max l. merrill)

©

Freddy Sabando Ávila
Gustavo Bernal
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

2021,
Publicado por acuerdo con los autores.
© 2021, Editorial Grupo Compás
Guayaquil-Ecuador

Grupo Compás apoya la protección del copyright, cada uno de sus textos han sido sometido a un proceso de evaluación por pares externos con base en la normativa del editorial.

El copyright estimula la creatividad, defiende la diversidad en el ámbito de las ideas y el conocimiento, promueve la libre expresión y favorece una cultura viva. Quedan rigurosamente prohibidas, bajo las sanciones en las leyes, la producción o almacenamiento total o parcial de la presente publicación, incluyendo el diseño de la portada, así como la transmisión de la misma por cualquiera de sus medios, tanto si es electrónico, como químico, mecánico, óptico, de grabación o bien de fotocopia, sin la autorización de los titulares del copyright.

Editado en Guayaquil - Ecuador
Primera edición

ISBN: 978-9942-33-503-6



Cita.

Sabando, F., Bernal, G. (2021) Efecto de la inoculación combinada de micorrizas y bradyrhizobium en el crecimiento y absorción de nutrientes de la soya (glycine max l. merrill) Editorial Grupo Compás.

INTRODUCCIÓN

La soya por su alto valor nutritivo, su bajo costo, su aportación de nutrientes al suelo y usos en la elaboración de varios productos elaborados, es una de las mejores opciones de siembra para los pequeños y medianos agricultores (Criollo, 2010). Este cultivo se encuentra distribuido en el 90% de la superficie de la región costa, mayormente en la provincia de Los Ríos (Fiallos & Luna, 2011). Aunque los últimos años está siendo desplazado por monocultivos, como el maíz y el arroz entre otros, debido a su baja productividad, a la inadecuada localización agroecológica, poca disponibilidad de semilla certificada, falta de variedades adaptadas a las zonas productoras, incidencia de plagas y enfermedades, bajos precios en el mercado y altos costos de los fertilizantes (Zambrano & Sandoya, 2002).

Damiani (2003), expresa que la falta de capacitación con técnicas de fácil acceso a los agricultores ha contribuido a disminuir las áreas soyeras del país, lo que incide en bajos rendimientos, que no permiten cubrir la demanda del mercado y tiene que importarse. En cuanto al costo de los fertilizantes, en los últimos años se ha incrementado en 125%, que hace que el agricultor no pueda utilizarlos y mejorar la productividad. Junto a estas limitantes, la soya es un cultivo de alta sensibilidad al fotoperiodo, lo que

limita sus áreas del cultivo y competitividad (Bustos & Herrera, 2010).

El futuro del cultivo va a depender del incremento de su productividad con un adecuado manejo, mediante técnicas alternativas más eficientes que las prácticas convencionales, desde el punto de vista de la utilización de la energía y los nutrientes, como la inoculación de microorganismo a la semilla.

Los fertilizantes nitrogenados son insumos muy costosos en el mercado local, repercutiendo directamente en la baja productividad agrícola de los cultivos de soya. Una alternativa económica es usar microorganismos como micorrizas y *Bradyrhizobium*, que estimulan el crecimiento de las plantas y que son obtenidos, seleccionados, multiplicados e incorporados al suelo en forma de inóculos. En el litoral ecuatoriano hay un escaso conocimiento de la capacidad simbiótica de las cepas de *Rizobium* y micorrizas y esta investigación proporcionará información sobre la especificidad y efectividad de las fuentes biológicas para potenciar los beneficios de la fijación biológica de N y P.

El alcance de la presente investigación fue determinar e interpretar el efecto simbiótico entre variedades, cepas de *Bradyrhizobium* y hongos micorrízicos arbusculares para definir la mejor combinación de variedades y cepas para

maximizar el rendimiento de grano. La investigación se realizó, en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Av. Quito Km. 1,5 vía Santo Domingo de los Tsáchilas, y en la finca experimental “La María” de la UTEQ, ubicada en el km 7 vía El Empalme. El trabajo investigativo de laboratorio y campo fue realizado en 6 meses de estudio.

Esta investigación tuvo como objetivo general:

Analizar el efecto sinérgico de la inoculación combinada de *Bradyrhizobium* y hongos micorrízicos en el crecimiento y la absorción de nutrientes de la soya (*Glycine max* L. Merrill).

Y como objetivos específicos:

- Determinar la eficiencia de *Bradyrhizobium* en la fijación de nitrógeno en el cultivo de soya.
- Establecer la eficiencia de un consorcio micorrízico en la absorción de fósforo en el cultivo de soya.
- Determinar el efecto sinérgico de la inoculación combinada de *Bradyrhizobium* y de un consorcio micorrízicos en el comportamiento agronómico del cultivo de soya.
- Realizar el análisis financiero de los tratamientos estudiados.

Según Labandera (1996), la inoculación con *Bradyrhizobium* es responsable del rendimiento entre 800

y 1,000 Kg.ha⁻¹ año⁻¹, así como, el uso de hongos micorrízicos arbusculares favorece la fijación biológica de nitrógeno y fósforo, además influyen sobre el crecimiento y rendimiento, debido principalmente a la absorción de nutrientes, porque las raíces tienen un área de exploración mayor a través de la extensión de las hifas de los hongos en el suelo.

Boddey & Hungria (1997), al estudiar grupos genotípicos de *Bradyrhizobium* nativos de Brasil en soya, alcanzaron rendimiento de 2,500 kg.ha⁻¹ acumulando cerca de 200 kg de N del 67% al 75% de este N se encuentra almacenado en el grano.

Valencia (2010), reportó respuesta diferencial de seis variedades de soya a la inoculación con las cepas ICA J-01, J-96 y J-98 de *B. japonicum*, a la mezcla de las cepas J-01 con J-96 que fueron comparadas con un testigo (aplicación de 150 kg de N), en ocho localidades o ambientes con suelos oxisoles de la Orinoquia colombiana que presentaban restricciones por la alta saturación de aluminio y que afectan la fijación biológica del N. El rendimiento de grano varió a través de ambientes y estuvo influenciado por el tipo de cepa y variedad.

En cuanto a la inoculación individual y conjunta de cepas de *Bradyrhizobium* y micorrizas arbusculares en plantas de

soya. Corbera & Nápoles (2000) estudiaron este tipo de microorganismos en dos tipos de suelos ferralíticos rojos. Se encontraron mayores efectos cuando se empleó la doble inoculación *Bradyrhizobium* y micorrizas, con incrementos del rendimiento entre 4% y 15% respecto a la fertilización mineral y de 4% a 11% en relación con la inoculante simple con *Bradyrhizobium*.

Punos, Iglesias, & Sotelo (2006), al estudiar la fertilización azufrada en soya, su relación con su nivel de nodulación y el grado de micorrización, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos fertilizados en la altura de plantas, aunque si fueron superiores que el testigo.

En cuanto a los componentes del rendimiento y el rendimiento de granos evaluados por Corbera & Nápoles (2010), en su estudio sobre la producción de soya en invierno con el empleo combinado de *Bradyrhizobium japonicum* – hongos micorrízicos arbusculares y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal, obtuvieron resultados iguales en aquellos tratamientos donde se coinocularon las semillas con ambos biofertilizantes.

Al analizar los rendimientos de granos, se observaron diferencias significativas entre tratamientos, destacándose

el tratamiento donde se inoculó de manera conjunta el *Bradyrhizobium japonicum* y la cepa de hongo formador de micorriza arbuscular *Glomus Hoilike*, el que presentó incrementos de los rendimientos de 31.2% para el cultivar estudiado. Los incrementos fueron ligeramente superiores con la aplicación a dicho tratamiento del estimulador del crecimiento vegetal, recubriendo las semillas o con aplicación foliar, con valores que oscilaron entre 37.6 % y 34.4 % respectivamente, pero sin diferencias significativas entre ellos.

EL CULTIVO DE LA SOYA

El cultivo de soya (*Glycine max* L.), ocupa en el planeta una superficie de alrededor de 63 millones de hectáreas, que producen cerca de 137 millones de toneladas. América es el continente con mayor superficie cosechada (el 75% del total), con un promedio anual de 172 885 867 toneladas en la última década, el 85% del total mundial (INEC, 2012). En el Ecuador, su cultivo se concentra en la provincia de los Ríos, con un 98% durante el ciclo de verano, cuando se aprovecha la humedad remanente del suelo, luego de las cosechas del maíz o arroz (Iñiguez, 2002).

El cultivo de soya está muy desarrollado a nivel mundial, debido a su adaptabilidad a diferentes climas y suelos y a la gran cantidad de usos que posee después de su cosecha; los

más relevantes son la producción de aceite y harina de soya, de los cuales se derivan una inmensa cantidad de productos alimenticios que cada día cobran más importancia tanto en la dieta humana como animal (FAO, 2004); así, Alezones & Zocco (2007), mencionan que esta leguminosa es conocida como la principal oleaginosa para la alimentación animal y humana, por su alto porcentaje de proteínas (35% a 50%) y de aceites de calidad (15% a 25%).

Esta leguminosa se destaca por su valor proteico y la calidad del aceite de su semilla, razón por la cual se utiliza como forraje verde, en ensilado o henificado para la alimentación animal y como abono verde (Brito, 1992; Calero, 2008). Aunque también se estudia su uso para la producción de biocombustibles (INEC, 2012).

La cantidad de proteína y aceite están influenciados por el potencial genético de la planta y el medio ambiente. En promedio, la semilla está compuesta por proteína (40%) y aceite (20%), porcentajes que están negativamente correlacionados, aunque se ha comprobado que en latitudes ecuatoriales, el contenido de aceite de la semilla se incrementa en algunos porcentajes, sin afectar el contenido de proteína (Calero, 2008).

La proteína de soya por tener una gama de aminoácidos esenciales, se emplea para mejorar la calidad de otros

productos alimenticios, como harina, cereales y leche. También el grano de soya contiene varias vitaminas y minerales; el grano verde contiene vitaminas A, B Y C y los minerales potasio, fósforo, calcio y hierro y el aceite las vitaminas A, D, E, F, y K. (Calero, 2008).

EL CULTIVO DE SOYA EN ECUADOR Y SU RELACIÓN CON BRADYRHIZOBIUM

La soya, *Glycine max* L., fue introducida al Ecuador en el año 1972, por el entonces Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). De acuerdo al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), estación Pichilingue, las condiciones agroecológicas necesarias para su cultivo en el país son: entre 400 a 600 mm de lluvia durante el ciclo de la planta, 12 horas de luz por día, una temperatura de 22° C a 30° C, y un suelo de franco arenoso o franco arcilloso con un pH que oscile entre 5.5 a 7.0.

Dentro de los sistemas productivos de la zona central del litoral ecuatoriano, la soya es una de las leguminosas más importantes. Su siembra ha significado al país la diversificación de cultivos, aprovechamiento de muchas áreas desocupadas en el litoral y, lo que es más importante, el mejoramiento y conservación de los suelos. Además, sirve para la alimentación humana y animal, ya que puede

ser usada como vegetal o como oleaginosa, por sus propiedades de fácil cocción, mejor textura, mayor tamaño, mayor contenido proteínas y poco aceite (Calero, 2008).

En el Ecuador, la demanda más importante de la soya proviene de la avicultura, como torta de soya representa del 15% al 20% de la composición de los alimentos balanceados, sólo superado por el maíz duro (Iñiguez, 2002). (Calero, 2008), sostiene que para poder satisfacer el 70% de las necesidades de torta de la industria nacional, se deben sembrar aproximadamente 250 000 ha de este cultivo. Para tal efecto el INIAP, ha desarrollado variedades de soya, destinadas a suplir las necesidades alimenticias de los seres humanos y animales, entre las cuales se destaca la INIAP-Júpiter, INIAP-302, INIAP-303, INIAP-304, INIAP-305, INIAP-306 e INIAP-307 (INIAP, 2005).

Según Grijalva (1990), un componente fundamental de su sistema de producción es el tratamiento de semillas con inoculantes comerciales, que contienen cepas del género *Rhizobium*. El porcentaje de inoculación en el país es de 5%, que asegura la nodulación de las plantas y el proceso simbiótico fijador de nitrógeno (Bernal, 2005). Se desconoce si *Bradyrhizobium sp.*, es endémica o exótica del país, pueden ser cepas nativas que se asociaron satisfactoriamente con las raíces de soya o que ingresaron junto con su hospedero (Goyes & Laborde, 2007). Se ha

estimado que la capacidad de fijación de N_2 es superior a 160 kg de N por hectárea y por cosecha, pero para que esa capacidad se exprese, se requiere que se den las condiciones bióticas necesarias, tanto para la planta como para la bacteria (ICA, 1994).

La simbiosis que ocurre en una hectárea sembrada con soya, aprovecha de 45 a 90 kg de N, para promedios de producción de 1500 kg ha^{-1} ; Freire citado por Grijalva (1990). Esto representa apenas del 30% al 60% del N potencial, que podría ser fijado con dicho proceso. Por otra parte, la baja eficiencia puede deberse a factores genéticos de la planta o la bacteria, de allí que la selección de la combinación planta – bacteria es la base para la mayor o menor habilidad de fijación del sistema (Grijalva, 1990).

INOCULACIÓN DE LA SOYA CON *BRADYRHIZOBIUM*

La interacción natural de la raíz de las plantas con las bacterias del suelo, es ecológicamente importante, como medida para evitar el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados que deterioran el suelo y contaminan el ambiente.

(Orive & Temprano, 1993), indican que la asociación planta-bacteria tiene carácter benéfico para las plantas que utilizan el nitrógeno fijado por la bacteria, en forma directa e independientemente del nitrógeno combinado del suelo.

Las bacterias fijadoras de N_2 , conocidas colectivamente como rizobios, son micro simbioses facultativas que pueden infectar las raíces de la mayoría de las leguminosas y así reducir el N_2 atmosférico en N utilizable para la planta a través de la acción de la enzima nitrogenasa. Estas bacterias son consideradas de gran importancia por su capacidad de fijar N_2 en asociación con las leguminosas. Son microorganismos genéticamente diversos y fisiológicamente heterogéneos que, sin embargo, están clasificados juntos por virtud de su habilidad para nodular plantas del grupo *leguminosae* (Sessitsch, Howieson, Perret, Antoun, & Martínez-Romero, 2002).

Los rizobios son bacterias Gram negativas, móviles, cilíndricas, de 0.5 a 0.9 μm de ancho y 1.2 a 3.0 μm de largo que no forman endosporas, pudiendo presentar polimorfismo bajo condiciones de estrés. Son aeróbicas y poseen un mecanismo respiratorio donde el oxígeno actúa como aceptor final de electrones. También pueden utilizar una amplia gama de compuestos orgánicos (carbohidratos, azúcares, aminoácidos, etc.) como fuente de carbono. Son bacterias móviles, con un flagelo polar único o bien de 2 a 6

flagelos peritricos, con presencia de gránulos de ácido poli-beta-hidroxibutírico (PHBA) y, en algunos casos, gránulos metacromáticos de polifosfatos. Generalmente *Rhizobium* vive saprofiticamente en el suelo, utilizando fuentes de energía y sustancias nitrogenadas del medio. En condiciones de laboratorio se obtiene un crecimiento óptimo de los mismos a temperaturas entre 25°C a 30°C, buena aireación y con un pH del medio del cultivo entre 6 y 7 (Somasegaran, Hoben, & Burton, 1992).

Entre los huéspedes del sistema radicular de soya, se encuentra *Bradyrhizobium* sp. Senaratne, Amornpimol & Hardarson (1987) y FAO (1995), confirman a la soya como la planta más efectiva y eficiente para la fijación de N, ya que fijan alrededor del 90% de nitrógeno. La soya puede hacer uso del nitrógeno del aire mediante simbiosis con bacterias específicas (*Bradyrhizobium* sp.) y, después de cada cosecha, deja del 55% al 90% de nitrógeno en el suelo. Sin embargo, su rendimiento se incrementa considerablemente por medio de la aplicación de este elemento; la nodulación de las semillas es una garantía para una adecuada asimilación del nitrógeno vía fijación simbiótica (Goyes & Laborde, 2007).

El cultivo de la soya presenta la característica de generar nódulos en sus raíces, como consecuencia de una asociación simbiótica con bacterias específicas como *Bradyrhizobium*

japonicum. Dicha característica le permite al cultivo abastecerse de nitrógeno proveniente del aire, cubriendo hasta un 70% de las necesidades de este nutriente (Weber, 1966).

Las bacterias del género *Bradyrhizobium*, inducen la formación de nódulos en las raíces de la soya, sitio donde transforman el N₂ atmosférico en compuestos nitrogenados disponibles para el crecimiento y desarrollo del vegetal. Sin el nitrógeno proporcionado por estas bacterias, los costos de producción de soya se incrementarían, por la necesidad de agregar fertilizante químico para lograr rendimientos aceptables (Nápoles, 2003).

La inoculación es la práctica por la cual la semilla de la leguminosa es recubierta con la bacteria (*Rhizobium*), que se encuentran en un soporte o portador, frecuentemente turba (suelo negro rico en materia orgánica). Es recomendable realizar la inoculación de la semilla de leguminosas, cuando por primera vez va a sembrarse en un lugar, y más aún si la leguminosa no es nativa de la región (Bernal, 2003).

En ocasiones la respuesta del rendimiento a la inoculación no es significativa, esto debido a las altas poblaciones de bacterias en los suelos, tal es el caso del estado de Iowa (EEUU) que presenta altas poblaciones de *Bradyrhizobium*

japonicum en la mayoría de sus suelos, siempre que se haya cultivado soya durante los últimos años. Sin embargo, condiciones como diluvios pueden reducir la población bacteriana significativamente, por lo que, la inoculación representa una forma barata de asegurar la nutrición del cultivo (Whigham (1994), citado por Nápoles (2003)). Por otro lado, investigaciones han demostrado incrementos significativos de más del 50% cuando los cultivos son inoculados con *Bradyrhizobium* frente a los que no son inoculados (Cárdenas, Garrido, Roncallo & Bonilla, 2014).

NECESIDAD DE RE-INOCULACIÓN

Experimentos realizados en el Ecuador demostraron la ventaja de la re-inoculación pues permitió incrementos del rendimiento de 10% hasta 30% (Bernal, 2005); por lo tanto, se recomienda la re-inoculación de la semilla, tomando en cuenta que el precio del inoculante es considerablemente más bajo que el de los fertilizantes químicos. Además, la recomendación debería enfatizarse cuando el agricultor desee cambiar la variedad de la leguminosa que va a sembrar; puede suceder que la nueva variedad presente una mejor compatibilidad simbiótica con otra cepa, por lo cual sería necesario hacer una nueva inoculación con la nueva cepa.

Otra ventaja relacionada con la inoculación en cada siembra, es el efecto positivo de los residuos del cultivo

fijador de N₂. Si el cultivo fija más nitrógeno reflejado en un mayor rendimiento, sus residuos también enriquecerán al suelo, ya que al mineralizarse (descomponerse) dejarán el nitrógeno para posteriores cultivos. Se ha demostrado incrementos en el rendimiento de cereales (trigo, maíz), sembrados sobre áreas donde una leguminosa (ej. soya) había sido re-inoculada, aumentando de esta manera el retorno económico de la inoculación (Hungria, Andrade, Colozzi, & Balota, 1997).

Debe tenerse en cuenta, que en muchos casos, el haber inoculado la soya para una siembra no garantiza que la bacteria se establezca y que desaparezcan la necesidad de inocular, pues sobre la bacteria actúan diferentes factores que limitan su supervivencia en el suelo. Entre ellos están: la alta temperatura del suelo (que es común en el trópico), su acidez, los periodos de sequía y la ausencia de las raíces de la planta en el suelo durante los periodos de descanso o rotación (ICA, 1994).

EFECTO DE LAS MICORRIZAS EN LOS CULTIVOS

Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre el hongo y la planta, descubiertas paralelamente a *Bradyrhizobium* sp., por el botánico Alemán Frank que en 1885 lo utilizó para describir la existencia de raíces de plantas vasculares que estaban infectadas con hongos. El hongo micorrízico

facilita la absorción del fósforo desde el suelo (Barrera & Rodríguez, 2010), así como también provee de beneficios a la planta como resistencia a ciertos patógenos, tolerancia a la sequía, entre otros; mientras que el hongo se beneficia de carbohidratos especialmente.

La simbiosis se diferencia de otras asociaciones de hongos y plantas principalmente por su carácter mutualista. Está basada en un flujo de componentes inorgánicos desde el hongo hacia la planta y de compuestos orgánicos de la planta hacia el hongo (Strack, Fester, Hause, Schliemann, & Walter, 2003). Las estructuras del micosimbionte, que se extienden dentro de las raíces de la planta hospedadora y en el sustrato circundante, son características distintivas de cada tipo de micorrizas y se utilizan para su identificación. Un aspecto importante de esta asociación es su universalidad, considerando que la gran mayoría de las plantas que crecen sobre la capa terrestre son capaces de desarrollarlas (Allen, 1991).

Pese a mostrar muchas similitudes en cuanto a función y en algunos casos morfología, se pueden conocer cinco tipos principales de micorrizas con base en las estructuras formadas y a la naturaleza de los simbiontes implicados: 1) Formadoras de manto (ectomicorrizas); 2) Arbusculares (endomycorrizas); 3) Orquidoides (endomycorrizas); 4) Ericoides (endomycorrizas) y, 5) Arbutoides

(ectendomicorrizas), (Harley & Smith, 1983; Barea, 1998). Las micorrizas arbusculares (MA) son las más difundidas en la corteza terrestre (Schnepf & Roose, 2006) y forma parte del ecosistema, participando en los procesos de nutrición y fisiología de los vegetales (Bowen, 1980). Es una simbiosis de alcance universal, el 95% de las especies vegetales la establecen de forma natural en hábitats muy diversos (Calvet, Estaún, & Camprubí, 1999). Son tan antiguas que su origen se remonta al periodo devónico, hace unos 400 millones de años, cuando según evidencias fósiles (Taylor, Remy, Hass, & Kerp, 1995) y moleculares (Simon, Bousquet, Levesque, & Lalonde, 1993), se asociaron las primeras y primitivas plantas terrestres con hongos, que posibilitaron su adaptación a las nuevas condiciones ambientales que implicaban el paso de un ambiente acuático al medio terrestre (Malloch, Pirozynski, & Raven, 1980).

En el caso del N, se ha comprobado que aproximadamente el 30% del total aplicado al suelo para fertilizar cultivos agrícolas, se escapa hacia la atmósfera en estado gaseoso, por lixiviación, desnitrificación e inmovilización microbiana, que pueden llegar a eutrofizar ecosistemas importantes (Videla, Ferrari, Echeverria, & Travasso, 1996; Urzúa, 2000). Mientras que la poca disponibilidad del P en el suelo, no es un indicativo que exista deficiencia, sino más bien que éste no está en un estado disponible o asimilable

para las plantas (Raghothama, 1999; Hernández-Valencia & Montserrat, 2005). En ambos casos la fertilización química únicamente es una solución momentánea y poco sustentable.

Existe otra vía para aportar macronutrientes al suelo y a los vegetales de forma económica y ecológicamente sustentable, empleando algunos microorganismos del suelo (Casado & Fernández, 1998; Nogales, 2005). A este proceso se lo denomina biofertilización, tecnología que recurre a la inoculación de microorganismos en los procesos de cultivos, como lo es en semillas pre germinadas o plantas jóvenes (Díaz, Ferrera, Almaraz-Suarez, & Alcántar, 2001; Parada, Jaén, Becerril, & García, 2001).

Las ventajas proporcionadas por la micorrización para las plantas son numerosas. Gracias a ella, la planta es capaz de explorar más volumen de suelo del que alcanza con sus raíces, además las hifas del hongo también capta con mayor facilidad ciertos elementos (fósforo, nitrógeno, calcio y potasio) y agua del suelo. La protección brindada por el hongo hace que, además, la planta sea más resistente a los cambios de temperatura y la acidificación del suelo, derivada de la presencia de azufre, magnesio y aluminio. Además, algunas reacciones fisiológicas del hongo inducen a la raíz a mantenerse activa durante más tiempo que si no estuviese micorrizada (Nogales, 2005).

Todo esto redundando en una mayor longevidad de la planta, se ha comprobado que algunos árboles, como los pinos, son incapaces de vivir más de dos años cuando están sin micorrizar. En otras especies, esta unión es tan estrecha que sin ella la planta no puede subsistir, como es el caso de las orquídeas. Las plantas cuyas semillas carecen de endospermo (sustancias alimenticias de reserva) dependen completamente del hongo para alimentarse y germinar posteriormente.

La infección de la raíz por el hongo se produce a partir de propágulos presentes en el suelo. Pueden ser esporas y trozos de hifas del hongo y también raíces ya micorrizadas. Con el fin de asegurar el éxito de la empresa, la siembra de la mayoría de plantas comestibles o de decoración y las repoblaciones forestales, que se llevan a cabo en la actualidad, acompañan las nuevas plantas y brotes con fragmentos del hongo más adecuado para establecer asociaciones micorrízicas con cada especie que se vaya a cultivar (Finol, Fernández, Nava, & Esparza, 2004; Quintero, Acevedo, & Salazar, 2004).

BENEFICIO DE LAS MICORRIZAS PARA EL SUELO

Las micorrizas, realizan varias funciones en el suelo que incrementan mucho su potencial agro productivo y sus posibilidades de sostén y mantenimiento de las diferentes especies vegetales (De las Heras, Fabeiro, & Meco, 2003). Algunas de estas funciones son: a) prolongar el sistema radical de las plantas lo que facilita una mayor retención física de partículas del suelo, y evita la erosión causada por el agua; b) regenerar suelos degradados, ya que al facilitar el mejoramiento de su estructura, se incrementa sus posibilidades de retención de humedad, aireación y descomposición de la materia orgánica y c) movilizar una gran cantidad de nutrientes que antes no estaban a disposición de las plantas. En la medida que los suelos sean menos fértiles, se necesitarán más estructuras fúngicas para lograr una mayor eficiencia micorrízica.

La investigación se realizó entre enero del 2011 y junio del 2012, en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Av. Quito km. 1,5 vía Santo Domingo de los Tsáchilas, con coordenadas: 79° 25'24' de longitud occidental y 1° 03' 18' de latitud Sur y en la finca experimental “La María” de la UTEQ, ubicada en el km 7 vía El Empalme, a 79° 29' de longitud oeste, y 01° 06' de latitud sur, a una altitud de 73 msnm.

La temperatura promedio en el año 2011 fue de 24,78 °C, la humedad relativa promedio de 84,17%, la precipitación anual 2412,90; la heliofanía (horas luz) fue de 869,30 y la evaporación fue de 910,30 mm (INAMHI, 2012).

Para evaluar la eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de *Bradyrhizobium* asociados a soya, se recolectaron cepas en seis localidades del litoral ecuatoriano, las cuales fueron estudiadas a nivel de invernadero.

AISLAMIENTO DE *BRADYRHIZOBIUM*

Se recolectaron muestras de suelo en los cantones Milagro, Babahoyo, Montalvo, Buena Fe, Mocache y Valencia, donde tradicionalmente se siembra soya. De cada sitio se extrajo una

muestra de suelo que estuvo constituida por cinco submuestras tomadas a una profundidad de 0 a 20 centímetros. Luego, fueron llevadas al laboratorio en fundas de papel y mantenidas en refrigeración por un máximo de 24 horas a 5°C.

Con el propósito de obtener colonias bacterianas puras de *Bradyrhizobium*, de cada sitio muestreado, en 10 mL de agua destilada estéril se diluyó 100 g de suelo de cada muestra recolectada y se agitó durante 10 minutos, de la suspensión se tomó 1 mL y se diluyó en un tubo de ensayo con 9 mL de agua destilada estéril; esta fue la dilución 10^{-1} . Luego se agitó esta dilución y con la ayuda de una pipeta se retiró 1 mL y se vertió en un segundo tubo con 9 mL de agua destilada estéril, ésta fue la dilución 10^{-2} . Este proceso se repitió hasta llegar a la dilución 10^{-8} .

Actuando como inoculante, cada una de las diluciones, fue agregada en la base de las plántulas de soya. Las plantas inoculadas fueron regadas con solución nutritiva (Summerfield, Huxley, & Minchin, 1977) y evaluadas a los 45 días, luego de los cuales se extrajeron los nódulos para aislar las colonias bacterianas de *Bradyrhizobium*.

FACTORES, TRATAMIENTOS, DISEÑO EXPERIMENTAL Y, VARIABLES EN ESTUDIO

En este experimento se evaluaron dos factores: cepas de *Bradyrhizobium* procedentes de las seis localidades, donde se

obtuvieron los aislamientos, del litoral ecuatoriano más un testigo y dos variedades de soya: INIAP-307 y P-34. Los tratamientos fueron la combinación de los niveles de los factores cepas y variedades.

Para la comparación de medias de la interacción de los dos factores y de los promedios de las cepas se utilizó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Mientras que, para comparar las medias de las dos variedades se utilizó la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) al 5% de probabilidad.

Cada unidad experimental total y neta estuvo constituida por dos macetas de 900 cc cada una conteniendo una planta.

Las variables evaluadas en este experimento fueron:

- **Peso fresco de la parte aérea**

A los 45 días de crecimiento, las plantas fueron cortadas a la altura del cuello de la planta. El follaje fresco fue pesado en gramos.

- **Peso seco de la parte aérea**

El follaje fresco del sistema foliar fue secado en una estufa a una temperatura constante de 70° C durante 48 h, y fue pesado en gramos.

- **Número de nódulos**

Al mismo tiempo del corte del sistema foliar, se evaluó la cantidad de nódulos presentes en las raíces de cada una de las plantas inoculadas. Estos nódulos fueron separados de las raíces y colocados en cajas petri.

- **Peso de nódulos frescos**

Luego de separar los nódulos presentes en las raíces de las plantas, se procedió a tomar el peso fresco, expresado en gramos.

- **Peso de nódulos secos**

Los nódulos frescos fueron colocados en tubos de plástico y secados en una estufa a temperatura de 70°C durante 48 h, luego de este tiempo fueron pesados en gramos.

- **Porcentaje de nitrógeno en la parte aérea**

A los 45 días después de las inoculaciones con *Bradyrhizobium*, al corte de la parte aérea de las plantas, se realizó el análisis de N de la parte aérea de las plantas en el laboratorio de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria (INIAP).

- **Extracción de nitrógeno total**

Para la obtención de esta variable se multiplicó el peso de la materia seca de cada una de las plantas de soya por la cantidad de nitrógeno presente en las mismas.

MANEJO DEL EXPERIMENTO

Esterilización superficial y germinación de las semillas

Las semillas de soya limpias, sanas y de tamaño uniforme, fueron esterilizadas superficialmente siguiendo el método de Vincent: las semillas fueron tratadas con etanol al 96% durante tres minutos, luego con hipoclorito de sodio al 5% durante tres minutos, después, lavados con agua destilada estéril por siete veces y finalmente germinadas en placas de petri con agar al 1.5% e incubadas a 27°C durante cuatro días (Vincent, 1970).

Siembra e inoculación

Dos semillas pre-germinadas fueron transferidas asépticamente a macetas de 900 cm³ que contenían una mezcla de turba y piedra pómez (3:1). La mezcla (sustrato) previamente fue sometida a esterilización por una hora.

El inoculante bacteriano se obtuvo a partir de una colonia aislada en el medio líquido levadura-manitol (LM) e incubado a 26°C. A partir de cultivos crecidos conteniendo 10^8 cel/ml se tomaron 10 mL y se depositaron sobre la semilla pre-germinada.

Transcurridos 10 días de la siembra, se procedió a cortar con tijeras estériles una planta por sitio, dejando la más vigorosa en cada unidad (raleo). De acuerdo a las necesidades de riego se utilizó agua destilada estéril y medio Summerfield nutritivo.

EXPERIMENTO 2. EFICIENCIA DE LA ABSORCIÓN DEL FÓSFORO DE LAS MICORRIZAS EN SOYA A NIVEL DE INVERNADERO, UTILIZANDO DOS VARIEDADES COMERCIALES

Aislamiento y conteo de esporas de hongos micorrízicos nativos asociados a la soya desde el suelo

Para el aislamiento y conteo de esporas de hongos micorrízicos arbusculares se utilizó el método de Gerderman & Nicholson que consiste en el tamizado y decantación en húmeda (Gerderman & Nicholson, 1963).

Factores, tratamientos, diseño experimental y, variables en estudio

Para estudiar la eficiencia de la absorción del fósforo de las micorrizas a nivel de invernadero, se evaluaron las cepas aisladas en las muestras de suelo recolectadas en las seis localidades y se utilizaron las mismas dos variedades comerciales de soya del primer experimento. Entonces, el factor cepas (C) estuvo compuesto por las micorrizas aisladas en las seis localidades y el factor variedad (V) estuvo constituido por las dos variedades de soya expuestas a las micorrizas.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo factorial 7 x 2 con tres observaciones.

En este ensayo se evaluaron las variables:

- **Porcentaje de colonización endomicorrízica en las raíces.** Se evaluó a los 45 días después de la siembra (dds). Se aplicó el método de clarificación y tinción de raíces, siguiendo la técnica de Phillips & Hayman (1970), para

calcular la colonización endomicorrízica se usó la escala de 0 a 5, propuesta por Giovanetti & Mosse (1980).

- **Altura de planta:** Se evaluó a los 45 dds, tomada desde la superficie de la tierra hasta el último nudo (cm).
- **Peso húmedo y seco de la parte aérea de la planta (%):** A los 45 dds se evaluó el peso fresco de una planta por funda, sin incluir raíces y luego se colocó a la planta en la estufa por 24 horas a 75 °C, para registrar su peso seco.
- **Peso húmedo y seco de la parte radicular (%):** Esta variable se evaluó a los 45 dds, se registró el peso fresco de la masa radicular de cada planta, luego se colocó en la estufa por 24 horas a 75 °C, y se anotó su peso seco.
- **Longitud total de raíces por planta (RL):** Es la longitud total del sistema radicular de las plantas, sumado todas las longitudes de cada raíz individual. Está expresado en cm y la fórmula con la que se calculó es la que a continuación se detalla (Jungk & Claassen, 1997). Las mediciones se efectuaron a los 45 días después de la siembra.

$$RL = \frac{\text{Peso fresco raices por maceta}}{\text{Número de plantas por maceta}} \times RLs$$

Donde RLs = Largo específico de la raíz

- **Longitud de raíz por volumen de suelo (RL_v):** Es el parámetro que estima la competencia interradicular por nutrientes. Se expresa en cm cm⁻³ (Jungk y Claassen, 1997). A continuación se detalla la ecuación que se empleó para su cálculo.

$$RL_v = \frac{RL \times (\text{número de plantas por maceta})}{(\text{Volumen de suelo} \div \text{densidad de suelo})}$$

- **Concentración de nutrientes en la biomasa:** Se estableció el contenido de elementos nutricionales acumulados en la biomasa total de cada parcela al término del ensayo de vivero, en los laboratorios de INIAP- Quevedo.

**EXPERIMENTO 3. EFECTO DE LA INOCULACIÓN
COMBINADA BACTERIA-HONGO EN EL
CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE DOS
VARIETADES COMERCIALES DE SOYA A NIVEL DE
CAMPO**

Se evaluó el efecto de la inoculación, combinación bacteria (*Bradyrhizobium* sp.) – hongo (micorrizas) en el crecimiento y rendimiento de dos variedades de soya a nivel de campo. El factor inóculo (I) estuvo compuesta por la combinación bacteria – hongo, se seleccionaron dos cepas que sobresalieron en los dos primeros experimentos: para micorrizas fueron escogidas las de Buena Fe y Babahoyo, y para la bacteria las de Montalvo y Valencia. El primer factor fue la inoculación combinada con los siguientes niveles:

i_1 = Sin bacteria y sin hongo

i_2 = Con bacteria (Mezcla de cepas Montalvo y Valencia)

i_3 = Con hongo (Mezcla de cepas Buena Fe y Babahoyo)

i_4 = Con bacteria y con hongo

El factor variedad (V) estuvo dado por las variedades de soya:

V_1 = INIAP-307

V_2 = P-34

Por lo tanto, se evaluaron los siguientes tratamientos:

T₁ = Sin bacteria y sin hongo - INIAP -307

T₂ = Sin bacteria y sin hongo - P-34

T₃ =Con bacteria- - INIAP 307

T₄ =Con bacteria- P-34

T₅=Con hongo- INIAP -307

T₆=Con hongo- P-34

T₇ = Con bacteria y con hongo- INIAP -307

T₈ = Con bacteria y con hongo- P-34

Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar (DBCA) en arreglo factorial 4 (inóculos) x 2 (variedades), con cuatro repeticiones.

Cada parcela estuvo constituida por cuatro hileras de cinco metros de longitud por cincuenta centímetros de ancho, la distancia entre parcelas fue de un metro. Las dos hileras centrales se determinaron como el área de la parcela útil donde se registraron los datos de las variables en estudio.

Esta variable se midió en centímetros a los 90 días de edad del cultivo. Se tomaron diez plantas de cada repetición y se midió desde su base (cuello) hasta la última hoja visible del extremo superior, usando una cinta métrica de 150 cm.

- **Colonización micorrízica (CM):** Para calcular la frecuencia e intensidad de la colonización por hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y observar las estructuras internas del hongo dentro de la raíz (arbúsculos, vesículas, micelio y de ser posible esporas), se empleó el método descrito por Giovanetti & Mosse (1980).
- **Rendimiento por ha⁻¹:** Se calculó el rendimiento por planta y por hectárea y se ajustó el peso al 14% de humedad, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (kg ha}^{-1}\text{)} = \frac{(100 - Hc) \times Pc}{100 - 14} \times \frac{10000}{Aup}$$

- **Análisis económico:** El análisis económico se realizó a través de la estructura de costos e ingresos (rendimiento por hectárea) y el punto de equilibrio de los tratamientos.
- **Estructura de costos:** Para obtener la estructura de los costos se establecieron los gastos que se efectuaron en cada tratamiento. Para el efecto, se clasificaron los costos variables y costos fijos. Entre los costos que se consideraron estuvieron: análisis de suelo, alquiler de terreno, preparación de suelo, siembra, control de malezas, cosecha,

depreciación de equipo, mano de obra indirecta, costo de oportunidad (tasa pasiva a un 4% anual, es el valor que se recibe por interés al momento de depositar el capital de una institución financiera) y, por último, se consideró una tasa inflacionaria promedio anual de 2.52%.

- **Ingresos:** Los ingresos se determinaron de la venta del quintal de soya en estado seco.
- **Rentabilidad:** Se obtuvo mediante la relación beneficio-costos utilizando la siguiente fórmula:

$$Rentabilidad (\%) = \frac{Beneficio\ neto}{Costos\ totales} \times 100$$

- **Punto de equilibrio:** Se determinó con base en los costos fijos y variables así como de la venta de soya para cada uno de los tratamientos en estudio, usando para el efecto la siguiente fórmula:

$$PE = \frac{Costos\ fijos}{1 - \frac{Costos\ variables}{Ventas}}$$

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE SOYA

Para determinar el porcentaje de germinación de las semillas de soya, se desinfectaron 100 semillas en una solución de hipoclorito de sodio al 10% y posteriormente se lavaron por tres ocasiones en abundante agua destilada estéril para eliminar residuos de cloro. Una vez lavadas se ubicaron sobre papel toalla humedecida estéril dentro de una placa de Petri y, se colocaron a condiciones de luz y temperatura ambiente de laboratorio. La evaluación del porcentaje de germinación se hizo a las 72 horas.

OBTENCIÓN Y DESINFECCIÓN DEL SUELO

El sustrato que se utilizó correspondió a un suelo derivado de cenizas volcánicas perteneciente a la ciudad de Quevedo, al suelo colectado le fue retirado los materiales de mayor dimensión (hojarasca, ramas, rocas, tallos, etc.) mediante tamizado, hasta quedar homogenizado. Se depositó en bolsas plásticas y luego se esterilizaron en autoclave a 121° C y 1 atmósfera de presión por 20 minutos; este proceso se volvió a repetir 24 horas después de la primera esterilización para eliminar endosporas bacterianas que hayan resistido y germinado después de la esterilización inicial.

El objetivo de la esterilización fue la eliminación de todos los microorganismos presentes en el suelo, reduciendo de esta forma factores que puedan interferir en el experimento, dejando a los microorganismos en estudio libres de competencia para que puedan expresar su potencial. Una vez esterilizado el suelo, en los laboratorios de INIAP- Quevedo, se determinó el contenido total de N y P, además el pH y contenido de materia orgánica. Conocida la cantidad de nutrientes presentes en el suelo, éste fue llevado a nivel óptimo de los macronutrientes como el fósforo, para lo cual se añadieron las cantidades de nutrientes faltantes.

RIEGO Y FERTILIZACIÓN CON LA SOLUCIÓN NUTRITIVA

El riego y la fertilización se realizaron de manera alternada cada tres días, a excepción del tratamiento en el que únicamente se aplica agua destilada estéril. Se empleó la solución nutritiva Long Ashton con modificaciones ajustables a la investigación (Jia, Tong, Wang, Luo & Jiang, 2004).

Preparación de las soluciones nutritivas. Para la fertilización de las macetas con los respectivos tratamientos se prepararon las soluciones nutritivas de la siguiente manera:

Se tomaron 70 ml de cada una de las soluciones A, B, C y D, se diluyeron por separado (según correspondió a los tratamientos) en 1.5 litros de agua destilada estéril. Luego se aplicó 100 ml de estas soluciones por kg de suelo seco, cada tres días, en función de los tratamientos.

En el análisis de la variancia (ADEVA) para esta variable se detectaron diferencias estadísticas significativas para todas las fuentes de variación (variedades, cepas, interacción cepas por variedades y las comparaciones ortogonales entre los tratamientos inoculados con las seis cepas y el tratamiento no inoculado (agua estéril), para cada variedad; el coeficiente de variación fue de 1.32%. La variedad INIAP-307 presentó los pesos húmedos de la parte aérea más altos (31.80 g), en comparación a la variedad P-34 (23.14 g). En cuanto a las cepas de *Bradyrhizobium* en la variedad de INIAP-307, los pesos más altos se observaron al ser inoculada con las obtenidas en Valencia, Buena Fe y Babahoyo; mientras que en la variedad P-34 los pesos más altos se observaron con las cepas Valencia, Buena Fe, Milagro y Babahoyo. En cuanto a las cepas, las obtenidas de Valencia y Buena Fe produjeron los pesos más altos.

PESO SECO DE LA PARTE AÉREA

Para esta variable, se registraron diferencias estadísticas significativas para todas las fuentes de variación. Los promedios de peso seco de la parte aérea de la variedad INIAP-307 fueron más altos al inocularlos con las cepas originarias de Babahoyo, Mocache, Buena Fé y Valencia, siendo superiores estadísticamente a los tratamientos inoculados con las otras cepas y al tratamiento sin inoculación (agua estéril). En la variedad P-34, la inoculación con cualquier cepa superó al testigo y todas las cepas en esta variedad presentaron un comportamiento estadístico similar, a excepción de la cepa aislada del suelo de Montalvo. El coeficiente de variación fue de 4.81%.

De acuerdo con Iribarne, Balagué, Diosma & Balatti (1998) encontraron correlación positiva entre el peso seco de nódulos y el peso seco de la parte aérea en *Lotus glaber* (Miller) con valores entre 0.65 y 0.91 ($P < 0.05$). Mientras que Kumudini, Hume & Chu (2001), reportaron en soya incrementos en rendimiento de grano asociados con incrementos en materia seca.

De igual manera Koutroubas, Papakosta & Gagianas (1998), demostraron que las plantas de soya inoculadas acumulan más

materia seca y N en los tejidos vegetativos en las etapas R2 y R5. En la etapa R2 indica el comienzo de un período de acumulación diaria y constante de materia seca y nutriente. En la etapa R5 ocurren eventos importantes: La planta logra la máxima altura, número de nudos y área foliar. Se registra incremento del ritmo de fijación de nitrógeno llegando al máximo en este período, comenzando luego a caer abruptamente. Las semillas inician un período rápido de acumulación de materia seca y nutriente. Además, estos mismos autores reportaron que el rendimiento de grano correlacionó positivamente con la materia seca en R2 y la materia vegetal seca y el contenido de N en R5. Estos autores sugieren que la acumulación de materia seca y de N en etapas tempranas de crecimiento son factores importantes en la consecución de altos rendimientos. Similares resultados fueron reportados por Iribarne, Balagué, Diosma & Balatti (1998), donde la inoculación con diversas cepas resultó en incrementos variables de la producción de materia seca, que sugiere una capacidad diferencial de *Rizobium* para fijar N. En general, se puede establecer que la producción de una mayor cantidad de biomasa es una característica que se potencializa con una mayor disponibilidad de N en las plantas.

NÚMERO DE NÓDULOS Y SU PESO EN FRESCO Y SECO

La variedad INIAP-307 con el aislamiento de Buena Fe presentó el promedio más alto de número de nódulos (57.67) siendo estadísticamente superior al resto de cepas inoculadas en esa variedad y también respecto a las inoculaciones realizadas en la variedad P-34. Mientras que en la variedad P-34 la inoculación con los aislamientos de Montalvo y Buena Fe presentaron el mayor número de nódulos (40 y 42, respectivamente). Los tratamientos sin inoculación (testigos) presentaron el menor número de nódulos por planta para las dos variedades.

En cuanto al peso de nódulos frescos se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas en todas las fuentes de variación. La variedad P-34 presentó los más altos promedios al inocularlos con los aislamientos de Mocache, Buena Fe y Babahoyo; mientras que, en la variedad INIAP-307 los aislamientos de Buena Fe y Valencia produjeron los más altos pesos de nódulos frescos. Los tratamientos sin inoculación presentaron los menores pesos en las dos variedades. En promedio, de las dos variedades, las cepas aisladas de las localidades de Buena Fe, Mocache, Babahoyo y

Valencia fueron superiores a las aisladas en Montalvo y Milagro.

En cuanto al peso seco de los nódulos, también se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas en todas las fuentes de variación con excepción de variedades. Los promedios mostraron una tendencia diferente que la mostrada para el peso húmedo, así, dentro de cada una de las dos variedades, los tratamientos inoculados fueron iguales estadísticamente con excepción del peso en la variedad P-34, inoculada con el aislamiento de Valencia. Los tratamientos testigo (sin inoculación) mostraron los pesos secos más bajos y diferentes de los tratamientos inoculados tanto dentro de cada variedad, así como en promedio de las dos variedades.

En este aspecto Neyra (1995), indicó que el peso de los nódulos de una planta está relacionado en forma directa con la actividad de la fijación de nitrógeno y el número de nódulos es un indicativo de la raíz para la infección de la bacteria. Sin embargo, estos dos factores no son completamente independientes, cuando una planta tiene pocos nódulos, en general son más grandes que cuando son abundantes. En ese estudio, el grado de asociación entre número de nódulos y peso seco de nódulos fue positivo y significativo ($r=0.67$). En contraste, Iribarne, Balagué, Diosma & Balatti (1998),

reportaron una baja correlación de estas variables, al encontrar que el mayor peso seco de nódulos no fue el resultado del desarrollo de un número significativamente mayor de nódulos.

Un efecto significativo ($p < 0.05$) de la inoculación con aislamientos con *Bradyrhizobium sp.*, promedio de las dos variedades, sobre la concentración de N en el tejido vegetal. La variedad de soya P-34 inoculada con los aislamientos de Mocache, Montalvo, Milagro y Babahoyo mostró los más altos valores respecto a esta variable (0.49, 0.42, 0.39 y 0.37 mg N kg⁻¹, respectivamente). En cuanto a las inoculaciones realizadas en la variedad INIAP-307, existió un comportamiento estadístico similar entre todas las cepas utilizadas, incluyendo al testigo (agua estéril).

La inoculación con *Bradyrhizobium sp* sobre la concentración de N a nivel de suelo. Por otro lado, las variedades INIAP-307 y P-34 fueron sensibles a ser infectadas, ya que ambas incrementaron la concentración de N del suelo (en los tratamientos inoculados) con respecto al testigo, el cual fue superado en 11.0 y 16.33 mg N kg⁻¹, en esas variedades respectivamente. En la variedad INIAP-307, los tratamientos inoculados con los aislamientos de Valencia, Buena Fe y Mocache presentaron las más altas concentraciones; mientras que en la variedad P-34 los más altos valores de N en el suelo se obtuvieron con las cepas de Montalvo y Babahoyo.

Las leguminosas tienen la capacidad de formar asociaciones simbióticas que le permiten aprovechar el nitrógeno atmosférico (N_2), las bacterias reciben N_2 transformándolo en amoníaco (NH_4) gracias a una reacción química de reducción (contrario a oxidación) mediada por la enzima nitrogenasa (Tejada & Rodríguez, 1989; Salisbury & Ross, 2000) esto explicaría la concentración diferenciada de N a nivel de tejido vegetal entre cultivares de soya inoculados y no inoculados con *Bradyrhizobium* sp.

La fijación biológica del N_2 es un proceso que representa un suministro de N para las plantas, pero también permite incrementar sus concentraciones a nivel de suelo. Así, Tejada & Rodríguez (1989) reportan que aproximadamente el 50% del N_2 fijado biológicamente es fijado y aprovechado por la planta y el 50% restante es incorporado al suelo.

EXPERIMENTO 2. EFICIENCIA DE LA ABSORCIÓN DEL FÓSFORO DE LAS MICORRIZAS EN SOYA A NIVEL DE INVERNADERO, UTILIZANDO DOS VARIEDADES COMERCIALES.

Población de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

De los seis suelos cultivados con soya, el que presentó la mayor concentración de esporas de HMA por cada 100 gramos de suelo húmedo, fue el de la localidad de Mocache, con un total de 920 esporas, seguidos de los obtenidos en Babahoyo, Buena Fe y Montalvo con 916, 846 y 837 esporas respectivamente. Un menor número de esporas se encontró en la localidad de Valencia, con 781 esporas y, por último, el de la localidad de Milagro con 712 esporas.

Los valores de número de esporas encontradas en esta investigación fueron inferiores a las reportadas por Prieto (2010), que fue entre 1030 y 2028 esporas de HMA en sistemas agroforestales con *Theobroma cacao* L. (cacao), también en el litoral ecuatoriano. Estas diferencias se deben a que las esporas extraídas de los sistemas agroforestales con cacao se encontraron asociadas a varias especies de gramíneas, las cuales son de gran facilidad para la introducción de las micorrizas arbusculares, por tal razón el número de esporas es superlativo en los sistemas agroforestales, en comparación al

número de esporas encontrado en un monocultivo como la soya. Otro de los factores que podría explicar estos resultados es que las condiciones del suelo de los cacaotales permite mantener de mejor manera las cepas microbianas, lo que no sucede en las áreas soyeras, donde se aplica mayor cantidad de pesticidas y a su vez, recibe mayor radiación solar que desactivan a los agentes microbianos, tal como menciona Prieto *et al.* (2011).

GÉNEROS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (HMA) OBSERVADOS POR LOCALIDAD

Se utilizaron tres tipos de tamices con apertura de mallas de 425, 90 y 25 μm , de los cuales el tamiz de 25 μm atrapó la mayor cantidad de esporas, seguido de los tamices de 90 μm y 425 μm , respectivamente. La mayor parte de esporas de HMA pertenecieron al género *Glomus*, seguido de *Entrophospora*, *Acaulospora* y *Gigaspora*. Cabe mencionar que en el tamiz con apertura de malla de 25 μm no se encontró esporas del género *Gigaspora*, siendo esta la tendencia en todas las localidades muestreadas.

Los géneros de hongos micorrízicos arbusculares encontrados en la presente investigación también fueron reportado por

Medina, Rodríguez, Torres, & Herrera (2010), quienes aislaron e identificaron hongos micorrízicos arbusculares nativos en la zona de Las Caobas – Cuba. Además de esporas del género *Scutellospora*, encontraron varias especies de los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Gigaspora*. En las investigaciones realizadas en el litoral ecuatoriano, también se han reportado los mismos géneros observados en la presente investigación, tal es el caso de Enriquez, Nuñez & Paillacho (2010) quienes investigando hongos formadores de micorriza arbuscular asociadas a palmito (*Bactris gasipaes* Kunt), reportaron géneros como *Glomus*, *Gigaspora* y *Acaulospora*. De igual forma en un estudio de Prieto (2010) se observaron todos los géneros encontrados en la presente investigación, excepto *Entrophospora*.

PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN MICORRÍZICA EN RAÍCES DE SOYA EN SEIS SUELOS DEL LITORAL ECUATORIANO

No se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos para esta variable. El porcentaje de colonización micorrízica estuvo comprendido entre 3.49% y 3.75%, los cuales fueron inferiores a los reportados por Chapman (2010), quién encontró valores superiores al 90%. De igual manera fueron menores al reportado por Morales & Morango (2008),

quienes en la evaluación de consorcios micorrízicos nativos de soya y cacao presentaron promedios de colonización micorrízica superiores al 50%. En este contexto cabe mencionar que el suelo del cual se extrajeron las muestras en la presente investigación, pudo haber sido expuesto a pesticidas y fertilizantes químicos, aspectos que inhiben la capacidad de esporulación de las micorrizas.

PARÁMETROS MORFOLÓGICOS

Altura de planta

En esta variable, a los 45 días después de la inoculación, se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas por efecto de inóculos y variedades y no se presentaron diferencias en la interacción. Los tratamientos inoculados fueron iguales estadísticamente, pero diferentes que el testigo.

Estos resultados fueron similares a los reportados por Díaz, Jacques & Peña Rio (2008), quienes utilizaron como planta hospedera al sorgo (*Sorghum bicolor* L.), y empleando como inóculo un consorcio micorrízico de *Glomus intrarradices*., Las plantas de sorgo inoculadas con *G. intrarradices* tuvieron mayores alturas promedios que las plantas que no tenían inóculo.

PESO HÚMEDO Y SECO DEL ÁREA FOLIAR

En el peso húmedo de la parte aérea foliar, a los 45 días después de las inoculaciones, se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas para todas las fuentes de variación. Los tratamientos inoculados con consorcios micorrízicos arbusculares mostraron alturas superiores respecto al testigo, tanto en la variedad de INIAP-307, así como en P-34. La variedad INIAP-307 alcanzó mayor peso húmedo de la parte aérea de la planta con todos los aislamientos.

En cuanto al peso seco de la parte aérea de la planta, se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas entre inóculos y la comparación entre tratamientos inoculados y sin inóculo en las dos variedades. Se observaron diferencias significativas entre variedades y para la interacción inóculo x variedad.

Similar resultado se observó en los promedios de los inóculos, todos superaron al testigo sin inoculación y los aislamientos de Mocache y Valencia produjeron los pesos más bajos dentro de los tratamientos inoculados. En este contexto, Prieto *et al.*

(2011) obtuvieron resultados similares para estas variables, obteniendo para el peso húmedo promedios de hasta 25 g planta⁻¹ y para el peso seco 6 g planta⁻¹, estos investigadores utilizaron como planta hospedera el pasto *Brachiaria decumbens*, la cual es una especie muy susceptible a la micorrización.

PESO HÚMEDO Y SECO DEL SISTEMA RADICULAR

A los 45 días después de la inoculación, el peso húmedo de las raíces inoculadas con consorcios micorrízicos arbusculares y el testigo (inoculación con agua destilada estéril), mostraron diferencias estadísticas significativas dentro de cada variedad.

Para la variable peso seco radicular, la interacción aislamiento x variedad no fue estadísticamente significativa. El comportamiento diferencial se reporta en esta variable en las localidades de Montalvo, Babahoyo, Milagro y Mocache, donde la variedad INIAP-307 presentó mayor peso seco radicular que la variedad P-34, no así, en la localidad de Buena Fe, y en el testigo donde el comportamiento de las variedades fue similar, resultados que fueron análogos a los obtenidos por Chapman (2010) en su investigación; en tanto que Prieto *et al.* (2011), reportaron valores inferiores a los encontrados en el presente trabajo y tampoco tuvieron diferencias estadísticas

significativas entre los tratamientos que contenían micorrizas respecto al testigo.

LONGITUD TOTAL DE LA RAÍZ POR PLANTA (RL) Y LONGITUD DE LA RAÍZ POR VOLUMEN DE SUELO (RLV)

En el análisis de varianza para longitud total de la raíz por planta, se detectaron diferencias estadísticas altamente significativas por efecto de variedades e inóculos, y significativas para la interacción variedades x inóculos; Mientras que para la variable longitud de la raíz por volumen de suelo, sólo se observaron diferencias estadísticas altamente significativas para inóculos. Los tratamientos inoculados mostraron ser superiores al testigo (agua destilada estéril), en las dos variedades.

En lo que se refiere a la longitud de raíz por volumen de suelo, se determinó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos a los 45 días después de las inoculaciones. En los tratamientos con consorcios micorrízicos como inoculantes se observaron longitudes de raíces superiores al testigo (agua destilada estéril); sin embargo, el consorcio micorrízico

extraído desde la localidad de Montalvo mostró mayor longitud de raíz por volumen respecto a las otras cepas.

En el presente estudio, el largo total de raíz por planta (RL) y la longitud total de raíz por volumen de suelo (RLv) mostraron un comportamiento similar. En la evaluación realizada a los 45 días después de las inoculaciones, las variables RL y RLv, aunque no existieron diferencias entre los tratamientos que contenían inóculo de micorriza si lo hicieron frente al tratamiento testigo. La habilidad de las plantas para tomar ventaja de los nutrientes disponibles en el suelo, está sujeta a las propiedades morfológicas y fisiológicas de su sistema radicular. Las variables largo total de raíz por planta (RL) y longitud total de raíz por volumen de suelo (también conocida como densidad de longitud radicular (RLv), son parámetros que caracterizan la capacidad de absorción de una especie vegetal.

No existió significancia estadística sobre el efecto del inóculo con HMA en la concentración de P en el tejido vegetal, y no se registró un efecto de las cepas ($p > 0.05$). Por otro lado, las variedades INIAP-307 y P-34 se mostraron sensibles a ser infectadas, Con los inóculos de HMA procedente de la localidad de Babahoyo, se alcanzó la mayor concentración de P (0.23%) a nivel tisular, mientras que las menores concentraciones se obtuvieron con cepas de Mocache en la

variedad INIAP-307 y P-34 con 0.17% y 0.19%, respectivamente.

La reducida absorción del P, desde la solución del suelo hasta la superficie radical, es debido al lento movimiento de este ion; situación que es superada en parte por las micorrizas, ya que incrementan la capacidad de exploración radical y mejoran las posibilidades de acceder a iones fosfato de diferente familia (H_2PO_4 o HPO_4). Esta aproximación también es sustentada por Claassen & Steingrobe (1999) quienes señalan que pequeñas estructuras como pelos radicales e hifas de las micorrizas tienen mayor superficie de contacto.

Por otro lado, Brady & Weil (1999) sostienen que la poca movilidad que tiene el P en el suelo es superada, en parte, por el movimiento de las raíces hasta los iones fosfato (intersección radical). Similar papel cumplen las hifas de los hongos de las micorrizas, al permitir el movimiento del P del suelo hasta las raíces de las plantas a través de las células estructurales de las hifas, donde los mecanismos adsorción – desorción, precipitación – dilución e inmovilización – mineralización, descritos detalladamente por Porter-Bolland (2003) no interfieren con el movimiento del P. Vásquez y Pinochet (2012) estimaron en términos relativos el efecto residual del P de siete localidades del Ecuador, observando que más o menos

el 50% del P soluble aplicado al suelo es retenido al término de 180 días luego del evento de fertilización. Este resultado deja de manifiesto la elevada capacidad del suelo de retener P y la importancia de implementar prácticas agronómicas, como el uso de micorrizas para mitigar la retención P soluble que exhiben naturalmente los suelos.

**EXPERIMENTO 3. EFECTO DE LA INOCULACIÓN
COMBINADA BACTERIA-HONGO EN EL
CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO EN DOS
VARIEDADES COMERCIALES DE SOYA A NIVEL DE
CAMPO**

**ALTURA DE PLANTA, PESO DE SEMILLAS DE DIEZ
PLANTAS, PESO DE CIEN SEMILLAS Y
RENDIMIENTO DE GRANO**

En altura de planta, hubo diferencias estadísticas altamente significativas para inóculos y variedades, y para la interacción sólo significativa. Los tres tratamientos con inóculo (bacteria, hongo y bacteria con hongo) presentaron las mayores alturas de planta dentro de las dos variedades y superaron al testigo sin inóculo.

En lo que respecta al peso de semilla de diez plantas, el uso de la bacteria y del hongo de manera independiente en las dos

variedades, así como la inoculación con la bacteria y el hongo en la variedad INIAP-307 fueron diferentes estadísticamente a los tratamientos sin aplicación de la bacteria y hongo en las dos variedades y con la aplicación de bacteria y sin el hongo en la variedad P-34.

En el peso de cien semillas de todos los tratamientos con la variedad P-34 presentaron los promedios más altos y superiores a los tratamientos con la variedad INIAP-307. En cuanto a rendimiento de grano, el promedio más alto se registró en el tratamiento con hongo y la variedad INIAP-307 (2,826.53 kg ha⁻¹), siendo estadísticamente igual a todos los tratamientos evaluados (con y sin bacteria y hongo en las dos variedades), Los menores valores se registraron en las dos variedades sin aplicación de bacteria y hongo de las variedades (INIAP-307 2336.98 y P-34 2260.23 kg ha⁻¹, respectivamente). Estos resultados se atribuyen básicamente a la efectividad que tienen los hongos micorrízicos y las cepas bacterianas de *Bradyrhizobium* para mejorar las condiciones fisiológicas de las plantas, en relación al testigo que no fue inoculado con ninguna cepa.

Respecto a la altura de las plantas, se observó que se encuentra en correspondencia con los componentes del rendimiento, peso de semilla de diez plantas y número de semillas por vaina. Este

efecto se debe, principalmente, a la simbiosis que lleva a cabo la planta con dos simbiontes al mismo tiempo (*Bradyrhizobium* y HMA), el primero va a suministrar nitrógeno a las plantas inoculadas y el segundo va a crear una red de hifas, que partiendo del interior de la raíz va a explorar un área mayor que el sistema radical de las plantas que no fueron inoculadas con *Glomus*. Este simbionte puede solubilizar y traslocar a las plantas todos aquellos elementos que se encuentran en el suelo, incluso en forma no disponible. Las hifas del hongo, que son finísimos capilares, tienen la capacidad de extraer el agua del suelo a presiones osmóticas donde la raíz de la planta por sí sola no es capaz de extraerla (Blanco & Salas, 1997; Siquiera, Texeira & Faquim, 2003; Caballero-Mellado, 2006 y Rivera *et al.*, 2007). Todos estos efectos se unen para proporcionar a la planta inoculada una mayor nutrición, que también tiene un efecto importante en el peso de los granos y, junto a los otros componentes, van a proporcionar un mayor rendimiento. Estos resultados corroboran los obtenidos por Hernández & Cuevas (2003), trabajando con la variedad de soya G7-R-315, coinoculada con *Bradyrhizobium japonicum* y *Glomus fasciculatum*, donde se obtuvo una respuesta alta en el rendimiento superando al testigo inoculado solamente con *Bradyrhizobium japonicum* en 0.93 t ha⁻¹.

Otros trabajos realizados por Corbera J. , Nápoles, Núñez & Fernández (2006) también mostraron rendimientos altos con las coinoculaciones *Bradyrhizobium japonicum* (fermentación tradicional) e inoculantes con base en hongos micorrizógenos del género *Glomus* en el recubrimiento de las semillas de soya antes de la siembra, equivalentes a los de una fertilización de 120 kg de N ha⁻¹, al comparar con testigos de dosis de nitrógeno, superando en un 13.76% al testigo. Como resultado del trabajo de Corbera *et al.* (2006), el tratamiento donde se utilizó la coinoculación *Bradyrhizobium japonicum* (fermentado en medio Nod) + inoculante a base de HMA en el recubrimiento de las semillas antes de la siembra, obtuvo rendimientos que superaron en 25.64% al rendimiento del testigo, debido a una mayor eficiencia en la fijación de nitrógeno por la bacteria y entre simbiosis. Resultados muy similares se alcanzaron en Cuba por Corbera J. (1998) en inoculaciones con *Bradyrhizobium japonicum* comparadas con coinoculaciones de *Glomus hoilike* + *Bradyrhizobium japonicum* en soya, variedad INCASOY-1, encontrando diferencias significativas entre tratamientos y mejores resultados en la coinoculación que en la inoculación, tanto para el rendimiento como para los índices número de vainas por planta, número de granos por vaina y peso promedio de 100 granos.

RENDIMIENTO, COSTOS E INGRESO

Se determinó que el mayor rendimiento fue registrado en el tratamiento INIAP-307 con hongo (2826.53 kg ha⁻¹), seguido de los tratamientos INIAP-307 con bacteria e INIAP-307 con bacteria y con hongos (2727.15 y 2665.0 kg ha⁻¹ en su orden. Al analizar los costos de producción de los tratamientos bajo el efecto de la inoculación con hongos y bacterias, estos presentan valores desde 25 a 40 centavos de dólar por kilogramo producido de soya y, para los tratamientos considerados como testigos, los costos alcanzaron valores de 17 a 18 centavos de dólar por cada kilogramo de soya producido. Referente a los ingresos, los mejores tratamientos fueron INIAP-307 con hongo (1588.99 USD ha⁻¹) seguido de los tratamientos INIAP-307 con bacteria y INIAP-307 con bacteria y con hongos (1533.12 y 1498.18 USD ha⁻¹ en su orden).

RENTABILIDAD

Los tratamientos sin bacterias y sin hongos presentaron un beneficio neto de 887.86 (INIAP-307) y 826.22 (P-34), la relación beneficio-costos fue de 2.08 y 1.86 respectivamente.

Los tratamientos inoculados tuvieron rendimientos superiores con relación a los trataminetos sin inoculación, pero los costos de producción fueron mas altos, por ende se obuvo un menor beneficio neto. Sin embargo, a pesar de obtener menor rentabilidad con relación a los tratamientos sin inoculación, la nueva tecnología también fue rentable económicamente ya que la relación beneficio costo indicó que por cada dólar que el agricultor invirtió, obtuvo un retorno de capital de 0.41 a 1.26 centavos de dólares. Los tratamiento inoculados que presentaron la mejor relación beneficio costo es para (t5) Iniap 307 con hongo 1.26 seguido del tratamiento (t3) INIAP-307 con bacteria, 1.04.

Al realizar una comparación entre los testigos y los tratamientos bajo la inoculación combinada de hongos y bacterias, se determinó que estos últimos presentaron mayor rendimiento y mayor costo de producción, por ende, la rentabilidad fue menor debido a que al momento de comercializar la producción en el mercado, el precio de venta fue similar entre el grano de soya producido convencionalmente con el precio de la soya producida orgánicamente. Por otra parte, el efecto sinérgico en el crecimiento y la absorción de nutrientes de la soya respondió positivamente a las expectativas de mejorar el suelo, el rendimiento del cultivo y en su conjunto al proceso amigable

con el ambiente y con la economía de los agricultores del país, al tener una nueva alternativa de siembra utilizando energía y nutrientes.

PUNTO DE EQUILIBRIO

El punto de equilibrio es el nivel óptimo que se debe producir en un determinado cultivo para no perder ni ganar. En este estudio se estableció que para no perder ni ganar en el cultivo de soja se debe producir en el tratamiento “Sin bacteria y sin hongo INIAP-307”, 664 05 kg ha⁻¹, en el tratamiento “Sin bacteria y sin hongo P-34”, 677 73 kg ha⁻¹; en el tratamiento “Con bacteria INIAP-307”, 886.85 kg ha⁻¹; en el tratamiento “Con bacteria P-34”, 912.87 kg ha⁻¹; en el tratamiento “Con hongo- INIAP-307”, 839 06 kg ha⁻¹; en el tratamiento “Con hongo P-34”, 879.22 kg ha⁻¹; en el tratamiento “Con bacteria y con hongo-INIAP-307”, 1173.31 kg ha⁻¹ y en el tratamiento “Con bacteria y con hongo P-34” 1242.81 kg ha⁻¹.

Como conclusión definimos lo siguiente:

El peso húmedo y seco de la parte aérea de la planta, y los números de nódulos por planta, fueron superiores en la variedad INIAP-307 en todas las localidades, mientras que la variedad P-34 fue superior en el peso de nódulo fresco y seco.

Con los inóculos de *Bradyrhizobium* sp., procedentes de la localidad de Montalvo se alcanzaron las mayores concentraciones de N (0.13%) a nivel tisular, seguido de los inóculos procedentes de Buena Fe, Valencia y Babahoyo (0.10%); mientras que, con los inóculos de *Bradyrhizobium* sp., procedentes de la localidad de Mocache se alcanzaron las mayores concentraciones de N (17.34 mg N kg⁻¹) a nivel del suelo,

La colonización micorrízica no influyó significativamente dentro de las raíces de soya, encontrándose que el porcentaje de colonización estuvo comprendido entre 3.49% y 3.75%, lo cual es un porcentaje muy bajo en relación a otras especies inoculadas con estos simbioses.

Se encontró un efecto significativo ($p < 0.05$) del inóculo con HMA sobre la concentración de P en el tejido vegetal, siendo las variedades INIAP-307 y P-34 sensibles a ser infectadas, por mostrar incrementos en el contenido de P con respecto al testigo.

Con los inóculos de HMA procedentes de las localidades de Montalvo y Valencia se alcanzaron las mayores concentraciones de P a nivel tisular (0.23%).

El mayor rendimiento fue registrado en el tratamiento con hongo en la variedad INIAP-307 (2826.53 kg ha⁻¹).

La mejor relación beneficio costo (2.08) lo mostró la variedad INIAP-307 sin bacteria y sin hongo, mientras que para los tratamientos inoculados el tratamiento que presentó el mejor beneficio costo (1.26) fue INIAP-307 con hongo, lo que demuestra que esta tecnología es viable y rentable para el agricultor ya que a más de mejorar el rendimiento del cultivo, mejora la calidad del suelo constituyéndose en una práctica amigable con la naturaleza y con la economía de los agricultores.

REFERENCIAS

- Alezones, J. & Zocco, J. (2007). *Mejoramiento genético y producción de semilla de soya*. Yaracuy, Venezuela: Fundación Danac.
- Allen, M. (1991). *The ecology of Mycorrhizae*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Barea, J. (1998). Biología de la rizosfera. *Investigación y Ciencia*, 256, 74-81.
- Barrera, S. & Rodríguez, N. (2010). Efecto de hongos micorrizicos arbusculares en plántulas de *Elaeis guineensis* (palmaceae) con alto nivel de P en el suelo. *Acta biol.colomb*, 15(1), 105-114.
- Bernal, G. (2003). *Selección de cepas de Rhizobium adaptadas a condiciones de campo, y su uso como inoculantes de leguminosas de la Sierra y Costa Ecuatoriana*. Ecuador: Proyecto Promsa IQ-CV-081.
- Bernal, G. (2005). *La fijación biológica de Nitrógeno: Componente clave en el mejoramiento de la fertilidad de los suelos y rendimientos de cultivos en el Ecuador*. Ecuador: Fundación GAIA, INIAP.
- Blanco, F. & Salas, E. (1997). Micorrizas en la Agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 21(1), 55-67.
- Boddey, L. & Hungria, M. (1997). Phenotypic grouping of Brazilian *Bradyrhizobium* strains which nodulate soybean. *Biol Fertil Soils*, 25, 407-415.

- Bowen, G. (1980). *Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Brady, N. & Weil, R. (1999). *The nature and properties of soils. 12th ed.* New Jersey: Prentice Hall. 881 p.
- Brito, F. (1992). *La soya, fuente barata de proteína y su utilización*. Quevedo-Ecuador: Estación Experimental Tropical Pichilingue. Boletín divulgativo N. 226, 35 p.
- Bustos, K. & Herrera, J. (2010). *Estudio de la adaptabilidad y los contenidos de proteína y grasa de cuatro variedades de soya (Glycine max), en la finca San Isidro, "Pamba Hacienda", canton Mira, Provincia del Carchi*. Tesis de Ingeniería. Carchi: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 143 p.
- Caballero-Mellado, J. (2006). Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. *Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 154-161.
- Cadena Agroalimentaria de la Soya (2003). Programa estratégico de necesidades de investigación y transferencia de tecnología del estado de Chiapas. México: Fundación Chiapas A.C. e Instituto Tecnológico de estudios superiores de Monterrey Campus Chiapas.
- Calero, E. (2008). *El cultivo de soya en el Ecuador*. Guayaquil. Corsoya y Bolsa de Productos de Ecuador. Manual técnico divulgativo. 71 p.
- Calvet, P., Estaún, M. & Camprubí, N. (1999). Perspectivas futuras para la micorrización de los frutales. *Profesional de sanidad vegetal*, 114, 52-57.

- Cárdenas, D., Garrido, M., Roncallo, B. & Bonilla, R. (2014). Inoculación con *Azospirillum* spp y *Enterobacter agglomerans* en Pasto Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) en el Departamento de Cesar (Colombia). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 67(2), 7271-7280.
- Casado, A. & Fernández, M. (1998). Estudio "in vitro" sobre la fertilización natural de pastizales, Suelos de la Sierra de Guadarrama. *Edafología*, 5, 121-128.
- Chapman, B. (2010). *Evaluación del potencial simbiótico de consorcios micorrízicos aplicados en cacao y soya bajo condiciones controladas*. Tesis de Ingeniería. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo. 78 p.
- Claassen, N. & Steingrobe, B. (1999). *Mechanistic simulation models for a better understanding of nutrient uptake from soil*. En: *Mineral nutrition of crops. Fundamental mechanisms and implications*. New York, NY: Haworth Press.
- Corbera, J. (1998). Coinoculación *Bradyrhizobium japonicum*-micorriza vesículo arbuscular como fuente alternativa para el cultivo de la soya. *Cultivos Tropicales*, 19(1), 17-20.
- Corbera, J., Nápoles, C., Núñez, M. & Fernández, F. (2006). Empleo del conjunto de biofertilizantes y el estimulador del crecimiento vegetal BB-16 como tecnología para la producción de soya (*Glycine max*) cultivada sobre un suelo ferrasol. (pp. 8-10). La Habana: Congreso Cubano de la Ciencia del Suelo.

- Corbera, N. & Nápoles, M. (2000). Evaluación agronómica de la coinoculación de *Bradyrhizobium japonicum* y hongos micorrizógenos arbusculares en el cultivo de la soya sobre suelo ferralítico rojo compactado. *Cultivos tropicales*, 21(1), 21-25.
- Corbera, N. & Nápoles, M. (2010). Producción de soya en invierno con el empleo combinado de *Bradyrhizobium japonicum*-hongos MA y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal. (pp. 22-26). San José de las Lajas: XVII Congreso Científico del Inca.
- Criollo, F. (2010). *Utilización de la soya y quinua en la elaboración de preparaciones gourmet*. Riobamba, Ecuador: ESPOCH.
- Damiani, O. (2003). La adopción de la agricultura orgánica por parte de los pequeños agricultores de América Latina y el Caribe. (p. 115). Turrialba, Costa Rica: Multiprint.
- De las Heras, J., Fabeiro, C. & Meco, R. (2003). *Fundamentos de Agricultura ecológica. Realidad actual y perspectivas*. España: Universidad de Castilla-La Mancha.
- Díaz, A., Jacques, C. & Peña Rio, M. (2008). Productividad de sorgo en campo asociada a micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense*. *Universidad y Ciencia*, 24(3), 229-237.
- Díaz, P., Ferrera, R., Almaraz-Suarez, J. & Alcántar, G. (2001). Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana*, 19(4), 327-335.

- Enriquez, F., Nuñez, L. & Paillacho, F. (2010). Evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del palmito (*Bactris gasipaes*, Kunt) en etapa de vivero. (pp. 1-10). Quito: XII Congreso Ecuatoriano de Ciencia del Suelo.
- FAO (Food & Agriculture Organization). (1995). *Manual técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno. Leguminosa/Rhizobium*. FAO. Roma, Italia. 185 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2004). *Perspectivas alimentarias. Sistema mundial de información y alerta sobre la agricultura y la alimentación*. Diciembre, No. 4. FAO. Roma, Italia. 48 p.
- Fiallos, N. & Luna, R. (2011). *Estudios de los recursos productivos de la Provincia de Los Ríos y propuesta de un proyecto empresarial que potencialice dichos recursos*. Guayaquil, Ecuador. Tesis de Ingeniería. Universidad Politécnica Salesiana. 72 p.
- Finol, J., Fernández, L., Nava, C. & Esparza, D. (2004). Efecto de fuentes y dosis de nitrógeno sobre la producción y calidad del fruto del banano (*Musa* grupo AAA subgrupo Cavendish clon "Gran Enano") en la Planicie Aluvial del Río Motatán. *Facultad de Agronomía*, 21(3), 221-232.
- Gerderman, J. & Nicholson, T. (1963). Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46, 235-244.

- Giovanetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. *New phytologist*, 84, 489-500.
- Goyes, D. & Laborde, F. (2007). *Efecto del biol, y Bradyrhizobium japonicum en el cultivo de soya (Glycine max L. Merrill) en la época seca en la zona de Patricia Pilar*. Quevedo, Ecuador: UTEQ.
- Grijalva, M. (1990). *Eficiencia de cuatro cepas de Bradyrhizobium japonicus en dos variedades de soya (Glycine max L.) utilizando el método del Isotopo No.15*. Quito: Tesis de Ingeniería. Universidad Central del Ecuador. 61 p.
- Harley, J. & Smith, S. (1983). *Mycorrhizal Symbiosis*. London and New York: Academic Press, pp. 483.
- Hernández, M. & Cuevas, F. (2003). The effect of inoculating with arbuscular mycorrhiza and *Bradyrhizobium strains* on soybean (*Glycine max* (L) Merrill) crop development. *Cultivos Tropicales*, 24(2), 19-21.
- Hernández-Valencia, I. & Montserrat, B. (2005). Cambios en el contenido de fósforo en el suelo superficial por la conversión de sabanas en pinares. *Bioagro*, 17(2), 69-78.
- Hungria, M., Andrade, D., Colozzi, A. & Balota, E. (1997). Interactions among soil organisms and bean and maize

- grown in monoculture or intercropped. *Pesq. Agropec. Bras.*, 32, 807-818.
- ICA. (1994). *El cultivo de la soya*. Palmira: Instituto Colombiano Agropecuario. Manual de asistencia técnica No. 60. ICA-CORPOICA. Palmira, Colombia. 465 p.
- INAMHI. (2012). *Anuario meteorológico Quevedo*. Quevedo, Los Ríos, EC. : Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología.
- INEC. (2012). *Sistema Agroalimentario de la soya*. Ecuador: Instituto Nacional de estadística y censos. (en línea). Consultado el 5 de febrero de 2013. Disponible en <http://www.ecuadorencifras.com/sistagroalim/pdf/Soya.pdf>
- INIAP. (2005). *Manual del cultivo de soya*. Quevedo: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 2da ed. 153 p.
- Iñiguez, M. (2002). *Estudio de poblaciones de plantas en la nueva variedad INIAP-306 y líneas avanzadas de soya en la zona de Taura*. Ecuador: Universidad Agraria del Ecuador.
- Iribarne, M., Balagué, L., Diosma, D. & Balatti, P. (1998). Capacidad de fijación de nitrógeno de estirpes autóctonas de *Mesorhizobium* spp. en simbiosis con dos poblaciones mejoradas de *Lotus glaber* (Miller). *Facultad de Agronomía, La Plata*, 103(2), 157-164.
- Jia, J., Tong, C., Wang, B., Luo, L. & Jiang, J. (2004). Hedgehog signalling activity of Smoothed requires

- phosphorylation by protein kinase A and casein kinase I. *Nature*, 432(7020), 1045-1050.
- Jungk, A. & Claassen, N. (1997). Ion diffusion in the soil-root system. *Adv. Agron.*, 61, 53-110.
- Koutroubas, S., Papakosta, D. & Gagianas, A. (1998). The importance of early dry matter and nitrogen accumulation in soybean yield. *European Journal of Agronomy*, 9(1), 1-10.
- Kumudini, S., Hume, D. & Chu, G. (2001). Genetic improvement in short season soybeans: I. Dry matter accumulation, partitioning, and leaf area duration. *Crop Science*, 41(2), 391-398.
- Labandera, C. (1996). Aplicaciones agronómicas de la fijación del nitrógeno en Uruguay. *Memorias XVIII Reunión Latinoamericana de Rhizobiología* (pp. 353-365). Bolivia: Santa Cruz de la Sierra.
- Malloch, D., Pirozynski, K. & Raven, P. (1980). Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (A Review). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(4), 2113-2118.
- Medina, L., Rodríguez, Y., Torres, Y. & Herrera, R. (2010). Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona de las Caobas, Holguín. *Cultivos Tropicales*, 31(3).
- Morales, R. & Morango, W. (2008). Resultados en la obtención de inóculos de hongos micorrízicos en cultivos de cacao (*Theobroma cacao*) y soya (*Glycine max*). *XI Congreso*

Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo (pp. 1-9). Quito: Sociedad Ecuatoriana de la Ciencia del Suelo.

Nápoles, G. (2003). *Inducción de la nodulación en soya (Glycine max (L.) Merrill) por Bradyrhizobium sp. Influencia del medio de cultivo*. Cuba: Universidad de La Habana.

Neyra, M. (1995). *Manual técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno: leguminosa-Rhizobium*. Roma: FAO.

Nogales, B. (2005). La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. *Ecosistemas*, 14(2), 41-51.

Orive, R. & Temprano, F. (1993). *Leguminosas de granos. Simbiosis Rhizobium-leguminosas*. Madrid: Mundi-prensa.

Parada, F., Jaén, D., Becerril, A. & García, E. (2001). Desarrollo y calidad del portaingerto del chicozapote inoculado con *Glomus mosseae*, aspersión de AG3 y fertilización. *Terra Latinoamericana*, 19(2), 133-139.

Phillips, J. M. & Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Brit. Mycol.*(55), 158-161.

Porter-Bolland, L. (2003). La apicultura y el paisaje Maya. Estudio sobre la fenología de floración de las especies melíferas y su relación con el ciclo apícola en La Montaña Campeche. *Mexican Studies*, 19(2), 303-330.

- Prieto, B. (2010). *Identificación y selección de hongos micorrízicos en sistemas agroforestales con Theobroma cacao L. (cacao)*. Tesis de Ingeniería. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. 73 p.
- Prieto, B., Belezaca, P., Mora, S., Vallejo, Z., Gutiérrez, V. & Pinargote, E. (2011). Inoculación de *Brachiaria decumbens* con hongos formadores de micorriza arbuscular nativos del trópico húmedo ecuatoriano. *Ciencia y Tecnología*, 4(2), 9-18.
- Punos, L., Iglesias, M. & Sotelo, C. (2006). *Fertilización azufrada en soja, su relación con el nivel de nodulación y el grado de micorrización*. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas A-036, 1(2): 1-4.
- Quintero, L., Acevedo, X. & Salazar, M. (2004). *Costos de producción de bienes agrícolas en Colombia*. Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Raghothama, K. (1999). Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50(1), 665-693.
- Rivera, R., Fernández, F., Fernández, K., Ruiz, L., Sánchez, C. & Riera, M. (2007). *Advances in the management of effective arbuscular mycorrhizal symbiosis in tropical ecosystems; En las micorrizas en las producciones agrícolas* (Vol. Cap. V). New York: Hamel. C. y Plenchette, C.

- Salisbury, F. & Ross, C. (2000). *Fisiología de las Plantas 3. Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental*. Madrid, España: Paraninfo.
- Schnepf, A. & Roose, T. (2006). Modelling the contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to plant phosphate uptake. *New Phytologist*, 171(3), 669-682.
- Senaratne, R., Amornpimol, C. & Hardarson, G. (1987). Effect of combined nitrogen fixation of soybean (*Glycine max* L. Merrill) as affected by cultivar and Rhizobial strains. *Plant and Soil*, 103(1), 45-50.
- Sessitsch, A., Howieson, J., Perret, X., Antoun, H. & Martínez-Romero, E. (2002). Advances in Rhizobium research. *Crit. Rev. Plant Sci*, 21, 323-378.
- Simon, L., Bousquet, J., Levesque, R. & Lalonde, M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363(6424), 67-69.
- Siquiera, J., Texeira, A. & Faquim, V. (2003). O papel dos microorganismos na disponibilidade de fósforo da Rizosfera para as plantas. *Informaciones Agronómicas* (102), 3.
- Somasegaran, P., Hoben, H. & Burton, J. (1992). A medium-scale fermentor for mass culture of rhizobia. *World J Microbiol Biotech*, 8(3), 335-336.
- Steubing, L., Godoy, R. & Alberdi, M. (2002). *Métodos de Ecología vegetal*. Santiago, Chile: Editorial Universitaria. 345 p.

- Strack, D., Fester, T., Hause, B., Schliemann, W. & Walter, M. (2003). Arbuscular mycorrhiza: biological, chemical, and molecular aspects. *Journal of Chemical Ecology*, 29(9), 1955-1979.
- Summerfield, J., Huxley, P. & Minchin, F. (1977). Plant husbandry and management techniques for growing grain legumes under simulated tropical conditions in controlled environments. *Experimental Agriculture* (13), 81-92.
- Taylor, T., Remy, W., Hass, H. & Kerp, H. (1995). Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian. *Mycologia*, 87(4), 560-573.
- Tejada, M. & Rodríguez, O. (1989). Metodologías para evaluar la cobertura de residuos en el control de la erosión. In: Conservación de suelos y aguas. La erosión hídrica, diagnóstico y control. *Alcance* (37).
- Urzúa, H. (2000). Fijación simbiótica de nitrógeno en Chile: Importante herramienta para una agricultura sustentable. (pp. 211-227). Arequipa, Perú: XX Reunión Latinoamericana de Rhizobiología.
- Valencia, R. (2010). *Respuesta diferencial de variedades de soya a la asociación simbiótica con cepas de Bradyrhizobium japonicum, en oxisoles de la Orinoquia colombiana*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Videla, C., Ferrari, J., Echeverría, H. & Travasso, M. (1996). Transformaciones del nitrógeno en el cultivo de trigo. *Ciencia del Suelo*, 14(1), 1-6.

- Vincent, J. (1970). *A manual for the practical study of the rootnodule bacteria*. IBP. Hamdbook No. 15. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Weber, C. (1966). Nodulation and nonodulation soybean isolines. *Agron.J.*(58), 43-49.
- Zambrano, W. & Sandoya, F. (2002). *Valoración de opciones de compra y venta del quintal de soya en el mercado ecuatoriano*. Guayaquil: Escuela Politécnica del Ecuador.

Descubre tu próxima lectura

Si quieres formar parte de nuestra comunidad,
regístrate en <https://www.grupocompas.org/suscribirse>
y recibirás recomendaciones y capacitación



   @grupocompas.ec
compasacademico@icloud.com

compAs
Grupo de capacitación e investigación pedagógica

   @grupocompas.ec
compasacademico@icloud.com

ISBN: 978-9942-33-503-6



@grupocompas.ec
compasacademico@icloud.com

compAs
Grupo de capacitación e investigación pedagógica