



**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL**

**Sede Santo Domingo**

**DIRECCIÓN GENERAL DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN NUTRICIÓN VEGETAL**

**“EFECTO DE LA INOCULACIÓN COMBINADA DE MICORRIZAS Y  
*BRADYRHIZOBIUM* EN EL CRECIMIENTO Y ABSORCIÓN DE NUTRIENTES  
DE LA SOYA (*Glycine max* L. Merrill)”**

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR EL GRADO DE MAGÍSTER EN NUTRICIÓN VEGETAL**

**AUTOR**

Freddy Agustín Sabando Ávila

**DIRECTOR**

Ramón Gustavo Bernal Gómez, Ph. D.

**Santo Domingo – Ecuador**

**ABRIL – 2015**

**“EFECTO DE LA INOCULACIÓN COMBINADA DE MICORRIZAS Y  
BRADYRHIZOBIUM EN EL CRECIMIENTO Y ABSORCIÓN DE NUTRIENTES  
DE LA SOYA (*Glycine max* L. Merrill)”**

Ing. Ramon Gustavo Bernal Gomez, Ph.D.  
**DIRECTOR DE TESIS**

---

**APROBADO**

Dra. Luz María Martínez Buñay, MSc.  
**PRESIDENTA DEL TRIBUNAL**

---

Ing. M.Sc. Manuel Benjamin Suquilanda, MSc  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Edison Gastón Silva Cifuentes, Ph.D.  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Santo Domingo.....de Abril 2015.

## **CERTIFICACIÓN DEL ESTUDIANTE DE AUTORÍA DEL TRABAJO**

Yo, Agustín Sabando Ávila declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría y que no ha sido presentado para ningún grado o calificación profesional.

Además, de acuerdo a la Ley de Propiedad Intelectual, todos los derechos del presente trabajo de investigación pertenecen a la Universidad Tecnológica Equinoccial, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente.

---

**Freddy Agustín Sabando Ávila**

**C.I. 1203055163**

## **INFORME DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE GRADO**

En mi calidad de Director del Trabajo de Grado “Efecto de la inoculación combinada de Micorrizas *Bradyrhizobium* en el crecimiento y absorción de nutrientes de la Soya (*Glycine max* L. Merrill).”, realizado por el Ing. Freddy Agustín Sabando Ávila, para optar el título de MAGÍSTER EN NUTRICIÓN VEGETAL ,certifico que dicho trabajo reúne los requisitos y disposiciones emitidas por la Universidad Tecnológica Equinoccial por medio de la Dirección General de Posgrados para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal examinador que se designe.

En la Ciudad de Santo Domingo, a los            días del mes de Abril del 2015.

---

**Ramón Gustavo Bernal Gómez Ph.D.**

**C.I. 1705288106**

# *Agradecimiento*

El autor deja un especial agradecimiento y reconocimiento por sus estudios de posgrado a las siguientes personas e instituciones:

- Dr. Álvaro Trueba Barahona. Rector de la Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Eco. Joaquín Morales Llumiquinga. Pro - rector de la Universidad Tecnológica Equinoccial Campus Santo Domingo de los Tsáchilas.
- Dra. Luz María Martínez. Coordinadora del Programa de Maestría en Nutrición Vegetal. Universidad Tecnológica Equinoccial Campus Santo Domingo de los Tsáchilas.
- Ing. For. M.Sc. Manuel Haz Álvarez. Ex - Rector de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo <sup>(+)</sup>.
- Ing. Zoot. M.Sc. Roque Vivas Moreira. Rector de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Ing. Agr. M.Sc. Gorki Díaz Coronel. Director de la Unidad de Investigación Científica y Tecnológica UICYT – UTEQ.
- Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional Autónomo de investigaciones Agropecuarias (INIAP).
- Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por el financiamiento de la tesis y contribuir con el desarrollo de la investigación.
- Dr. Eduardo Díaz. Coordinador de la unidad de posgrado de la – UTEQ.
- Ing. Agr. M.Sc.. William Burbano. Vicerrector académico de la – UTEQ.
- Un reconocimiento especial al Ph.D. Gustavo Bernal. Director de tesis que me brindó sus conocimientos y experiencias para terminar uno de mis objetivos.
- Ing. Agr. M.Sc. Manuel Suquilanda. Miembro del tribunal de tesis.
- Dr. Edison Silva. Miembro del tribunal de tesis, por sus enseñanzas.
- Dr. Manuel Carrillo. Por sus enseñanzas.
- Ing. Agr. M.Sc. Daniel Vera Avilés. Docente investigador de la UTEQ.
- Ph.D. Betty Gonzales Osorio. Docente investigador de la UTEQ.
- Ing. Agr. M.Sc. Fernando Cabezas. Docente investigador de la UTEQ.
- Ing. Oscar Prieto e Ing. Washington Mora, por su colaboración en el desarrollo de la tesis en el laboratorio de microbiología de la UTEQ.

- A mis compadres Ing. Agr. Mauro Briones Álava y Gabriel Liu-Ba Delfini.
- Ing. Agr. Luis Godoy Montiel. Docente investigador de la UTEQ.
- Ing. Agr. M. Sc. Gregorio Vascones. Docente Investigador de la UTEQ.
- Ing. Agr. Gary Meza. Docente Investigador de la UTEQ.
- Ing. Alexandra Barrera. Docente Investigador de la UTEQ.
- A todos mis compañeros de maestría, en especial a los Ing. Manuel Remache, Patricio Cedeño, Edwin Hasan, Fernando Pazmiño, Xavier Cuello, Leandro Cansing, Lister Caicedo
- A mis compañeros de trabajo, la Unidad de Investigación Científica y Tecnológica de la UTEQ.
- A los docentes de la maestría, que con sus elevados valores profesionales y amplias experiencias se han dignado en contribuir sus conocimientos y supieron guiar para una mejor formación académica.
- A todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron para la elaboración de la presente tesis.

# *Dedicatoria*

A Dios por haberme iluminado en mi formación profesional y alcanzar una meta más en mi vida.

A mis padres Luis Sabando y en especial a mi madre, Brígida Ávila quien constituye el pilar fundamental de mi vida y representa la fuerza y motivación para seguir adelante en mi carrera profesional.

A mis hermanos Mónica y Luis Sabando Ávila por transmitirme su confianza y fortaleza.

A mi señora Ing. Paola Intriago por su apoyo, comprensión y amor.

A mis hijos Bryan, Aldair y a mi pequeña Zuleyka que los quiero mucho a quienes les deseo lo mejor en la vida

**FREDDY SABANDO ÁVILA**

**ÍNDICE GENERAL****CAPÍTULOS**

	Pág
Portada .....	i
Índice general.....	viii
Índice de tablas.....	xi
Resumen.....	xiv
Summary.....	xv

**CAPÍTULO I****INTRODUCCIÓN**

1.1 Hipótesis.....	3
--------------------	---

**CAPÍTULO II****REVISIÓN DE LITERATURA**

2.1 Fundamentaciones.....	5
2.1.1 El cultivo de soya en Ecuador y su relación con Bradyrhizobium	5
2.1.2 Inoculación de la soya con Bradyrhizobium.....	8
2.1.3 Necesidad de re-inoculación.....	10
2.1.4 Efecto de las micorrizas en los cultivos.....	11
2.1.5 Beneficio de las micorrizas para el suelo.....	13

**CAPÍTULO III****MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1 Sitio de estudio.....	14
3.2 Técnicas y procedimientos.....	14
3.2.1 Experimento 1.- Eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de seis cepas de Bradyrhizobium a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales de soya.....	14
3.2.1.1 Aislamiento y conteo de esporas de hongos micorrízicos nativos asociados a la soya desde el suelo.....	15
3.2.1.2 Factores, tratamientos, diseño experimental y,	15

	variables en estudio.....	
	3.2.1.3 Manejo del experimento.....	18
3.2.2	Experimento 2. Efecto de la inoculación combinada bacteria- hongo en el crecimiento y rendimiento de dos variedades comerciales de soya a nivel de campo.....	19
	3.2.2.1 Aislamiento y conteo de esporas de hongos micorrízicos nativos asociados a la soya desde el suelo.....	19
	3.2.2.2 Factores, tratamientos, diseño experimental y, variables en estudio.....	19
3.2.3	Experimento 3. Efecto de la inoculación combinada bacteria- hongo en el crecimiento y rendimiento de dos variedades comerciales de soya a nivel de campo.....	22
3.3	VARIABLES Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN.....	24
	3.3.1 Germinación de semillas de soya.....	25
	3.3.2 Obtención y desinfección del suelo.....	25
	3.3.3 Riego y fertilización con la solución nutritiva.....	26
	3.3.4 Preparación de las soluciones nutritivas.....	27

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1.	Experimento 1.- Eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de seis cepas de Bradyrhizobium a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales de soya.....	28
	4.1.1 Peso húmedo de la parte aérea.....	28
	4.1.2 Peso seco de la parte aérea.....	29
	4.1.3 Número de nódulos y su peso en fresco y seco.....	30
4.2	Experimento 2. Eficiencia de la absorción del fósforo de las micorrizas en soya a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales.....	35
	4.2.1 Población de esporas y colonización micorrízica en seis suelos	35

cultivados con soya del litoral ecuatoriano.....	
4.2.1.1 Población de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA).....	35
4.2.1.2 Géneros de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) observados por localidad.....	36
4.2.1.3 Porcentaje de colonización micorrízica en raíces de soya en seis suelos del litoral ecuatoriano.....	37
4.2.2 Parámetros morfológicos.....	37
4.2.2.1 Altura de planta.....	37
4.2.2.2 Peso húmedo y seco del área foliar.....	38
4.2.2.3 Peso húmedo y seco del sistema radicular.....	40
4.3. Experimento 3. Efecto de la inoculación combinada bacteria-hongo en el crecimiento y rendimiento en dos variedades comerciales de soya a nivel de campo.....	44
4.3.1. Altura de planta, peso de semillas de diez plantas, peso de cien semillas y rendimiento de grano.....	44
4.4. Estudio económico.....	48
4.4.1. Rendimiento, costos e ingreso.....	48
4.4.2. Rentabilidad.....	48
4.4.3. Punto de equilibrio.....	49

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1 Conclusiones.....	52
5.2 Recomendaciones.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54
.....	
ANEXOS.....	

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 3.1. Factores de estudio y tratamientos evaluados para la respuesta a la fijación de nitrógeno de soya.....	16
Tabla 3.2. Esquema del análisis de varianza para la el estudio de respuesta a la fijación de nitrógeno de soya.....	16
Tabla 3.3. Factores de estudio y tratamientos evaluados para la respuesta de absorción de fósforo en soya .....	19
Tabla 3.4. Esquema del análisis de varianza para el estudio de eficiencia de fosforo en soya .....	20
Tabla 3.5. Esquema del análisis de varianza para el efecto de la inoculación combinada bacteria-hongo en dos variedades de soya .....	23
Tabla 3.6. Solución nutritiva Long Ashton en el cultivo de soya de distintas localidades del litoral ecuatoriano .....	27
Tabla 4.1. Promedios para peso húmedo de la parte aérea de la planta (g) los 45 días después de la siembra para dos variedades de soya inoculadas con seis cepas de <i>Bradyrhizobium</i> . Quevedo, 2011 .....	288
Tabla 4.2. Peso seco de la parte aérea de la planta área (g) a los 45 días después de la siembra para dos variedades de soya inoculadas con seis cepas de <i>Bradyrhizobium</i> . Quevedo, 2011 .....	299
Tabla 4.3. Número de nódulos por planta a los 45 días después de las inoculaciones con seis cepas <i>Bradyrhizobium</i> en dos variedades de soya .....	311
Tabla 4.4. Peso de nódulos frescos en raíces (g) a los 45 días después de las inoculaciones con seis cepas de <i>Bradyrhizobium</i> en dos variedades de soya.....	311

Tabla 4.5. Peso de nódulos secos en raíces (g) a los 45 días después de las inoculaciones con seis cepas de <i>Bradyrhizobium</i> en dos variedades de soya .....	322
Tabla 4.6. Concentración de N a nivel de tejido vegetal ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en dos cultivares de soya ( <i>Glycine max</i> ) INIAP-307 y P-34 inoculados con seis cepas de <i>Bradyrhizobium</i> , y sin inoculación .....	333
Tabla 4.7. Concentración de N a nivel de suelo cultivado con las variedades INIAP-307 y P-34 inoculadas con seis cepas de <i>Bradyrhizobium</i> , y sin inoculación.....	344
Tabla 4.8. Población total de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), de seis localidades del litoral ecuatoriano, cultivados con soya.....	366
Tabla 4.9. Promedios para altura de planta (cm), en dos variedades inoculadas con seis aislamientos de hongos micorrízicos .....	378
Tabla 4.10. Peso húmedo de la parte aérea de la planta (g) a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya .....	399
Tabla 4.11. Peso seco de la aérea de la planta (g) a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya .....	399
Tabla 4.12. Peso húmedo de sistema radicular (g) a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya .....	40
Tabla 4.13. Peso seco de sistema radicular a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya .....	41
Tabla 4.14. Longitud total de raíces (cm) por planta a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya .....	422

Tabla 4.15. Longitud de raíz por volumen de suelo (cm), a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya .....	42
Tabla 4.16. Concentración de P a nivel de tejido vegetal ( $\text{mg/Kg}^{-1}\%$ ) de los cultivares de soya INIAP-307 y P-34 inoculados con seis aislamientos con consorcios micorrízicos arbusculares .....	433
Tabla 4.17. Promedios de altura de planta (cm), para cuatro tratamientos de inoculación en dos variedades de soya .....	44
Tabla 4.18. Promedios de peso de semillas de diez plantas (g), de dos variedades de soya con cuatro tratamientos de inoculación .....	45
Tabla 4.19. Promedios de peso de 100 semillas (g), de dos variedades de soya con cuatro tratamientos de inoculación .....	45
Tabla 4.20. Promedios de rendimiento de grano ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), de dos variedades de soya con cuatro tratamientos de inoculación .....	46
Tabla 4.21. Rentabilidad de los tratamientos en el estudio “Efecto de la inoculación combinada de Micorrizas y Bradyrhizobium en el crecimiento y absorción de nutrientes de la soya ( <i>Glycine max</i> L. Merrill)” .....	50
Tabla 4.22. Punto de equilibrio de los tratamientos en el estudio “Efecto de la inoculación combinada de Micorrizas y Bradyrhizobium en el crecimiento y absorción de nutrientes de la soya” .....	511



# UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

Sede Santo Domingo

DIRECCIÓN GENERAL DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN VEGETAL

**“EFECTO DE LA INOCULACIÓN COMBINADA DE MICORRIZAS Y  
*BRADYRHIZOBIUM* EN EL CRECIMIENTO Y ABSORCIÓN DE NUTRIENTES  
DE LA SOYA (*Glycine max* L. Merrill)”**

**Autor: Freddy Agustín Sabando Ávila**

**Director: Ramón Gustavo Bernal Gómez Ph. D.**

**Fecha: Abril 2015**

## RESUMEN

Se evaluó la eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de *Bradyrhizobium* asociado a la absorción del fósforo de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en soya, se realizaron tres experimentos dos a nivel de laboratorio y uno en campo, combinando los beneficios de la utilización de *Bradyrhizobium* y micorrizas en plantas de soya. A nivel de laboratorio, se evaluaron dos factores: cepas con cinco niveles y variedades con dos niveles, se usó un diseño completamente al azar en arreglo factorial 7 x 2 con tres observaciones; los tratamientos fueron la combinación de los factores cepas y variedades comerciales P-34 e Iniap-307. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Se utilizó el diseño de bloques completos al azar (DBCA) en arreglo factorial 4 (Inóculos) x 2 (Variedades), con cuatro repeticiones, cada uno conformado por la mejor cepa de micorrizas a nivel de campo y se aplicó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. En el primer experimento se evaluó la eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de *Bradyrhizobium*. 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<sup>-1</sup>, respectivamente). En el segundo experimento se evaluó la absorción de P de las micorrizas arbusculares, obteniéndose que los inóculos de HMA procedentes de las localidades de Montalvo y Valencia, se alcanzó las mayores concentraciones de P (0.23%) a nivel tisular, seguido de los inóculos procedentes de Babahoyo y Buena Fe (0.22%). Finalmente en el tercer experimento que se realizó a nivel de campo se utilizó la combinación de *Bradyrhizobium* y micorrizas, la rentabilidad de los tratamientos se calculó con la relación beneficio-costo. Los mejores rendimientos lo registraron los tratamientos: INIAP-307 con hongo (2826.53 kg ha<sup>-1</sup>), seguido de los tratamientos INIAP-307 con bacteria e INIAP-307 con bacteria y

con hongos (2727.15 y 2665.0 kg ha<sup>-1</sup> en su orden). Resultados similares se obtuvieron en la relación beneficio-costo, los valores mas altos lo tuvieron los tratamientos INIAP-307 con hongo (1588.99 USD ha<sup>-1</sup>), seguido de los tratamientos INIAP-307 con bacteria e INIAP-307 con bacteria y con hongos (1533.12 y 1498.18 USD ha<sup>-1</sup> en su orden). El uso de micorrizas y *Bradyrhizobium* como estimuladores del crecimiento de las plantas y mejoradores de la calidad del suelo son muy eficientes según los resultados obtenidos en la presente investigación.

**Palabras claves:** Micorrizas, *Bradyrhizobium*, *Glycyne max*, variedades, inoculación.



# UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

Sede Santo Domingo

DIRECCIÓN GENERAL DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN VEGETAL

## “EFFECT OF COMBINED INOCULATION MYCORRHIZAE And BRADYRHIZOBIUM ON GROWTH AND NUTRIENT ABSORPTION OF SOYBEAN (*Glycine max L. Merrill*)”

Author: Freddy Agustín Sabando Ávila

Advisor: Ramón Gustavo Bernal Gómez Ph. D.

Fecha: April 2015

### SUMMARY

Efficiency in biological nitrogen fixation by *Bradyrhizobium* associated with the phosphorus absorption by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in soybean was evaluated in this research. Three experiments - two at the laboratory and one field - were performed. In the first trial six strains *Bradyrhizobium* with a standard and two varieties (P-34 and INIAP-307) in a completely randomized design in 7 x 2 factorial arrangement with three observations were evaluated; in the second test six mycorrhizal isolates and a standard inoculated in the same two varieties with an experimental design similar to the one it test 1 were evaluated. In the third trial, conducted in the field, eight treatments which consisted in inoculating the best *Bradyrhizobium* strains and the best mycorrhizal isolates, both individually and combined, in the two previously mentioned varieties with the cost - benefit ratio evaluation. A complete block randomized designed (DBCA) in factorial arrangement 4 (inoculants) x 2 (Variety) with four replications was used in this trial. Tukey's test was used in all three tests to compare means at 5% probability. In the first experiment, soybean variety P-34 inoculated with Mocache, Montalvo, Milagro and Babahoyo isolates showed the highest N (0.49; 0.42; 0.39 and 0.37 mg kg<sup>-1</sup> N, respectively) content. In the second experiment P concentrations at the tissue level were statistically equal in the two varieties with all isolates and the standard, but differences

between the inoculum and the witness in relation to wet and dry leaf area and root weight were observed. Finally in the third experiment, the best grain yields were recorded with treatments: INIAP-307 with fungi (2566.33 kg ha<sup>-1</sup>), followed by INIAP-307 treatments with bacteria and INIAP-307 with bacteria and fungi (2558.60 and 2428.30 kg ha<sup>-1</sup> in that order). Similar results were obtained in the cost-benefit ratio, being the highest values recorded for INIAP-307 treatments with fungus (2826.53 usd ha<sup>-1</sup>), followed by INIAP-307 treatments with bacteria and INIAP-307 with bacteria and fungi (2727.15 and 2665.0 usd ha<sup>-1</sup> in this order). The use of mycorrhiza and *Bradyrhizobium* as plants growth enhancers and soil quality improvers was very effective, according to the results obtained in this investigation.

Keywords: mycorrhizae, Bradyrhizobium, Glycyne max, varieties, inoculation.

## CAPÍTULO I

### 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.

### 1.1.Hipótesis

- Ho.- La inoculación combinada de *Bradyrhizobium* y un consorcio micorrízico estimula a las plantas de soya (*Glycine max* L. Merrill). En el crecimiento y absorción de nutrientes.
  
- H<sub>1</sub>.- La inoculación combinada de *Bradyrhizobium* y un consorcio micorrízico no estimula a las plantas de soya (*Glycine max* L. Merrill). En el crecimiento y absorción de nutrientes.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Antecedentes

Según Labandera (1996), la inoculación con *Bradyrhizobium* es responsable del rendimiento entre 800 y 1,000 Kg.ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, 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<sup>-1</sup> 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.

## **2.2 Fundamentaciones**

### **2.2.1 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).

### **2.2.2 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 proteínicas 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<sub>2</sub> 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<sup>-1</sup>; 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).

### 2.2.3 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<sub>2</sub>, conocidas colectivamente como rizobios, son micro simbioses facultativas que pueden infectar las raíces de la mayoría de las leguminosas y así reducir el N<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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, Amorpnimol & 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 N<sub>2</sub> 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).

#### **2.2.4 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  $N_2$ . 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).

### 2.2.5 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 simbioses implicados: 1) Formadoras de manto (ectomicorrizas); 2) Arbusculares (endomicorrizas); 3) Orquidoides (endomicorrizas); 4) Ericoides (endomicorrizas) 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 redundará 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).

### **2.2.6 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.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Sitio de estudio

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).

#### 3.2. Técnicas y procedimientos

La investigación constó de tres experimentos:

##### **3.2.1. Experimento 1.- Eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de seis cepas de *Bradyrhizobium* a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales de soya**

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.

### 3.2.1.1. 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* (Anexo 1).

### 3.2.1.2. 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. En la Tabla 3.1 se presentan los dos factores de estudio sus niveles y los tratamientos evaluados.

**Tabla 3.1. Factores de estudio y tratamientos evaluados para la respuesta a la fijación de nitrógeno de soya**

Factores y niveles		Tratamientos	
Cepas (C)	Variedades (V)		
c <sub>1</sub> = Milagro	v <sub>1</sub> = INIAP – 307	t <sub>1</sub> = c <sub>1</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>8</sub> = c <sub>1</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>2</sub> = Babahoyo	v <sub>2</sub> = P-34	t <sub>2</sub> = c <sub>2</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>9</sub> = c <sub>2</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>3</sub> = Montalvo		t <sub>3</sub> = c <sub>3</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>10</sub> = c <sub>3</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>4</sub> = Buena Fe		t <sub>4</sub> = c <sub>4</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>11</sub> = c <sub>4</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>5</sub> = Mocache		t <sub>5</sub> = c <sub>5</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>12</sub> = c <sub>5</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>6</sub> = Valencia		t <sub>6</sub> = c <sub>6</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>13</sub> = c <sub>6</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>7</sub> = Testigo (Agua destilada estéril)		t <sub>7</sub> = c <sub>7</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>14</sub> = c <sub>7</sub> v <sub>2</sub>

### Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo factorial 7 x 2 con tres observaciones. El esquema del análisis de varianza se presenta en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2. Esquema del análisis de varianza para la el estudio de respuesta a la fijación de nitrógeno de soya**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
Tratamientos	cv – 1	13
Cepas (C)	c – 1	5
Variedad (V)	v – 1	1
C x V	(c – 1)(v – 1)	5
INIAP-307 sin inoculación vs inoculada		1
P-34 sin inoculación vs inoculada		1
Error experimental	cv(r – 1)	28
Total	cvr – 1	41

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.

### **3.2.1.3. 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 cm<sup>3</sup> 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<sup>8</sup> 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.

### 3.2.2. Experimento 2. Eficiencia de la absorción del fósforo de las micorrizas en soya a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales

#### 3.2.2.1. 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 húmedo (Anexo 2) (Gerderman & Nicholson, 1963).

#### 3.2.2.2. 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 (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Factores de estudio y tratamientos evaluados para la respuesta de absorción de fósforo en soya

Factores y niveles		Tratamientos	
Cepas (C)	Variedades (V)		
c <sub>1</sub> = Milagro	v <sub>1</sub> = INIAP – 307	t <sub>1</sub> = c <sub>1</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>8</sub> = c <sub>1</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>2</sub> = Babahoyo	v <sub>2</sub> = P-34	t <sub>2</sub> = c <sub>2</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>9</sub> = c <sub>2</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>3</sub> = Montalvo		t <sub>3</sub> = c <sub>3</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>10</sub> = c <sub>3</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>4</sub> =Buena Fe		t <sub>4</sub> = c <sub>4</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>11</sub> = c <sub>4</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>5</sub> = Mocache		t <sub>5</sub> = c <sub>5</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>12</sub> = c <sub>5</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>6</sub> = Valencia		t <sub>6</sub> = c <sub>6</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>13</sub> = c <sub>6</sub> v <sub>2</sub>
c <sub>7</sub> =Testigo (Agua destilada estéril)		t <sub>7</sub> = c <sub>7</sub> v <sub>1</sub>	t <sub>14</sub> = c <sub>7</sub> v <sub>2</sub>

## Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo factorial 7 x 2 con tres observaciones. El esquema del análisis de varianza que se utilizó fue el siguiente (Tabla 3.4).

Tabla 3.4. Esquema del análisis de varianza para el estudio de eficiencia de fosforo en soya

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
Tratamientos	$mv - 1$	13
Micorrizas (M)	$m - 1$	5
Variedad (V)	$v - 1$	1
C x V	$(m - 1)(v - 1)$	5
INIAP-307 sin inoculación vs inoculada		1
P-34 sin inoculación vs inoculada		1
Error experimental	$mv(r - 1)$	28
Total	$mvr - 1$	41

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

### 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) (Anexo 4).
- **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.

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

Donde RLs = Largo específico de la raíz

- **Longitud de raíz por volumen de suelo (RLv):** Es el parámetro que estima la competición interradicular por nutrientes. Se expresa en cm cm<sup>-3</sup> (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.

### 3.2.3. Experimento 3. Efecto de la inoculación combinada bacteria-hongo en el crecimiento y rendimiento de dos variedades 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:

$T_1$  = Sin bacteria y sin hongo - INIAP -307

$T_2$  = Sin bacteria y sin hongo - P-34

$T_3$  = Con bacteria- - INIAP 307

$T_4$  = Con bacteria- P-34

$T_5$  = Con hongo- INIAP -307

$T_6$  = Con hongo- P-34

$T_7$  = Con bacteria y con hongo- INIAP -307

$T_8$  = 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. El esquema del análisis de variación fue el siguiente (Tabla 3.5).

**Tabla 3.5. Esquema del análisis de varianza para el efecto de la inoculación combinada bacteria-hongo en dos variedades de soya**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
Repeticiones	$r - 1$	3
Tratamiento	$v_i - 1$	7
Variedad (V)	$v - 1$	1
Inóculo (I)	$i - 1$	3
V X I	$(v - 1)(i - 1)$	3
Error experimental	$(v_i - 1)(r - 1)$	21
Total	$vir - 1$	31

Para las medias observadas en respuesta de los tratamientos se utilizó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

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.

### 3.3. Variables y métodos de evaluación

Las variables evaluadas en esta investigación de campo fueron las siguientes:

- **Altura de planta:** 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 (arbusculos, vesículas, micelio y de ser posible esporas), se empleó el método descrito por Giovanetti & Mosse (1980).
- **Rendimiento por ha<sup>-1</sup>:** Se calculó el rendimiento por planta y por hectárea y se ajustó el peso al 14% de humedad, mediante la siguiente fórmula:

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

- **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-costo utilizando la siguiente fórmula:

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

- **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:

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

### **3.3.1. 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.

### **3.3.2. 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.

### **3.3.3. 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 (Anexo 6) (Jia, Tong, Wang, Luo & Jiang, 2004). Las soluciones se indican en la Tabla 3.6

**Tabla 3.6. Solución nutritiva Long Ashton en el cultivo de soya de distintas localidades del litoral ecuatoriano**

Soluciones	Componentes
Solución (A) Completa Macroelementos con P y N	4.44 g de $K_2SO_4$ ; 12 g de $KHCO_3$ ; 6 g de $KH_2PO_4$ ; 6.53 g de $K_2HPO_4$ ; 4.04 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; 1.02 g de $CaCO_3$ ; 3.11 g de $Na_2SO_4$ ; 53.3 g de $NH_4NO_3$ ; 20 mL de HCl (1N) en 2 Litros de agua.
Solución (B) Macroelementos sin P y N	4.44 g de $K_2SO_4$ ; 12 g de $KHCO_3$ ; 4.04 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; 1.02 g de $CaCO_3$ ; 3.11 g de $Na_2SO_4$ ; 20 mL de HCl (1N) en 2 Litros de agua.
Solución (C) Macroelementos sin P	4.44 g de $K_2SO_4$ ; 12 g de $KHCO_3$ ; 4.04 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; 1.02 g de $CaCO_3$ ; 3.11 g de $Na_2SO_4$ ; 53.3 g de $NH_4NO_3$ ; 20 mL de HCl (1N) en 2 Litros de agua.
Solución (D) Macroelementos sin N	4.44 g de $K_2SO_4$ ; 12 g de $KHCO_3$ ; 6 g de $KH_2PO_4$ ; 6.53 g de $K_2HPO_4$ ; 4.04 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ; 1.02 g de $CaCO_3$ ; 3.11 g de $Na_2SO_4$ ; 20 mL de HCl (1N) en 2 Litros de agua.

**3.3.4. 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.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Experimento 1.- Eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de seis cepas de *Bradyrhizobium* a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales de soya.

##### 4.1.1. Peso húmedo de la parte aérea

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 (Anexo 1.1.1.); 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 (Tabla 4.1). En cuanto a las cepas, las obtenidas de Valencia y Buena Fe produjeron los pesos más altos.

**Tabla 4.1. Promedios para peso húmedo de la parte aérea de la planta (g) los 45 días después de la siembra para dos variedades de soya inoculadas con seis cepas de *Bradyrhizobium*. Quevedo, 2011**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	28.28 c <sup>1/</sup>	21.53 f	24.91 d <sup>2/</sup>
Babahoyo	31.13 ab	22.21 ef	26.67 b
Milagro	27.43 c	22.35 ef	24.89 d
Mocache	30.16 b	21.65 f	25.91 c
Buena Fe	31.46 a	22.91 ef	27.19 ab
Valencia	31.80 a	23.14 e	27.47 a
Testigo	26.28 d	20.52 g	23.40 e
Promedio de variedades	29.51 a <sup>3/</sup>	22.05 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

#### 4.1.2. Peso seco de la parte aérea

Para esta variable, se registraron diferencias estadísticas significativas para todas las fuentes de variación (Anexo 1.1.2.). 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 (Tabla 4.2). El coeficiente de variación fue de 4.81%.

**Tabla 4.2. Peso seco de la parte aérea de la planta área (g) a los 45 días después de la siembra para dos variedades de soja inoculadas con seis cepas de *Bradyrhizobium*. Quevedo, 2011**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	5.45 b <sup>1/</sup>	4.67 c	5.06 b <sup>2/</sup>
Babahoyo	6.57 a	4.84 bc	5.71 a
Milagro	5.26 bc	5.04 bc	5.15 b
Mocache	6.51 a	4.80 bc	5.66 a
Buena Fe	6.71 a	5.40 bc	6.05 a
Valencia	6.40 a	5.35 bc	5.88 a
Testigo	4.89 bc	3.65 d	4.27 c
Promedio de variedades	5.97 a	4.82 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey =0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey =0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS= 0.05)

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 soja incrementos en rendimiento de grano asociados con incrementos en materia seca.

De igual manera Koutroubas, Papakosta & Gagianas (1998), demostraron que las plantas de soja 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.

#### **4.1.3. 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 (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3. Número de nódulos por planta a los 45 días después de las inoculaciones con seis cepas *Bradyrhizobium* en dos variedades de soya**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	45.67 b <sup>1/</sup>	42.00 bcd	43.83 ab <sup>2/</sup>
Babahoyo	42.33 bcd	33.67 cdef	38.00 bc
Milagro	44.67 b	28.83 f	36.75 c
Mocache	34.17 cdef	30.33 ef	32.25 c
Buena Fe	57.67 a	40.00 bcde	48.83 a
Valencia	44.00 bc	32.17 def	38.08 bc
Testigo	17.33 g	15.00 g	16.17 d
Promedio de variedades	40.83 a <sup>3/</sup>	31.71 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

En cuanto al peso de nódulos frescos se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas en todas las fuentes de variación (Anexo 1.1.3.). 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 (Tabla 4.4). 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.

**Tabla 4.4. Peso de nódulos frescos en raíces (g) a los 45 días después de las inoculaciones con seis cepas de *Bradyrhizobium* en dos variedades de soya**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	1.83 cd <sup>1/</sup>	2.02 bcd	1.93 b <sup>2/</sup>
Babahoyo	1.98 bcd	2.18 abc	2.08 ab
Milagro	1.92 cd	1.88 cd	1.90 b
Mocache	1.77 d	2.41 a	2.09 ab
Buena Fe	2.07 abcd	2.34 ab	2.20 a
Valencia	2.04 abcd	2.02 bcd	2.03 ab
Testigo	1.02 e	1.12 e	1.07 c
Promedio de variedades	1.81 b <sup>3/</sup>	1.99 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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 (Tabla 4.5).

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.

**Tabla 4.5. Peso de nódulos secos en raíces (g) a los 45 días después de las inoculaciones con seis cepas de *Bradyrhizobium* en dos variedades de soya**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	0.36 ab <sup>1/</sup>	0.38 a	0.37 ab <sup>2/</sup>
Babahoyo	0.38 a	0.38 a	0.38 ab
Milagro	0.37 ab	0.38 a	0.37 ab
Mocache	0.38 a	0.36 ab	0.37 ab
Buena Fe	0.40 a	0.41 a	0.41 a
Valencia	0.38 a	0.30 b	0.34 b
Testigo	0.16 c	0.20 c	0.18 c
Promedio de variedades	0.35 a <sup>3/</sup>	0.35 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

En la Tabla 4.6, se observa 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<sup>-1</sup>, 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).

**Tabla 4.6. Concentración de N a nivel de tejido vegetal (mg kg<sup>-1</sup>) en dos cultivares de soya (*Glycine max*) INIAP-307 y P-34 inoculados con seis cepas de *Bradyrhizobium*, y sin inoculación**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP – 307	P - 34	
Montalvo	0.07 d <sup>1/</sup>	0.42 ab	0.24 ab <sup>2/</sup>
Babahoyo	0.09 d	0.37 ab	0.23 ab
Milagro	0.09 d	0.39 ab	0.24 ab
Mocache	0.07 d	0.49 a	0.28 a
Buena Fe	0.15 cd	0.29 bc	0.22 ab
Valencia	0.09 d	0.29 bc	0.19 ab
Testigo	0.07 d	0.27 bc	0.17 b
Promedio de variedades	0.09 b <sup>3/</sup>	0.36 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

En la Tabla 4.7 se observa un efecto significativo de 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<sup>-1</sup>, 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.

**Tabla 4.7. Concentración de N a nivel de suelo cultivado con las variedades INIAP-307 y P-34 inoculadas con seis cepas de *Bradyrhizobium*, y sin inoculación**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP – 307	P - 34	
Montalvo	15.33 bcd	19.00 abc	17.17 a
Babahoyo	15.67 bcd	16.33 abcd	16.00 a
Milagro	15.67 bcd	15.67 bcd	15.67 a
Mocache	18.67 abc	11.67 def	15.17 a
Buena Fe	20.00 ab	14.67 cde	17.33 a
Valencia	20.67 a	10.00 ef	15.33 a
Testigo	9.67 f	2.67 g	6.17 b
Promedio de variedades	16.52 a	12.86 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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.

## **4.2. Experimento 2. Eficiencia de la absorción del fósforo de las micorrizas en soya a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales.**

### **4.2.1. Población de esporas y colonización micorrízica en seis suelos cultivados con soya del litoral ecuatoriano**

#### **4.2.1.1. 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 (Tabla 4.8).

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 la 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).

**Tabla 4.8. Población total de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), de seis localidades del litoral ecuatoriano, cultivados con soya**

Apertura de tamiz	Montalvo	Babahoyo	Milagro	Mocache	Buena Fe	Valencia
425 $\mu\text{m}$	75	69	82	101	74	91
90 $\mu\text{m}$	178	142	167	189	135	184
25 $\mu\text{m}$	584	705	463	630	637	506
TOTAL	837	916	712	920	846	781

#### 4.2.1.2. Géneros de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) observados por localidad

Se utilizaron tres tipos de tamices con apertura de mallas de 425, 90 y 25  $\mu\text{m}$ , de los cuales el tamiz de 25  $\mu\text{m}$  atrapó la mayor cantidad de esporas, seguido de los tamices de 90  $\mu\text{m}$  y 425  $\mu\text{m}$ , 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  $\mu\text{m}$  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*.

#### **4.2.1.3. 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.

#### **4.2.2. Parámetros morfológicos**

##### **4.2.2.1. 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 (Anexo 1.2.1.). Los tratamientos inoculados fueron iguales estadísticamente, pero diferentes que el testigo (Tabla 4.9.).

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.

**Tabla 4.9. Promedios para altura de planta (cm), en dos variedades inoculadas con seis aislamientos de hongos micorrízicos**

Inóculos	Promedio
Montalvo	62.08 a <sup>1/</sup>
Babahoyo	62.00 a
Milagro	59.17 a
Mocache	62.42 a
Buena Fe	61.08 a
Valencia	61.08 a
Testigo	40.67 b

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey =0.05)

#### 4.2.2.2. 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 (Anexo 1.2.2.) 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 (con excepción del obtenido en Valencia) en relación a la variedad de P-34 (Tabla 4.10).

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 (Anexo 1.2.3.).

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. (Tabla 4.11.). En este contexto, Prieto *et al.* (2011) obtuvieron resultados similares para estas variables, obteniendo para el peso húmedo promedios de hasta 25 g planta<sup>-1</sup> y para el peso seco 6 g planta<sup>-1</sup>, estos investigadores utilizaron como planta hospedera el pasto *Brachiaria decumbens*, la cual es una especie muy susceptible a la micorrización.

**Tabla 4.10. Peso húmedo de la parte aérea de la planta (g) a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	25.84 a <sup>1/</sup>	20.24 de	23.04 a <sup>2/</sup>
Babahoyo	23.68 bc	20.82 de	22.25 ab
Milagro	24.88 ab	21.30 d	23.09 a
Mocache	23.31 bc	19.27 e	21.29 bc
Buena Fe	24.27 ab	22.21 cd	23.19 a
Valencia	21.31 d	18.91 f	20.11 c
Testigo	10.67 f	9.59 f	10.13 d
Promedio de variedades	21.99 a <sup>3/</sup>	18.89 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

**Tabla 4.11. Peso seco de la aérea de la planta (g) a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	4.21 a <sup>1/</sup>	3.51 ab	3.86 ab <sup>2/</sup>
Babahoyo	3.58 ab	3.60 ab	3.59 ab
Milagro	4.61 ab	3.40 ab	3.71 ab
Mocache	3.71 ab	3.83 ab	3.77 ab
Buena Fe	4.08 ab	4.05 ab	4.07 a
Valencia	3.28 b	3.54 ab	3.41 b
Testigo	1.70 c	1.97 c	1.84 c
Promedio de variedades	3.51 a <sup>3/</sup>	3.41 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

### 4.2.2.3. 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 (Tabla 4.12.).

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 (Tabla 4.13), 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.

**Tabla 4.12. Peso húmedo de sistema radicular (g) a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	12.27 a <sup>1/</sup>	11.45 abc	11.86 ab <sup>2/</sup>
Babahoyo	11.85 abc	11.11 abc	11.48 ab
Milagro	12.10 ab	10.69 cd	11.40 ab
Mocache	11.77 abc	11.14 abc	11.45 ab
Buena Fe	12.08 ab	12.20 a	12.14 a
Valencia	11.74 abc	10.90 bc	11.32 b
Testigo	9.44 e	9.56 de	9.50 c
Promedio de variedades	11.61 a <sup>3/</sup>	11.01 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

**Tabla 4.13. Peso seco de sistema radicular a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	1.03 a <sup>1/</sup>	0.91 ab	0.97 a <sup>2/</sup>
Babahoyo	0.90 ab	0.77 ab	0.84 bc
Milagro	0.86 abc	0.67 cd	0.77 c
Mocache	0.89 ab	0.79 bc	0.84 bc
Buena Fe	0.88 ab	0.90 ab	0.89 ab
Valencia	0.86 abc	0.81 bc	0.84 bc
Testigo	0.46 e	0.49 de	0.48 d
Promedio de variedades	0.84 a <sup>3/</sup>	0.76 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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 (Anexo 1.2.6.); Mientras que para la variable longitud de la raíz por volumen de suelo, sólo se observaron diferencias estadísticas altamente significativas para inóculos (anexo 1.2.7.). Los tratamientos inoculados mostraron ser superiores al testigo (agua destilada estéril), en las dos variedades (Tabla 4.14.).

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 (Tabla 4.15.) 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.

Tabla 4.14. Longitud total de raíces (cm) por planta a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP – 307	P - 34	
Montalvo	202.10 a <sup>1/</sup>	188.37 ab	195.23 a <sup>2/</sup>
Babahoyo	193.29 ab	181.52 b	187.40 a
Milagro	185.94 ab	187.0 ab	186.92 a
Mocache	191.71 ab	182.98 ab	187.35 a
Buena Fe	191.13 ab	183.60 ab	187.37 a
Valencia	196.78 ab	185.09 ab	190.94 a
Testigo	101.81 c	112.77 c	107.29 b
Promedio de variedades	180.39 a <sup>3/</sup>	174.52 b	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

Tabla 4.15. Longitud de raíz por volumen de suelo (cm), a los 45 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares en dos variedades de soya

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP – 307	P - 34	
Montalvo	0.44 ab <sup>1/</sup>	0.45 a	0.45 a <sup>2/</sup>
Babahoyo	0.40 abc	0.38 abc	0.39 ab
Milagro	0.39 abc	0.36 abc	0.37 ab
Mocache	0.37 abc	0.36 abc	0.35 b
Buena Fe	0.31 cd	0.34 abc	0.33 b
Valencia	0.36 abc	0.37 abc	0.36 b
Testigo	0.20 de	0.17 e	0.18 c
Promedio de variedades	0.35 a <sup>3/</sup>	0.34 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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 (Tabla 4.16).

**Tabla 4.16. Concentración de P a nivel de tejido vegetal (mg/Kg<sup>-1</sup>%) de los cultivares de soya INIAP-307 y P-34 inoculados con seis aislamientos con consorcios micorrízicos arbusculares**

Cepas	Variedades		Promedio de cepas
	INIAP - 307	P - 34	
Montalvo	0.20 a <sup>1/</sup>	0.21 a	0.21 a <sup>2/</sup>
Babahoyo	0.23 a	0.20 a	0.22 a
Milagro	0.22 a	0.20 a	0.21 a
Mocache	0.17 a	0.19 a	0.18 a
Buena Fe	0.23 a	0.29 a	0.21 a
Valencia	0.21 a	0.21 a	0.21 a
Testigo	0.18 a	0.21 a	0.19 a
Promedio de variedades	0.21 a <sup>3/</sup>	0.20 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes, en las dos variedades (Tukey=0.05);

<sup>2/</sup>Promedios de cepas con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> o HPO<sub>4</sub>). 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. Vásconez 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.

### 4.3. Experimento 3. Efecto de la inoculación combinada bacteria-hongo en el crecimiento y rendimiento en dos variedades comerciales de soya a nivel de campo

#### 4.3.1. 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 (Anexo 1.3.1.). 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 (Tabla 4.17.).

**Tabla 4.17. Promedios de altura de planta (cm), para cuatro tratamientos de inoculación en dos variedades de soya**

Inóculos	Variedades		Promedio de inóculos
	INIAP - 307	P - 34	
Con hongo	0.83 c <sup>1</sup>	1.04 a	0.93 a <sup>2/</sup>
Con bacteria	0.82 d	1.04 a	0.93 a
Con hongo y con bacteria	0.82 d	1.03 a	0.93 a
Sin hongo y sin bacteria	0.80 e	1.01 b	0.91 a
Promedio de variedades	0.82 b <sup>3/</sup>	1.03 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes en las dos variedades (Tukey=0.05)

<sup>2/</sup>Promedios de inóculos con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey =0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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 (Tabla 4.18).

Tabla 4.18. Promedios de peso de semillas de diez plantas (g), de dos variedades de soya con cuatro tratamientos de inoculación

Inóculos	Variedades		Promedio de inóculos
	INIAP - 307	P - 34	
Con hongo	235.60 ab <sup>1/</sup>	231.63 ab	233.61 a <sup>2/</sup>
Con bacteria	236.70 ab	248.38 a	242.54 a
Con hongo y con bacteria	183.88 abc	173.28 abc	178.58 b
Sin hongo y sin bacteria	159.43 bc	153.53 c	156.48 b
Promedio de variedades	203.90 a <sup>3/</sup>	201.70 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes en las dos variedades (Tukey=0.05)

<sup>2/</sup>Promedios de inóculos con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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 (Tabla 4.19.). 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<sup>-1</sup>), 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<sup>-1</sup>, respectivamente) (Tabla 4.20.). 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.

Tabla 4.19. Promedios de peso de 100 semillas (g), de dos variedades de soya con cuatro tratamientos de inoculación

Inóculos	Variedades		Promedio de inóculos
	INIAP - 307	P - 34	
Con hongo	13.90 b <sup>1/</sup>	16.40 a	15.15 a <sup>2/</sup>
Con bacteria	14.73 b	16.53 a	15.63 a
Con hongo y con bacteria	14.45 b	16.38 a	15.41 a
Sin hongo y sin bacteria	14.05 b	16.25 a	15.15 a
Promedio de variedades	14.28 b <sup>3/</sup>	16.39 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes en las dos variedades (Tukey=0.05)

<sup>2/</sup>Promedios de inóculos con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

Tabla 4.20. Promedios de rendimiento de grano (kg ha<sup>-1</sup>), de dos variedades de soya con cuatro tratamientos de inoculación

Inóculos	Variedades		Promedio de inóculos
	INIAP - 307	P - 34	
Con hongo	2826.53 a <sup>1/</sup>	2520.26 a	2673.40 a <sup>2/</sup>
Con bacteria	2727.15 a	2646.70 a	2686.93 a
Con hongo y con bacteria	2665.00 a	2535.61 a	2600.31 a
Sin hongo y sin bacteria	2336.98 a	2260.23 a	2298.61 a
Promedio de variedades	2638.92 a <sup>3/</sup>	2490.70 a	

<sup>1/</sup>Medias con una letra común no son significativamente diferentes en las dos variedades (Tukey=0.05)

<sup>2/</sup>Promedios de inóculos con una misma letra en esta columna no son significativamente diferentes (Tukey=0.05)

<sup>3/</sup>Promedios para variedades (Prueba de DMS=0.05)

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<sup>-1</sup>.

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<sup>-1</sup>, 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 simbioses. 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.

#### **4.4. Estudio económico**

##### **4.4.1. Rendimiento, costos e ingreso**

Se determinó que el mayor rendimiento fue registrado en el tratamiento INIAP-307 con hongo (2826.53 kg ha<sup>-1</sup>), seguido de los tratamientos INIAP-307 con bacteria e INIAP-307 con bacteria y con hongos (2727.15 y 2665.0 kg ha<sup>-1</sup> en su orden (Anexo 8). 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, (Tabla 4.21. y Anexo 8). Referente a los ingresos, los mejores tratamientos fueron INIAP-307 con hongo (1588.99 USD ha<sup>-1</sup>) seguido de los tratamientos INIAP-307 con bacteria y INIAP-307 con bacteria y con hongos (1533.12 y 1498.18 USD ha<sup>-1</sup> en su orden) (Tabla 4.21. y Anexo 8).

#### 4.4.2. 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-costo fue de 2.08 y 1.86 respectivamente (Tabla 4.21.) y (Anexo 8).

Los tratamientos inoculados tuvieron rendimientos superiores con relación a los trataminetos sin inoculación, pero los costos de producción fueron mas altos, por ende se obtuvo 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 (Tabla 4.21).

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.

#### 4.4.3. 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 soya se debe producir en el tratamiento “Sin bacteria y sin hongo INIAP-307”, 664 05 kg ha<sup>-1</sup>, en el tratamiento “Sin bacteria y sin hongo P-34”, 677 73 kg ha<sup>-1</sup>; en el tratamiento “Con bacteria INIAP-307”, 886.85 kg ha<sup>-1</sup>; en el tratamiento “Con bacteria P-34”, 912.87 kg ha<sup>-1</sup>; en el tratamiento “Con hongo- INIAP-307”, 839 06 kg ha<sup>-1</sup>; en el tratamiento “Con hongo P-34”, 879.22 kg ha<sup>-1</sup>; en el tratamiento “Con bacteria y con

hongo-INIAP-307”, 1173.31 kg ha<sup>-1</sup> y en el tratamiento “Con bacteria y con hongo P-34” 1242.81 kg ha<sup>-1</sup> (Tabla 4.22).

Tabla 4.21. Rentabilidad de los tratamientos en el estudio “Efecto de la inoculación combinada de Micorrizas y Bradyrhizobium en el crecimiento y absorción de nutrientes de la soya (*Glycine max* L. Merrill)”

<b>Rubro</b>	<b>T<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>4</sub></b>	<b>T<sub>5</sub></b>	<b>T<sub>6</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>8</sub></b>
Total costos (usd)	425.92	444.41	750.50	768.92	704.04	717.56	995.03	1012.38
Costo por kilogramo de soya	0.17	0.18	0.25	0.27	0.23	0.26	0.34	0.37
Rendimiento (0.3 impureza y 14% de humedad)	2336.98	2260.23	2727.15	2646.70	2826.53	2520.26	2665.00	2535.61
Ingresos (usd)	1313.78	1270.63	1533.12	1487.89	1588.99	1416.81	1498.18	1425.44
Beneficio neto	887.86	826.22	782.62	718.98	884.95	699.25	503.15	413.06
Relación Beneficio – Costo	2.08	1.86	1.04	0.94	1.26	0.97	0.51	0.41

T<sub>1</sub> = Sin bacteria y sin hongo - INIAP-307; T<sub>2</sub>= Sin bacteria y sin hongo - P-34; T<sub>3</sub>= Con bacteria- INIAP-307; T<sub>4</sub>= Con bacteria - P-34; T<sub>5</sub> = Con hongo – INIAP-307; T<sub>6</sub> = Con hongo- P-34; T<sub>7</sub> Con bacteria y con hongo- INIAP-307; T<sub>8</sub> = Con bacteria y con hongo - P-34.

Tabla 4.22. Punto de equilibrio de los tratamientos en el estudio “Efecto de la inoculación combinada de Micorrizas y Bradyrhizobium en el crecimiento y absorción de nutrientes de la soya”

Rubro	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>
Costos Fijos	352.43	353.83	377.14	378.54	373.60	374.63	395.76	397.08
Costos variables	73.48	90.57	373.35	390.36	330.42	342.92	599.26	615.29
Ventas	1313.78	1270.63	1533.12	1487.89	1588.99	1416.81	1498.18	1425.44
Punto equilibrio monetario (usd)	373.31	380.99	498.55	513.19	471.69	494.27	659.60	698.66
Punto equilibrio físico (kg ha <sup>-1</sup> )	664.05	677.72	886.84	912.87	839.06	879.21	1173.31	1242.80

T<sub>1</sub>= Sin bacteria y sin hongo - INIAP-307, T<sub>2</sub>=Sin bacteria y sin hongo - P-34, T<sub>3</sub> = Con bacteria- INIAP-307, T<sub>4</sub> = Con bacteria- P-34, T<sub>5</sub>= Con hongo- INIAP-307, T<sub>6</sub>= Con hongo- P-34, T<sub>7</sub>= Con bacteria y con hongo- INIAP-307, T<sub>8</sub>= Con bacteria y con hongo- P-34

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 Conclusiones

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 ( $17.34 \text{ mg N kg}^{-1}$ ) 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 ( $2826.53 \text{ kg ha}^{-1}$ ).

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.

#### **4.2 Recomendaciones**

Realizar inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares y *Bradyrhizobium* en la variedad INIAP-307 por presentar mayor rendimiento por hectárea con relación a los tratamientos sin inoculación, a pesar de tener menor retorno del capital, también presentan rentabilidad y lo más importante, que ayuda a mejorar suelos erosionados por la práctica del monocultivo en el Litoral ecuatoriano.

Las instituciones encargadas de brindar asesoramiento técnico a los productores que siembran cultivos transitorios deben difundir esta tecnología (inoculación con hongos micorrízicos), especialmente a los que presentan problemas de erosión por la sobreexplotación del suelo dedicado al monocultivo.

Continuar con este tipo de ensayos, a fin de confirmar el efecto positivo de la asociación simbiótica para mejorar la productividad por área cultivada en corto tiempo, así como, aportar en la mitigación de la contaminación del suelo y del agua, incrementar la fertilidad del suelo, la rentabilidad y por ende mejorar los beneficios económicos, sociales y ambientales del cultivo.

## CAPÍTULO V

### BIBLIOGRAFÍA

- Alezones, J. & Zocco, J. (2007). *Mejoramiento genético y producción de semilla de soya*. Yaracuy, Venezuela: Fundación Danac.
- Allen, M. (1991). *The ecology of Mycorrhizae*. Cambriedge, 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: Pontifica 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). Produccion de soya en invierno con el empleo combinado de *Bradyrhizobium japonicum*-hongos MA y la aplicacion de un bioestimulador del crecimiento vegetal. (pp. 22-26). San José de las Lajas: XVII Congreso Científico del Inca.
- Criollo, F. (2010). *Utilizacion de la soya y quinua en la elaboracion 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.
- Íñiguez, 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 micorrizicos 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 Planchette, 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. *Handbook 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.

## ANEXOS

### ANEXO 1:

**Anexo 1.1. Experimento 1.- Eficiencia en la Fijación Biológica de Nitrógeno de las cepas de *Bradyrhizobium* a nivel de invernadero, utilizando dos variedades comerciales de Soya**

Anexo 1.1.1. ADEVA para peso húmedo foliar, después de inoculaciones con *Bladyrhizobium sp*

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	77.13	12.85	111.35	<0.0001
Variedad	1	584.42	584.42	5062.28	<0.0001
Inóculo*variedad	6	22.38	3.73	32.20	<0.0001
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	36.34	36.34	314.81	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	8.18	8.18	70.84	<0.0001
Error	28	3.23	0.12		
Total	41	687.15			

**Coefficiente de variación (%) 1.32**

Anexo 1.1.2. ADEVA para peso seco foliar, después de inoculaciones con *Bladyrhizobium sp*

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	13.59	2.26	33.64	<0.0001
Variedad	1	13.87	13.87	206.16	<0.0001
Inóculo*variedad	6	2.55	0.43	6.32	0.0003
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	4.09	4.09	60.71	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	4.83	4.83	71.71	<0.0001
Error	28	1.88	0.07		
Total	41	31.90			

**Coefficiente de variación (%) 4.81**

Anexo 1.1.3. ADEVA para número de nódulos, después de inoculaciones con *Bladyrhizobium sp*

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	3851.14	641.86	52.83	<0.0001
Variedad	1	873.15	873.15	71.87	<0.0001
Inóculo*variedad	6	344.14	57.36	4.72	0.0019
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	1932.88	1932.88	159.10	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	977.79	977.79	80.48	<0.0001
Error	28	340.17	12.15		
Total	41	5408.60			

**Coefficiente de variación (%) 9.61**

Anexo 1.1.4. ADEVA para peso de nódulos frescos, después de inoculaciones con *Bladyrhizobium sp*

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	5.22	0.87	54.73	<0.0001
Variedad	1	0.37	0.37	23.47	0.0001
Inóculo*variedad	6	0.46	0.08	4.80	0.0018
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	2.16	2.16	135.83	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	2.70	2.70	169.47	<0.0001
Error	28	0.45	0.02		
Total	41	6.50			

**Coefficiente de variación (%) 6.64**

Anexo 1.1.5. ADEVA para peso de nódulos secos, después de inoculaciones con *Bladyrhizobium sp*

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	0.20	0.03	65.67	<0.0001
Variedad	1	0.0009	0.0001	0.02	0.8932
Inóculo*variedad	6	0.01	0.00021	4.01	0.0051
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	0.12	0.12	227.82	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	0.07	0.07	144.11	<0.0001
Error	28	0.01	0.00052		
Total	41	0.23			

**Coefficiente de variación (%) 6.57**

Anexo 1.1.6. ADEVA para concentración de N a nivel del tejido vegetal de los cultivares de soya (*Glycine max L. Merrill*). INIAP-307 y P-34 inoculados con *Bradyrhizobium sp.* y no inoculados

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	0.03	0.004	1976.00	<0.0001
Variedad	1	0.01	0.01	3025.00	<0.0001
Inóculo*variedad	6	0.02	0.003	1212.00	<0.0001
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	0.01	0.01	5376.33	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	0.004	0.004	1728.00	<0.0001
Error	28	0.00	0.00		
Total	41	0.05			

**Coefficiente de variación (%) 23.06**

Anexo 1.1.7. ADEVA para concentración de N a nivel del suelo de los cultivares de soya (*Glycine max L. Merrill*) INIAP-307 y P-34 inoculados con *Bradyrhizobium sp.* y no inoculados

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	534.48	89.08	33.11	<0.0001
Variedad	1	141.17	141.17	52.47	<0.0001
Inóculo*variedad	6	240.00	40.00	14.87	<0.0001
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	164.27	164.27	61.17	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	363.46	363.46	135.09	<0.0001
Error	28	75.33	2.69		
Total	41	990.98			

**Coefficiente de variación (%) 11.17**

**Anexo 1.2. Experimento 2. Eficiencia de la absorción del fósforo de las micorrizas en soya a nivel de invernadero utilizando dos variedades comerciales**

Anexo 1.2.1. ADEVA para altura de planta (cm) de dos variedades de soya después de inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares de seis localidades del litoral ecuatoriano

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculo	6	2232.64	372.11	30.92	<0.0001
Variedad	1	120.02	120.02	9.97	0.0038
Inoculo*variedad	6	145.48	24.25	2.01	0.0972
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	859.06	859.06	71.38	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	1282.57	1282.57	106.56	<0.0001
Error	28	337.00	12.04		
Total	41	2835.14			

**Coefficiente de variación (%) 5,91**

Anexo 1.2.2. ADEVA para el peso fresco foliar de dos variedades inoculadas con seis aislamientos de hongos micorrízicos arbusculares

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	790.17	131.69	305.73	<0.0001
Variedad	1	101.00	101.00	234.47	<0.0001
Inóculo*variedad	6	19.27	3.21	7.45	0.0001
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	448.80	448.90	1019.14	<0.0001
P34 sin inocular VS inoculadas	1	302.65	302.65	702.62	<0.0001
Error	28	12.06	0.43		
Total	41	922.49			

**Coefficiente de variación (%) 3.21**

Anexo 1.2.3. ADEVA para peso seco foliar de dos variedades inoculadas con seis aislamientos de hongos micorrízicos arbusculares

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	20.04	3.34	41.40	<0.0001
Variedad	1	0.09	0.09	1.17	0.02889
Inóculo*variedad	6	1.43	0.24	2.95	0.0234
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	11.46	11.46	142.05	<0.0001
P34 sin inocular VS inoculadas	1	7.31	7.31	90.55	<0.0001
Error	28	2.26	0.08		
Total	41	23.82			

**Coefficiente de variación (%) 8.20**

Anexo 1.2.4. ADEVA para peso fresco de raíz después de inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	6	25.98	4.33	25.96	<0.0001
Variedad	1	3.80	3.80	22.81	0.0001
Inoculo*variedad	6	2.72	0.45	2.72	0.0328
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	16.41	16.41	98.37	<0.0001
P34 sin inocular VS inoculadas	1	7.36	7.36	44.12	<0.0001
Error	28	4.67	0.17		
Total	41	37.18			

**Coefficiente de variación (%) 3.61**

Anexo 1.2.5. ADEVA para peso seco de raíz después de inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inoculo	6	0.88	0.15	35.81	<0.0001
Variedad	1	0.06	0.06	15.71	0.0005
Inoculo*variedad	6	0.06	0.01	2.36	0.0568
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	0.50	0.50	122.75	<0.0001
P34 sin inocular VS inoculadas	1	0.26	0.26	62.60	<0.0001
Error	28	0.11	0.0041		
Total	41	1.11			

**Coefficiente de variación (%) 7.96**

Anexo 1.2.6. ADEVA para longitud total de raíces (RL) después de inoculaciones con hongos

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inoculo	6	34798.81	5799.80	133.70	<0.0001
Variedad	1	362.62	362.62	8.36	0.0073
Inoculo*variedad	6	714.98	119.16	2.75	0.0316
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	21612.12	21612.12	498.23	<0.0001
P-34 sin inocular VS inoculadas	1	13345.92	13345.92	307.66	<0.0001
Error	28	1214.59	43.38		
Total	41	37091.00			

**Coefficiente de variación (%) 3.71**

Anexo 1.2.7. ADEVA para longitud de raíz por volumen de suelo (RLv) después de inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inoculo	6	0.24	0.04	24.51	<0.0001
Variedad	1	0.001	0.0011	0.64	0.4291
Inoculo*variedad	6	0.01	0.0011	0.66	0.6841
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	0.08	0.08	51.40	<0.0001
P34 sin inocular VS inoculadas	1	0.11	0.11	65.54	<0.0001
Error	28	0.05	0.0016		
Total	41	0.29			

**Coefficiente de variación (%) 11.66**

Anexo 1.2.8. ADEVA para concentración de P a nivel de tejido vegetal de los cultivares de soya (*Glycine max* L. Merrill) INIAP-307 y P-34 inoculados con *Bradyrhizobium sp.* y no inoculados

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inoculo	6	0.01	0.0087	1.42	0.2427
Variedad	1	0.00	0.0004	0.06	0.8055
Inoculo*variedad	6	0.01	0.0092	1.49	0.2194
INIAP sin inocular VS inoculadas	1	0.003	0.003	4.79	0.0371
P34 sin inocular VS inoculadas	1	0.002	0.0004	0.22	0.6446
Error	28	0.02	0.0062		
Total	41	0.03			

**Coefficiente de variación (%) 12.13**

**Anexo 1.3. Experimento 3. Efecto de la inoculación combinada bacteria-hongo en el crecimiento y rendimiento en dos variedades comerciales de soya a nivel de campo**

Anexo 1.3.1. ADEVA de altura planta, para cuatro tratamientos de inoculación en dos variedades de soya

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	3	0,003	0,001	120,40**	<0,0001
Variedades	1	0,36	0,36	34273.20**	<0,0001
Inoc x variedad	3	0,00	0,00	2,00 *	0,0409
Error	24	0,00	0,00		
Total	31	0,36			

**Coefficiente de variación (%) 0.35**

Anexo 1.3.2. ADEVA para peso de semillas de 10 plantas, para cuatro tratamientos de inoculación en dos variedades de soya

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	3	42090.68	14030.23	12.80**	<0.0001
Variedades	1	38.72	38.72	0.04 *	0.0125
Inoc x variedad	3	559.83	186.61	0.17 NS	0.0454
Error	24	26308.77	1096.20		
Total	31	68998			

**Coefficiente de variación (%) 16.33**

Anexo 1.3.3. ADEVA para peso de 100 semillas, para cuatro tratamientos de inoculación en dos variedades de soya

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	3	1.27	0.42	1.23 NS	0.3114
Variedades	1	35.49	35.49	105.51**	<0.0001
Inoc x variedad	3	0.58	0.19	0.55 *	0.05365
Error	24	8.07	0.34		
Total	31	45.41			

**Coefficiente de variación (%) 3.78**

Anexo 1.3.4. ADEVA para rendimiento de grano, para cuatro tratamientos de inoculación en dos variedades de soya

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	p-valor
Inóculos	3	790622.18	263540.73	1.22 NS	0.3257
Variedades	1	175741.49	175741.49	0.81 NS	0.3770
Inoc x variedad	3	70070.21	23356.74	0.11 NS	0.9548
Error	24	5205428.09	216892.84		
Total	31	6241861.97			

**Coefficiente de variación (%) 19.37**

## **ANEXO 2:**

### **Aislamiento de *Bradyrhizobium* desde el suelo**

- Antes de esterilizar los nódulos se lavaron con agua destilada estéril para que se humedezcan. se procedió a una cuidadosa limpieza y secado posterior de su superficie.
- Luego se sumergieron los nódulos en alcohol ( $C_2H_5OH$ ) al 95% durante 30 a 60 segundos. Se pasan los nódulos a una solución de bicloruro de mercurio acidificado (1 g.  $HgCl_2$  en un litro de  $H_2O$  destilada + 5 cc de  $HCl$  concentrado) dejándolos de 3 a 4 minutos.
- Se lavaron los nódulos por cinco a seis veces con agua destilada estéril. Cada nódulo fue transferido a un tubo de ensayo donde se depositó previamente cuatro gotas de agua destilada estéril y se rompió el nódulo a presión con pinzas flameado a la llama tratando de suspender el *Rhizobium* en el líquido hasta que se obtuvo una suspensión turbia. Estos materiales estuvieron estériles.
- Por intermedio de un asa flameada en el mechero se esparció una gota de esta suspensión en la superficie de una caja de Petri que contenía medio BYMA (Brockwell Yeast Mannitol Agar) con 0.1 g de actidione y 0.1 g de PCNB (Pentacloro-nitro-benceno).
- Las cajas de Petri se incubaron en una estufa, de 25°C a 30°C durante cinco a siete días. Cuando crecieron las colonias aisladas sobre la superficie del Agar, se debió subcultivar cada colonia a otras cajas de Petri, debidamente identificadas para conservar la cepa. Luego, se realizaron las pruebas de pureza del *Rhizobium* según sus propiedades morfológicas y fisiológicas.

### **ANEXO 3:**

#### **Aislamiento y conteo de esporas micorrízica (nativos)**

El método que se utilizó para el aislamiento y conteo de esporas del suelo es el descrito por Gerderman y Nicholson (1963), con algunas modificaciones, que consiste en el tamizado y decantación en húmedo. A continuación el proceso que se realizó.

- Se pesaron 100 g de suelo que se colocaron en un vaso de precipitación, al que se le añadió 1000 ml de agua y se agitó durante 3 a 5 minutos, dependiendo del tipo de suelo. Con la agitación se produjo la disgregación de los terrones.
- Paralelamente, se pesó una submuestra de suelo (100 g) que se secó a 70°C en una estufa hasta que se obtuvo un peso constante y con ese dato se estimó el número de esporas por gramo de suelo seco.
- La suspensión se dejó reposar durante unos segundos y se pasó a través de tamices con apertura de mallas de 425, 90 y 25  $\mu\text{m}$  para separar las esporas de acuerdo a su tamaño.
- La agitación y decantación se repitió tres veces.
- El material que quedó atrapado en los diferentes tamices se recogió con cuidado y se vertió en vasos de precipitación de 100 ml con 40 a 50 mL de agua destilada.
- En tubos de centrífuga de 15 ml, se colocó cinco ml de solución de sacarosa al 20%. luego se agregó cinco ml de solución de sacarosa al 60% para formar una gradiente de sacarosa. Por último se agregó cinco ml del suelo recogido de los tamices, de manera que la solución quede por debajo del suelo suspendido en agua.

- Se equilibraron y sellaron los tubos con parafilm y se colocó en la centrifuga durante tres minutos a 3000 r.p.m.
- Se sacaron cuidadosamente los tubos de la centrifuga, teniendo la precaución de no romper la interfase agua-sacarosa.
- Se vertió el contenido de los tubos en un tamiz de 25  $\mu\text{m}$  y se lavó con agua destilada para eliminar la sacarosa.
- Se recogió el contenido del tamiz en envases de vidrio y se agregó de a poco en cajas Petri cuadrículadas con líneas paralelas de aproximadamente 1.25 cm aparte una de la otra, para hacer el conteo de esporas.

La identificación de los hongos micorrízicos a nivel de morfoespecies se realizó con la ayuda del microscopio y el apoyo de claves taxonómicas de la página web del INVAM (INVAM).

#### **ANEXO 4:**

Escala para evaluación de densidad de colonización endomicorrízica y categoría pelos radicales en raíces de soya. Propuesta por Giovannetti y Mosse (1980).

<b>CATEGORIAS MICORRIZACIÓN</b>	0	1	2	3	4	5
<b>DENSIDAD VISUAL (%)</b>	0	1,0	2.5	15.5	35.5	47.5

s.f.).

#### **ANEXO 5:**

##### **Procedimiento para tinción de raíces de soya**

Para determinar el porcentaje de colonización micorrízica en las raíces de soya se usó el método de Philips y Hayman (1970) que consistió en:

- Lavar las raíces con abundante agua corriente.
- Cubrir las raíces con solución de Hidróxido de potasio (KOH) al 10% y colocarlas al baño de María (90°C) durante 15 minutos.
- Eliminar el hidróxido de potasio lavando con agua corriente las raíces, utilizando preferiblemente un tamiz adecuado para evitar pérdidas durante el enjuague.
- Si las raíces son muy oscuras y pigmentadas, un tratamiento adicional de blanqueo con peróxido de hidrogeno (3%) por 20 minutos será necesario. Las raíces clareadas y blanqueadas se lavaron con abundante agua.
- Lavar las raíces por inmersión en solución fresca de KOH al 10% y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 10% mezclado en proporción 1:1 (V/V). Deberá dejarse 10 minutos.

- Lavar en agua corriente las raíces.
- Acidificar con una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 1N durante 10 minutos.
- Decantar el HCl y sin lavar adicionar Azul de Tripano al 0.05% en lactoglicerol o cualquier otro colorante y colocar las raíces al baño de María por 15 minutos.
- Retirar el colorante y guardarlo en un recipiente.
- Lavar las raíces en agua destilada y dejarlas en reposo por 12 horas para eliminar el exceso de colorante o desteñirlas durante la noche con lactoglicerol o glicerol (50%).
- Montar en lámina y laminilla 50 raíces de más o menos 1 cm de largo cada una y observar al microscopio.
- Por cada muestra se realizaron montajes al microscopio. En una lámina porta objetos se colocaron 50 segmentos de raíces adicionando gotas de glicerol (50%). Se efectuaron tres repeticiones. Las observaciones se realizaron en un microscopio a 40x. La frecuencia (%) de colonización radicular se determinó considerando los segmentos colonizados y los no colonizados. Se obtuvo la relación del total de segmentos colonizados con respecto a los segmentos totales evaluados. Se contabilizó con base en la colonización total por arbusculos o por vesículas.

## **ANEXO 6:**

### **Protocolo de preparación de la solución de Long Ashton**

Para preparar un volumen de 10 L de solución:

**Macroelementos:** En un recipiente de 10 L se agregaron 5 L de agua desmineralizada y se adicionan los tres primeros compuestos por separado. Se espera a que cada uno se disuelva antes de adicionar el siguiente. Seguidamente se disuelven en 200 ml de agua desmineralizada el sulfato de magnesio heptahidratado, antes de agregarlo al matraz anterior con objeto de evitar un precipitado de sulfato de calcio.

**Oligoelementos:** A continuación se comenta el procedimiento de preparación de las distintas soluciones de oligoelementos.

1.- Para preparar la solución de molibdato de amonio se pesan 1.76 g y se disuelven en 1 L de agua desmineralizada en un matraz aforado (solución concentrada 20000 veces). Se conserva en el refrigerador y se agrega a razón de  $50 \text{ ml}^{-1}$  la solución de oligoelementos concentrada 1000 veces.

2.- La solución de sulfato ferroso al 1% se añade a razón de  $2 \text{ ml}^{-1}$  de solución de nutrientes.

3.- Se prepara una solución concentrada de oligoelementos donde se agregan los compuestos 5 al 9 por separado esperando que cada uno se disuelva antes de agregar el siguiente. Se añade 50 mL de la solución concentrada de molibdato de amonio y se lleva a volumen de un L. Se conserva en el refrigerador a  $4^{\circ}\text{C}$ .

4.- Se añaden 100 mL de esta solución concentrada de oligoelementos a la solución de macroelementos. Se completa a un volumen final de 10 L. Se añade la solución de sulfato ferroso y se agita. Se conserva en el refrigerador hasta su uso.

Nota: La solución de oligoelementos concentrada no se esteriliza para evitar la formación de precipitados y se añade a razón de  $10 \text{ ml}^{-1}$

## ANEXO 7

### Anexo 7.1 Fotografías de la fase de laboratorio e invernadero



Anexo 7.1.1. Extracción de nódulos de plantas de *Glycine max* (soya) extraídas de 6 lugares diferentes del litoral ecuatoriano, para aislamiento de *Bradhyrizobium*.



Anexo 7.1.2. Aislamiento de *Bradhyrizobium* a partir de nódulos de raíces de *Glycine max* (soya) extraídas de 6 lugares diferentes del litoral ecuatoriano y siembra en medio de cultivo.



Anexo 7.1.3. Cepas de *Bradhyrizobium* aislados a partir de nódulos de raíces de *Glycine max* (soya)

#### Anexo 7.2. Fotografías de la fase de campo



Anexo 7.2.1 Inoculación de consorcios de hongos formadores de micorrizas arbusculares en plantas de *Glycine max* (soya) a nivel de invernadero.



Anexo 7.2.2. Establecimiento del proyecto en la fase de campo para evaluar el efecto de la inoculación combinada bacteria-hongo en el crecimiento y rendimiento de dos variedades de *Glycine max* (soya) a nivel de campo



Anexo 7.2.3. Inoculación de la mejor cepa de *Bradyrhizobium* y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares que sobresalieron en los ensayos anteriores a nivel de laboratorio e invernadero.



Anexo 7.2.4. Toma de peso fresco de nódulos y raíces de plantas de *Glycine max* (soya)



Anexo 7.2.5. Etiquetado y toma de peso de la parte área de plantas de *Glycine max* (soya)



<b>COSECHA</b>											
Maquina más transporte	kg		0.02	46.74	45.20	54.54	52.93	56.53	50.41	53.30	50.71
<b>Total Costos Directos</b>				393.49	410.57	693.36	710.37	650.43	662.92	919.26	935.29
<b>COSTOS INDIRECTOS</b>											
Administrativos (5%)				19.67	20.53	34.67	35.52	32.52	33.15	45.96	46.76
Intereses de Capital (4.84%)				0.95	0.99	1.68	1.72	1.57	1.60	2.22	2.26
Imprevistos 3%				11.80	12.32	20.80	21.31	19.51	19.89	27.58	28.06
<b>TOTAL COSTOS</b>				425.92	444.41	750.50	768.92	704.04	717.56	995.03	1012.38
Costo por kilogramo de soja producido				0.18	0.20	0.28	0.29	0.25	0.28	0.37	0.40
<b>Rendimiento (0.3 impureza y 14% de humedad)</b>	kg			2336.98	2260.23	2727.15	2646.70	2826.53	2520.26	2665.00	2535.61
<b>Precio de venta por (kg)</b>				0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
<b>INGRESOS</b>	USD			1313.78	1270.63	1533.12	1487.89	1588.99	1416.81	1498.18	1425.44
Beneficio Neto	USD			887.86	826.22	782.62	718.98	884.95	699.25	503.15	413.06
Relación Beneficio - Costo				2.08	1.86	1.04	0.94	1.26	0.97	0.51	0.41

## Anexo 9. Análisis de laboratorio

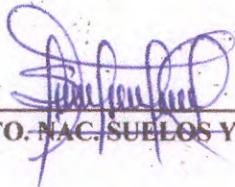
**REPORTE DE ANALISIS FOLIARES**

DATOS DEL PROPIETARIO		DATOS DE LA PROPIEDAD		PARA USO DEL LABORATORIO	
Nombre :	Universidad Técnica Estatal de Quevedo	Nombre :	Proyecto	Cultivo :	SOYA
Dirección :		Provincia :		N° de Reporte :	00792
Ciudad :	Quevedo	Cantón :		Fecha de Muestreo :	22/06/2011
Teléfono :		Parroquia :		Fecha de Ingreso :	28/06/2011
Fax :		Ubicación :		Fecha de Salida :	06/09/2011

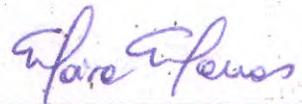
N° Muest. Laborat.	Datos del Lote		(%)							(ppm)						
	Identificación	Area	N	P	K	Ca	Mg	S	Cl	Zn	Cu	Fe	Mn	B	Mo	N
42204	Cepa 1 P-34 Muestra 1		2,8 D	0,06 D	1,38 D	1,37 A	0,40 A									
42205	Cepa 1 P-34 Muestra 2		3,1 D	0,07 D	1,38 D	1,37 A	0,40 A									
42206	Cepa 1 P-34 Muestra 3		3,1 D	0,07 D	1,52 D	1,35 A	0,42 A									
42207	Cepa 1 P-34 Muestra 4		2,5 D	0,11 D	1,48 D	1,37 A	0,44 A									
42208	Cepa 1 P-34 Muestra 5		2,8 D	0,08 D	1,28 D	1,38 A	0,43 A									
42209	Cepa 1 P-34 Muestra 6		2,7 D	0,09 D	1,31 D	1,28 A	0,43 A									
42210	Cepa 1 INIAP 307 Muestra 1		2,7 D	0,09 D	1,19 D	1,06 A	0,39 A									
42211	Cepa 1 INIAP-307 Muestra 2		3,2 D	0,10 D	1,46 D	1,19 A	0,35 A									
42212	Cepa 1 INIAP-307 Muestra 3		2,6 D	0,19 D	1,75 A	1,08 A	1,00 A									
42213	Cepa 1 INIAP-307 Muestra 4		2,9 D	0,10 D	2,33 A	1,11 A	0,47 A									
42214	Cepa 1 INIAP-307 Muestra 5		2,6 D	0,08 D	1,45 D	1,10 A	0,33 A									
42215	Cepa 1 INIAP-307 Muestra 6		2,5 D	0,10 D	1,32 D	1,02 A	0,30 A									
42216	Cepa 2 P-34 Muestra 1		2,5 D	0,09 D	1,38 D	1,35 A	0,30 A									
42217	Cepa 2 P-34 Muestra 2		3,1 D	0,06 D	1,46 D	1,33 A	0,43 A									
42218	Cepa 2 P-34 Muestra 3		2,5 D	0,12 D	1,32 D	1,31 A	0,39 A									

**INTERPRETACION**

**D** = Deficiente  
**A** = Adecuado  
**E** = Excesivo

  
LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS

La muestra será guardada en el Laboratorio,  
por tres meses, tiempo en el que se aceptarán  
reclamos en los resultados

  
RESPONSABLE LABORATORIO

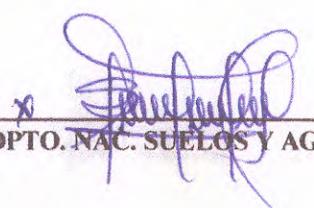
DATOS DEL PROPIETARIO		DATOS DE LA PROPIEDAD		PARA USO DEL LABORATORIO	
Nombre :	Universidad Técnica Estatal de Quevedo	Nombre :	Proyecto	Cultivo :	SOYA
Dirección :		Provincia :		Nº de Reporte :	00792
Ciudad :	Quevedo	Cantón :		Fecha de Muestreo :	22/06/2011
Teléfono :		Parroquia :		Fecha de Ingreso :	28/06/2011
Fax :		Ubicación :		Fecha de Salida :	06/09/2011

Nº Muest. Laborat.	Datos del Lote		(%)							(ppm)						
	Identificación	Area	N	P	K	Ca	Mg	S	Cl	Zn	Cu	Fe	Mn	B	Mo	Na
42219	Cepa 2 P-34 Muestra 4		2,6 <b>D</b>	0,06 <b>D</b>	1,41 <b>D</b>	1,30 <b>A</b>	0,41 <b>A</b>									
42220	Cepa 2 P-34 Muestra 5		2,6 <b>D</b>	0,11 <b>D</b>	0,75 <b>D</b>	1,14 <b>A</b>	0,28 <b>A</b>									
42221	Cepa 2 P-34 Muestra 6		2,9 <b>D</b>	0,05 <b>D</b>	1,52 <b>D</b>	1,12 <b>A</b>	0,40 <b>A</b>									
42222	Cepa 2 INIAP-307 Muestra 1		2,8 <b>D</b>	0,01 <b>D</b>	1,16 <b>D</b>	0,96 <b>A</b>	0,28 <b>A</b>									
42223	Cepa 2 INIAP-307 Muestra 2		2,3 <b>D</b>	0,06 <b>D</b>	1,27 <b>D</b>	1,06 <b>A</b>	0,30 <b>A</b>									
42224	Cepa 2 INIAP-307 Muestra 3		2,4 <b>D</b>	0,09 <b>D</b>	1,21 <b>D</b>	0,91 <b>A</b>	0,27 <b>A</b>									
42225	Cepa 2 INIAP-307 Muestra 4		2,4 <b>D</b>	0,05 <b>D</b>	1,24 <b>D</b>	1,00 <b>A</b>	0,29 <b>A</b>									
42226	Cepa 2 INIAP-307 Muestra 5		3,1 <b>D</b>	0,09 <b>D</b>	1,27 <b>D</b>	0,99 <b>A</b>	0,27 <b>A</b>									
42227	Cepa 2 INIAP-307 Muestra 6		3,2 <b>D</b>	0,06 <b>D</b>	1,57 <b>D</b>	1,25 <b>A</b>	0,33 <b>A</b>									
42228	Testigo P-34		1,8 <b>D</b>	0,04 <b>D</b>	1,00 <b>D</b>	1,25 <b>A</b>	0,40 <b>A</b>									
42229	Testigo INIAP-307		1,7 <b>D</b>	0,04 <b>D</b>	1,05 <b>D</b>	1,02 <b>A</b>	0,29 <b>A</b>									

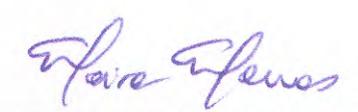


**INTERPRETACION**

- D** = Deficiente
- A** = Adecuado
- E** = Excesivo

  
LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS

La muestra será guardada en el Laboratorio,  
por tres meses, tiempo en el que se aceptarán  
reclamos en los resultados

  
RESPONSABLE LABORATORIO

**REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS**

DATOS DEL PROPIETARIO	
Nombre	: Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Dirección	: km 1.5 Vía a Santo Domingo
Ciudad	: Quevedo
Teléfono	:
Fax	:

DATOS DE LA PROPIEDAD	
Nombre	: Proyecto
Provincia	: Los Ríos
Cantón	: Quevedo
Parroquia	:
Ubicación	:

PARA USO DEL LABORATORIO	
Cultivo Actual	:
Nº Reporte	: 00792
Fecha de Muestreo	: 22/06/2011
Fecha de Ingreso	: 28/06/2011
Fecha de Salida	: 06/09/2011

Nº Muest. Laborat.	Datos del Lote		pH	ppm		meq/100ml			ppm														
	Identificación	Area		N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B									
00792	Suelo 1		5,5	Ac	RC	26	M	5	B	0,27	M	8	M	1,0	M								
56769	Testigo-P34		5,5	Ac	RC	2	B	5	B	0,51	A	10	A	1,4	M								
56770	P-34 C1-S1		5,6	MeAc		19	B	5	B	0,27	M	8	M	1,0	B								
56771	P-34 C1-S2		5,5	Ac	RC	16	B	5	B	0,23	M	8	M	1,0	B								
56772	P-34 C1-S3		5,5	Ac	RC	16	B	5	B	0,22	M	7	M	0,8	B								
56773	P-34 C1-S4		5,6	MeAc		10	B	5	B	0,26	M	8	M	1,0	B								
56774	P-34 C1-S5		5,5	Ac	RC	15	B	5	B	0,28	M	8	M	1,0	B								
56775	P-34 C1-S6		5,6	MeAc		8	B	5	B	0,27	M	9	A	1,0	B								
56776	P-34 C2-S1		5,5	Ac	RC	12	B	5	B	0,27	M	9	A	1,0	B								
56777	P-34 C2-S2		5,5	Ac	RC	13	B	5	B	0,24	M	8	M	0,9	B								
56778	P-34 C2-S3		5,6	MeAc	RC	18	B	5	B	0,25	M	8	M	1,0	M								
56779	P-34 C2-S4		5,5	Ac	RC	16	B	5	B	0,35	M	8	M	1,0	B								
56780	P-34 C2-S5		5,5	Ac	RC	5	B	5	B	1,76	A	2	B	4,6	A								

INTERPRETACION				
pH			Elementos: de N a B	
<b>MAc</b> = Muy Acido	<b>LAc</b> = Liger. Acido	<b>LAI</b> = Lige. Alcalino	<b>RC</b> = Requiere Cal	<b>B</b> = Bajo
<b>Ac</b> = Acido	<b>PN</b> = Prac. Neutro	<b>MeAl</b> = Media. Alcalino		<b>M</b> = Medio
<b>MeAc</b> = Media. Acido	<b>N</b> = Neutro	<b>Al</b> = Alcalino		<b>A</b> = Alto

METODOLOGIA USADA		EXTRACTANTES
pH	= Suelo: agua (1:2,5)	Olsen Modificado
N,P,B	= Colorimetría	N,P,K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,
S	= Turbidimetría	Fosfato de Calcio Monobá:
K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn	= Absorción atómica	B,S

LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS



RESPONSABLE LABORATORIO

La muestra será guardada en el Lab por tres meses, tiempo en el que se reclamamos en los result

DATOS DEL PROPIETARIO	
Nombre	: Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Dirección	: km 1.5 Vía a Santo Domingo
Ciudad	: Quevedo
Teléfono	:
Fax	:

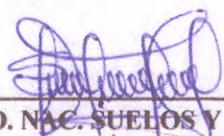
DATOS DE LA PROPIEDAD	
Nombre	: Proyecto
Provincia	: Los Ríos
Cantón	: Quevedo
Parroquia	:
Ubicación	:

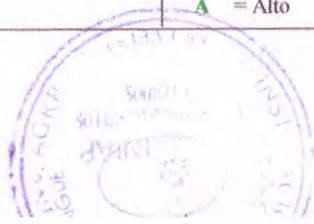
PARA USO DEL LABORATORIO	
Cultivo Actual	:
N° Reporte	: 00792
Fecha de Muestreo	: 22/06/2011
Fecha de Ingreso	: 28/06/2011
Fecha de Salida	: 06/09/2011

N° Muest. Laborat.	Datos del Lote		pH	ppm		meq/100ml			ppm												
	Identificación	Area		N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B							
56781	P-34 C2-S6		5,5	Ac	RC	8	B	5	B	0,39	A	7	M	1,2	B						
56782	Testigo 307		5,5	Ac	RC	9	B	5	B	0,46	A	9	A	1,2	B						
56783	INIAP- 307 C1-S1		5,5	Ac	RC	12	B	5	B	0,38	M	8	M	1,0	B						
56784	INIAP- 307 C1-S2		5,4	Ac	RC	13	B	4	B	0,36	M	8	M	1,0	B						
56785	INIAP- 307 C1-S3		5,5	Ac	RC	16	B	5	B	0,42	A	9	A	1,1	B						
56786	INIAP- 307 C1-S4		5,6	MeAc		19	B	5	B	0,42	A	9	A	1,1	B						
56787	INIAP- 307 C1-S5		5,5	Ac	RC	20	B	5	B	0,37	M	8	M	1,0	B						
56788	INIAP- 307 C1-S6		5,5	Ac	RC	22	B	5	B	0,40	A	8	M	1,1	B						
56789	INIAP- 307 C2-S1		5,5	Ac	RC	22	B	5	B	0,44	A	9	A	1,1	B						
56790	INIAP- 307 C2-S2		5,5	Ac	RC	23	B	5	B	0,40	A	8	M	1,0	B						
56791	INIAP- 307 C2-S3		5,5	Ac	RC	19	B	6	B	0,37	M	2	B	1,0	B						
56792	INIAP- 307 C2-S4		5,5	Ac	RC	12	B	5	B	1,60	A	2	B	4,5	A						
56793	INIAP- 307 C2-S5		5,5	Ac	RC	13	B	1	B	0,11	B	2	B	0,6	B						
56794	INIAP- 307 C2-S6		5,5	Ac	RC	15	B	5	B	0,31	M	13	A	1,7	M						
56795	Testigo INIAP-307		5,6	MeAc		16	B	6	B	0,38	M	15	A	2,1	M						
56796	INIAP-307 S1 -C2		5,5	Ac	RC	17	B	5	B	0,24	M	13	A	1,7	M						
56797	INIAP-307 S2 -C2		5,5	Ac	RC	18	B	5	B	0,21	M	18	A	1,2	B						
56798	INIAP-307 S3 -C2		5,6	MeAc	RC	19	B	5	B	0,27	M	14	A	1,8	M						
56799	INIAP-307 S4 -C2		5,5	Ac	RC	22	B	5	B	0,20	M	15	A	1,8	M						
56800	INIAP-307 S5 -C2		5,6	MeAc		19	B	5	B	0,23	M	15	A	1,9	M						

INTERPRETACION				
pH			Elementos: de N a B	
MAc = Muy Acido	LAc = Liger. Acido	LAI = Lige. Alcalino	RC = Requiere Cal	B = Bajo
Ac = Acido	PN = Prac. Neutro	MeAl = Media. Alcalino		M = Medio
MeAc = Media. Acido	N = Neutro	Al = Alcalino		A = Alto

METODOLOGIA USADA		EXTRACTANT
pH	= Suelo: agua (1:2,5)	Olsen Modifica
N,P,B	= Colorimetría	N,P,K,Ca,Mg,Cu,Fe.
S	= Turbidimetría	Fosfato de Calcio Mol
K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn	= Absorción atómica	B,S

  
 LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS



  
 RESPONSABLE LABORATORIO

DATOS DEL PROPIETARIO	
Nombre	: Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Dirección	: km 1.5 Vía a Santo Domingo
Ciudad	: Quevedo
Teléfono	:
Fax	:

DATOS DE LA PROPIEDAD	
Nombre	: Proyecto
Provincia	: Los Ríos
Cantón	: Quevedo
Parroquia	:
Ubicación	:

PARA USO DEL LABORATORIO	
Cultivo Actual	:
N° Reporte	: 00792
Fecha de Muestreo	: 22/06/2011
Fecha de Ingreso	: 28/06/2011
Fecha de Salida	: 06/09/2011

N° Muest. Laborat.	Datos del Lote		pH	ppm		meq/100ml			ppm					
	Identificación	Area		N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B
56801	INIAP-307 S6 - 22		5,6 MeAc	22 B	5 B	0,34 M	16 A	1,8 M						
56802	Testigo P-34		5,5 Ac RC	22 B	5 B	0,42 A	16 A	1,6 M						
56803	P-34 S1 - 22		5,6 MeAc	23 B	5 B	1,27 A	16 A	2,3 M						
56804	P-34 S2 - 21		5,6 MeAc	19 B	5 B	1,26 A	15 A	2,3 M						
56805	P-34 S3 - 21		5,5 Ac RC	22 B	5 B	1,29 A	16 A	2,4 A						
56806	P-34 S4 - 21		5,6 MeAc	20 B	6 B	1,25 A	16 A	2,3 M						
56807	P-34 S5 - 21		5,6 MeAc	19 B	3 B	1,36 A	17 A	2,3 M						
56808	P-34 S6 - 21		5,6 MeAc	18 B	3 B	0,13 B	4 B	0,5 B						



INTERPRETACION					METODOLOGIA USADA		EXTRACTANTES					
pH					Elementos: de N a B		pH	= Suelo: agua (1:2,5)	Olsen Modificado			
MAc	= Muy Acido	LAc	= Liger. Acido	LAl	= Lige. Alcalino	RC	= Requiere Cal	B	= Bajo	N,P,B	= Colorimetria	N,P,K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn
Ac	= Acido	PN	= Prac. Neutro	MeAl	= Media. Alcalino	M	= Medio	S	= Turbidimetria	K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn	= Absorción atómica	Fosfato de Calcio Monobá
MeAc	= Media. Acido	N	= Neutro	Al	= Alcalino	A	= Alto					B,S

LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS

RESPONSABLE LABORATORIO

**REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS**

DATOS DEL PROPIETARIO		DATOS DE LA PROPIEDAD		PARA USO DEL LABORATORIO	
Nombre	: Universidad Técnica Estatal de Quevedo	Nombre	: Proyecto	Cultivo Actual	:
Dirección	: km 1.5 Vía a Santo Domingo	Provincia	: Los Ríos	Nº de Reporte	: 00792
Ciudad	: Quevedo	Cantón	: Quevedo	Fecha de Muestreo	: 22/06/2011
Teléfono	:	Parroquia	:	Fecha de Ingreso	: 28/06/2011
Fax	:	Ubicación	:	Fecha de Salida	: 06/09/2011

Nº Muest. Laborat.	meq/100ml			dS/m	(%)	Ca	Mg	Ca+Mg	meq/100ml	(meq/l)½	ppm	Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na	C.E.	M.O.	Mg	K	K	Σ Bases	RAS	Cl	Arena	Limo	Arcilla	
00792						8,0	3,70	33,33	9,27						
56769						7,1	2,75	22,35	11,91						
56770						8,0	3,70	33,33	9,27						
56771						8,0	4,35	39,13	9,23						
56772						8,7	3,64	35,45	8,02						
56773						8,0	3,85	34,62	9,26						
56774						8,0	3,57	32,14	9,28						
56775						9,0	3,70	37,04	10,27						
56776						9,0	3,70	37,04	10,27						
56777						8,8	3,75	37,08	9,14						
56778						8,0	4,00	36,00	9,25						
56779						8,0	2,86	25,71	9,35						
56780						0,4	2,61	3,75	8,36						
56781						5,8	3,08	21,03	8,59						

INTERPRETACION			
Al+H, Al y Na	C.E.		M.O. y Cl
<b>B</b> = Bajo	<b>NS</b> = No Salino	<b>S</b> = Salino	<b>B</b> = Bajo
<b>M</b> = Medio	<b>LS</b> = Lig. Salino	<b>MS</b> = Muy Salino	<b>M</b> = Medio
<b>T</b> = Tóxico			<b>A</b> = Alto

ABREVIATURAS
C.E. = Conductividad Eléctrica
M.O. = Materia Orgánica
RAS = Relación de Adsorción de Sodio

METODOLOGIA USADA
C.E. = Conductímetro
M.O. = Titulación de Welkley Bla
Al+H = Titulación con NaOH

LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS

RESPONSABLE LABORATORIO

**DATOS DEL PROPIETARIO**  
**Nombre** : Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
**Dirección** : km 1.5 Vía a Santo Domingo  
**Ciudad** : Quevedo  
**Teléfono** :  
**Fax** :

**DATOS DE LA PROPIEDAD**  
**Nombre** : Proyecto  
**Provincia** : Los Ríos  
**Cantón** : Quevedo  
**Parroquia** :  
**Ubicación** :

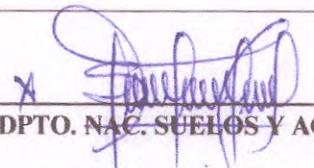
**PARA USO DEL LABORATORIO**  
**Cultivo Actual** :  
**N° de Reporte** : 00792  
**Fecha de Muestreo** : 22/06/2011  
**Fecha de Ingreso** : 28/06/2011  
**Fecha de Salida** : 06/09/2011

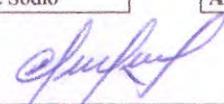
N° Muest. Laborat.	meq/100ml			dS/m	(%)	Ca	Mg	Ca+Mg	meq/100ml	(meq/l) <sup>1/2</sup>	ppm	Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na	C.E.	M.O.	Mg	K	K	Σ Bases	RAS	Cl	Arena	Limo	Arcilla	
56782						7,5	2,61	22,17	10,66						
56783						8,0	2,63	23,68	9,38						
56784						8,0	2,78	25,00	9,36						
56785						8,1	2,62	24,05	10,52						
56786						8,1	2,62	24,05	10,52						
56787						8,0	2,70	24,32	9,37						
56788						7,2	2,75	22,75	9,50						
56789						8,1	2,50	22,95	10,54						
56790						8,0	2,50	22,50	9,40						
56791						2,0	2,70	8,11	3,37						
56792						0,4	2,81	4,06	8,10						
56793						3,3	5,45	23,64	2,71						
56794						7,6	5,48	47,42	15,01						
56795						7,1	5,53	45,00	17,48						
56796						7,6	7,08	61,25	14,94						
56797						15,0	5,71	91,43	19,41						
56798						7,7	6,67	58,52	16,07						
56799						8,3	9,00	84,00	17,00						
56800						7,8	8,26	73,48	17,13						
56801						8,8	5,29	52,35	18,14						
56802						10,0	3,81	41,90	18,02						

INTERPRETACION			
Al+H, Al y Na	C.E.		M.O. y Cl
<b>B</b> = Bajo	<b>NS</b> = No Salino	<b>S</b> = Salino	<b>B</b> = Bajo
<b>M</b> = Medio	<b>LS</b> = Lig. Salino	<b>MS</b> = Muy Salino	<b>M</b> = Medio
<b>T</b> = Tóxico			<b>A</b> = Alto

ABREVIATURAS
<b>C.E.</b> = Conductividad Eléctrica
<b>M.O.</b> = Materia Orgánica
<b>RAS</b> = Relación de Adsorción de Sodio

METODOLOGIA USADA
<b>C.E.</b> = Conductímetro
<b>M.O.</b> = Titulación de Welkley B
<b>Al+H</b> = Titulación con NaOH

  
 LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS

  
 RESPONSABLE LABORATORIO

**DATOS DEL PROPIETARIO**  
**Nombre** : Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
**Dirección** : km 1.5 Vía a Santo Domingo  
**Ciudad** : Quevedo  
**Teléfono** :  
**Fax** :

**DATOS DE LA PROPIEDAD**  
**Nombre** : Proyecto  
**Provincia** : Los Ríos  
**Cantón** : Quevedo  
**Parroquia** :  
**Ubicación** :

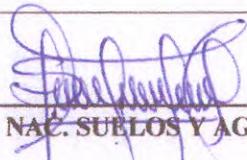
**PARA USO DEL LABORATORIO**  
**Cultivo Actual** :  
**N° de Reporte** : 00792  
**Fecha de Muestreo** : 22/06/2011  
**Fecha de Ingreso** : 28/06/2011  
**Fecha de Salida** : 06/09/2011

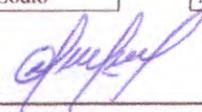
N° Muest.	meq/100ml			dS/m	(%)	Ca	Mg	Ca+Mg	meq/100ml	(meq/l) <sup>1/2</sup>	ppm	Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na	C.E.	M.O.							Mg	K	K	
56803						6,9	1,81	14,41	19,57						
56804						6,5	1,83	13,73	18,56						
56805						6,6	1,86	14,26	19,69						
56806						6,9	1,84	14,64	19,55						
56807						7,3	1,69	14,19	20,66						
56808						8,0	3,85	34,62	4,63						

INTERPRETACION			
Al+H, Al y Na	C.E.		M.O. y Cl
<b>B</b> = Bajo	<b>NS</b> = No Salino	<b>S</b> = Salino	<b>B</b> = Bajo
<b>M</b> = Medio	<b>LS</b> = Lig. Salino	<b>MS</b> = Muy Salino	<b>M</b> = Medio
<b>T</b> = Tóxico			<b>A</b> = Alto

ABREVIATURAS
<b>C.E.</b> = Conductividad Eléctrica
<b>M.O.</b> = Materia Orgánica
<b>RAS</b> = Relación de Adsorción de Sodio

METODOLOGIA USADA
<b>C.E.</b> = Conductímetro
<b>M.O.</b> = Titulación de Welkley E
<b>Al+H</b> = Titulación con NaOH

  
**LIDER DPTO. NAC. SUELOS Y AGUAS**

  
**RESPONSABLE LABORATORIO**