



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE ESTUDIOS A DISTANCIA
MODALIDAD SEMIPRESENCIAL
CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIA



TESIS DE GRADO

**EMPLEO DE RIZOBACTERIAS COMO PROMOTORES DE
CRECIMIENTO VEGETAL EN LA ASOCIACIÓN DEL PASTO
MULATO (*Brachiaria hibrido mulato*) CON KUDZÚ (*Phueraria
phaseloides* Y CLITORIA (*Clitoria ternatea*)**

AUTOR

FRANKLIN GABRIEL ERAS BRAVO

DIRECTORA

ING. MSc. MARLENE MEDINA VILLACIS

QUEVEDO – ECUADOR

2012

UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE ESTUDIOS A DISTANCIA
MODALIDAD SEMIPRESENCIAL
CARRERA AGROPECUARIA

TESIS DE GRADO

EMPLEO DE RIZOBACTERIAS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL EN LA ASOCIACIÓN DEL PASTO MULATO (*Brachiaria hibrido mulato*) CON KUDZÚ (*Phueraria phaseloides*) Y CLITORIA (*Clitoria ternatea*)

Presentada al Honorable Comité Técnico Académico Administrativo de la Unidad de Estudios a Distancia, como requisito previo para la obtención del título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

MIEMBROS DE TRIBUNAL

Ing. Geovanny Rosendo Suarez Fernández M. Sc
PRESIDENTE DE TRIBUNAL

Ing. Lauden Geobakg Rizzo Zamora M. Sc
MIEMBRO DE TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Dominga Ernestina Rodríguez Angulo M. Sc
MIEMBRO DE TRIBUNAL DE TESIS

Ing. MSc. Marlene Luzmila Medina Villacis de Salcedo
DIRECTOR DE TESIS

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2012

DECLARACIÓN

Yo, **FRANKLIN GABRIEL ERAS BRAVO**, declaro que la tesis aquí descrita es de mi autoría que va acorde a la carrera de Ingeniería Agropecuaria y que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y que las referencias que se incluyen en este documento han sido consultadas.

A través de esta declaración cedo los derechos de propiedad intelectual y de campo correspondiente a este trabajo, a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, de la Unidad de Estudios a Distancia, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.

FRANKLIN GABRIEL ERAS BRAVO

CERTIFICACIÓN

Ing. MSc. Marlene Medina Villacis, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Unidad de Estudios a Distancia, **CERTIFICO** que el señor **FRANKLIN GABRIEL ERAS BRAVO** bajo mi dirección realizó la Tesis de Grado titulada: **EMPLEO DE RIZOBACTERIAS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL EN LA ASOCIACIÓN DEL PASTO MULATO (*Brachiaria hibrido mulato*) CON KUDZÚ (*Phueraria phaseloides*) Y CLITORIA (*Clitoria ternatea*)**

Habiendo cumplido con todas las disposiciones y reglamentos legales establecidas por la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, para optar por el Título de Ingeniero Agropecuario.

Ing. MSc. Marlene Medina Villacis

DIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTO

El autor de esta obra deja constancia de su agradecimiento a las siguientes personas:

- La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, especialmente a la Unidad de Estudios a Distancia.
- Ing. M. Sc Roque Luis Vivas Moreira Rector de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo
- Ing. M. Sc. Guadalupe Del Pilar Murillo Campuzano de Luna, Vicerrectora Administrativa y ex Directora de la Unidad de Estudios a Distancia.
- Eco. M. Sc Roger Tomás Yela Burgos, Director de la Unidad de Estudios a Distancia.
- Ing. M. Sc. Laudén Geobakg Rizzo Zamora, Coordinador de la Carrera Ingeniería Agropecuaria.
- Ing. MSc. Marlene Luzmila Medina Villacis, Directora de Tesis
- Dr. Juan Avellaneda, Subdirector de la Unidad de Investigación Científica y Tecnológica y Jefe del Área de Pastos y Forrajes.
- A mis padres, los cuales siempre nos brindaron su apoyo moral e incondicional

DEDICATORIA

Quiero dedicarle este trabajo

A Dios que me ha dado la vida y fortaleza para terminar esta tesis de grado,

A mis Padres Homero Eras y Nancys Bravo, por estar ahí cuando más los necesité; en especial a mi madre por su ayuda y constante cooperación en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor y
A mi hermano Mauricio Eras por apoyarme y ayudarme en los momentos más difíciles.

A mis maestros por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales, por su apoyo ofrecido en este trabajo, por haberme transmitidos los conocimientos obtenidos y haberme llevado paso a paso en el aprendizaje.

A mis amigos y a todos aquellos que ayudaron directa o indirectamente a realizar esta tesis.

FRANKLIN GABRIEL ERAS BRAVO

RESPONSABILIDAD

El autor deja constancia que los resultados, conclusiones y recomendaciones son responsabilidad directa y pertenecen a su autoría.

FRANKLIN GABRIEL ERAS BRAVO

ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESPONSABILIDAD	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos.....	2
1.1.1. Objetivo General.....	2
1.1.2. Objetivos Específicos	3
1.2. Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Generalidades	4
2.1.1. Bacterias del suelo	4
2.2. Tipos de Bacterias	5
2.2.1. Descomponedoras	5
2.2.2. Fijadores de nitrógeno.....	5
2.3. Efecto de los microorganismos en la estructura y fertilidad del suelo.....	6
2.3.1. Nitrificación.....	6
2.3.2. Fijación no simbiótica del nitrógeno.....	7
2.3.3. Fijación simbiótica del nitrógeno	7
2.3.4. Mecanismos y factores influyentes de la nitrificación	7
2.3.5. Reacción del suelo y presencia de diversos elementos	8
2.3.6. Aireación del suelo	8
2.3.7. Humedad del suelo.....	9
2.4. Interacciones entre microorganismos y plantas.....	9

2.5. Efectos de las raíces en las poblaciones de microorganismos.....	9
2.6. Rizobacterias	10
2.7. Microorganismos, biofertilizantes y biofertilización	12
2.7.1. Inoculante bacteriano	13
2.7.2. Azotobacter spp.	14
2.7.2.1. Producción de sustancias fisiológicamente activas y aplicación práctica de Azotobacter sp.....	16
2.8. Efectos de la inoculación de Azotobacter spp	18
2.9. Pseudomona fluorescens	21
2.10. Pasto Mulato (<i>Brachiaria híbrido</i>)	23
2.10.1. Descripción morfológica	24
2.10.2. Adaptación y producción de forraje	25
2.10.3. Establecimiento	26
2.10.4. Manejo.....	27
2.11. Clitoria ternatea	27
2.11.1. Descripción.....	28
2.11.2. Distribución.....	28
2.11.3. Adaptación	29
2.11.4. Usos y aplicaciones.....	29
2.11.5. Adaptación	29
2.11.6. Características agronómicas	30
2.11.7. Rendimiento y composición.....	30
2.12. Kudzú Tropical.....	31
2.12.1. Descripción.....	32
2.12.2. Establecimiento	32
2.12.3. Adaptación	33
2.12.4. Productividad, calidad y suelo	33

III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.1. Localización y duración del experimento	35
3.2. Condiciones meteorológicas.....	35
3.3. Materiales y equipos.....	36
3.4. Factores en estudio y tratamientos.....	36
3.5. Diseño experimental y tratamientos.....	37
3.6. Mediciones Experimentales.....	38
3.6.1. Análisis de suelo	39
3.6.2. Longitud de la raíz (cm).....	39
3.6.5. Composición química y valor nutritivo	39
3.6.6. Población de bacterias y hongos/Tratamiento.....	39
3.7. Colecta de nódulos y almacenamiento	40
3.8. Aislamiento de bacterias y hongos desde el nódulo	40
IV. RESULTADOS	41
4.1. Efecto simple	41
4.1.1. Efecto simple de las edades.....	41
4.1.2. Efecto simple de la asociación pasto – leguminosa	41
4.1.3. Efecto simple de los inoculantes	42
4.2. Longitud de raíz leguminosa (cm).....	44
4.2.1. Interacción de Pasto + Leguminosa x inoculantes	44
4.2.2. Interacción de Edad x Pasto + Leguminosa	44
4.2.3. Interacción de Edad x inoculantes.....	45
4.2.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	46
4.3. Longitud de raíz pasto (cm)	46
4.3.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	46
4.3.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	47

4.3.3. Interacción Edad x inoculantes.....	48
4.4. Peso de raíz leguminosa (g).....	49
4.4.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	49
4.4.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	50
4.4.3. Interacción Edad x inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) .	50
4.4.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	51
4.5. Peso de raíz pasto (g)	52
4.5.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	52
4.5.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	53
4.5.3. Interacción Edad x inoculantes.....	54
4.5.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	54
4.6. Peso forraje leguminosa (g).....	55
4.6.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	55
4.6.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	56
4.6.3. Interacción Edad + inoculantes	57
4.7. Peso forraje pasto (g)	58
4.7.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	58
4.7.3. Interacción Edad + inoculantes	60
4.7.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	60
V. DISCUSIÓN.....	66
VI. CONCLUSIONES.....	67
VII. RECOMENDACIONES.....	68
VIII. RESUMEN.....	69
IX. SUMMARY	71
X. BIBLIOGRAFÍA.....	72
XI. ANEXOS.....	77

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro		Pág.
1	Condiciones Meteorológicas del sitio de investigación.....	35
2	Esquema del experimento.....	37
3	Esquema del experimento.....	38
4	Efecto simple de edades en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Mulato (<i>Brachiaria híbrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	41
5	Efectos simple asociación pastos – leguminosas en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Mulato (<i>Brachiaria híbrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	42
6	Efectos simples de inoculantes en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Mulato (<i>Brachiaria híbrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	43
7	Composición bromatológica de dos asociaciones de pastos con leguminosas a los 45 días en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria híbrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	62
8	Composición bromatológica de dos asociaciones de pastos con leguminosas a los 60 días en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria híbrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	63
9	Poblaciones totales de bacterias, hongos y actinomicetos en las asociaciones de pasto- leguminosas.....	65

ÍNDICE DE FIGURA

Figura		pág.
1	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en longitud de raíz leguminosa cm en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	44
2	Edad x Pasto + leguminosas en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	45
3	Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	45
4	Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	46
5	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	47
6	Edad x Pasto + leguminosas en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	47

7	Edad + inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	48
8	Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	49
9	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	49
10	Edad x Pasto + leguminosas en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	50
11	Edad + inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	51
12	Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en peso de raíz leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	52
13	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria	53

	(<i>Clitoria ternatea</i>).....	
14	Edad x Pasto + leguminosas en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	53
15	Edad + inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	54
16	Figura 16. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en peso de raíz leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	55
17	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	56
18	Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	56
19	Edad + inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	57
20	Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria</i>	58

	<i>hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	
21	Pasto + Leguminosa x inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	59
22	Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	59
23	Edad + inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	60
24	Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (<i>Brachiaria hibrido mulato</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	61

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos		Pág.
1	Inicio de trabajo de campo.....	78
2	Unidades experimentales.....	78
3	Aplicando tratamiento.....	79
4	Tanques con inoculantes preparados.....	79
5	Toma de datos.....	80
6	Medición experimentales.....	80
7	Conteo de nódulos.....	81
8	Peso de raíz.....	81

I. INTRODUCCIÓN

El crecimiento de las plantas en los suelos agrícolas está influenciada por una multitud de factores bióticos y abióticos. Mientras que los productores utilizan de manera rutinaria métodos físicos para manejar el ambiente del suelo y el rendimiento de los cultivos, la aplicación de productos microbianos para este fin es menos común.

En consecuencia, la rizosfera apoya activamente las poblaciones microbianas y de gran capacidad para ejercer un beneficio, o perjudiciales efectos neutrales sobre el crecimiento de las plantas. Estos microorganismos beneficiosos pueden ser un componente importante de las prácticas de gestión para alcanzar el rendimiento posible, que se ha definido como el rendimiento del cultivo limitado por el entorno físico natural del cultivo y su potencial genético innato. **Benizri, et al; (2001).**

En las condiciones medioambientales adecuadas, las bacterias fijadoras de nitrógeno producen enzimas que toman el nitrógeno en su forma gaseosa de la atmósfera, y, con los azúcares que obtienen de la planta, fijan el nitrógeno dentro de la biomasa bacteriana. **Garland, (2006).**

Se dan dos grandes divisiones de bacterias fijadoras de nitrógeno: las bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas y las bacterias fijadoras de nitrógeno asociativas. Las bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas, tales como el *Rhizobium*, se dan en las leguminosas. Estas bacterias forman nódulos en las raíces de las plantas. Y estos nódulos son fáciles de contar. Las bacterias fijadoras de nitrógeno asociativas ocupan los espacios entre las células de las raíces de la planta, y no alteran la arquitectura de la raíz en absoluto. **Sonrensen, et al; (2001).**

Las bacterias PGPR o Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal comenzaron a ser aisladas, clasificadas y estudiadas hacia fines del siglo XIX. Durante el siglo XX se profundizaron los conocimientos sobre las

características morfológicas, bioquímicas, fisiológicas y genéticas de cada uno de estos grupos bacterianos. La importancia de las poblaciones microbianas de la rizosfera de mantenimiento de la salud de las raíces, la absorción de nutrientes, y la tolerancia del estrés ambiental se reconoce ahora. **Benizri, et al; (2001).**

Los microorganismos descubiertos y estudiados son numerosos y sabemos que quedan muchos por aislar e investigar. No obstante ello, hoy disponemos de grupos bacterianos que son capaces de proporcionarnos impactos productivos interesantes en cultivos. Uno de éstos es el de *Pseudomonas* spp, y particularmente, un pequeño grupo de cepas denominadas *Pseudomonas fluorescens*. **Fyo.com, (2009).**

La posibilidad de manipular las poblaciones microbianas de la rizosfera de cultivos mediante la inoculación de bacterias beneficiosas para aumentar el crecimiento de las plantas ha demostrado una promesa considerable en los estudios de laboratorio e invernadero, pero las respuestas han sido variables en el campo. Sin embargo los beneficios ambientales potenciales de este enfoque, da lugar a una reducción en el uso de productos químicos agrícolas. **Basan, (2008).**

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo General

- Determinar la población microbiana en la asociación de pastos con leguminosas mediante la inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Inocular las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal: *Azotobacter chroococum*, *Azotobacter Vinelandi*, *Beijerincki*, *fluorecens* en las asociaciones gramíneas-leguminosas en estudio.
- Identificar las poblaciones de bacterias y hongos existentes en las asociaciones gramínea-leguminosa: pasto Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*) por cada inoculante bacteriano aplicado, y en dos edades de cosecha (45 y 60 días).
- Realizar análisis bromatológicos para determinar el valor nutricional; por inoculante bacteriano aplicado y estado de madurez; de las leguminosas: Clitoria (*Clitoria ternatea*) y Kudzú (*Phueraria phaseloides*), y las gramíneas: pasto Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*).

1.2. Hipótesis

La asociación gramínea-leguminosa: pasto Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Clitoria (*Clitoria ternatea*), inoculada con *Azotobacter chroococum* mostrará la mayor población microbiana.

El valor nutritivo de la asociación gramínea-leguminosa: pasto Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Clitoria (*Clitoria ternatea*), inoculada con *Azotobacter chroococum* será superior en las dos edades de cosecha.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades

2.1.1. Bacterias del suelo

Las bacterias representan menos del 10% de la biomasa del suelo, lo puede alcanzar entre 300 y 3.000 Kg/ha. Se estima que un gramo de suelo puede contener de 10^8 a 10^{10} bacterias, cuantificadas por métodos directos, mientras que en conteos indirectos, sobre medios de cultivo las cantidades son menores dada la imposibilidad de tener medio de cultivo universal que satisfaga plenamente las necesidades nutricionales de todos los grupos. **Atlas, et al; (2002).**

Algunas especies de bacterias son muy frágiles y pueden morir por leves cambios en el ambiente del suelo, otras especies son muy resistentes, capaces de soportar calores intensos, el frío o el secado, algunas pueden permanecer latentes durante décadas de espera para condiciones favorables. Otros pueden extraer nitrógeno directamente del aire o descomponer algunas sustancias tóxicas. **Smith, et al; (2009).**

Las poblaciones de microbios pueden disminuir por espacios de unos días en respuesta a los cambios en el suelo, la humedad, la temperatura del suelo o sustrato de carbono. Para obtener una ventaja en este proceso, muchos microbios liberan sustancias antibióticas para suprimir partículas competidoras. De esta manera algunas especies pueden suprimir otras enfermedades que causan los microorganismos. **Atlas, et al; (2002).**

2.2. Tipos de Bacterias

2.2.1. Descomponedoras

Las bacterias desempeñan un papel importante en la descomposición de muchos materiales orgánicos, sobre todo en las primeras etapas de descomposición cuando los niveles de humedad son altos. En las últimas etapas de descomposición, los hongos tienden a dominar.

Bacillus subtilis y *Pseudomona fluorescens* son ejemplos de bacterias descomponedoras. La adición de estas bacterias no se ha demostrado para acelerar la formación del compost o hummus en el suelo. **Atlas, et al; (2002).**

2.2.2. Fijadores de nitrógeno

Las bacterias *Rhizobium* pueden realizar la inoculación en semillas de leguminosas para la fijación de nitrógeno en el suelo. Estas bacterias fijadoras de nitrógeno viven en nódulos de las raíces de leguminosas. Extraen el nitrógeno del aire y lo convierten en formas que la planta puede usar. Esta forma de fijación de nitrógeno puede añadirse a un equivalente de más de 100 Kg de nitrógeno por hectárea y por año.

Axotobacter, *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Gluconobacter*, *Flavobacterium* y *Herbaspirillum* son ejemplos de vida libre que fijan el nitrógeno asociados con leguminosas. Hasta la fecha la inoculación del suelo con estos organismos no ha demostrado ser un medio eficaz. **Atlas, et al; (2002).**

2.3. Efecto de los microorganismos en la estructura y fertilidad del suelo

2.3.1. Nitrificación

En el proceso de nitrificación participan bacterias, hongos y actinomicetos. Por la actividad enzimática de los microorganismos, azúcares y otros de la materia orgánica, se forma un producto final llamado (NH_4^+) . **Arias, (2007).**

Se necesitan dos pasos distintos para que esto suceda.

1. Las *Nitrosomonas* sp. oxidan el amonio en un producto intermedio, el nitrito.
2. Las *Nitrobacter* sp. transforman el nitrito en nitrato.

Las bacterias nitrificantes se consideran bacterias autótrofas, o bacterias que utilizan el CO_2 como fuente de carbono para su crecimiento. **Jiménez, (2007).**

La primera etapa se conoce como amonificación. Los iones de amonio pueden ser absorbidos por las raíces de las plantas, o bien son absorbidos a las partículas de arcilla y humus, o pueden perderse por lavado con las fuertes lluvias. En la segunda etapa de la nitrificación el amonio se oxida y pasa a formar nitrito (NO_2) por actividad de la bacteria *nitrosoma*. La tercera y última etapa de la nitrificación es del nitrito (NO_2) a nitrato (NO_3) por oxidación. La bacteria responsable de esta reacción se llama *nitrobacter*. **Arias, (2007).**

Las bacterias que participan en el proceso de nitrificación son aeróbicas (necesitan oxígeno) y por lo tanto exigen suelos aireados y bien drenados. Cuando un suelo está mal drenado, se satura con agua y ocurre que se activan otras bacterias anaeróbicas que toman el oxígeno de los nitratos y forman óxido nitroso (N_2O) o nitrógeno libre (N_2), ambos son gases que se escapan por difusión gaseosa a la atmósfera y se pierde así el nitrógeno del suelo. **Navarro, (2003).**

2.3.2. Fijación no simbiótica del nitrógeno

Existen bacterias y algas capaces de fijar el nitrógeno atmosférico incorporándolo a su propio organismo y al morir la bacteria o el alga, el nitrógeno se incorpora al suelo. Las bacterias *clostridium* y *azobacter* son representantes de esta forma no simbiótica de fijar nitrógeno. **Arias, (2007).**

2.3.3. Fijación simbiótica del nitrógeno

La bacteria llamada *Rhizobium* tiene la capacidad de vivir en las raíces de las leguminosas, y allí forma nódulos en las células corticales habitadas por las bacterias.

La bacteria captura el nitrógeno gaseoso y lo incorpora a su citoplasma, la planta proporciona carbohidratos a la bacteria. Estos carbohidratos posteriormente se oxidan y brindan energía a la bacteria. A cambio, la bacteria proporciona a la planta proteínas y aminoácidos. Esta fijación de nitrógeno es posible solo mediante el intercambio (simbiosis) de la planta y la bacteria. **Jiménez, (2007).**

2.3.4. Mecanismos y factores influyentes de la nitrificación

Cuando las condiciones son favorables, una parte del amonio liberado en el proceso de amonificación es inmediatamente oxidado a nitrato, que es la forma principal de utilización del nitrógeno por los vegetales superiores. En suelos apropiados para el desarrollo de microorganismos nitrificantes, esta oxidación es tan rápida que el amoniaco casi no puede detectarse, y es muy difícil ponerlo en evidencia en cantidades apreciables.

Esta oxidación la efectúan un conjunto de bacterias muy sensibles a los agentes externos y comprendidos en un grupo bastante reducido de especies aerobias. **Navarro, (2003).**

2.3.5. Reacción del suelo y presencia de diversos elementos

Las bacterias nitrificantes aparecen en mayor cantidad en suelos fértiles. Su número depende en gran manera de la reacción del suelo. En este aspecto una reacción ligeramente alcalina es la más favorable. Los límites de pH entre los que la nitrificación tiene lugar se sitúan entre 5'5 y 8, con un óptimo de 6'9 y 7'5. A medida que aumenta la acidez del suelo, la nitrificación se debilita debida a la sensibilidad de los organismos nitrificantes a bajo pH. **Jiménez, (2007).**

Las bacterias nitrificantes requiere también un suministro adecuado de calcio, fósforo, cobre y magnesio, aunque no se ha determinado sus exactas necesidades. Otros oligoelementos como hierro, molibdeno, boro wolframio y vanadio, se consideran estimulantes en concentraciones bajas, pero se transforman en inhibidores en concentraciones superiores al 1%. Un exceso de cloruros paraliza la acción de estos microorganismos. **Arias, (2007).**

2.3.6. Aireación del suelo

Las bacterias nitrificantes son microorganismos aeróbicos típicos. No producen nitratos en ausencia de oxígeno molecular. Por ello cualquier procedimiento que aumente la aireación del suelo favorecerá la nitrificación del suelo. El arado y prácticas de cultivo son operaciones favorables para ella, ya que permiten la rápida difusión del aire hacia el exterior y hacia el interior del suelo. **Navarro, (2003).**

Los suelo que son de textura gruesa, o que poseen una buena estructura, facilitan este movimiento y aseguran un suministro adecuado de oxígeno para las nitrobacterias.

Los resultados experimentales obtenidos en condiciones controladas de laboratorio, permiten afirmar que la máxima nitrificación aparece cuando el

porcentaje de oxígeno en el aire del suelo es del 20%, casi igual al que posee la atmósfera terrestre. **Jiménez, (2007).**

2.3.7. Humedad del suelo

La actuación de la nitrobacterias está altamente controlada por el contenido de agua en el suelo. En general la nitrificación tiende a disminuir tanto en condiciones de excesiva humedad, como aquellas de escasez. **Navarro, (2003).**

En realidad, existe para cada suelo un óptimo de humedad por encima y por debajo del hay más lentitud en la producción de nitratos. **Navarro, (2003).**

2.4. Interacciones entre microorganismos y plantas

Las raíces de las plantas son unos hábitats propicios para el desarrollo de microorganismos. Son muchas y muy variadas las poblaciones microbianas que se encuentran asociadas a las raíces de las plantas. Las interacciones entre los microorganismos del suelo y las raíces de las plantas satisfacen requerimientos nutritivos básicos para la planta y para las comunidades microbianas asociadas a ella. Esto se evidencia por el elevado número de microorganismos que se hallan en el rizoplasma. **Atlas, et al; (2002).**

2.5. Efectos de las raíces en las poblaciones de microorganismos

La estructura del sistema radical contribuye a establecer la población microbiana en la rizosfera. Las interacciones entre las raíces y los microorganismos de la rizosfera se basan principalmente en la modificación interactiva del ambiente del suelo por procesos como: captación de agua por la planta, liberación de compuestos orgánicos al suelo por las raíces, producción microbiana de factores de crecimiento vegetal, captura de nutrientes minerales por parte de los microorganismos. **Wild, (2005).**

En la rizosfera, las raíces de las plantas tienen una influencia directa en la composición y en la densidad de la microbiota del suelo; a lo que se conoce como efecto rizosférico. Este efecto puede verse como la relación entre el número de microorganismos en el suelo de la rizosfera(R) y el número de microorganismos en el suelo alejado de las raíces (S). Generalmente la relación R/S oscila entre 5 y 20, pero es normal encontrar valores R/S de 100, es decir, poblaciones microbianas 100 veces mayores en la rizosfera que en el suelo sin raíces de los alrededores. **Taiz, et al; (2006).**

El alcance real del efecto rizosférico depende de cada planta en particular y de su estado de madurez fisiológica.

Las raíces rodeadas por microorganismos excretan una cantidad de materiales orgánicos mucho mayor que las raíces estériles. A pesar de que algunos de estos materiales inhiben a los microorganismos, la mayoría estimulan su crecimiento. La influencia de los materiales liberados por las plantas al suelo se pone de manifiesto porque las poblaciones bacterianas de la rizosfera presentan propiedades nutritivas muy distintas de las poblaciones que crecen en el suelo sin raíces. **Taiz, et al; (2006).**

2.6. Rizobacterias

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) se definieron por primera vez por Kloepper y Schroth para describir las bacterias del suelo que colonizan las raíces de las plantas después de la inoculación a la semilla, y que mejoran el crecimiento de las plantas. **Bowen, et al; (2007).**

En años recientes se ha caído en cierta controversia, ya que no se sabe hasta que punto se puede considerar una Rizobacteria como PGRP, por lo que se han establecido 4 características que definen este grupo:

- a. Que no requieran de la invasión interna de los tejidos en plantas, como ocurren en hongos micorrízicos con la formación de arbusculos o nódulos en el caso de *Rhizobium*
- b. Que tengan una elevada densidad poblacional en la rizósfera después de su inoculación, ya que una población que declina rápidamente tiene una baja capacidad competitiva con la microflora nativa del suelo.
- c. Que presenten capacidad de colonización efectiva en la superficie de la raíz, y como consecuencia, puedan influir positivamente en el crecimiento de la planta.
- d. Que no produzcan daños al hombre ni a otros microorganismos.

A continuación están implícitos en el proceso de colonización: la capacidad para sobrevivir en la inoculación de semillas, que se multiplican en el espermosfera (región que rodea a la semilla) en respuesta a los exudados de semillas, para fijar a la superficie de la raíz, y colonizar el sistema radicular en desarrollo.

Bowen, et al; (2007).

Una variedad de características de bacterias y genes específicos contribuyen a este proceso, pero sólo unos pocos han sido identificados. Estos incluyen la motilidad, la quimiotaxis y exudados de raíz las semillas, la producción de las fimbrias o pili, la producción de componentes específicos en la superficie celular, la capacidad de utilizar los componentes específicos de los exudados de las raíces, la secreción de proteínas, así como la detección de quórum.

Las PGPR pueden actuar de manera directa e indirecta:

Mecanismos indirectos: Los metabolitos producidos por las PGPR pueden funcionar como determinantes antagónicos, involucran aspectos de control biológico, suprimen o inhiben el crecimiento de microorganismos perjudiciales para el desarrollo de la planta, vía producción de sideróforos, antibióticos,

acción de enzimas líticas, glucanazas, quitinasas) o inducción de mecanismos de resistencia. **Sorensen, et al; (2001).**

Mecanismos directos: ocurren cuando los metabolitos producidos por algunas cepas de rizobacterias son utilizados como reguladores de crecimiento o precursores de estos por parte de la planta.

La conjunción de ambos mecanismos de acción ha dado como resultado la producción evidente del crecimiento en plantas; se ha observado un incremento en la emergencia, el vigor y peso de las plántulas, un mayor desarrollo en sistemas radiculares y un incremento de hasta 30% en la producción de cultivos de interés comercial, tales como papa, rábanos, jitomate, trigo y soya.

La mayoría de las investigaciones realizadas en este ámbito se han enfocado a la elucidación de estos mecanismos involucrados en el control biológico, y relativamente poco en el conocimiento relacionado con la promoción directa. **Bowen, et al. (2007).**

Esto ha dejado pauta para realizar estudios que consideren principalmente la densidad del inóculo, fisiología de la cepa promotora, temperatura, propiedades del suelo, cultivo y genotipo de la planta; el objetivo es entender de manera clara los mecanismos de promoción de crecimiento de plantas inducido por cepas PGPR, con el propósito de aislar y seleccionar nuevas cepas que representen una fuente exitosa de inoculantes biológicos en la agricultura, así como en la elaboración de productos comerciales. **Kloepper, (2008).**

2.7. Microorganismos, biofertilizantes y biofertilización

Los biofertilizantes pueden considerarse como tecnologías “apropiables”, término creado por FAO para las herramientas biotecnológicas que contribuyen al desarrollo sostenible y que proveen beneficios tangibles a los destinatarios, son ambientalmente seguras y socioeconómicas y culturalmente adaptables. **Kloepper, (2008).**

2.7.1. Inoculante bacteriano

Son formulaciones que contienen uno o más géneros bacterianos (o especies) en un portador de fácil uso ya sea orgánico o sintetizado a partir de moléculas definidas. El inoculante es el medio de transporte bacteriano desde la fábrica o almacén hacia las plantas, con el fin de mejorar la planta de crecimiento, ya sea:

- La liberación de los nutrientes del suelo para las plantas.
- Entrando en simbiótica relación con los sistemas de raíces de las plantas.
- Actuando como antagónicos organismos contra los patógenos de plantas.

El suelo inoculantes utilizados más comúnmente son rizobacterias que viven en simbiosis con las legumbres como los guisantes, habas, etc. Estas bacterias viven dentro de nódulos especializados en los sistemas radiculares de las leguminosas, donde el proceso atmosférica de nitrógeno en una forma disponible para las plantas para su uso. **Kloepper, (2008).**

Otro grupo de inoculantes del suelo comunes son micorrizas hongos, que se unen a las raíces de muchas especies de plantas y ayudar a conducir el agua y los nutrientes para las plantas para su uso.

Los efectos deseados del inoculante sobre el crecimiento de las plantas puede incluir la fijación del nitrógeno en leguminosas, biocontrol de patógenos procedentes del suelo, degradación de minerales del suelo, incremento de la asimilación de nutrientes, efectos nutricionales u hormonales y otros. **Smith, (2009).**

2.7.2. *Azotobacter* spp.

Las bacterias aerobias de vida libre fijadoras de N₂ más conocidas se encuentran formando parte de las familias Azotobacteriaceae, Spirillaceae y Bacillaceae.

Del género *Azotobacter* se han descrito varias especies: *Azotobacter chroococcum* (Beijerinck 1901), *A. vinelandii* (Lipman 1903), *A. agilis* (Beijerinck; Winograsky 1938) y *A. paspali* (Döbereiner 1966); sin embargo no todas tienen características perfectamente definidas. **Martínez, et al; (2000).**

Los microorganismos del género *Azotobacter* se describieron por primera vez por Beijerinck en 1901, desde este momento hasta nuestros días, estas bacterias han llamado la atención de numerosos investigadores por su importancia tanto teórica como práctica. La morfología de *Azotobacter* ha sido y es, uno de los apartados de estudio más atractivo de este género bacteriano. **González, et al; (2002).**

Así, la citología de estas bacterias no solo se altera por las condiciones ambientales, sino que más bien varía de una forma extrema. Winogradski en 1938 observó que la presencia en el medio de cultivo de compuestos carbonados como el n-butanol daba lugar a la formación de células vegetativas normales, pero en función del periodo de incubación se originaban células cocoides denominadas quistes. Pochon y Tchan en 1948, consideraron a estos quistes como formas de reposo. Más tarde Socolofsky y Wyss en 1962, demostraron la característica de resistencia de estas formas quísticas. **Martínez, et al; (2000).**

Este género comprende bacterias grandes, levaduriformes, aerobias estrictas, no esporógenas y Gram negativos; son mesófilas y su temperatura óptima de desarrollo es de 30 oC. La eficacia media en relación con el N₂ fijado por unidad de azúcar descompuesto es de 5 – 10 g, lo cual se cataloga como bajo.

El pH óptimo de crecimiento es de 6 y a niveles inferiores disminuyen las cantidades de N₂ fijado y hasta puede inhibirse su actividad metabólica.

La capacidad de fijación de N₂ por estas bacterias varía considerablemente en dependencia de la composición del medio, su acidez, temperatura y aireación, de la presencia de N combinado, de la naturaleza de las fuentes de carbono, microelementos y de la acción de organismos antagónicos en el medio.

El efecto de diferentes fuentes de carbono sobre la fijación de N₂ por esta especie depende de la estructura de las sustancias orgánicas y de las reservas de energía química utilizable que contiene, siendo también importantes los procesos de oxidación de la materia orgánica durante la respiración. **Martínez, et al; (2000).**

La propagación de estas bacterias está relacionada estrechamente con la presencia en el medio de suficientes cantidades de fósforo (P) y potasio (K), siendo mayor el efecto del P, cuya escasez o ausencia puede hasta inhibir el desarrollo del cultivo. Este elemento estimula el metabolismo del carbono, la multiplicación y la fijación de N₂. Las cantidades necesarias de K son menores, cuando existen altas concentraciones de este en el suelo se inhibe el desarrollo de las bacterias fijadoras, dependiendo del grado de toxicidad de la fracción aniónica de sal. **Rodelas, et al; (2009).**

Los requerimientos de microelementos son notables, el molibdeno (Mo) es esencial para la mayoría de las cepas de este género, tanto cuando crecen sobre medios libre de nitrógeno como cuando se desarrollan sobre nitratos, aunque las necesidades son mayores en ausencia de nitrógeno combinado.

Dentro del grupo de los fijadores de vida libre el género *Azotobacter* presenta la capacidad de fijar N₂ atmosférico cuando en el suelo existen suficientes cantidades de materia orgánica, ya que en suelos poco fértiles con escaso contenido de materia orgánica no se obtiene efecto agronómico positivo (19). González y Lluch (1992) reportan que el género *Azotobacter* presenta alta

capacidad de biodegradación, muy especialmente para la oxidación de compuestos fenólicos sustituidos. **González, et al; (2002).**

Este hecho resulta de especial interés, basándose en recientes observaciones que muestran como estas bacterias aumentan su actividad biológica (incluyendo la capacidad fijadora de N₂) en suelos agrícolas adicionados de residuos que poseen un alto contenido en sustancias fenólicas, pudiéndose sugerir que estos microorganismos pueden contribuir a la biotransformación de este tipo de residuos cuando se usen como fertilizantes.

En este contexto estos diazótrofos están considerados por algunos investigadores como bacterias ciertamente ideales para los procesos de descontaminación de suelos agrícolas con sustancias xenobióticas. **Torres, (2005).**

2.7.2.1. Producción de sustancias fisiológicamente activas y aplicación práctica de Azotobacter sp.

Desde el punto de vista histórico, es Azotobacter el microorganismo que de una forma más amplia ha sido utilizado en la agricultura. Las primeras aplicaciones de estas bacterias datan de 1902, alcanzando una amplia utilización durante las décadas del 40, 50 y 60, particularmente en los países de Europa del Este. **González, et al; (2002).**

La aplicación práctica de la inoculación de este diazotrófo ha sido positiva, observándose notables incrementos en los rendimientos en diferentes cultivos, principalmente en cereales.

Estos resultados obtenidos, especialmente con la inoculación de Azotobacter chroococcum y Azospirillum brasilense, no deben atribuirse exclusivamente a la ganancia de N₂ por las plantas, ya que estos microorganismos en determinadas condiciones su efecto beneficioso se debe fundamentalmente a

la capacidad de solubilizar fosfatos y sintetizar sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, tales como, vitaminas y hormonas vegetales que intervienen directamente sobre el desarrollo de las plantas. **Puertas, et al; (2009).**

De este modo *A. chroococcum* sintetiza tiamina de 50–100 mg g⁻¹ de sustancia celular seca; ácido nicotínico de 200–600 mg g⁻¹ de sustancia celular seca y ácido pantoténico y biotina; ácido indolacético (AIA); ácido giberélico y citoquininas. **Rodelas, et al; (2009).**

La producción de estas sustancias por *Azotobacter*, se ve influenciada por el estado fisiológico de la bacteria y por la edad de los cultivos, habiéndose demostrado que la presencia de nitrógeno combinado modifica la producción de auxinas y giberelinas. Concretamente la presencia de nitrato inhibe la liberación de auxinas, mientras que en sentido contrario incrementa la producción de giberelinas.

La adición de exudados radicales de ciertos cereales colonizados por *Azotobacter*, determinan aumentos significativos en la producción de auxinas, giberelinas y citoquininas, siendo este efecto más evidente cuando los exudados se obtienen de plantas de más de 30 días de crecimiento. **González, et al; (2002).**

Además de los compuestos mencionados, estos diazótrofos son capaces de sintetizar sustancias fungistáticas que, al inhibir el crecimiento de los hongos fitopatógenos del suelo, promueven indirectamente el desarrollo de las plantas, especialmente en las etapas tempranas del cultivo.

Estos compuestos tienen acción sobre hongos pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Rhizoctonia*, variando su acción antagónica con la cepa bacteriana utilizada. Mediante su acción conjunta, estas sustancias son capaces de estimular la germinación de las semillas y acelerar el

crecimiento de las plantas siempre y cuando sea adecuada la concentración de organismos en la rizosfera de las plantas. **Mayea, et al, (2008).**

2.8. Efectos de la inoculación de Azotobacter spp

El efecto de la inoculación con *Azotobacter chroococcum* sobre la germinación y crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en suelos Ferralíticos Rojos resulta coincidente para todas las variedades analizadas. La población de plántulas por m² aumentó entre 36% (Cambell-28) y 78% (CI-289-RA) respectivamente, así como la altura se incrementó en 34% (C-28-V) y 96% (Nova-2) y el diámetro del tallo entre 37% (C-28-V) y 100% (Tropical-3).

El número de hojas aumentó entre 22% (Tropical-1) y 42% (Línea-94) y el peso seco de 50 plántulas entre 38% (Nova-2) y 27.6% (Tropical-3). Estos resultados indican la posibilidad de acortar el periodo que transcurre entre la siembra del semillero y el momento en que las plántulas están aptas para el transplante. **Martínez, et al; (2000).**

Estos resultados coinciden con los analizados por Puertas y González (1999), donde al estudiar la efectividad de cepas de *Azotobacter chroococcum* aisladas de la rizosfera de plántulas de tomate en suelos Pardos y Vertisoles, se apreció que todas estimularon en mayor o menor cuantía, al menos uno de los indicadores del crecimiento evaluados, lo que sugiere que la producción de sustancias fisiológicamente activas, constituye un factor común a dichas cepas. **Puertas, et al; (2009).**

En este sentido Abbass y Okon (1993) encontraron similares resultados, pero con diferentes cepas de *Azotobacter paspali* y señalaron que la diversidad de origen no tiene que estar siempre asociada a la diversidad genética.

En estudios realizados sobre la eficiencia de la fijación de N₂ y la susceptibilidad a bacteriófagos de *Azotobacter chroococcum* libre y

encapsulado con alginato, en condiciones controladas (in vitro) y bajo condiciones de campo (in vivo), en la Estación Experimental de la Facultad Agrícola de la Universidad de Minia, Egipto, demostró que en condiciones in vitro, las células encapsuladas exhibieron mayor actividad del sistema nitrogenasa que en la forma libre.

Varios son los cultivos en los cuales la aplicación de *Azotobacter chroococcum* como biofertilizante ha resultado satisfactoriamente positiva. Rodríguez y Blanco (1994) realizaron un trabajo experimental en condiciones semicontroladas en viveros de café (*Coffea arabica*), demostrando que con el uso de *Azotobacter chroococcum* hay una mejor uniformidad en las posturas de este cultivo, así como un mayor vigor de las mismas, las cuales en el momento de la extracción del vivero hacia el campo presentaban un color uniforme en su sistema radicular, características de posturas sanas, vigorosas y con alto valor ecológico. **Höfflich, et al; (2006).**

En este sentido González et al. (1994) al analizar los resultados de la inoculación de 8 cepas de *Azotobacter* sobre los parámetros de crecimiento y desarrollo de vitroplantas de piña (*Anana comosa*), cv Cayena lisa, durante la fase de adaptación demostraron que en sentido general todas las cepas estudiadas estimularon el crecimiento de las vitroplantas, con valores significativamente superiores al testigo, lo que permite acortar el periodo de adaptación de las mismas. **González, et al; (2002).**

En el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta*) Roque et al. (1994) al analizar la respuesta a la fertilización nitrogenada y su combinación con biofertilizantes en el clon CMC-40 en suelo Ferralítico Rojo hidratado, demostraron que los mejores resultados se obtuvieron con la combinación biofertilizante-fertilización mineral, destacándose *Azotobacter* como biofertilizante. Los máximos rendimientos en la primera cosecha oscilaron entre 43 y 46 t ha⁻¹, se alcanzaron al aplicar 100 kg. ha⁻¹ de N con *Azotobacter* y fosforina individualmente o combinados. **Roque, et al, (2007).**

En papa (*Solanum tuberosum*) Del Castillo y Montes de Oca (1994) estudiaron el efecto del uso de bacterias solubilizadoras de fósforo (P) y fijadores de N₂ sobre el rendimiento de este cultivo en las variedades Atlantic y Desiree de producción nacional sobre suelos Ferralítico Púrpura seleccionado con diferentes valores de pH y P soluble, donde se analizaron diferentes dosis de fertilizantes minerales a 50 y 100% con aplicación de fosforina (Fb) y Azotobacter (AZ), solos y combinados en diferentes dosis y momentos de aplicación. **Del Castillo, et al; (2007).**

Los resultados obtenidos muestran que la mejor respuesta a los fertilizantes minerales se encontró con el 50%, similar a los obtenidos con solo aplicar AZ; sin embargo los mejores rendimientos se obtuvieron al combinar el 100% del fertilizante mineral con ambos biopreparados, con incrementos entre 4 y 5 t ha⁻¹. El pH del suelo influyó en la cosecha, tanto para AZ como la Fb, con incrementos del rendimiento donde el mismo era neutro a ligeramente ácido contra el ácido entre 0.84 a 1.35 t ha⁻¹ respectivamente; mientras cuando se combina el pH neutro con un contenido de P soluble bajo hay incrementos de 1.10 t.

Otros estudios son los efectuados con combinaciones microbianas, donde se ha podido comprobar la potenciación de la estimulación en el crecimiento y demás parámetros en las plantas con la aplicación de Azotobacter conjuntamente con hongos micorrizógenos.

Un trabajo realizado a partir de vitroplantas de ñame (*Dioscorea alata* L.) var. Criollo Blanco, las cuales durante la fase de preadaptación fueron sometidas a tratamientos con 2 cepas de MVA (IES-12 e IES-14) inoculadas a razón de 10 g / planta e inmersión de las raíces en un biopreparado de Azotobacter sp. al 20% durante 10 minutos, obtuvieron que la aplicación de biopreparados favorecieron los parámetros morfológicos evaluados (número de hojas, longitud del tallo y el limbo mayor, longitud del peciolo mayor y número de ramas por plantas) al compararlos con el testigo sin aplicación, comportándose como mejor tratamiento la combinación Azotobacter al 20% más la inoculación de la cepa IES-12 (*Glomus caledonicum*). **Andresson, et al; (2005).**

Así mismo Sánchez et al. (1994) , con el objetivo de determinar el efecto de 4 cepas de hongos Micorrizógenos combinados con niveles de Azotobacter sp y 2 proporciones de humus de lombriz sobre el crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica*) producidas por el sistema de moteo con poda de raíz, determinaron que la combinación *Glomus fasciculatum* y *Glomus pelú* con Azotobacter en la proporción 5/1 mostró los mayores incrementos con respecto a la altura, el diámetro del tallo y el área foliar de las posturas, resultando superiores a los tratamientos testigos. **Sánchez, et al; (2006).**

Días et al. (2000) realizaron un estudio en suelos Ferralítico Rojo lixiviado típico de montaña y suelos Fersialítico Pardo rojizo en la zona del Escambray, con el objetivo de determinar el efecto de varias cepas de micorrizas y la inoculación de Azotobacter chroococcum en el cultivo del cafeto.

Los resultados arrojaron que la inoculación simple y combinada de micorrizas y Azotobacter chroococcum, aunque por lo general resulto positiva, estuvo determinada por la riqueza del sustrato utilizada, obteniéndose en todas las variantes los mejores resultados con la relación 5:1 de suelo-materia orgánica. Con estas alternativas se logra reducir el costo de producción de las posturas de cafeto en viveros. **Días, et al; (2000).**

2.9. Pseudomona fluorescens

Es un bacilo Gram-negativo, recto o ligeramente curvado pero no vibrioide, es saprófito, (todo lo que ingiere pasa a través de la pared de su citoplasma). Se puede encontrar en suelo y agua.

Es incapaz de formar esporas y crece aeróbicamente. La temperatura óptima para su funcionamiento es de 25 a 30 °C, aunque puede crecer desde los 5 hasta los 42 °C aproximadamente. No crece bajo condiciones ácidas (pH ≤ 4.5) y necesita preferentemente pH neutro. Tiene movimiento activo en líquido por sus flagelos polares (más de 1). Su pigmento fluorescente (fluoresceína) la

hace reaccionar frente a la luz ultravioleta, aunque recién cultivada o después de varios cultivos de laboratorio, puede ser que no reaccione. **Sorensen, et al; (2001).**

Las *Pseudomonas* pueden crecer en un medio mineral con iones de amonio o nitrato y un solo compuesto orgánico que funciona como única fuente de carbono y energía. La ganancia energética es obtenida por respiración aeróbica, no por fermentación y su crecimiento es rápido.

Abundan en la superficie de las raíces, ya que son versátiles en su metabolismo y pueden utilizar varios sustratos producidos por las mismas, pero no establecen una relación simbiótica con la planta.

Una de las características de la *Pseudomonas fluorescens* es su alta capacidad de solubilización del fósforo y la realizan por dos vías: la primera es la producción de ácidos orgánicos (ácido cítrico, ácido oxálico, ácido glucónico) que actúan sobre el pH del suelo favoreciendo la solubilización del fósforo inorgánico y liberando el fosfato a la solución del suelo. **Stanier, et al; (2006).**

La otra vía de acción es a través de las fosfatasas que son enzimas hidrolasas (Monoesterasas y Diesterasas Fosfóricas) que actúan sobre las uniones ésteres liberando los grupos fosfatos de la materia orgánica a la solución del suelo. Ambas vías generan una mayor cantidad de fosfato para ser absorbido por las raíces de las plantas.

Otro aspecto destacable es la posibilidad de que las *Pseudomonas fluorescens* posean la virtud de producir sustancias estimuladoras del crecimiento, ya que las *Pseudomonas* en general pertenecen a un grupo llamado “estimuladores del crecimiento vegetal (MECV)” que poseen la propiedad de producir estas sustancias, cuyas principales ventajas son las de estimular la germinación de las semillas, acelerar el crecimiento de las plantas

especialmente en sus primeros estadios, inducir la iniciación radicular e incrementar la formación de raíces y pelos radicales. **Gamazo, et al; (2005).**

Las principales sustancias estimuladoras producidas son de tipo hormonal como auxinas, giberelinas y citoquininas, pero también producen sustancias de otro tipo como aminoácidos y promotores específicos del crecimiento. Estos efectos se dan siempre que sea adecuada la concentración de organismos en el sistema radicular y en el suelo haya suficiente cantidad de materia orgánica.

Por último, una propiedad complementaria de la *Pseudomonas fluorescens* es la de producir ciertas sustancias -antibióticos y sideróforos- que actúan limitando el crecimiento y desarrollo de los patógenos fúngicos que pueden afectar al cultivo. **Rodríguez, et al, (2005).**

2.10. Pasto Mulato (*Brachiaria híbrido*)

Peters, Franco, Schimdt, Hincapié (2003). Las principales características del *Brachiaria híbrido* en rendimiento, crecimiento, comportamiento y adaptación se detallan en el cuadro 5:

Cuadro 5. Principales características de la *Brachiaria híbrido*.

Nombre científico:	Brachiaria híbrido
Nombres comunes:	Mulato
Familia:	Gramínea
Ciclo vegetativo:	Perenne, persistente
Adaptación pH:	4.5 – 8.0
Fertilidad del suelo:	Media

Drenaje:	Necesita buen drenaje
m.s.n.m:	0 – 1800 mm
Precipitación:	1000 - 3500 mm
Densidad de la siembra:	4 – 6 kg/ha ⁻¹
Profundidad de la siembra:	Sobre el suelo, ligeramente tapada
Valor nutritivo:	Proteína 12 - 15%, digestibilidad 55 - 62%
Utilización:	Pastoreo.

Fuente: Peters, *et al*; (2003).

2.10.1. Descripción morfológica

El cv. Mulato es una gramínea perenne de crecimiento inicial macollado que puede alcanzar hasta 1.0 m de altura.

Produce tallos cilíndricos vigorosos, algunos con hábito semi-decumbente capaces de enraizar a partir de los nudos cuando entran en estrecho contacto con el suelo, bien sea por efecto del pisoteo animal o por compactación mecánica, lo cual favorece el cubrimiento total del suelo en potreros bajo pastoreo. Las hojas son lanceoladas con alta pubescencia y alcanzan hasta 40 cm de longitud y entre 2.5 a 3.5 cm de ancho. **Guiot, *et al*; (2003).**

La inflorescencia es una panícula de 30 a 40 cm de longitud, generalmente con 3 a 8 racimos con hilera doble de espiguillas, las cuales varían entre 2.4 mm de ancho y 6.2 mm de largo, que presentan durante la antesis estigmas de color cardenal oscuro.

Cada tallo produce una inflorescencia terminal, aunque se ha observado la aparición de una segunda espiga proveniente de nudos intermedios en el mismo tallo, particularmente cuando se despunta la panícula principal.

Pinzón y Santamaría (2005). Una de las características más destacables de esta planta es su alto macollamiento –hasta 30 macollas 2.4 meses después de establecida— lo cual se inicia pocas semanas después de la emergencia y le da ventajas durante el establecimiento, sobre todo en sitios con alta incidencia de malezas. **Loch, et al; (2002).**

2.10.2. Adaptación y producción de forraje

El cv. Mulato crece bien desde el nivel del mar hasta los 1800 m.s.n.m. en trópico húmedo con altas precipitaciones y períodos secos cortos, y en condiciones subhúmedas con 5 a 6 meses secos y precipitaciones anuales mayores de 700 mm. Sin embargo, se ha reportado que en sitios localizados a 700 m de altura, pero con alta humedad y alta nubosidad en Chiriquí-Panamá, el cv. Mulato tiene pobre desarrollo.

Aparentemente la baja disponibilidad de luz solar afecta el desarrollo de las plantas. Se reporta también buen crecimiento del cv. Mulato en condiciones subtropicales como las de La Florida en EE.UU. y Torreón en México, donde la gramínea se recupera normalmente después de heladas esporádicas.

Los suelos donde crece bien esta gramínea van desde los ácidos con pH 4.2 hasta alcalinos (pH 8.0), pero de mediana a buena fertilidad y bien drenados; el cv. Mulato no sobrevive en suelos pesados con pobre drenaje interno o que se inundan periódicamente.

La tolerancia a la acidez del suelo del cv. Mulato es menor que la reportada en *B. decumbens* (Basilisk)², pero es mayor que la observada en *B. brizantha* (Marandú), una de las fuentes parentales de este híbrido.

Los rendimientos de forraje del cv. Mulato, igual que el de otras gramíneas, depende de las características de fertilidad y de drenaje del suelo, de las condiciones climáticas del sitio y de la incidencia o no de plagas y enfermedades.

Resultados de varias ensayos indican que los rendimientos oscilan entre 10 y 25 t de materia seca (MS) por hectárea/año, donde es evidente que los mejores rendimientos se obtienen en localidades con suelos francos de buena fertilidad, profundos y sin problemas de drenaje, especialmente si se fertiliza el pasto.

Así por ejemplo, se reporta un rendimiento de 18.1 t MS/ha/ año para el cv. Mulato en condiciones de un suelo aluvial sin fertilizar ((pH 5.3; 5.9% de Materia Orgánica (MO) y 25.8 ppm de Fósforo (P)) localizado en Cereté (Colombia), mientras reportan un rendimiento de 20.1 t MS/ha/año para el mismo pasto en un suelo ácido tipo Inceptisol, pero fertilizado (pH 4.5; 3.8% MO y 2.0 ppm de P) localizado en Gualaca (Panamá). Cuadrado, Torregon y Garcés. (2005).

También es claro que los rendimientos tienden a ser menores en la medida que se incrementa la altura sobre el nivel del mar de los diferentes sitios y baja la temperatura media de 29 a 18.4 °C. Pero aún en condiciones medias de temperatura como en Uyuca, el cv. Mulato supera en rendimientos a gramíneas como el Tobiatá, caracterizada por ser una especie vigorosa y de alto rendimiento de forraje. **Guiot, et al, (2003).**

La altura y frecuencia de corte pueden afectar también los rendimientos de una gramínea. En el cv. Mulato se encontraron mayores rendimientos de forraje con frecuencias de corte cada 28 días comparado con cortes cada 21 y 35 días, mientras que variar la altura de corte de 10 a 20 cm no influyó en los rendimientos en condiciones de El Zamorano en Honduras. **Pérez, (2004).**

2.10.3. Establecimiento

Puede hacerse con semilla o material vegetativo, se establece con 4 – 6 Kg/ha, dependiendo de la calidad de semilla.

Se necesita escarificar las semillas mecánica o químicamente antes de sembrar. Es de muy rápido establecimiento, con un primer pastoreo ligero entre 90 – 120 días se dan los mejores resultados. **Peters, et al; (2003).**

2.10.4. Manejo

La producción de forraje presenta pocos cambios estacionales durante el año. Requiere pastoreos intensivos, aguanta cargas calientes y se recupera rápidamente; sin embargo, requiere periodos de descanso. **Peters, et al; (2003).**

2.11. Clitoria ternatea

Nombre científico:	Clitoria ternatea
Nombres comunes:	Conchita azul, campanilla, zapatillo de la reina , bandera, choreque, lupita, pito de parra, papito, bejuco de conchitas
Familia:	Leguminosa
Ciclo vegetativo:	Perenne
Adaptación pH:	4.5 – 8.7
Fertilidad del suelo:	Baja
Drenaje:	No tolera encharcamientos e inundaciones
m.s.n.m:	0 – 2000 mm
Precipitación:	400 - 2500 mm
Densidad de la siembra:	1 – 3 kg/ha
Profundidad de la siembra:	1 – 4cm
Valor nutritivo:	Proteína 17 – 20%, digestibilidad 80%
Utilización	Banco de proteínas, barbecho mejorado, cobertura, abono verde, pastoreo, corte y acarreo, heno, ensilaje, ornamental y medicinal. Peters, et al; (2003).

2.11.1. Descripción

La clitoria es una leguminosa de áreas tropicales y subtropicales, originaria de Asia, que se localiza en ambos hemisferios, aunque otros atribuyen su origen a Centro, Sudamérica y el Caribe, desde los 20 °N hasta los 24° S.

Planta bianual o perenne de vida corta, semiarbusciva y trepadora, alcanza una altura de 60 a 70 cm. Sus tallos son finos de 0.5 a 3 m de largo, hojas pinadas de cinco a siete folíolos oblongo-lanceoladas de 1.5 a 7.0 cm de largo y de 3.0 a 4.0 cm de ancho, ligeramente pubescentes. Flores simples o pareadas, con pedicelos gemelos ubicados a 180° y con formas de embudo invertido, blancas o azuladas de 2.5 a 5.0 cm de longitud. **Peters, et al; (2003).**

Las vainas son alargadas y planas, de 6 a 12 cm de largo y de 0.7 a 1.2 cm de ancho, con mas de 10 semillas (negras, verde olivo, café o moteadas) de 4.7 a 7.0 mm de largo y 3 mm de ancho. Sus raíces son fuertes y profundas.

Enredadera de hojas imparipinnadas con los folíolos 2-3 yugados, ovales: pedúnculos unifloros; lóbulos del cáliz lanceolados, acuminados; flores azules, con 10 estambres soldados en 2 cuerpos; hay también una forma con flores dobles; legumbre aplanada subsésil, valvas no acostilladas; semillas comprimidas. **Villanueva, (2004).**

2.11.2. Distribución

Esta planta es nativa del Asia tropical y ecuatorial, pero ha sido introducida en África, Australia y el Nuevo Mundo.

El nombre específico no alude a la habitual disposición ternaria de los folíolos, sino a la isla indonesia de Ternate, donde se registró la especie por primera vez. **Villanueva, (2004).**

2.11.3. Adaptación

Crece de manera natural en pastizales y matorrales nativos tropicales y subtropicales; a menudo se encuentra en tierras negras y arcillosas, cultivos agrícolas, tierras ociosas y lotes baldíos durante la época de lluvia.

Para su establecimiento requiere suelos moderadamente livianos a pesados, de mediana a alta fertilidad, buen drenaje interno y pH desde alcalino a medianamente ácido, aunque su mejor desarrollo se logra en suelos luvisoles de textura ligera, aun en ciertas condiciones de salinidad en altitudes de 0 a 1,800 msnm, con precipitación anual de 800 a 4,000 mm y en zonas de riego con 400 mm y temperaturas de 19 a 32 °C. **Peters, et al; (2003).**

No prospera en sitios húmedos; tolera ligeramente la sombra y es muy susceptible a heladas.

2.11.4. Usos y aplicaciones

Posee múltiples usos. Originalmente es seleccionada para la cobertura de cosechas. Ampliamente producida para carácter ornamental y usos medicinales. Ahora es usada para ciclos cortos y medianos de pasturas, así como abono verde, y banco de proteínas.

También incrementa la fertilidad del suelo para mejorar los rendimientos de cultivos como maíz, sorgo, trigo. **Tropical Forrajes, (2002).**

2.11.5. Adaptación

Crece de manera natural en pastizales y matorrales nativos tropicales y subtropicales; a menudo se encuentra en tierras negras y arcillosas, cultivos agrícolas, tierras ociosas y lotes baldíos durante la época de lluvia.

Para su establecimiento requiere suelos moderadamente livianos a pesados, de mediana a alta fertilidad, buen drenaje interno y pH desde alcalino a medianamente ácido, aunque su mejor desarrollo se logra en suelos luvisoles de textura ligera, aun en ciertas condiciones de salinidad en altitudes de 0 a 1,800 msnm, con precipitación anual de 800 a 4,000 mm y en zonas de riego con 400 mm y temperaturas de 19 a 32 °C. **Tropical Forrajes, (2002).**

No prospera en sitios húmedos; tolera ligeramente la sombra y es muy susceptible a heladas. **Villanueva, (2004).**

2.11.6. Características agronómicas

En semilla de reciente cosecha presenta problemas para germinar, pero almacenada por seis meses mejora la tasa de germinación en 20 %, la cual se incrementa hasta 80% mediante la escarificación con arenas y tratamientos con agua caliente, ácido sulfúrico e hidróxido de potasio.

Es resistente a la sequía y responde a la irrigación. Permite hasta ocho cortes por año (45 días) y se recupera rápidamente después del corte, y aunque muestra persistencia y resistencia al pastoreo durante periodos cortos, a largo plazo tiende a desaparecer, siendo más conveniente su utilización como forraje de corte. Se considera una de las leguminosas más precoces y productivas para regiones tropicales. **Villanueva, (2004).**

2.11.7. Rendimiento y composición

Cuando se asocia con pasto guinea o con pasta jaragua la producción es de 6 a 18 t/ha/año de forraje seco, es decir de 30 a 90 t/ha de forraje verde. Otra fuente reporta que después de dos meses de establecido el cultivo, se han obtenido 24 t/ha de materia fresca (Gol, 1982). En Zambia, cuando el cultivo tiene cuatro meses de establecido se obtienen 3 t/ha de materia seca y el contenido de proteína cruda se encuentra en un rango de 10 a 25%.

En Nicaragua se reportan rendimientos de 24t/ha de materia verde en solo 2 meses, mientras que el rendimiento de materia seca es de 3 – 8.5 y hasta 13 t/ha de materia seca. En ese mismo país la planta fresca (3 meses) contiene 14.3% de materia seca, de la cual 17.6 es proteína cruda y 23.3 es fibra cruda. **Agronomía, (2001).**

2.12. Kudzú Tropical

Nombre científico:	Pueraria Phaseoloides
Nombre común:	Kudzú tropical
Crecimiento:	Rastrero y Trepador
Origen:	Asia
Densidad de siembra (solo):	8-10 Kg./ha
Densidad de siembra (en mezcla):	3-5 Kg./ha
Días al primer corte después de Germinación:	90-120 días
Rotación promedio:	40-50 días
Altura de la planta:	Trepador-Rastrero
Fertilidad de suelo:	Media a Alta
Utilización:	Pastoreo y Henificación, silo y abono verde
Precipitación:	900 mm. /año
Tolerancia a la sequía:	Alta
Proteína cruda:	14-16%
Producción de forraje en materia seca:	8-10 Ton./ha ⁻¹ ./año ⁻¹
Adaptación:	De 0 a 1800 msnm
Suelos:	Bien Drenados
Ciclo vegetativo:	Perenne

2.12.1. Descripción

El Kudzú (*Pueraria P.phaseoloides*) es una leguminosa tropical herbácea permanente, vigorosa, voluble y trepadora de raíces profundas. Echa raíces en los nudos formando ramas laterales o secundarias que se entretajan en una masa de vegetación de 75 cm. de alto 9 meses después de la siembra, sofocando y eliminando a las malezas. **Peters, et al; (2003).**

Originaria del Asia Sudoriental, Malasia e Indonesia, se encuentra muy difundida en los trópicos húmedos del mundo. En la sequía se desprenden las hojas pero sobrevive rebrotando en las próximas lluvias. Se propaga naturalmente por rizomas colonizando extensas zonas aptas con suficientes precipitaciones. Recomendable como cultivo de cobertura en plantaciones permanentes, para protección y mejoramiento de suelo, control de malezas en Cítricos, Mangos, Cocos.

Tiene alta capacidad de fijar nitrógeno atmosférico al suelo e incorporarlo, sea como abono verde o por la caída de sus hojas. Se estima un aporte de 600 Kg. de Nitrógeno por hectárea al año, mejorando el rendimiento y consumo de las gramíneas asociadas y su contenido de proteína. También para enriquecer con materia orgánica y preparar suelos pobres para la siembra de cultivos industriales. **Agrosemillas Huayamallo, (2009).**

2.12.2. Establecimiento

El kudzú se puede propagar por semillas o por material vegetativo, ya que los estolones (coronas) tienen la propiedad de producir raíces, pero lo usual es por semilla, es necesario escarificar las semillas (mecánica o químicamente), el crecimiento inicial es lento, pero una vez establecido, cubre rápidamente, ayuda a la protección del suelo por su hábito de crecimiento postrado y estolones enraizados. La recomendación de fertilización depende del análisis del suelo. **Peters, et al; (2003).**

2.12.3. Adaptación

Se adapta a diferentes tipos de suelo, desde arenosos hasta arcillosos no compactos con pH de 4 a 6. No tolera la salinidad. Está notablemente exenta de plagas y enfermedades y libre de principios tóxicos. Escasa tolerancia al fuego por lo que no se recomienda la quema. Se le considera una excelente forrajera para los trópicos húmedos, especialmente como alimento remanente para la estación seca.

En condiciones tropicales se adapta hasta los 1600 m.s.n.m., suelos con fertilidad mediana-alta, necesita fósforo y magnesio; su rango de adaptación va de bosques húmedos hasta subhúmedos (> 1500 mm por año), sobrevive de 4 a 5 meses secos y aguanta sombra moderada. **Agrosemillas Huayamallo, (2009).**

Durante la época de sequía se reduce la producción MS por efecto de defoliación, pero con las primeras lluvias se reinicia el crecimiento activo y vigoroso. Cuando se pastorea en asociación se puede utilizar el pastoreo continuo o rotacional, también es utilizado como banco de proteína. Su persistencia en la pradera depende del manejo. **Peters, et al; (2003).**

2.12.4. Productividad, calidad y suelo

El kudzú tiene un alto valor nutritivo, en términos de proteína, digestibilidad, contenido de minerales. La aceptación es alta especialmente en época seca; mejora las condiciones físicas y químicas del suelo por la cantidad de hojas depositadas y por el nitrógeno fijado. La producción de MS está entre 5 y 6 t/ha/año. **Peters, et al; (2003).**

2.13. Investigaciones realizadas

Carrillo (2011) En la investigación comportamiento agronómico y valoración nutricional de la asociación Mulato con Kudzu se observa la producción de forraje a los 80, 110 y 140 días se obtiene valores de 344.45, 143.70 y 422.70 g respectivamente, en relación al peso de raíz se reporta valores de 162.85, 185.95 y 751.95 g respectivamente.

Al observar la poblaciones de microorganismo encontramos que a los 140 días se reportan los mayores valores en Bacterias con 2.3×10^5 , Actinomicetes (UFC/gss) 5.3×10^6 , Hongos (UFC/gss) 2.3×10^4 , Celulolíticos (UFC/gss) 6.3×10^5 , Solubilizadores de P (UFC/gss) 1.7×10^5 y Fijadores de N asimbiot. (UFC/gss) con 1.5×10^4 .

Ochoa (2011) En la investigación comportamiento agronómico y valoración nutricional de la asociación Clitoria + Mulato se observa la producción de forraje a los 80, 110 y 140 días se obtiene valores de 146.85, 342.85 y 143.25 g respectivamente, en relación al peso de raíz se reporta valores de 172.05, 342.45 y 366.75g respectivamente.

Al observar la poblaciones de microorganismo encontramos que a los 140 días se reportan los mayores valores en Bacterias con 2.7×10^6 , Actinomicetes (UFC/gss) 3.0×10^7 , Hongos (UFC/gss) 1.6×10^4 , Celulolíticos (UFC/gss) 2.6×10^6 , Solubilizadores de P (UFC/gss) 3.4×10^4 y Fijadores de N asimbiot. (UFC/gss) con 1.7×10^4 .

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización y duración del experimento

La presente investigación se llevó a cabo, en la finca experimental “La María”, de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el Km. 7 de la Vía Quevedo – El Empalme, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. Se encuentra entre las coordenadas geográficas de 01° 06’ de latitud Sur y 79° 29’ de longitud Oeste. A una altura de 73 m sobre el nivel del mar.

3.2. Condiciones meteorológicas

El sitio experimental presenta las siguientes condiciones meteorológicas, que se detalla en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Condiciones Meteorológicas del sitio de investigación

Datos meteorológicos	Promedio Anual
Temperatura °C	25,80
Humedad Relativa %	85,00
Heliofanía, Horas/Luz/año	960,40
Precipitación, cc/año	2240,50
Clima	Tropical Húmedo
Zona Ecológica	Bosque húmedo tropical
Topografía	Ligeramente Ondulada

Fuente: INAMHI; Anuario meteorológico de la Estación Experimental Pichilingue 2010

3.3. Materiales y equipos

Concepto	Cantidad
Material vegetativo de Clitoria	200
Material vegetativo de Kudzú	200
Material vegetativo de Brachiaria hibrido mulato	200
Inoculante Azotobacter chroococum L	5
Inoculante Azotobacter vinelandii	5
Inoculante Pseudomonas fluorescens L	5
Inoculante beijerinckii	5
Fluxómetro	1
Balanza con capacidad de un kilogramo	1
Fundas plásticas de quintal	90
Fundas plásticas	300
Fundas de papel	300
Cuaderno	1
Análisis bromatológico	10
Latillas de caña	90
Cartulinas	15
Cinta de embalaje transparente (rollos)	3

3.4. Factores en estudio y tratamientos

La investigación planteó la evaluación de tres factores en estudio:

Factor (A): Dos asociaciones gramínea - leguminosa:

a1: Pasto Brachiaria hibrido mulato+ Kudzú (*Pueraria phaseoloides*)

a2: Pasto Brachiaria hibrido mulato + Clitoria (*Clitoria ternatea*)

Factor (B): Inoculantes bacterianos:

- b1: Azotobacter chroococum
- b2: Azotobacter vinelandii
- b3: Azotobacter beijerinckii
- b4: Pseudomonas fluorescens
- b5: Testigo

Factor (C): Dos edades de cosecha:

- c1: 45 días
- c2: 60 días

3.5. Diseño experimental y tratamientos

Para el presente estudio se empleó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial $2 \times 5 \times 2$ tomando las cuatro asociaciones de gramínea-leguminosa, cinco inoculantes bacterianas y las dos edades de cosecha. Se utilizó tres repeticiones por tratamiento.

El análisis de varianza y el esquema del experimento se presentan en el Cuadro 2. Para la diferencia entre las medias de los tratamientos se empleó la prueba de rangos múltiples de Tukey al 95% de probabilidad.

Cuadro 2. Esquema del experimento.

Fuente de variación		G. L
Tratamientos	$t-1$	19
Factor A	$a - 1$	1
Factor B	$b - 1$	4
Factor C	$c - 1$	1
Interacción A x B	$(a-1)(b-1)$	4
Interacción A x C	$(a-1)(c-1)$	1
Interacción B x C	$(b-1)(c-1)$	4
Interacción A x B x C	$(a-1)(b-1)(c-1)$	4
Error	$t(r-1)$	40
Total	$t.r - 1$	59

La unidad experimental estuvo constituida por las plantas sembradas en la funda de un quintal, a la cual se le asignaron al azar la fecha de la cosecha (60 y 90 días). El esquema del experimento se detalla en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Esquema del experimento.

Tra	Combinación	Edad	Repetición	Total
t.		Cosecha		
1	Brachiaria mulato + Kudzú+ A. chroococum	45	3	3
2	Brachiaria mulato + Kudzú + A. chroococum	60	3	3
3	Brachiaria mulato + Kudzú + A. vinelandii	45	3	3
4	Brachiaria mulato + Kudzú + A. vinelandii	60	3	3
5	Brachiaria mulato + Kudzú + A. beijerinckii	45	3	3
6	Brachiaria mulato + Kudzú + A. beijerinckii	60	3	3
7	Brachiaria mulato + Kudzú + P. fluorescens	45	3	3
8	Brachiaria mulato +Kudzú + P. fluorescens	60	3	3
9	Brachiaria mulato + Kudzú	45	3	3
10	Brachiaria mulato + Kudzú	60	3	3
11	Brachiaria mulato + Clitoria + A. chroococum	45	3	3
12	Brachiaria mulato + Clitoria + A. chroococum	60	3	3
13	Brachiaria mulato + Clitoria+ A. vinelandii	45	3	3
14	Brachiaria mulato + Clitoria+ A. vinelandii	60	3	3
15	Brachiaria mulato + Clitoria + A. beijerinckii	45	3	3
16	Brachiaria mulato + Clitoria + A. beijerinckii	60	3	3
17	Brachiaria mulato + Clitoria + P. fluorecens	45	3	3
18	Brachiaria mulato + Clitoria + P. fluorecens	60	3	3
19	Brachiaria mulato + Clitoria	45	3	3
20	Brachiaria mulato + Clitoria	60	3	3
			Total	60

3.6. Mediciones Experimentales

Para efectuar la evaluación, de las siguientes variables se procedió a través del método destructivo, el que consistió en la utilización de la unidad experimental para efectuar la medición de cada variable en todas las edades de corte.

3.6.1. Análisis de suelo

Se tomaron muestras de suelo, con el fin de realizar el análisis correspondiente para determinar la microflora existente y los niveles de nutrientes.

3.6.2. Longitud de la raíz (cm)

Se midió longitudinalmente con un flexómetro en todas las edades, desde la superficie del suelo hasta el tope de la planta tanto para leguminosa como para los forrajes.

3.6.3. Peso de raíz (g)

Se peso a los 45 y 60 días en cada una de las asociaciones de pasto con leguminosas para lo cual se empleo una balanza de precisión

3.6.4. Peso de forraje (g)

Se realizó en el pasto Brachiaria y en cada una de las leguminosas con los inoculantes bacterianos a las dos edades de corte.

3.6.5. Composición química y valor nutritivo

Se efectuó el análisis de la composición química mediante el análisis proximal propuesto por la AOAC (2001), fracciones de fibra.

3.6.6. Población de bacterias y hongos/Tratamiento

En esta variable se cuantificó la población de bacterias y hongos presentes por cada tratamiento.

3.7. Colecta de nódulos y almacenamiento

Recolección de nódulos en el campo: Se seleccionaron plantas con las mejores características (robustas, verdes y sanas), se limpió un área de 15 cm alrededor de la planta y con la ayuda de un pico manual se excavó hasta exponer sus raíces.

Se recogieron los nódulos de la raíz principal, cortando con 1cm de raíz hacia los lados, posteriormente se colocaron en tubos universales que contenían silica-gel y una capa de algodón; finalmente se taparon e identifican los tubos para ser llevados al laboratorio.

Paralelamente se realizó el estudio de la nodulación; tomando como referente que la nitrogenasa es sensible al oxígeno y el *Rhizobium* es anaerobio, la leghemoglobina se encarga de regular la tensión del oxígeno, por lo tanto la coloración del nódulo activo fue de color rojo. Así mismo se determinó la abundancia y tamaño de los nódulos. **Guamán et al (2007)**

3.8. Aislamiento de bacterias y hongos desde el nódulo

Utilizando el plato multiwell; se colocó un nódulo por orificio de este plato, se añadió una gota de agua destilada y con una varilla de vidrio se presionó el nódulo hasta macerarlo.

Previamente se preparó medio de Levadura manitol agar (LMA) + rojo congo y dispersarlo en cajas petri para que solidifique; con la varilla de vidrio que sirvió para macerar el nódulo se inocula mediante estría simple o compuesta, se selló con parafilm e identificaron, este procedimiento se realizó en la cámara de aislamiento. Se colocan las cajas petri invertidas (para evitar condensación) en la estufa a 28°C, hasta establecimiento de colonias. **Guamán et al (2007)**

IV. RESULTADOS

4.1. Efecto simple

4.1.1. Efecto simple de las edades

Al analizar el efecto simple de las variables podemos observar que presentan diferencia estadística ($P \geq 0,05$) los mayores valores se presentan a los 60 días en cada una de las variables estudiadas. Cuadro 4.

Cuadro 4. Efecto simple de edades en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

Variables	Edades (días)		CV (%)
	45	60	
Long raíz leg (cm)	18.18 b	34.97 a	45.35
Long raíz pasto (cm)	34.58 b	50.07 a	39.80
Peso raíz leg (g)	3.68 a	5.07 a	224.00
Peso raíz pasto (g)	85.39 a	91.63 a	65.83
Peso forraje Leg (g)	3.46 a	5.49 a	110.69
Peso forraje Pasto (g)	49.10 a	52.83 a	80.27

Promedios con letras iguales no presentan diferencias estadísticas ($P > 0.05$)

4.1.2. Efecto simple de la asociación pasto – leguminosa

En los efectos simples de la asociación pasto – leguminosa se puede observar que no presentan diferencia estadística ($P \geq 0,05$) en los resultados obtenidos, los mayores valores se registran en la asociación Mulato + Clitoria en las variables Longitud raíz leguminosa (cm), Peso raíz pasto (g) y Peso forraje Pasto (g) excepto en la Longitud raíz pasto (cm), Peso raíz leguminosa (g) y Peso forraje Leguminosa (g) en la asociación Mulato + Kudzu.

Cuadro 5. Efectos simple asociación pastos – leguminosas en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

Variables	Asociación		CV (%)
	Mulato + Kudzu	Mulato + Clitoria	
Long raíz leg (cm)	27.17 a	27.48 a	55.01
Long raíz pasto (cm)	43.73 a	41.13 a	43.80
Peso raíz leg (g)	7.61 a	1.60 a	213.77
Peso raíz pasto (g)	100.85 a	75.85 a	64.35
Peso forraje Leg (g)	6.58 a	2.77 a	104.68
Peso forraje Pasto (g)	44.60 a	57.61 a	79.30

Promedios con letras iguales no presentan diferencias estadísticas (P>0.05)

4.1.3. Efecto simple de los inoculantes

En los efectos simples de los inoculantes se menciona que dentro de los resultados obtenidos no se presentan diferencia estadística (P>0.05), en la longitud de raíz leguminosa el valor mas alto se reporto en el inoculante *A. chroococum* con 32.18 cm, en la longitud raíz pasto y peso raíz pasto se observa los valores de 46.71 cm, y 116.08 g respectivamente con el inoculante *A. beijerinck*; en el Peso raíz leguminosa se refleja los mayores resultados con el Testigo con 7.33 g; seguido de la variable Peso forraje Leguminosa con el inoculante *A. vinelandii* con 6.12 g y Peso forraje Pasto con el inoculante *P. fluorecens* con 82.24 g. Cuadro 6.

Cuadro 6. Efectos simples de inoculantes en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

Variables	Inoculantes					CV (%)
	<i>A. chroococum</i>	<i>A. vinelandii</i>	<i>A. beijerinckii</i>	<i>P. fluorescens</i>	Testigo	
Long raíz leg (cm)	32.18 a	26.27 a	28.92 a	25.23 a	23.60 a	55.47
Long raíz pasto (cm)	37.04 a	43.13 a	46.71 a	44.31 a	41.25 a	44.39
Peso raíz leg (g)	2.16 a	2.93 a	7.16 a	2.64 a	7.33 a	224.76
Peso raíz pasto (g)	70.57 a	97.49 a	116.08 a	103.65 a	56.28 a	62.49
Peso forraje Leg (g)	5.09 a	6.12 a	5.21 a	3.17 a	3.05 a	112.97
Peso forraje Pasto (g)	34.06 a	55.11 a	47.73 a	82.24 a	38.45 a	75.15

Promedios con letras iguales no presentan diferencias estadísticas (P>0.05)

4.2. Longitud de raíz leguminosa (cm)

4.2.1. Interacción de Pasto + Leguminosa x inoculantes

En las interacciones Pasto x Inoculantes en longitud de raíz (cm) se puede observar que hay interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante *A. Chroococum* con 30.33 y 30.75 cm. Figura 1

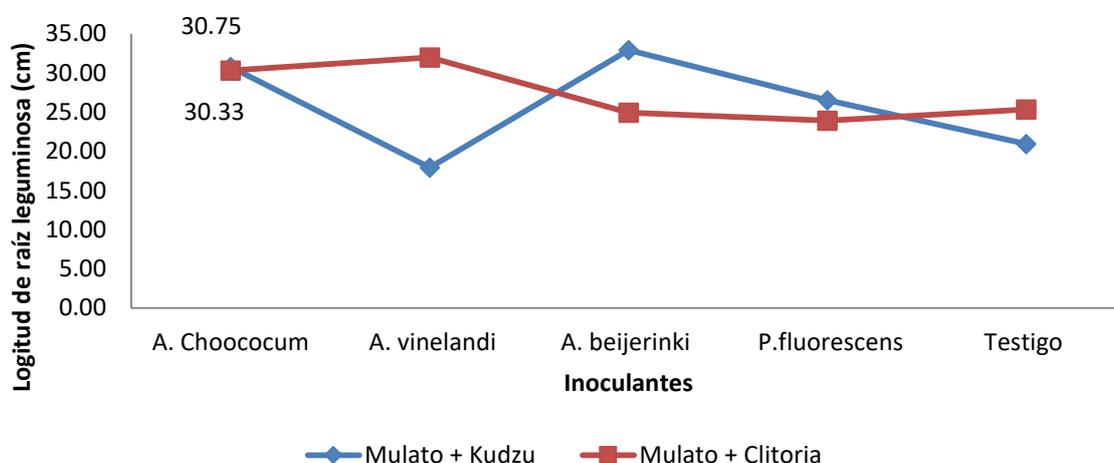


Figura 1. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en longitud de raíz leguminosa cm en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.2.2. Interacción de Edad x Pasto + Leguminosa

En lo que corresponde a la Edad x Pasto + leguminosas en longitud de raíz (cm) se puede observar que existe interacción a los 45 días con 18.07 y 18.20 cm manteniéndose hasta los 60 días en la Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con 33.40 y 36.53 cm a los 60 días. Figura 2

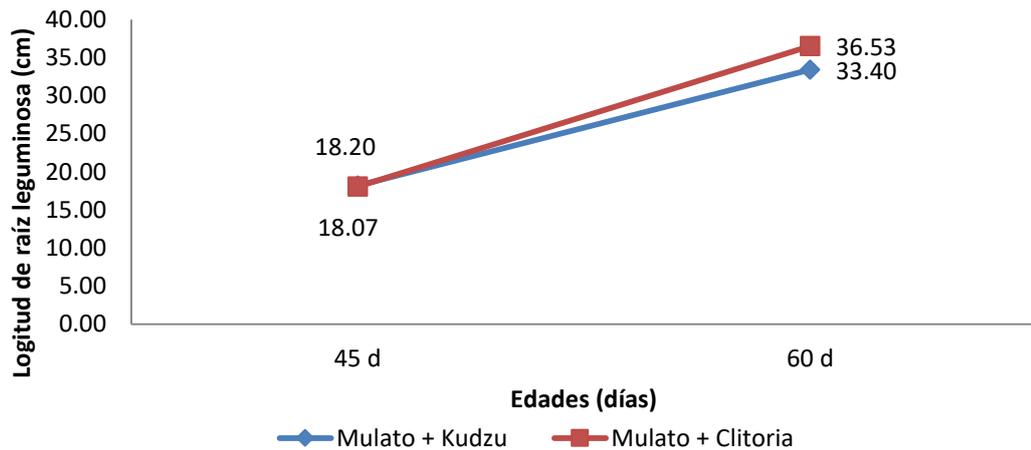


Figura 2. Edad x Pasto + leguminosas en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseoloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.2.3. Interacción de Edad x inoculantes

En la figura 3 sobre la Edad + inoculantes en longitud de raíz (cm) se reporto el mayor valor en el inoculante *A. chroococum* con 43.50 cm a los 60 días dentro de la investigación realizada.

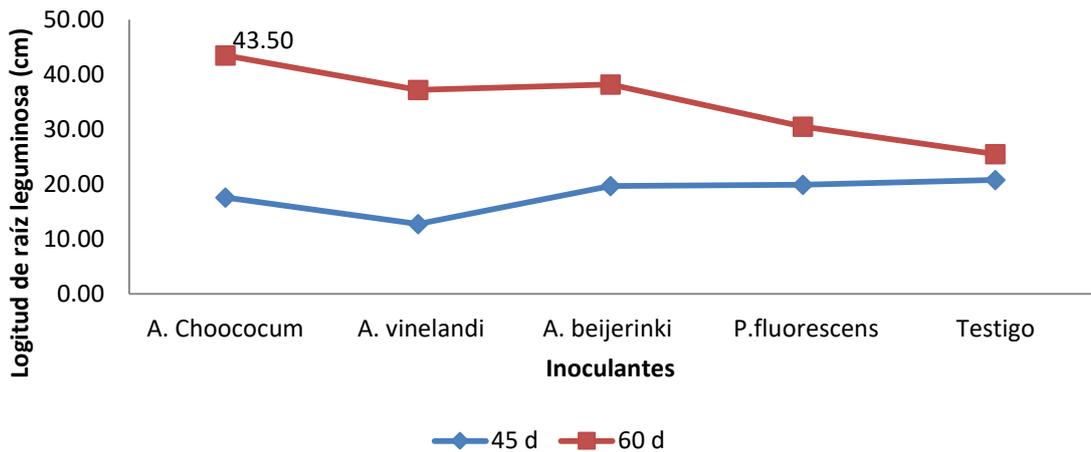


Figura 3. Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseoloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.2.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad

En lo que corresponde a la interacción del pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se puede observar que hay interacción a los 45 días en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el Testigo 19.50 y 22.00 cm. También se reporta el mayor valor que se presenta a los 45 días en el inoculante *A. chroococum* con 49.00 cm con la asociación Mulato + Kudzu; seguido del inoculante Mulato + Clitoria a los 60 días con el inoculante *A. vinelandii* Figura 4.

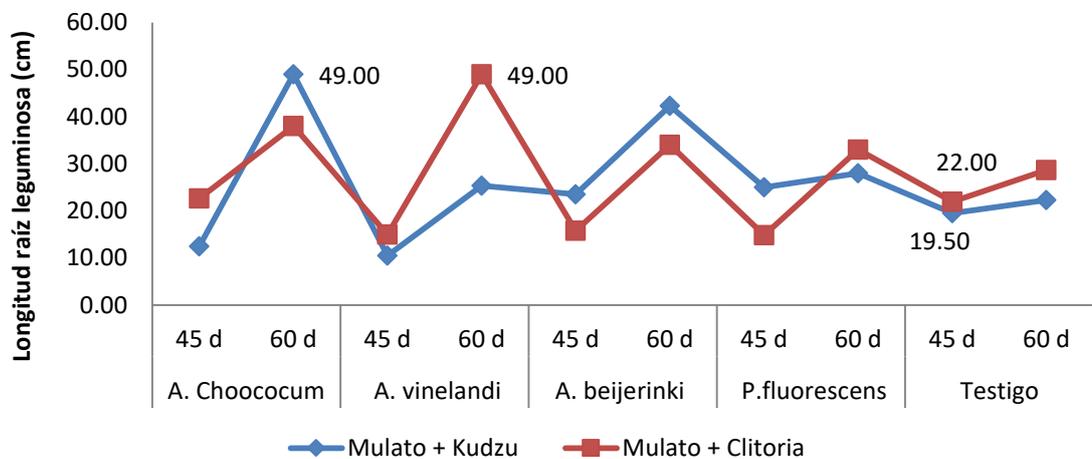


Figura 4. Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.3. Longitud de raíz pasto (cm)

4.3.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes

En la investigación realizada a los Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) se puede observar que hay interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante *A. chroococum* con 35.58 y 37.79 cm y *A.* 42.92 y 43.33 cm. Figura 5.

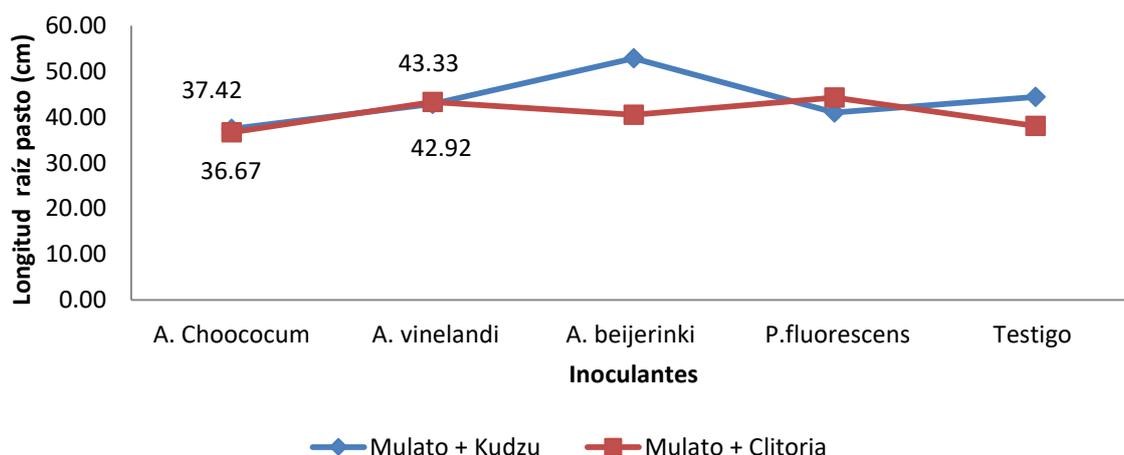


Figura 5. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.3.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la investigación realizada a los Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) se puede observar que los mayores valores se presentan a los 60 días en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con 46.73 y 53.40 cm. Figura 6.

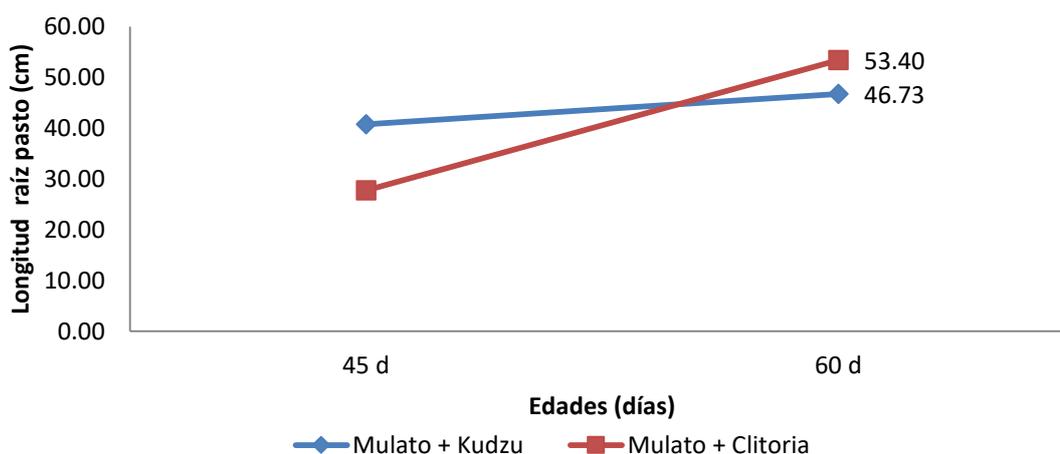


Figura 6. Edad x Pasto + leguminosas en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.3.3. Interacción Edad x inoculantes

En los resultados obtenidos de la investigación realizada en la edad + inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) se observa el mayor valor a los 60 días con el inoculante *A. beijerinckii* con 52.17 cm. Figura 7.

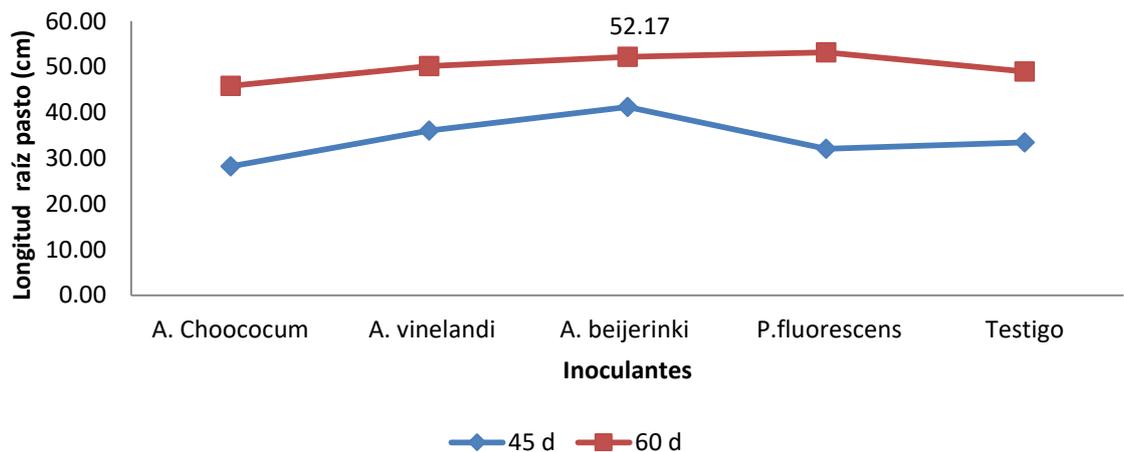


Figura 7. Edad + inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzu (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.3.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad

En la figura 8 de la interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se puede observar que hay interacción a los 60 en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculantes *A. chroococum* con (27.67; 28.83 y 45.67; 46.00 cm); a los 60 días con los inoculantes *A. beijerinckii* (52.00 y 52.33 cm) y Testigo (33.17 y 33.83 cm) a los 45 días.

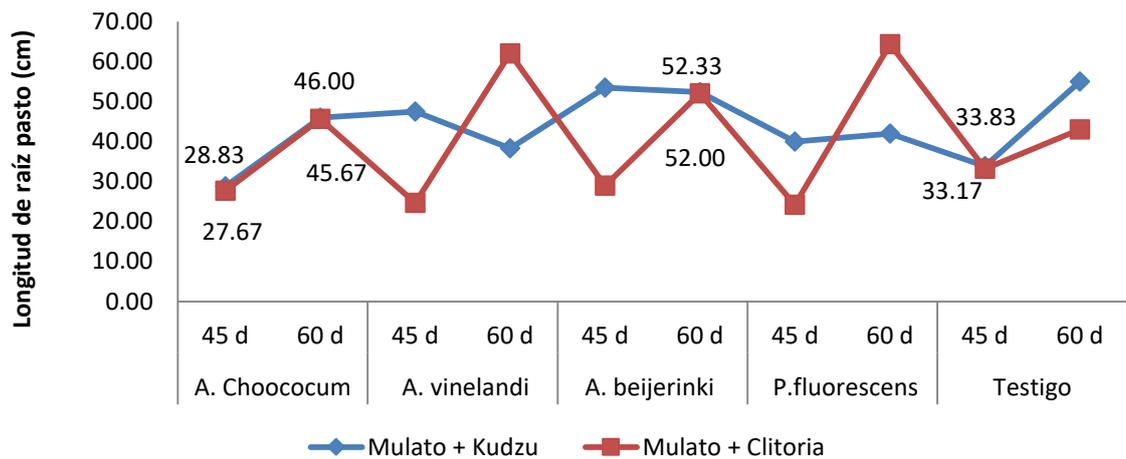


Figura 8. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.4. Peso de raíz leguminosa (g)

4.4.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes

En la investigación realizada a los Pasto + Leguminosas x Inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) se reporto el mayor valor en la asociación Mulato + Kudzu con 12.95 g con el inoculante *A. beijerinkii*. Figura 9.

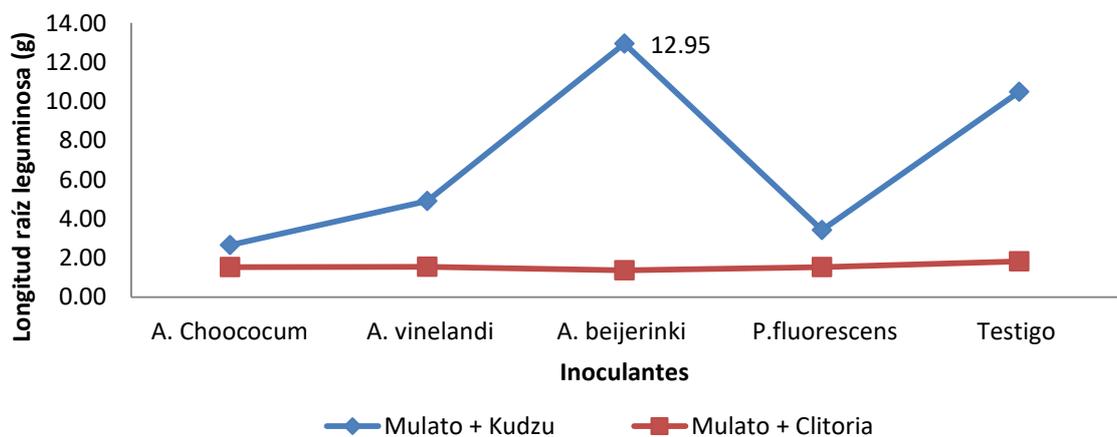


Figura 9. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.4.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la Edad x Pasto + leguminosas en peso de raíz de leguminosa (g) se presenta los mayores valores a los 60 días en la asociación Mulato + Kudzu con 7.69. Figura 10

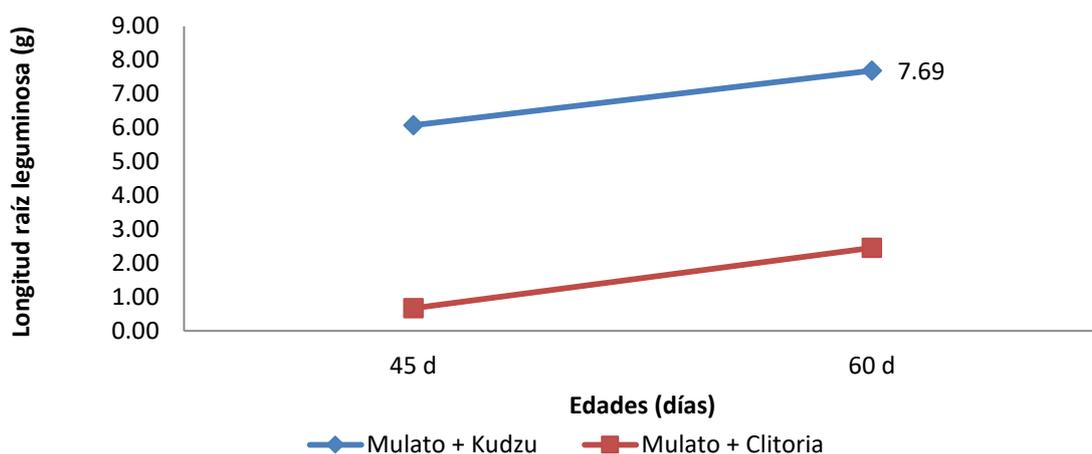


Figura 10. Edad x Pasto + leguminosas en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.4.3. Interacción Edad x inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g)

En la interacción edad + inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) se puede observar que hay interacción a los 45 y 60 días con el inoculante *A. vinelandii* con 2.92 y 3.54 g y su mayor valor se registra a los 60 días con el Testigo con 12.05 g. Figura 11.

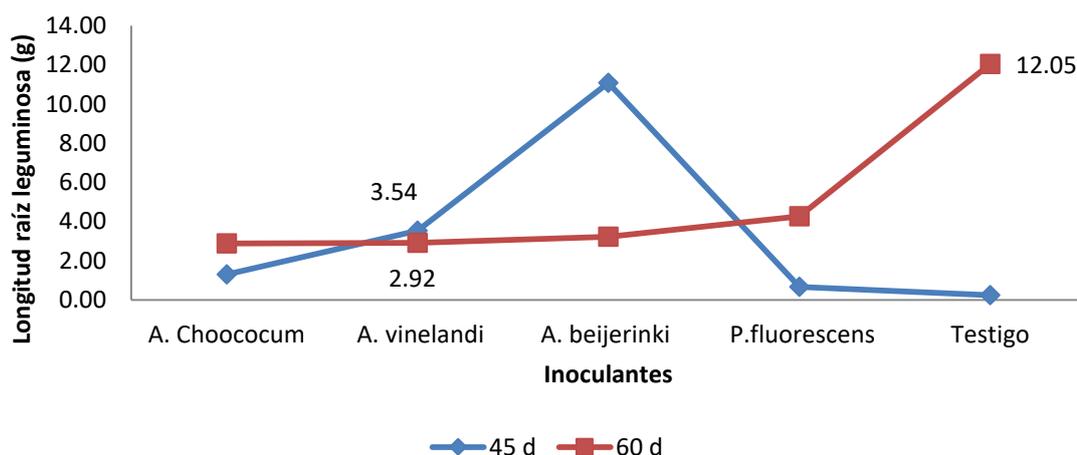


Figura 11. Edad + inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.4.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad

De las investigaciones realizadas se puede observar que dentro de los resultados obtenidos en la Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se refleja una fuerte interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante *A. chroococum* con 1.30 g a los 45 días; a los 60 días el inoculante *A. vinelandii* con 2.53 y 3.30 g; seguido del inoculante *P. fluorescens* con 0.65 y 0.68 g a los 45 días y el inoculante Testigo con 0.15 y 0.35 g también refleja un mayor valor a los 45 días con el inoculante *A. beijerinkii* con 21.73 g. Figura 12.

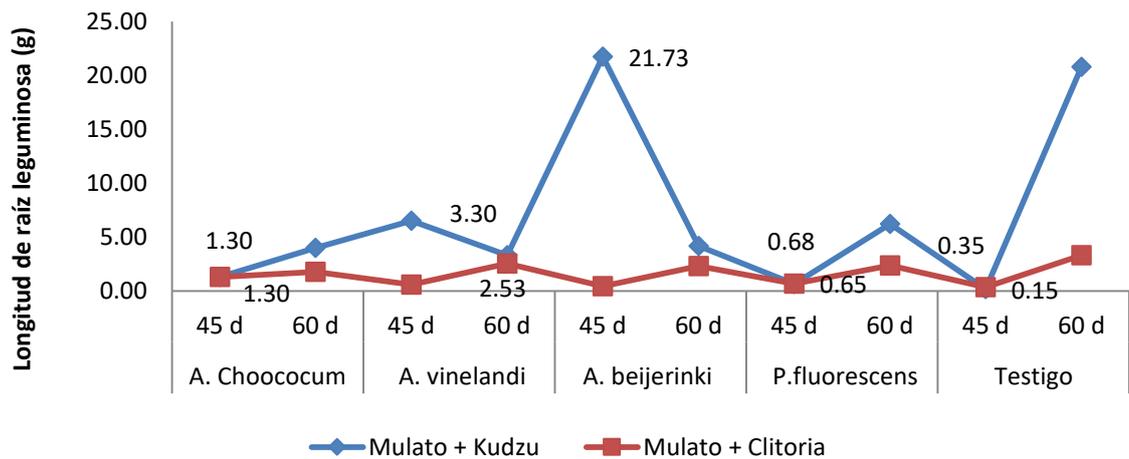


Figura 12. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en peso de raíz leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.5. Peso de raíz pasto (g)

4.5.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes

Dentro de la investigación realizada a los pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso de raíz pasto (g) se puede observar que hay interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante *A. vinelandii* con 99.22 y 102.77 g; seguido del Testigo con 49.66 y 62.90 g. Figura 13

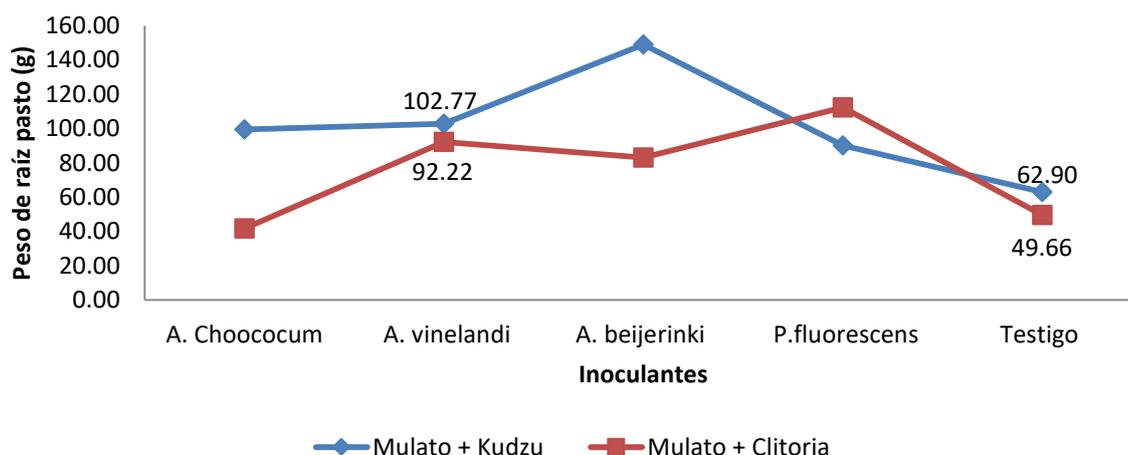


Figura 13. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.5.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la figura 14 de la Edad x Pasto + leguminosas en Peso de raíz pasto (g) donde se pudo observar el mayor valor a los 45 días en la asociación Mulato + Kudzu con 124.28 g.

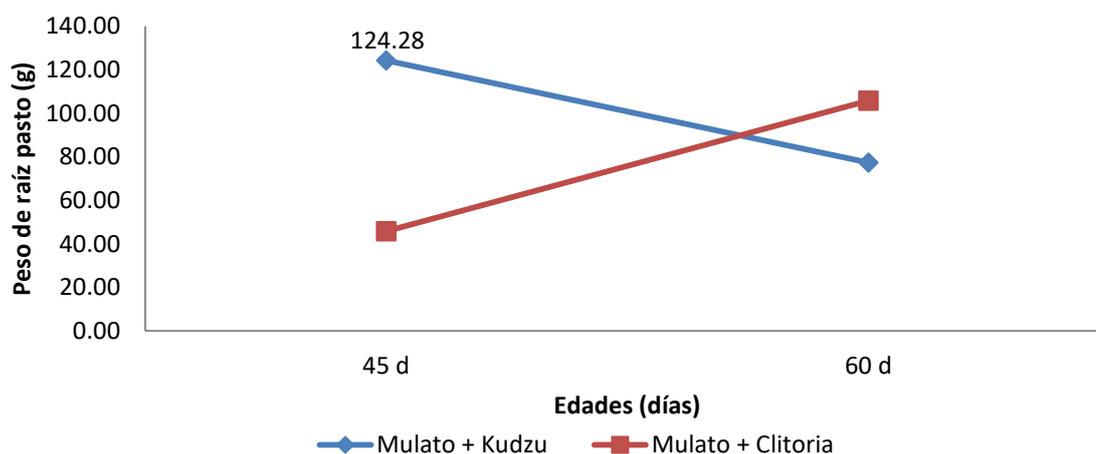


Figura 14. Edad x Pasto + leguminosas en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.5.3. Interacción Edad x inoculantes

En la interacción Edad x inoculantes en Peso de raíz pasto (g) se puede constatar que hay interacción a los 45 y 60 días con el inoculante *A. beijerinckii* con 96.72 y 98.27 g. Figura 15

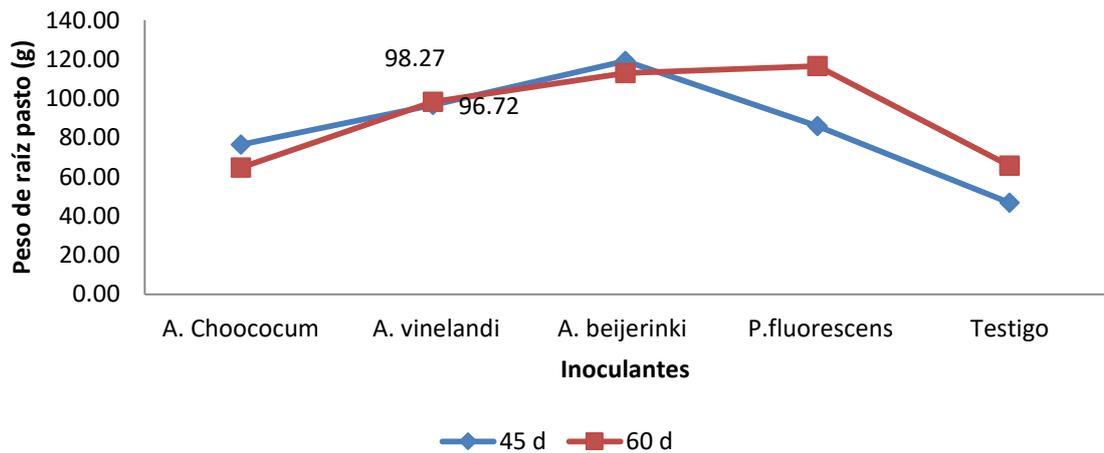


Figura 15. Edad + inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.5.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad

En la figura 16 se puede observar que en la Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad refleja los mayores valores en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria a los 45 y 60 días con el inoculante *A. vinelandii* con 165.13 y 156.13 g; seguido del inoculante *A. beijerinckii* a los 45 días con 174.83 g en la asociación Mulato + Kudzu; y en la asociación Mulato + Clitoria con 150.17 g con la asociación *P. fluorescens* a los 60 días.

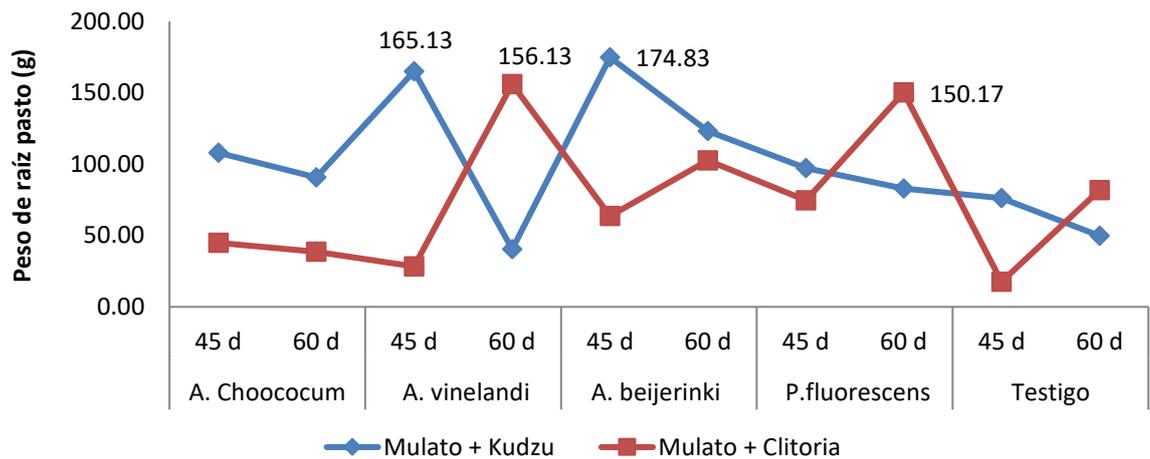


Figura 16. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en peso de raíz leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.6. Peso forraje leguminosa (g)

4.6.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes

Dentro de los resultados obtenidos dentro de esta variable en los Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) se puede constatar que existe interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante *P. fluorescens* con 2.93 y 3.00 g y su mayor resultado en el inoculante *A. vinelandii* con 10.33 g. Figura 17.

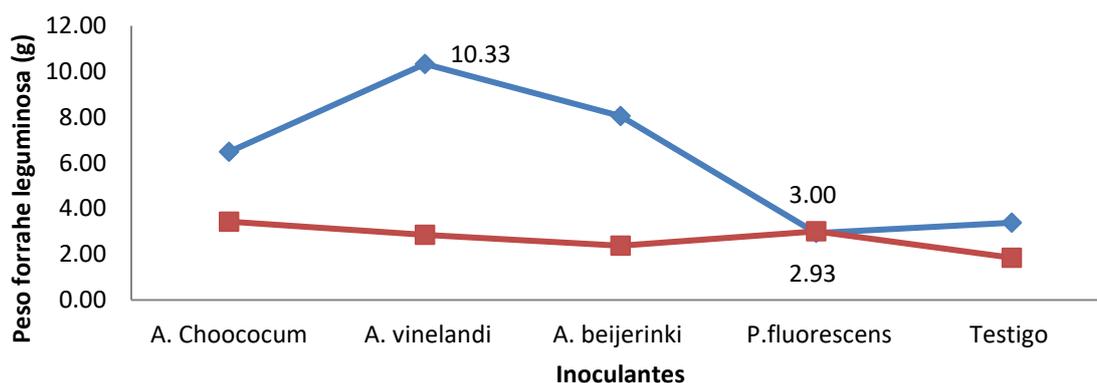


Figura 17. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.6.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje leguminosa (g) quien demuestra los mayores valores dentro de la investigación en la asociación Mulato + Kudzu con 7.34 a los 60 días. Figura 18.

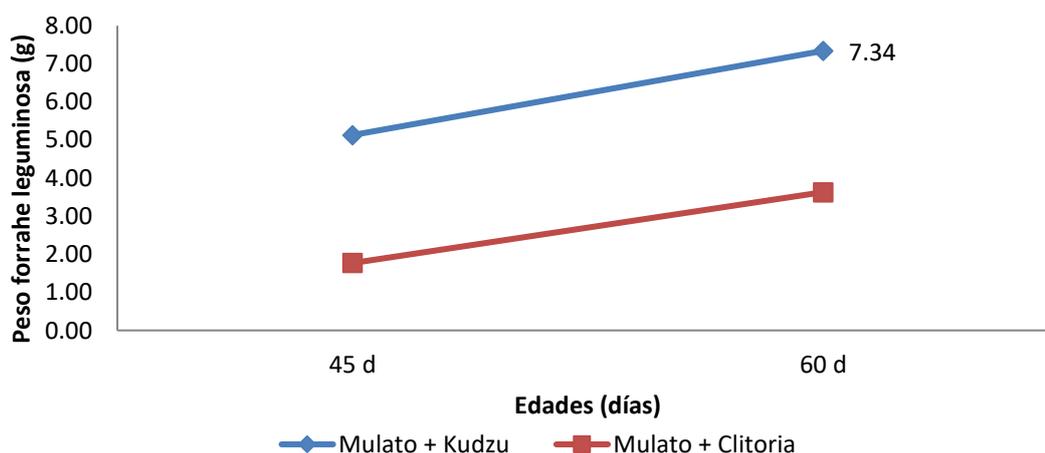


Figura 18. Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.6.3. Interacción Edad + inoculantes

En la interacción Edad + inoculante en Peso forraje leguminosa (g) se puede constatar que hay interacción a los 45 y 60 días con el inoculante *P. fluorescens* con 6.58 y 6.60 g. Figura 19.

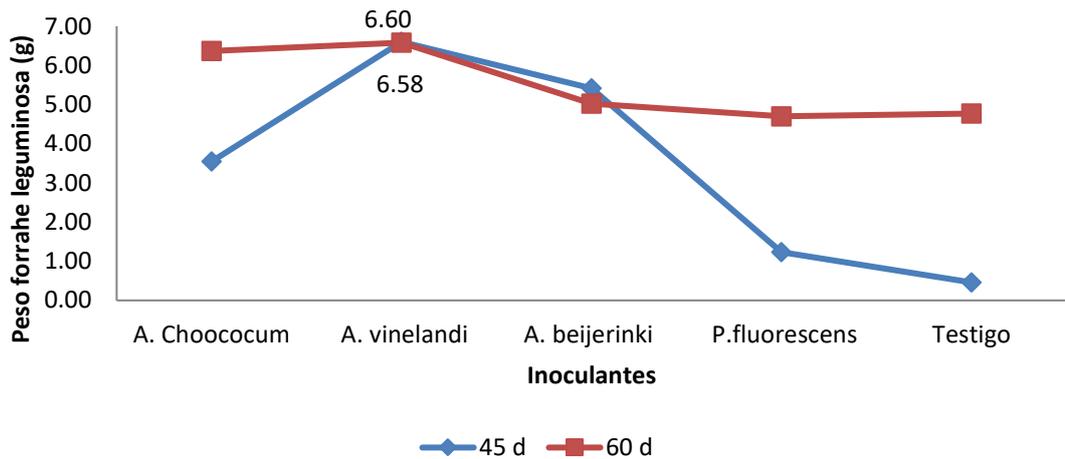


Figura 19. Edad + inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseoloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.6.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad

En la investigación realizada a los Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se puede observar que hay interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria a los 45 días con el inoculante *A. chroococum* con 3.50 y 3.60 g. y su mayor valor en la asociación Mulato + Kudzu con 11.75 a los 45 días. Figura 20.

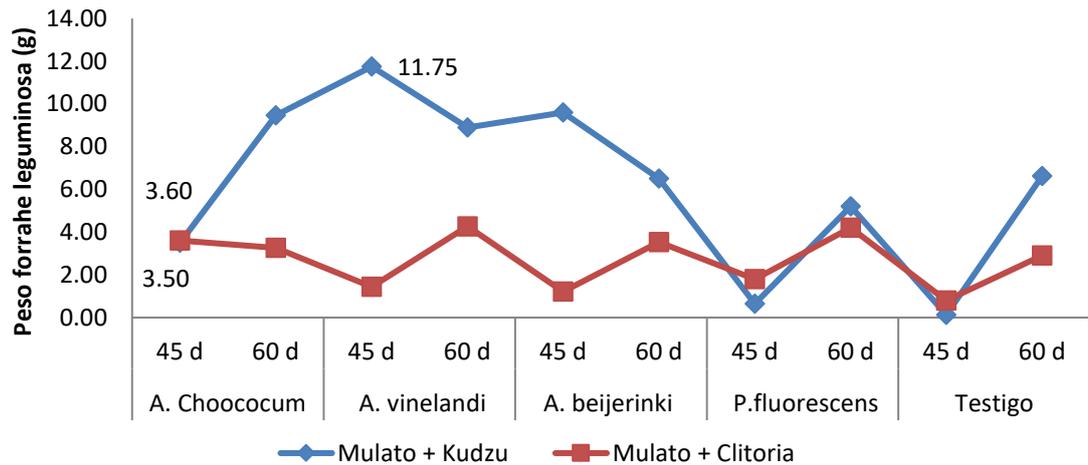


Figura 20. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.7. Peso forraje pasto (g)

4.7.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes

En las interacciones Pasto x Inoculantes en Peso forraje pasto (g) se reflejó interacción dentro de la investigación en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante *A. chroococum* con 33.43 y 34.65 g; seguido del inoculante 47.31 y 48.15g y el Testigo con 38.08 y 38.81. En la cual nos refleja su mayor valor en la asociación Mulato + Clitoria con 129.68 con el inoculante *P. fluorescens*. Figura 21

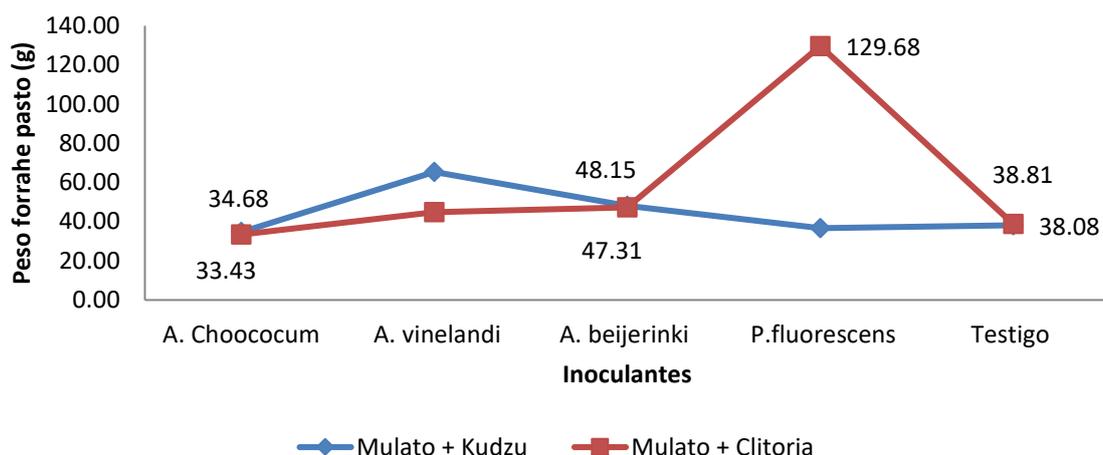


Figura 21. Pasto + Leguminosa x inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

7.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la interacción Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje pasto (g) en la investigación se reflejó interacción a los 45 días en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con 48.93 y 52.25 g, y el mayor valor a los 60 días con la asociación Mulato + Clitoria con 68.69 g. Figura 22.

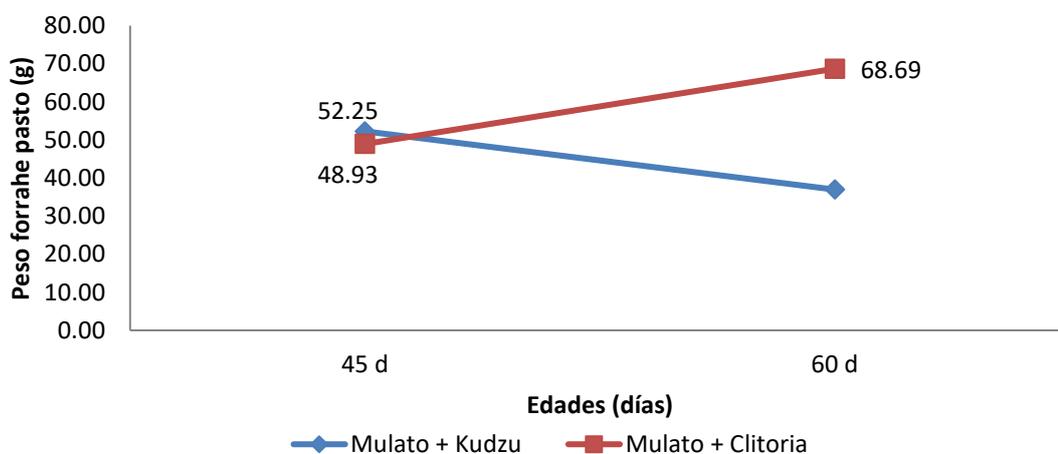


Figura 22. Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.7.3. Interacción Edad + inoculantes

En la figura 23 sobre la interacción Edad + inoculantes en Peso forraje pasto (g) se pudo constatar que existe interacción a los 45 y 60 días con los inoculantes *A. chroococum* con 31.25 y 36.87; y Testigo con 37.98 y 38.98 g.

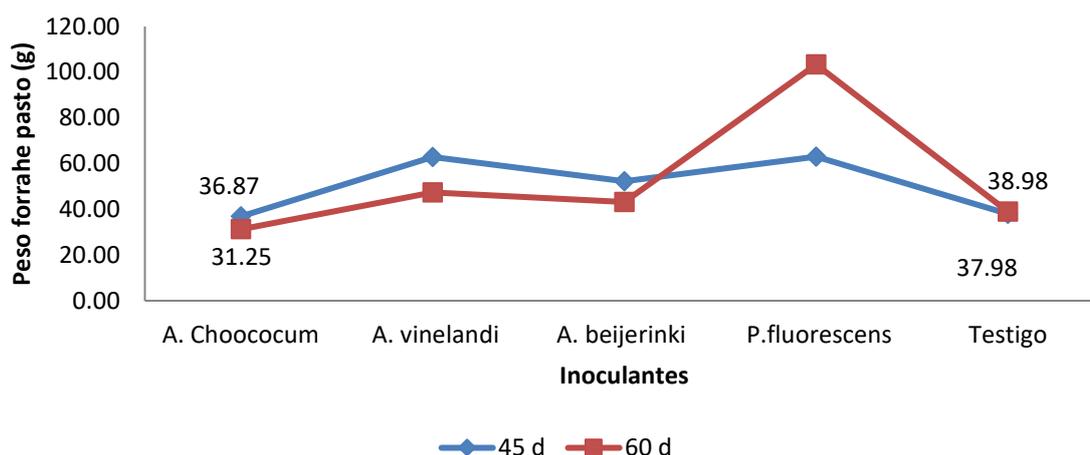


Figura 23. Edad + inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.7.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad

En lo que corresponde a la interacción del pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se refleja el mayor resultado en la *P. fluorescens* a los 60 días con 165.63 en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria se observa interacción con el inoculante *A. Chroococum* con (35.60 y 38.13 g) y (31.23 y 31.27 g) a los 45 y 60 días. Figura 24.

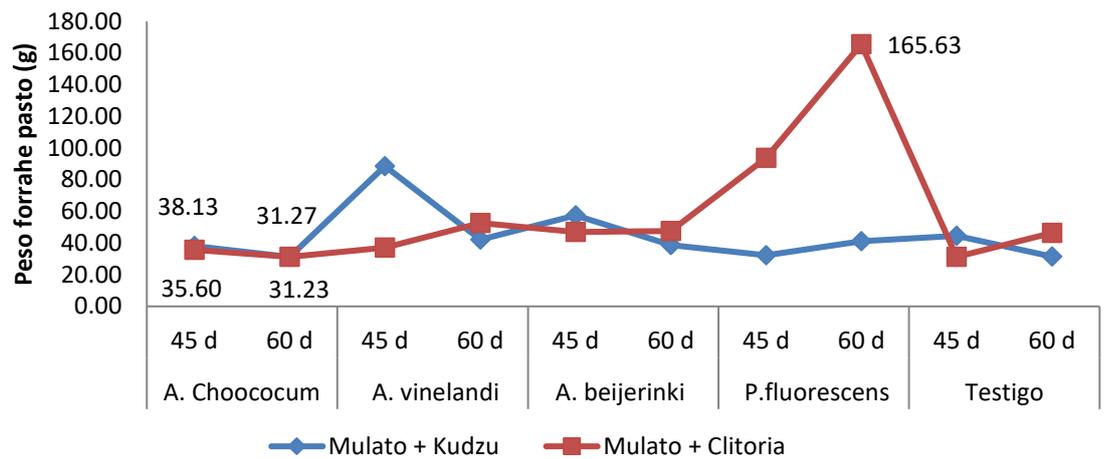


Figura 24. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria hibrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

4.8. Análisis bromatológico

Los mayores niveles de proteína a los 45 días se reportan en la Mulato + Kudzu + el inoculante *P fluorescens* con 8.12% de proteína para la asociación Mulato + Clitoria + *A. beijerinckii* se reportó con 15.70% de proteína. Cuadro 7.

A los 60 días Mulato + Kudzu presentan el nivel de proteína mas alto con 13.16% y en la asociación Mulato + *P fluorescens* + *A. beijerinckii* reportan el valor de 7.50%. Cuadro 8.

Cuadro 7. Composición bromatológica de dos asociaciones de pastos con leguminosas a los 45 días en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

Pasto	Leguminosa	Inoculante	Humedad	Materia seca	Proteína	Ext. Etéreo	Ceniza	Fibra	E.L.N.N	Otros
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Mulato	Kudzú	A. Chroococum	48.90	51.10	7.50	9.10	9.80	43.80		29.80
	Kudzú	A. vinelandii	66.38	33.62	7.50	6.9	12.62	38.40		34.58
	Kudzú	A. beijerinckii	46.82	53.18	6.87	7.89	8.38	45.80		31.06
	Kudzú	P. fluorescens	51.89	48.11	8.12	7.06	9.00	39.00		36.82
	Kudzú		53.63	46.37	5.61	7.10	8.45	47.40		31.44
	Clitoria	A. Chroococum	33.29	66.71	5.70	9.53	7.06	40.50		37.21
	Clitoria	A. vinelandii	46.72	53.28	5.70	9.36	10.00	34.80		40.14
	Clitoria	A. beijerinckii	49.87	50.13	15.70	9.14	10.11	35.10		29.25
	Clitoria	P. fluorescens	63.46	36.54	5.00	18.79	12.33	27.40		36.48
	Clitoria		48.27	51.73	5.70	9.64	8.99	36.10		39.57

Cuadro 8. Composición bromatológica de dos asociaciones de pastos con leguminosas a los 60 días en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Mulato (*Brachiaria híbrido mulato*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*)

Pasto	Leguminosa	Inoculante	Humedad	Materia seca	Proteína	Ext. Etéreo	Ceniza	Fibra	E.L.N.N	Otros
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Mulato	Kudzu	A. Chroococum	40.58	59.42	8.48	2.76	10.5	30.60		47.66
	Kudzu	A. vinelandii	35.89	64.11	11.99	2.01	14.23	28.90		42.87
	Kudzu	A. beijerinckii	47.40	52.60	9.36	2.42	10.75	29.80		47.67
	Kudzu	P. fluorescens	47.56	52.44	8.61	3.02	9.08	31.20		48.09
	Kudzu		38.74	61.26	13.16	2.41	11.71	31.00		41.72
	Clitoria	A. Chroococum	46.96	53.04	4.37	6.81	9.53	42.20		37.09
	Clitoria	A. vinelandii	47.99	52.01	5.62	7.44	9.23	42.10		35.61
	Clitoria	A. beijerinckii	41.15	58.85	3.75	8.83	6.89	43.20		37.33
	Clitoria	P. fluorescens	57.03	42.92	7.50	11.11	9.20	41.60		30.59
	Clitoria		52.23	47.77	6.87	8.68	8.42	42.1		33.93

4.9. Composición microbiológica

Los análisis microbiológicos de las asociaciones pasto-leguminosa estudiadas se realizaron en los laboratorios de CISPAL - ANCUPA. En los análisis de poblaciones totales quien obtuvo los mejores resultados reflejados en bacteria y población de hongos es para el pasto Mulato + Leguminosa + *A. vinelandii* con 9.0×10^4 y 9.6×10^4 a los 45 días; seguido a la población de Actinomicetes reporta excelente resultados a los 60 días con 9.5×10^7 con el tratamiento Mulato + Leguminosa + *A. beijerinckii*.

Mientras que en el grupo funcionales en lo referente a los Solubilizadores sus mejores resultados se refleja en la asociación Mulato + Leguminosa + *A. Vinelandii* con 6.9×10^2 a los 45 días; mientras que en el grupo Celulolíticos en la asociación Mulato + Leguminosa + a los 60 días con 5.7×10^3 ; en lo referente a los Fijadores de N de vida libre sus mejores resultados son para la asociación Mulato + Leguminosa + *A. beijerinckii* a los 60 días con 3.4×10^5 . Cuadro 10.

Cuadro 9. Poblaciones totales de bacterias, hongos y actinomicetos en las asociaciones de pasto- leguminosas.

Tratamiento		Poblaciones Totales			Grupos funcionales		
		Bacterias	Hongos	Actinomicetos	Solubilizadores de Fósforo	Celulolíticos	Fijadores de N de vida libre
Mulato + Leguminosa + A. Chroococum	45	1.2×10^5	2.2×10^5	4.5×10^3	3.4×10^1	2.7×10^3	1.9×10^3
	60	1.8×10^6	1.6×10^4	3.8×10^6	1.4×10^5	2.5×10^5	1.4×10^3
Mulato + Leguminosa + A. vinelandii	45	9.0×10^4	9.6×10^4	1.3×10^4	6.9×10^2	3.9×10^3	1.7×10^3
	60	8.0×10^5	4.0×10^4	1.2×10^7	1.7×10^6	2.4×10^4	1.6×10^4
Mulato + Leguminosa+ A. beijerinckii	45	1.0×10^5	1.8×10^5	6.8×10^3	3.8×10^1	0.00	2.2×10^3
	60	1.3×10^6	4.5×10^4	9.5×10^7	6.4×10^6	1.7×10^4	3.4×10^5
Mulato + Leguminosa + P. fluorescens	45	1.2×10^5	3.0×10^5	9.5×10^3	0.00	3.7×10^3	3.1×10^2
	60	$2,7 \times 10^6$	$3,0 \times 10^7$	1.3×10^4	2.2×10^6	3.4×10^4	1.7×10^4
Mulato + Leguminosa	45	2.2×10^5	6.6×10^5	3.7×10^4	0.00	2.3×10^4	2.1×10^3
	60	7.7×10^5	1.3×10^6	3.6×10^5	0.00	5.7×10^3	2.6×10^2

V. DISCUSIÓN

Al estudiar cada una de las variables en estudio se pudo observar que el mayor valor se presenta a los días en la variable peso forraje pasto con 68.69 g siendo inferior a los mostrados por **Carrillo (2011)** quien indican que mejor resultados en su investigación en lo que corresponde a la edad de 80, 110 y 140 días reportan 344.45 g; mientras que **Ochoa (2011)** obtuvo en la investigaciones los valores de 146.85 g.

En relación a bacterias los valores son superiores a **Carrillo 2011 y Ochoa 2011**, en hongos los valores son superiores a **Carrillo 2011 y Ochoa 2011**, en Actinomicetes, Solubilizadores de P, Celulolíticos, Fijadores de N asimbiótico son inferiores a **Carrillo 2011 y Ochoa 2011**.

Al estudiar los efectos simples de cada una de las variables en estudio se pudo observar mayor efecto simple de las edades a los 45 y 60 días se la presento en las variables peso forraje pasto (85.39 y 91.63 g); en lo que corresponde a la asociación pasto – leguminosa x inoculante la interacción la obtuvo en la investigación en el pasto Mulato + Kudzu y Clitoria en la variables con 33.43 y 34.65 g; en los que tiene que ver con los efectos simples de los inoculantes los mejores resultados obtenidos dentro de la investigación realizada a los inoculantes (A. chroococum; A. vinelandii; A. beijerinck; P. fluorescens; y Testigo) es en la variable Peso forraje pasto con (34.06; 55.11; 47.73; 82.24 y 38.45 g) lo reportado por **Campillo Ricardo (2003)** no indica que en temporadas posteriores tampoco hubo efecto de la inoculación en ninguna de las leguminosas

En la interacción de pasto + leguminosa x inoculante y x edad se puede observar interacción a los 45 y 60 días en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante A. Choococum con (35.60 y 38.13 g) y (31.23 y 31.27 g). Lo indicado por **Campillo Ricardo (2003)** que se evaluaron tres especies gramíneas que normalmente se siembran en la región. Al comparar la FBN (%) de las leguminosas basado en el uso de las tres especies gramíneas, se observó una gran similitud en los valores estimados.

VI. CONCLUSIONES

- En lo que corresponde al efecto simple por edad a los 60 días mostraron los mayores valores en las variables estudiadas.
- La asociación Mulato + Kudzu presentan los mayores valores en las variables Longitud raíz pasto, peso raíz pasto, peso forraje leguminosa y peso forraje pasto.
- Los inoculantes a base de Azotobacter, *P. fluorescens* y el Testigo no presentaron diferencia estadísticas por cuanto actúan los inoculantes en las diferentes variables.
- En las interacciones se demostró que los inoculantes junto con las asociaciones y las edades tienen diferente comportamiento en cada una de las variables reportadas.
- La asociación mulato + Kudzu y Clitoria + *P. fluorescens* presenta a los 45 y 60 días niveles altos de proteínas.
- El uso de microorganismos capaces de promover el crecimiento de los pastos puede representar una opción importante para el establecimiento y para la producción de pastos forrajeros, en especial en condiciones de estrés de humedad y temperatura.

VII. RECOMENDACIONES

1. Desarrollar estudios sobre el efecto de la inoculación con *Azotobacter* sp. en otras etapas del crecimiento de las plantas.
2. Aislar cepas nativas de bacterias fijadoras de nitrógeno de diversos lugares, para comprobar la capacidad de fijación de las mismas.
3. Analizar el efecto de *Azotobacter* sp. en las variables morfológicas y fisiológicas de otros cultivos importantes para la economía del país.

VIII. RESUMEN

Los pastos y forrajes son la base de la alimentación del ganado y de otros el aprovechamiento eficiente del pasto podría satisfacer gran parte de las necesidades nutritivas del ganado.

La presente investigación se realizó en la parroquia Marcos Espinel del cantón Píllaro provincia de Tungurahua tuvo una duración de 60 días como objetivo general Determinar la población microbiana en la asociación de pastos con leguminosas mediante la inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal y como objetivo específico Inocular las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal: *Azotobacter chroococum*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter beijerinckii paspali* y *Pseudomonas fluorescens* en las asociaciones gramíneas-leguminosas en estudio, utilizando un diseño completamente al Azar (DCA) con dos asociaciones de gramíneas, cinco inoculantes y dos edades de cosecha.

En lo que corresponde la interacción del pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se puede observar que hay similitud estadística a los 45 días en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculante Testigo (19.50 y 22.00 cm); en lo referente a la interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se puede observar que hay interacción a los 60 en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria con el inoculantes *A. chroococum* con (27.67; 28.83 y 45.67; 46.00 cm); a los 60 días con los inoculantes *A. beijerinckii* (52.00 y 52.33 cm) y Testigo (33.17 y 33.83 cm) a los 45 días. En longitud de raíz pasto.

Se puede observar que dentro de los resultados obtenidos en la Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se refleja una fuerte interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mukato + Clitoria con el inoculante *A. chroococum* con 1.30 g a los 45 días; a los 60 días el inoculante *A. vinelandii* con 2.53 y 3.30 g; seguido del inoculante *P. fluorescens* con 0.65 y 0.68 g a los 45 días y el inoculante Testigo con 0.15 y 0.35 g correspondiente a la longitud raíz

leguminosa; en la Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad refleja similitud estadística en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria a los 45 días con el inoculante *A. vinelandi* con 23.17 y 33.47 g en Peso de raíz pasto; y su vez en los Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad del peso forraje leguminosa hay interacción en la asociación Mulato + Kudzu y Mulato + Clitoria a los 45 días con el inoculante *A. choococum* con 3.50 y 3.60 g

IX. SUMMARY

Pastures and fodder are the staple food of cattle and other grazing use efficiency could meet much of the nutritional requirements of livestock.

This research was conducted in the parish of the canton Marcos Espinel Píllaro Tungurahua province lasted 60 days overall objective determine the microbial population in the association of grasses and legumes by inoculation of plant growth promoting rhizobacteria and specifically targeted Inoculate the plant growth promoting rhizobacteria: *Chroococcum*, *Azotobacter*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter* and *Pseudomonas beijerinckii paspali fluorescens* in grass-legume associations in study, using a completely randomized design (CRD) with two associations of grasses, five inoculants and two crop ages .

In the corresponding interaction grass + legume inoculants x age x can be seen that statistical similarity is 45 days in the association Mulato and Mulato + + Kudzu Clitoria with the inoculant 19.50 and 22.00 cm Witness) regarding the Pasture legume interaction + x inoculant x age interaction shows that there are at 60 in the association Mulato and Mulato + + Kudzu Clitoria with inoculants *A. chroococcum* with (27.67, 28.83 and 45.67, 46.00 cm) at 60 days with the inoculants *A. beijerinckii* (52.00 and 52.33 cm) and Witness (33.17 and 33.83 cm) at 45 days. In grass root length.

It can be seen that within the interaction results in the Grass & Legume x inoculant x age interaction reflects a strong partnership and Mulato Kudzu Mulato + + Clitoria with the inoculant *A. chroococcum* with 1.30 g at 45 days 60 days the inoculant *A.* with 2.53 and 3.30 *vinelandii* g, followed by the inoculant *P. fluorescens* with 0.65 and 0.68 g at 45 days and the inoculant Witness with 0.15 and 0.35 g for legume root length, in the Interaction Legume Grass + x inoculant x age reflects statistical similarity in the association Mulato and Mulato + + Kudzu Clitoria to 45 days with the inoculant *A.* 23.17 and 33.47 *vinelandii* with g in grass root weight, and his time in the Grass & Legume inoculants x weight x age interaction in forage legume association is Mulato and Mulato + + Kudzu Clitoria at 45 days with the inoculant *A. chroococcum* 3.50 and 3.60 g with

X. BIBLIOGRAFÍA

- Agronomía. 2001. "Base de información sobre especies con potencial de abonos verdes y cultivos de cobertura". Disponible en: <http://www.virtual.chapingo.mx/dona/paginaIntAgronomia/abonoverde2.pdf>. Consultado el 18 de abril del 2010.
- Agrosemillas Huayamallo. 2009. "Kudzú tropical". Disponible en: <http://www.huallamayo.com.pe/kudzu.htm>. Consultado el 13 de abril del 2010.
- Andresson, A. J.; Rodríguez, P. y Gedes, E. Efecto de la inoculación con Azotobacter y MVA en vitroplantas de ñame (*Dioscorea alata*). II Taller sobre biofertilización en los trópicos. 16-18 de noviembre. La Habana. *Cultivos Tropicales* 15 (3). 1994: 66. (<http://www.nap.edu/readingroom/books/bnf/chapter1.html>).
- Arias C. 2007. "Suelos tropicales". Universidad Estatal a Distancia, San José, Costa Rica. Págs. 70-73.
- Atlas R y Bartha R. 2002. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Editorial Addison Wesley. Págs: 97 -100.
- Basán, Y. 2008. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Inoculantes de crecimiento de las plantas-la promoción de las bacterias para su uso en la agricultura. *Biotechnol. Adv.* 16:729-770. Pág. 729-770.
- Benizri, E., Baudoin, E. y Guckert, A. 2001. Root colonization by inoculated plant growth promoting rhizobacteria. colonización en las raíces de crecimiento de las plantas inoculadas rizobacterias promotoras. *Biocontrol Sci. Technol.* 11:557-574. Tecnología. Págs.557-574.

- Bowen, GD y Rovira, AD 2007. The rhizosphere and its management to improve plant growth. La rizosfera y su gestión para mejorar el crecimiento de las plantas. Adv. Agron. 66:1-102.
- Del Castillo, P. A. y Montes de Oca, F. Efecto del uso de bacterias solubilizadoras de fósforo y fijadoras de nitrógeno sobre el rendimiento de la papa (*Solanum tuberosum*). II Taller sobre biofertilización en los trópicos. 16-18 de noviembre. La Habana. Cultivos Tropicales 15 (3). 2007: 67.
- Días, A.; Pérez, C.; Suárez, Claribel y Sánchez, C. Efecto de distintas combinaciones de micorrizas arbusculares (MA) y *Azotobacter chroococcum* sobre diferentes sustratos en la producción de café (*Coffea arabica* L.). XII Seminario Científico, Programa y Resúmenes. 14-17 noviembre. La Habana. INCA 2000: 116.
- Fyo.com. 2009. Microorganismos del rizobium. Disponible en: <http://www.fyo.com/granos/ampliar.asp?IdNoticia=92416&IdAutor=97220&idtipoinformacion=22>. Consultado el 2 de Diciembre del 2010
- Gamazo C., López I, y Díaz R. 2005. Manual práctico de Microbiología. Editorial Masson. Barcelona – España.
- Garland, JL 2006. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. Los patrones de utilización de C fuente potencial de las comunidades rizosfera. Soil Biol. Biochem. 28:223-230.
- González, J. y Lluch, Carmen. 2002. Biología del Nitrógeno. Interacción Planta-Microorganismo. Ed. Rueda. Madrid. España.
- Guiot J. y Meléndez F. 2003. "Producción anual de forraje de cuatro especies de *Brachiaria* en Tabasco. XVI Reunión Científica Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Villahermosa, Tabasco (México)". Noviembre 27 y 29, 2003. P. 126-128. Disponible en: [73](http://ciat-</p></div><div data-bbox=)

library.ciat.cgiar.orgArticulos_CiatCV%20Mulato.pdf. Consultado el 24 de abril del 2010.

Höfflich, G.; Wieke, W. y Küha, G. Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. *Experientia* 50. 2006: 897-905. (<http://zea.chapingo.mx/somefi/RFM/20-1-es.html#Art4>).

Jiménez A. 2007. Suelos tropicales. Editorial Universidad Estatal a Distancia, San José. San José - Costa Rica. Págs. 70-73.

Kloepper, JW 2008. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. Crecimiento de las plantas-la promoción de rizobacterias como agentes de control biológico. Pages 255-274 in: *Soil Microbial Ecology*:

Loch D. y Miles J. 2002. "Brachiaria ruziziensis x Brachiaria brizantha. Brachiaria Mulato. *Plant Varieties Journal*" 5(3): 20-21. Disponible en: http://ciat-library.ciat.cgiar.orgArticulos_CiatCV%20Mulato.pdf. Consultado el 24 de abril del 2010.

Martínez-Viera, R.; Dibut, B.; Casanova, Irma y Ortega, Marisel. 2000. Acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* sobre el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil.) en suelo Ferralítico Rojo. Efecto sobre el semillero. *Agrotecnía de Cuba* 27 (1): 23.

Mayea, S.; Carone, Margarita; Novo, R.; Boado, Isabel; Silveira, E.; Soria, Miguelina; Morales, Yolanda y Valiño, A. 2008. *Microbiología Agropecuaria*. Tomo II. Ed. Félix Varela. La Habana. pp 156-178.

Navarro G. 2003. *Química Agrícola*. Editorial Mundi – prensa. Madrid - España. Pág. 204

Pérez A. 2004. "Crecimiento, área foliar y nitrógeno en pasto mulato". Disponible en: http://www.tecnicapecuaria.org.mx/publicaciones/publicacion_04.php?IdPublicacion=445. Consultado el 24 de abril del 2010.

- Peters J., Franco H., Schimdt A., Hincapié B. 2003. "Especies forrajeras Multipropósito: Opciones para productores de Centroamérica." Publicación CIAT No. 333.
- Puertas, Ana y González, L. M. Aislamiento de cepas nativas de *Azotobacter chroococcum* en la provincia de Granma y evaluación de la actividad estimuladora en plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). *Cultivos Tropicales* 20 (2). 2009: 5.
- Rodelas, María Belén; González. J.; Martínez, M. V.; Pozo, C. y Salmeron, V. 2009. Influence of *Rhizobium-Azospirillum* and *Rhizobium-Azotobacter* combined inoculation on mineral composition of faba bean (*Vicia faba* L.). En: (<http://193.146.205.198/sefin/Ecologia/Rodelas.html>).
- Rodríguez E., Gamboa M., Hernandez F. y García J. 2005. *Bacteriología general: principios y prácticas de Laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica. Págs. 213-215 páginas.
- Roque, Adilén; Marrero, Virginia; Guzmán J.; Castillo, A. y Bueno, A. Respuesta de la yuca (*Manihot esculenta*) a la fertilización nitrogenada y combinación con biofertilizantes. Resultados preliminares. *Cultivos Tropicales* 15 (3). 2007: 66.
- Sánchez, C.; González, C.; Bustamante, C.; Rivera, R.; Fernández, F. y Herrera, R. Utilización de las Micorrizas VA y *Azotobacter* sp. en la producción de posturas de *Coffea arabica* L. II Taller sobre biofertilización en los trópicos. 16-18 de noviembre. La Habana. *Cultivos Tropicales* 15 (3). 2006: 69.
- Smith, PK, y Goodman, RM 2009. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes. Anfitrión de variación para las interacciones con los beneficios del consumo de los microbios de la planta. *Ann. Rev. Phytopathol. Phytopathol Apocalipsis*. 37:473-491. 37:473-491.
- Sorensen, J. Jensen, LE, y Nybroe, O. 2001. Soil and rhizosphere as habitats for *Pseudomonas* inoculants: New knowledge on distribution, activity and

physiological state derived from micro-scale and single-cell studies. Suelo y rizosfera como hábitat de inoculantes *Pseudomonas*: Los nuevos conocimientos sobre la distribución, actividad y estado fisiológico derivado de una sola célula estudios de escala y micro. *Plant Soil* 232:97-108. Planta de suelo Págs.:97-108.

Stanier R, Ingraham J., Wheelis M., y Painter P. 2006. *Microbiología*. Editorial reverte. Págs. 67-68

Taiz L. y Zeiger E. *Fisiología vegetal* 2006. Publicaciones Universitat Jaume. Madrid –España. Págs. 516-517.

Torres, R. 2005. Inoculación combinada de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* y *Azotobacter chroococcum* en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Evento de Ciencia y Técnica, UCLV.

Tropical Forrajes 2002. “*Clitoria Ternatea*”. Disponible en: http://www.tropicalforages.info/key/Forages/Media/Html/Clitoria_ternatea.htm. Consultado el 17 de abril del 2010.

Villanueva F. 2004. “Agrotecnia y utilización de *Clitoria ternatea* en sistemas de producción de carne y leche”. Págs. 80 – 81. Técnica Pecuaria – México. Disponible en: <http://www.tecnicapecuaria.org.mx/trabajos/200401291122.pdf>. Consultado el 18 de abril del 2010.

Wild A. 2005. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russel. Ediciones Mundi – prensa. Madrid – España. Pág. 556 – 559.

XI. ANEXOS