



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
ANDROPOGON (*Andropogon gallanus*) CON KUDZÚ (*Phueraria
phaseloides* Y CLITORIA (*Clitoria ternatea*))**

AUTOR

WASHINGTON OSWALDO FLORES MINAYA

DIRECTORA

ING. MSc. MARLENE MEDINA VILLACIS DE SALCEDO

QUEVEDO – ECUADOR

2012

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 ANDROPOGON (*Andropogon gallanus*) 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 Suárez Fernández M. Sc
PRESIDENTE DE TRIBUNAL

Ing. Lauden GeobakgRizzo ZamoraM. 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, **WASHINGTON OSWALDO FLORES MINAYA** 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.

WASHINGTON OSWALDO FLORES MINAYA

CERTIFICACIÓN

Ing.MSc. Marlene Medina Villacis de Salcedo, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Unidad de Estudios a Distancia, **CERTIFICO** que el señor **WASHINGTON OSWALDO FLORES MINAYA** bajo mi dirección realizó la Tesis de Grado titulada: **EMPLEO DE RIZOBACTERIAS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL EN LA ASOCIACIÓN DEL PASTO ANDROPOGON (*Andropogon gallanus*) 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 de Salcedo

DIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecer a ti, Papito Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado por que hiciste realidad este sueño anhelado.

- 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 Agropecuaria.
- Ing. MSc. Marlene Luzmila Medina Villacis de Salcedo, Director 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
- A mi esposa e hijos por estar siempre apoyándome en los momentos más difíciles de mi vida.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mi esposa e hijos, quienes son la razón de mi existencia, que con su cariño, amor y fortaleza han sabido apoyarme en los buenos y malos momentos ayudando de esta manera a cumplir con este objetivo.

A mi hermano por estar siempre a mi lado con su apoyo fortaleza y valor, de esta manera ayudando a cumplir este objetivo

A mis maestros por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios y la elaboración de esta tesis

A todos mis amigos y compañeros de esta carrera por haber compartido los buenos y malos momentos.

A todos, espero no defraudarles y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

WASHINGTON OSWALDO FLORES MINAYA

RESPONSABILIDAD

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

WASHINGTON OSWALDO FLORES MINAYA

ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESPONSABILIDAD	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos.....	2
1.1.2. Objetivo General.....	2
1.1.3. 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. Andropogon gayanus.....	23
2.11. Clitoria ternatea	23
2.11.1. Descripción.....	24
2.11.2. Distribución.....	25
2.11.3. Adaptación	25
2.11.4. Usos y aplicaciones.....	26
2.11.5. Adaptación	26
2.11.6. Características agronómicas	26
2.11.7. Rendimiento y composición.....	27
2.12. Kudzú Tropical.....	27
2.12.1. Descripción.....	28
2.12.2. Establecimiento	29
2.12.3. Adaptación	29
2.12.4. Productividad, calidad y suelo	30
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1. Localización y duración del experimento	33
3.2. Condiciones meteorológicas.....	33
3.3. Materiales y equipos.....	34
3.4. Factores en estudio y tratamientos.....	34
3.5. Diseño experimental y tratamientos.....	35
3.6. Mediciones Experimentales	36
3.6.1. Análisis de suelo.....	37
3.6.2. Longitud de la raíz (cm).....	37
3.6.5. Composición química y valor nutritivo	37
3.6.6. Población de bacterias y hongos/Tratamiento.....	37
3.7. Colecta de nódulos y almacenamiento	38
3.8. Aislamiento de bacterias y hongos desde el nódulo	38
IV. RESULTADOS	39
4.1. Efecto simple	39

4.1.1. Efecto simple de las edades.....	39
4.1.2. Efecto simple de la asociación pasto – leguminosa	39
4.1.3. Efecto simple de los inoculantes	40
4.2. Longitud de raíz leguminosa (cm).....	42
4.2.1. Interacción de Pasto + Leguminosa x inoculantes	42
4.2.2. Interacción de Edad x Pasto + Leguminosa	42
4.2.3. Interacción de Edad x inoculantes.....	43
4.2.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	44
4.3. Longitud de raíz pasto (cm)	44
4.3.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	44
4.3.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	45
4.3.3. Interacción Edad x inoculantes.....	46
4.3.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	46
4.4. Peso de raíz leguminosa (g).....	47
4.4.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	47
4.4.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	48
4.4.3. Interacción Edad x inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) .	48
4.4.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	49
4.5. Peso de raíz pasto (g)	50
4.5.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	50
4.5.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	50
4.5.3. Interacción Edad x inoculantes.....	51
4.5.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	52
4.6. Peso forraje leguminosa (g).....	52
4.6.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	52
4.6.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	53
4.6.3. Interacción Edad + inoculantes	54
4.6.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	54
4.7. Peso forraje pasto (g)	55
4.7.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes	55
4.7.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas	56
4.7.3. Interacción Edad + inoculantes	56
4.7.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad.....	57

V. DISCUSIÓN.....	62
VI. CONCLUSIONES.....	64
VII. RECOMENDACIONES.....	65
VIII. RESUMEN.....	66
IX. SUMMARY	68

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadros		Página
1	Condiciones Meteorológicas del sitio de investigación.....	33
2	Esquema del Análisis de Varianza.....	35
3	Esquema del experimento.	36
4	Efecto simple de edades en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	39
5	Efectos simple asociación pastos – leguminosas en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	40
6	Efectos simples de inoculantes en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación del pasto Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	41
7	Composición bromatológica de dos asociaciones de pastos con leguminosas a los 45 días en el empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	59
8	Composición bromatológica de dos asociaciones de pastos con leguminosas a los 60 días en el empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	60
9	Poblaciones totales y Grupos funcionales dos asociaciones de pastos con leguminosas a los 60 días en el empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	61

ÍNDICE FIGURA

Figuras		Página
1	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en longitud de raíz leguminosa cm en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación de <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	42
2	Edad x Pasto + leguminosas en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	43
3	Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	43
4	Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	44
5	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	45
6	Edad x Pasto + leguminosas en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	45

7	Edad + inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	46
8	Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	47
9	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	47
10	Edad x Pasto + leguminosas en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	48
11	Edad + inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	49
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 Andropogon (<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	49
13	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon	50

	(<i>Andropogon gallanus</i>) con Kudzú (<i>Phueraria phaseoloides</i>) y Clitoria (<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 <i>Andropogon gallanus</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseoloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	51
15	Edad + inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon gallanus</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseoloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	51
16	Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon gallanus</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseoloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	52
17	Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon gallanus</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseoloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	53
18	Edad + inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon gallanus</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseoloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	53
19	Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon gallanus</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseoloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	54
20	Pasto + Leguminosa x inoculantes en Peso forraje pasto (g)	55

	en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</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 <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	55
22	Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	56
23	Edad + inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	57
24	Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación <i>Andropogon (Andropogon gallanus)</i> con Kudzú (<i>Phueraria phaseloides</i>) y Clitoria (<i>Clitoria ternatea</i>).....	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Inicio de la investigación.....	75
2	Distribución de los tratamientos.....	75
3	Inoculantes utilizados en la investigación.....	76
4	Mezcla de inoculantes para incorporar al suelo.....	76
5	Raíz de gramínea.....	77
6	Toma de muestra de raíz.....	77
7	Toma de datos en campo.....	78
8	Toma de muestra longitud de raíz.....	78

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. **Beniziriet 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. **Sonrensenet 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. **Beniziri, 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

1.1.2. Objetivo General

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

1.1.3. Objetivos Específicos

- Inocular las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal: *Azotobacter chroococum*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter beijerinckii* y *Pseudomonas fluorescens* en las asociaciones gramíneas-leguminosas en estudio.
- Identificar las poblaciones de bacterias y hongos existentes en las asociaciones gramínea-leguminosa Andropogon (*Andropogon gallanus*) con clitoria (*Clitoria ternatea*), y pasto Andropogon (*Andropogon gallanus*) con kudzú (*Pueraria phaseloides*) 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 (*Pueraria phaseloides*) y la gramínea Andropogon (*Andropogon gallanus*).

1.2. Hipótesis

La asociación gramínea-leguminosa: pasto Andropogon *gallanus* con clitoria (*Clitoria ternatea*), inoculada con *Azotobacter chroococum* mostrará la mayor población microbiana.

El valor nutritivo de la asociación gramínea-leguminosa: pasto Andropogon *gallanus* 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⁻¹. Se estima que un gramo de suelo puede contener de 10⁸ a 10¹⁰ 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 *Pseudomonas 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.

Azotobacter, *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Gluconobacter*, *Flavobacterium* y *Herbaspirillum* son ejemplos de vida libre que fijan los nitrógenos 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 G. (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 rizoplaneo.**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. **Taizet 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. **Taizet 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. **Sorensenet 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)**

Según González y Lluch (1992) 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 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.

Según Rodelas (2001), 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, R. (2000).**

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 Azospirillumbrasilense, 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 chroococum* 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 trasplante.

Martínez et al(2000)

Estos resultados coinciden con los analizados por Puertas y González (1999), donde al estudiar la efectividad de cepas de *Azotobacter chroococum* 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. **Puertaset 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 chroococum* 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 chroococum* 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 chroococum* 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 (*Ananacomosa*), 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 (*Manihotesculenta*) 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 (*Dioscoreaalata* 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 (*Glomuscaledonicum*). **Andressonet al(2005)**

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 (*Coffeea arabica*) producidas por el sistema de moteo con poda de raíz, determinaron que la combinación *Glomusfasciculatum* 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 Ferralítico Pardo rojizo en la zona del Escambray, con el objetivo de determinar el efecto de varias cepas de micorrizas y la inoculación de *Azotobacter chroococum* en el cultivo del café.

Los resultados arrojaron que la inoculación simple y combinada de micorrizas y *Azotobacter chroococum*, aunque por lo general resultó 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 café en viveros. **Días et al(2000)**

2.9. *Pseudomonas 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 ($\text{pH} \leq 4.5$) 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 radiculares. **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. Andropogongyanus

Gramínea perenne de África Tropical e introducida a México en 1981, de crecimiento erecto que forma macollos hasta de 1 metro de diámetro, sus tallos pueden alcanzar alturas hasta de 3 metros, hojas de color verde claro, en invierno, algunas se tornan violáceas, sus láminas foliares son lineo – lanceoladas, hasta de 100 centímetro de longitud y de 4 – 30 milímetros de ancho.

Pasto que lignifica en menor proporción que Estrella, Buffel, y Jaragua conservando un buen valor nutritivo, su principal ventaja es que se adapta a suelos someros de ladera, resiste sequías prolongadas (de seis ó siete meses). Se reproduce por semilla, la cual posee buenos porcentajes de viabilidad y es fácilmente diseminada por el viento, lo que asegura una repoblación natural. Se puede establecer en diferentes tipos de suelos, desde muy fértiles hasta ácidos de baja fertilidad, con pH de 4.3 y saturación de Aluminio hasta de 83 por ciento, así como también en suelos alcalinos. Ha tenido gran aceptación en años recientes en la región del Pacífico por su tolerancia a la sequía. **INIFAP (1999)**

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.

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, semiarbustiva 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 más 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.

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. **Petersen 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⁻¹/año de forraje seco, es decir de 30 a 90 t/ha⁻¹ de forraje verde. Otra fuente reporta que después de dos meses de establecido el cultivo, se han obtenido 24 t/ha⁻¹ de materia fresca (Gol, 1982). En Zambia, cuando el cultivo tiene cuatro meses de establecido se obtienen 3 t/ha⁻¹ 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⁻¹ 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:	PuerariaPhaseoloides
Nombre común:	Kudzú tropical
Crecimiento:	Rastrero y Trepador
Origen:	Asia
Densidad de siembra (solo):	8-10 Kg./ha ⁻¹
Densidad de siembra (en mezcla):	3-5 Kg./ha ⁻¹
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 yabono 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
Adaptación:	De 0 a 1800 msnm
Suelos:	Bien Drenados
Ciclo vegetativo:	Perenne

CEBA. (2006).

2.12.1. Descripción

El Kudzú (*PuerariaP.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 entretrejen 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. **AgrosemillasHuayamallo(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. **AgrosemillasHuayamallo (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

Al final de la primera temporada la práctica de inoculación de las semillas de leguminosas con rhizobium específico no mostró efectos significativos en las producciones acumuladas de MS de trébol blanco, trébol subterráneo y trebo rosado, pero sí tuvo efecto ($P < 0,01$) en la alfalfa. En las temporadas posteriores tampoco hubo efecto de la inoculación en ninguna de las leguminosas. Ello indicaría que el suelo presentaba inicialmente una población adecuada de rhizobium para estas especies, a excepción de la alfalfa, situación que posteriormente se revirtió una vez que la cepa inoculada alcanzó predominancia en el suelo. **Campillo (2003)**

Un factor fundamental en la aplicación exitosa de las técnicas isotópicas con ^{15}N para estimar la capacidad de FBN de las leguminosas, es la elección del cultivo de referencia. Para resolver esta interrogante, durante la primera temporada 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, independientemente de la gramínea utilizada como referencia. Adicionalmente, los valores de fijación fueron elevados en todas las leguminosas, variando entre el 80 y 95%, al margen de la inoculación. Es importante destacar que los

valores de coeficiente de variación obtenidos en cada corte fueron muy pequeños y similares también para todas las gramíneas.

Cuando se estableció la comparación del manejo con o sin inoculación de las especies leguminosas, para la estimación de la FBN mediante contrastes ortogonales, se observó una respuesta similar entre los tres cultivos de referencia utilizados se detectó efecto significativo ($P < 0,01$) de la inoculación solamente para trébol subterráneo, situación que en las temporadas siguientes desapareció. Con las otras leguminosas no hubo efecto de la inoculación sobre la FBN. Esta ampliamente establecido que la selección del cultivo de referencia es menos crítica en la medición de la FBN en cultivos altamente fijadores. De acuerdo a estos resultados, se decidió utilizar ballica perenne como cultivo de referencia para la estimación de la FBN, puesto que su ciclo de desarrollo y producción se asemeja más al de las leguminosas estudiadas en este experimento. Adicionalmente, la literatura señala ampliamente a esta especie como un cultivo de referencia adecuado para estas especies leguminosas.

En las siguientes temporadas los índices de BFN se mantuvieron elevados, confirmando así la alta eficiencia de operación del mecanismo biológico en las condiciones del experimento. Durante la tercera y última temporada de evaluación se observaron algunos efectos significativos ($P < 0,05$) del manejo de la inoculación, principalmente en el tercer corte. Sin embargo, no fue posible establecer aquí un patrón coherente de respuesta. Es importante recordar que esta situación se expresó en la tercera temporada de evaluación de las parcelas, cuando el trébol rosado presentaba una declinación natural en su población de plantas. También pudo haber influido la variación en la cobertura del suelo alcanzada por las leguminosas al momento de muestreo.

El N fijación (kg ha^{-1}) por las distintas leguminosas a lo largo de las tres temporadas. Con excepción de la primera temporada en trébol subterránea y alfalfa, no hubo efecto de la inoculación en este índice de FBN, lo cual confirma los resultados de porcentajes de FBN. En el caso de trébol subterráneo, el mejor comportamiento sin inoculación es difícil de explicar con los datos

disponibles; sin embargo, este efecto desapareció en las dos temporadas siguientes. Respectos a la alfalfa, es importante recordar que el sitio experimental provenía de un sistema de rotación intensiva de cultivos anuales e históricamente no registraba siembra de alfalfa, razón por la cual el suelo no presentaba infección natural con cepas de rhizobio específicas para esta leguminosa. Ello explicaría el efecto inicial de la inoculación en la primera temporada. **Campillo (2003)**

El uso del isótopo estable ^{15}N es considerado una herramienta indispensable para investigar la fijación de N_2 atmosférico por leguminosa y para trazar el destino de fertilizante nitrogenados en sistemas suelo y planta. En este trabajo se describen los métodos más comúnmente usados para determinar el proceso de fijación de nitrógeno por leguminosas forrajeras y se destacan las diferencias más importantes entre ellos. A fin de entender las técnicas isotópica disponible, la revisión describe detalladamente los métodos de abundancia natural de ^{15}N , la disolución isotópica de ^{15}N , la técnica de diferencia de N, la determinación de reducción de acetileno y el método perfecto para evaluar la fijación de N_2 se considera útil una descripción detallada de las técnicas disponibles, que facilite la selección del método más conveniente según las condiciones específicas del experimento. Se mencionan las ventajas y desventajas y se discute la aplicación de los métodos. Se destacan que una cuidadosa elección del método dará resultados más precisos y confiables, lo que a su vez disminuirá la probabilidad de errores. **Valles de la mora (2003)**

En la investigación longitud de raíz y valor nutricional de cinco variedades de pastos en diferentes estados de madurez reporto valores para el pasto *Andropogongayanus* de 20.18 g para el peso de raíz 38.80 g para el peso de forraje y 99.33 cm en la longitud de raíz.

En la composición bromatológica se reportó valor desde 5.62 a 9.08 de proteína. **Rendón (2011)**

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 msnm. Con una duración de 120 días.

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 2009

3.3. Materiales y equipos

Concepto	Cantidad
Material vegetativo de Clitoriakg	200
Material vegetativo de Kudzú kg	200
Material vegetativo de Andropogon gallanus kg	200
Inoculante Azotobacter chroococum L	5
Inoculante Azotobacter vinelandii	5
Inoculante Pseudomona fluorescens L	5
InoculanteAzotobacterbeijerinckii	5
Flexómetro	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 plantea la evaluación de tres factores en estudio:

Factor (A): Dosasociaciones gramínea-leguminosa:

a1: PastoAndropogon gallanus + Kudzú(*Phueraria phaseloides*)

a2: PastoAndropogon gallanus + Citoria(*Clitoria ternatea*)

Factor (B): Inoculantes bacterianos:

b1: Azotobacter chroococum

b2: Azotobacter vinelandii

b3: Azotobacter beijerinckii

b4: Pseudomona 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 dos asociaciones de gramínea-leguminosa, cinco inoculantes bacterianos 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 Análisis de Varianza

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 (45 y 60 días). El esquema del experimento se detalla en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Esquema del experimento.

Trat.	Combinación	Edad Cosecha	Repet	Total
1	Andropogon gallanus + Kudzú+ A. chroococum	45	3	3
2	Andropogon gallanus + Kudzú + A. chroococum	60	3	3
3	Andropogon gallanus + Kudzú + A. vinelandii	45	3	3
4	Andropogon gallanus + Kudzú + A. vinelandii	60	3	3
5	Andropogon gallanus + Kudzú + A. beijerinckii	45	3	3
6	Andropogon gallanus + Kudzú + A. beijerinckii	60	3	3
7	Andropogon gallanus + Kudzú + P.fluorescens	45	3	3
8	Andropogon gallanus + Kudzú + P.fluorescens	60	3	3
9	Andropogon gallanus + Kudzú	45	3	3
10	Andropogon gallanus + Kudzú	60	3	3
11	Andropogon gallanus + Clitoria + A. chroococum	45	3	3
12	Andropogon gallanus+ Clitoria + A. chroococum	60	3	3
13	Andropogon gallanus + Clitoria+ A. vinelandii	45	3	3
14	Andropogon gallanus + Clitoria+ A. vinelandii	60	3	3
15	Andropogon gallanus + Clitoria+ A. beijerinckii	45	3	3
16	Andropogon gallanus + Clitoria+ A. beijerinckii	60	3	3
17	Andropogon gallanus + Clitoria + P.fluorescens	45	3	3
18	Andropogon gallanus + Clitoria + P.fluorescens	60	3	3
19	Andropogon gallanus + Clitoria	45	3	3
20	Andropogon gallanus + Clitoria	60	3	3
			Total	60

3.6. Mediciones Experimentales

Para efectuar la evaluación, de las siguientes variables se procedió a través del método de separación, 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 tomó 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 *Andropogon gallanusy* 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 seleccionan plantas con las mejores características (robustas, verdes y sanas), se limpia un área de 15 cm alrededor de la planta y con la ayuda de un pico manual se excava hasta exponer sus raíces.

Se recogen los nódulos de la raíz principal, cortando con un cm de raíz hacia los lados, posteriormente se colocan en tubos universales que contengan silica-gel y una capa de algodón; finalmente se tapan e identifican los tubos para ser llevados al laboratorio.

Paralelamente se realiza 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 será de color rojo. Así mismo se determina 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 coloca un nódulo por orificio de este plato, se añade una gota de agua destilada y con una varilla de vidrio se presiona el nódulo hasta macerarlo.

Previamente se prepara medio 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 sella con parafilm e identifica, este procedimiento se realiza 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 encontrados se presentan a los 60 días en cada una de las variables en estudio. Cuadro 4.

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

Variables	Edades (días)		CV (%)
	45	60	
Long raíz leg (cm)	28.90 b	46.12 a	33.98
Long raíz pasto (cm)	33.68 a	36.16 a	53.52
Peso raíz leg (g)	2.73 b	10.90 a	80.48
Peso raíz pasto (g)	31.42 a	38.20 a	89.05
Peso forraje Leg (g)	11.10 a	15.49 a	91.44
Peso forraje Pasto (g)	16.66 a	22.44 a	61.22

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 presentan diferencia estadística ($P \geq 0,05$) en los resultados obtenidos, los mayores valores se registran en la asociación *Andropogon + Clitoria* para cada una de las variables estudiadas excepto el peso forraje pasto que sobresale la asociación *Andropogon + Kudzu*. Cuadro 5

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

Variables	Asociación		CV (%)
	Andropogon + Kudzu	Andropogon + Clitoria	
Long raíz leg (cm)	34.70 a	38.42 a	41.15
Long raíz pasto (cm)	30.18 a	39.02 a	52.07
Peso raíz leg (g)	4.71 a	7.98 a	99.91
Peso raíz pasto (g)	26.26 a	42.08 a	86.53
Peso forraje leg (g)	5.51 b	19.42 a	75.81
Peso forraje pasto (g)	19.76 a	19.05 a	63.05

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 más alto se reporto en el *P. fluorescens* con 41.32 cm, en las variables longitud raíz pasto; peso raíz pasto y peso forraje leguminosa se observa los valores con 45.64 cm; 47.37 g y 18.29 g respectivamente con el inoculante *A. beijerinckii*; en el peso raíz leguminosa y peso forraje pasto se registraron los mayores valores en *A. vinelandii* con 7.40 g y 19.82 g. Cuadro 6

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

Variables	Inoculantes					Testigo	CV (%)
	<i>A. chroococum</i>	<i>A. vinelandii</i>	<i>A. beijerinckii</i>	<i>P. fluorescens</i>			
Long raíz leg (cm)	35.45 a	30.09 a	39.23 a	41.32 a	37.55 a	41.27	
Long raíz pasto (cm)	35.41 a	25.18 a	45.64 a	40.45 a	25.94 a	49.79	
Peso raíz leg (g)	6.51 a	7.40 a	6.83 a	6.67 a	4.81 a	105.09	
Peso raíz pasto (g)	37.29 a	34.00 a	47.37 a	28.50 a	24.01 a	89.20	
Peso forraje Leg (g)	15.27 a	10.86 a	18.29 a	9.94 a	11.14 a	92.31	
Peso forraje Pasto (g)	19.20 a	19.82 a	19.78 a	19.16 a	18.89 a	64.99	

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 Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. vinelandii* con 31.00 y 31.42 cm; seguido del inoculante *P. fluorescens* con 42.25 y 43.42 cm. Figura 1

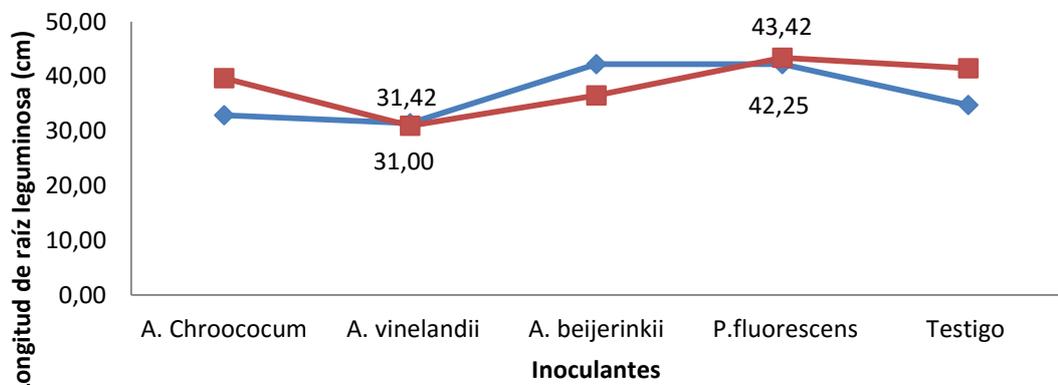


Figura 1. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en longitud de raíz leguminosa cm en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación de Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseoloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 constatar que existe interacción en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con 45.67 y 46.80 cm a los 60 días. Figura 2

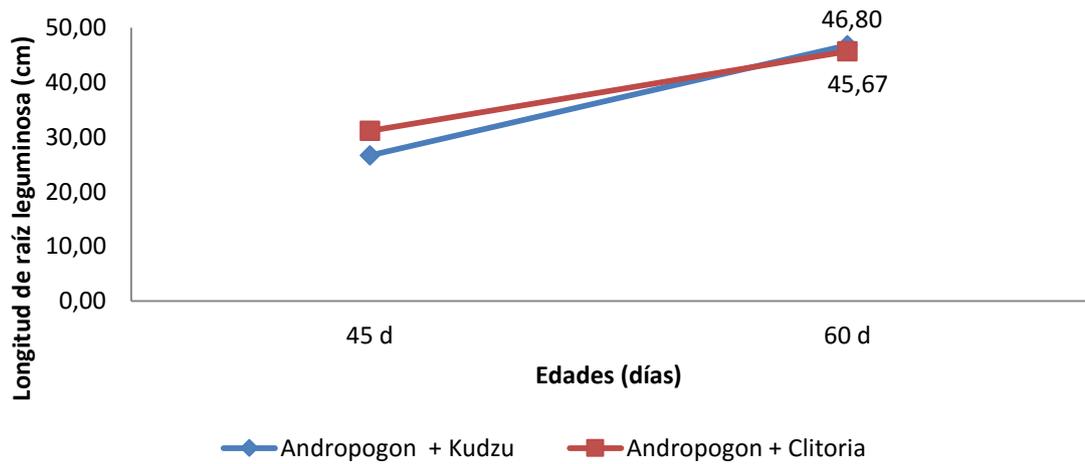


Figura 2. Edad x Pasto + leguminosas en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseoloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.2.3. Interacción de Edad x inoculantes

En la figura 3 sobre la Edad + inoculantes en longitud de raíz (cm) se puede observar que hay interacción a los 45 y 60 días en el inoculante *A. beijerinckii* con 37.92 y 40.83 cm respectivamente y su mayor valor es para el inoculante *P. Fluorescens* a los 60 días con 56.75 cm, dentro de la investigación realizada.

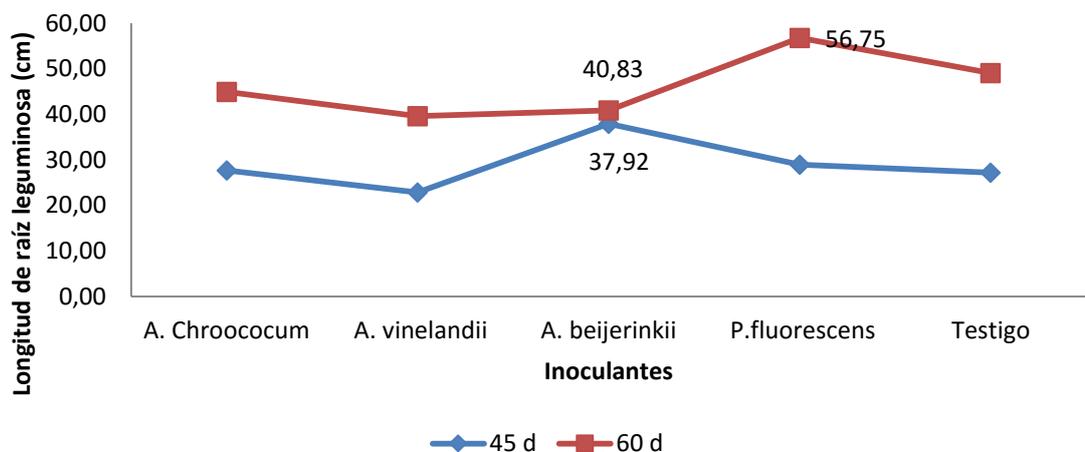


Figura 3. Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseoloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 60 días en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. chroococum* y *A. beijerinckii* (44.33; 45.50 cm) y (40.67; 41.00 cm) y su mayor valor a los 60 días con el inoculante *P. fluorescens* con 59.50 cm. Figura 4.

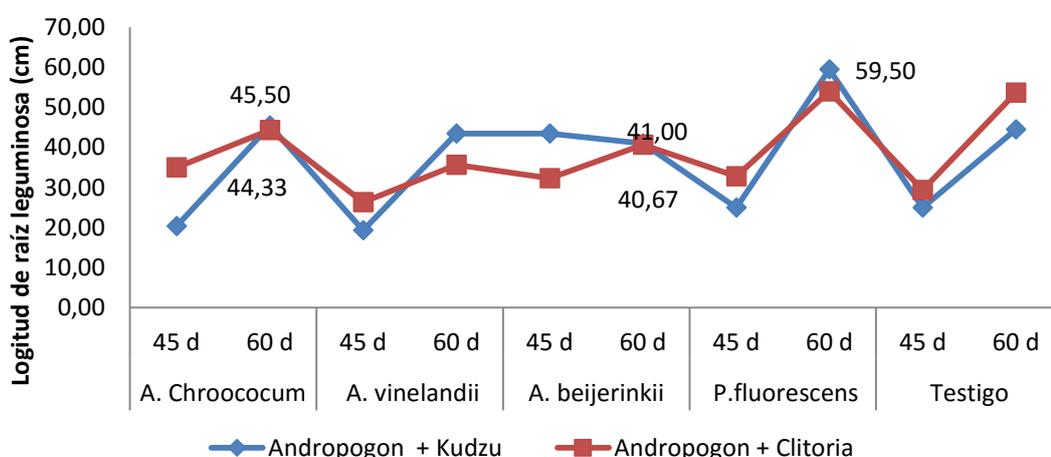


Figura 4. Edad + inoculantes en longitud de raíz leguminosa (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 reporto el mayor valor en el inoculante *A. beijerinckii* con 51.92 cm; también se observar la interacción en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. chroococum* con 34.08 y 36.25 cm. Figura 5.

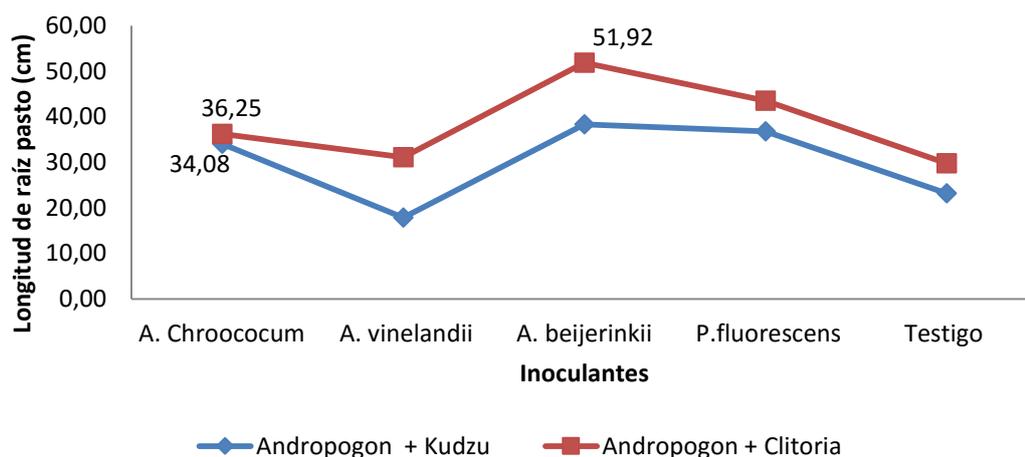


Figura 5. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 su mayor valor la refleja a los 45 días en la asociación Andropogon + Clitoria con 47.42cm. Figura 6.

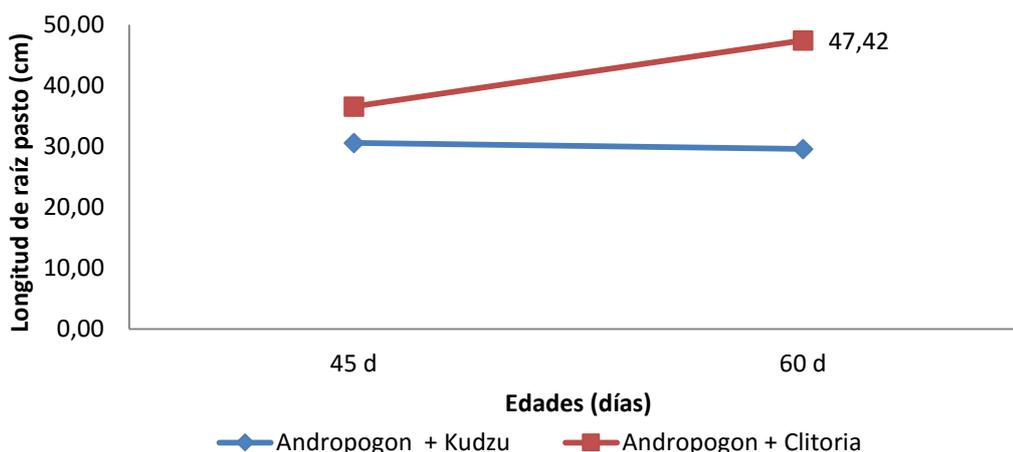


Figura 6. Edad x Pasto + leguminosas en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 puede constatar a los 45 y 60 días hay interacción con los inoculantes *A. beijerinckii* con 44.92 y 45.33 cm. Figura 7.

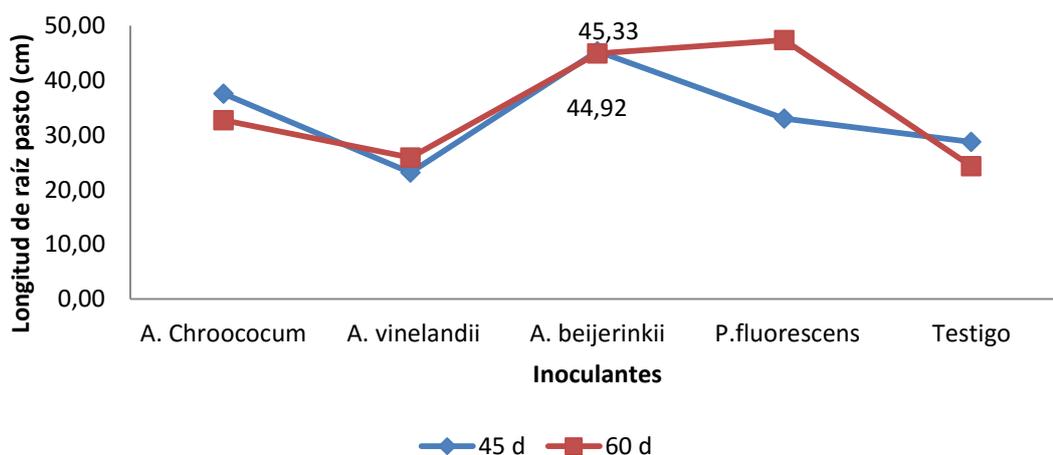


Figura 7. Edad + inoculantes en Longitud de raíz pasto (cm) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculantes *A. chroococum* con 38.67 y 33.00 cm; su excelente resultado es para el inoculante *P. fluorescens* con 57.33 cm

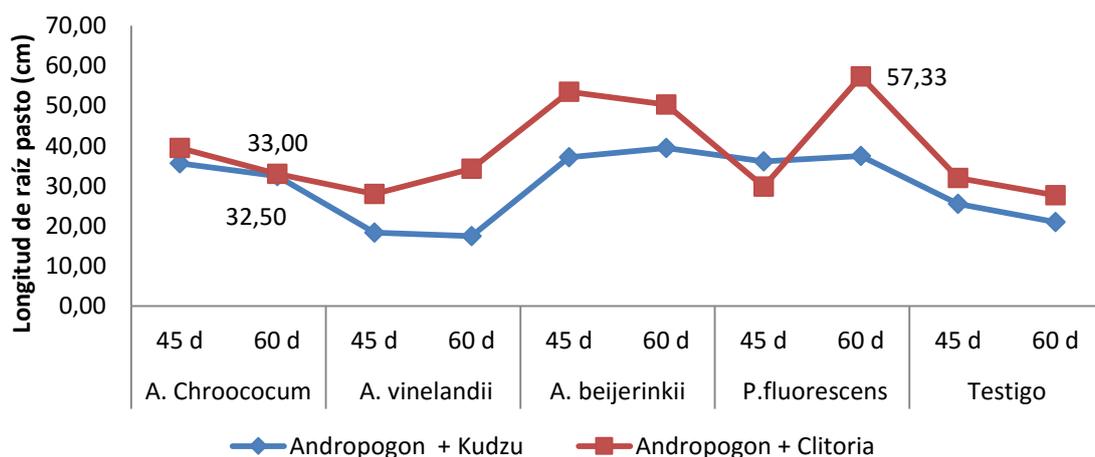


Figura 8. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 constató su mayor valor en la asociación Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. vinelandii* con 8.98 g. Figura 9.

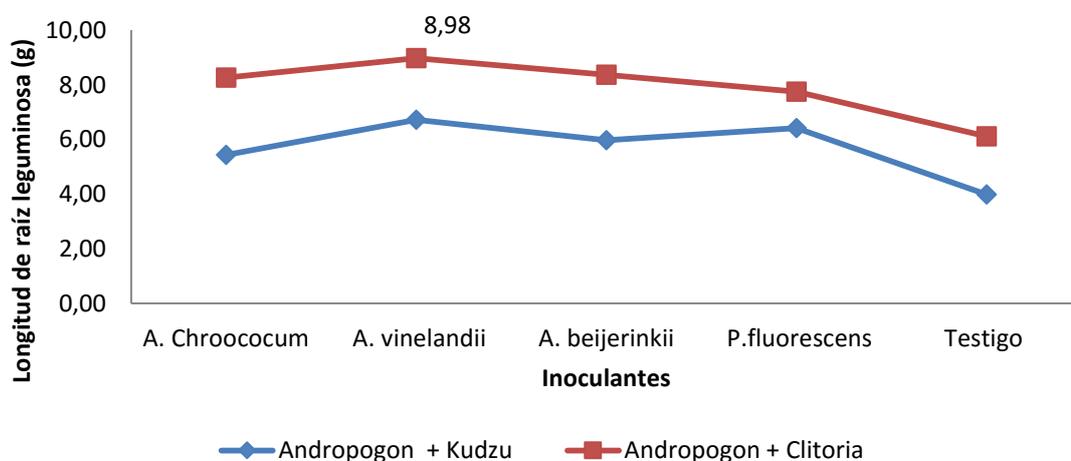


Figura 9. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.4.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la Edad x Pasto + leguminosas en peso de raíz de leguminosa (g) se puede observar que hay interacción a los 60 días en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con 11.05 y 10.69 g. Figura 10

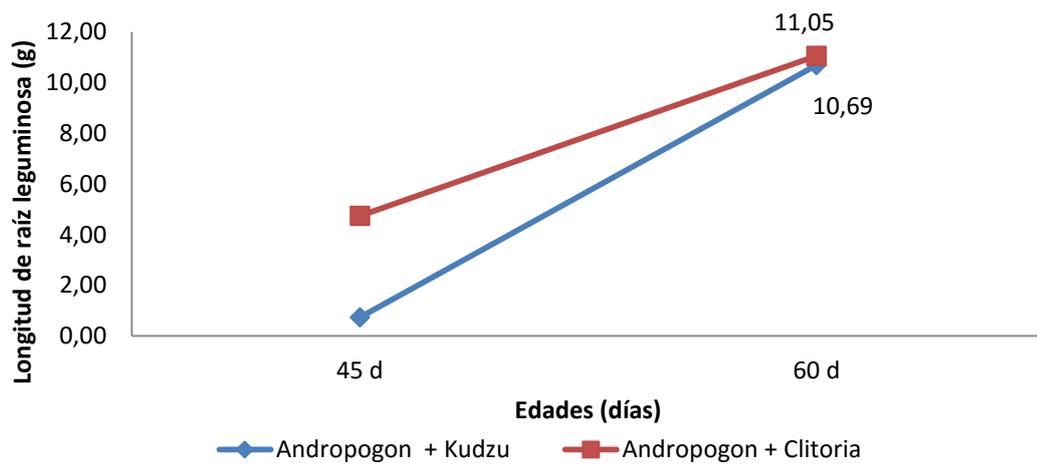


Figura 10. Edad x Pasto + leguminosas en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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

En la investigación realizada a la edad + inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) se puede observar que el mayor valor se registra a los 60 días con el inoculante *A. vinelandii* con 13.37g. Figura 11.

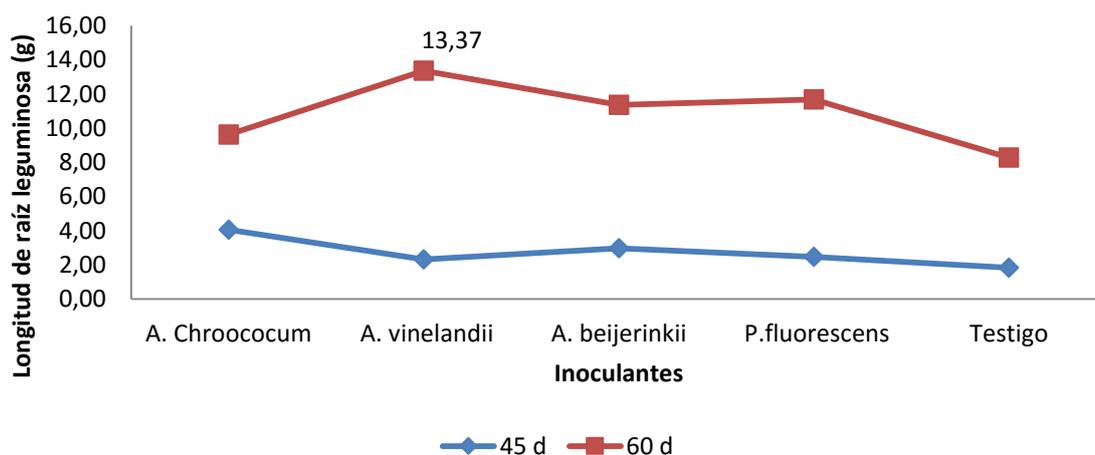


Figura 11. Edad + inoculantes en peso de raíz de leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación *Andropogon (Andropogon gallanus)* con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.4.4. Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad

Dentro de la interacción se puede observar que el mayor resultados se encuentra en la asociación *Andropogon + Clitoria* a los 60 días con el inoculante *A. vinelandii*; además se refleja una Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se refleja una fuerte interacción en la asociación *Andropogon + Kudzu* y *Andropogon + Clitoria* con el inoculante *P. fluorescens* con 11.60 y 11.77 g. a los 60 días Figura 12.

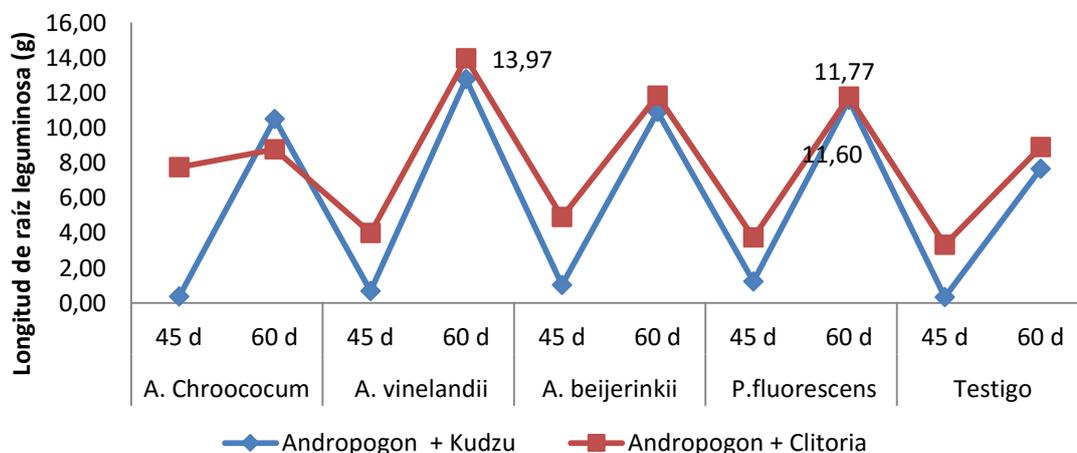


Figura 12. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en peso de raíz leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación *Andropogon (Andropogon gallanus)* con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.5. Peso de raíz pasto (g)

4.5.1. Interacción Pasto + Leguminosas x Inoculantes

En la interacción pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso de raíz pasto (g) se puede observar el mayor valor en la asociación Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. beijerinckii* con 66.20 g. Figura 13

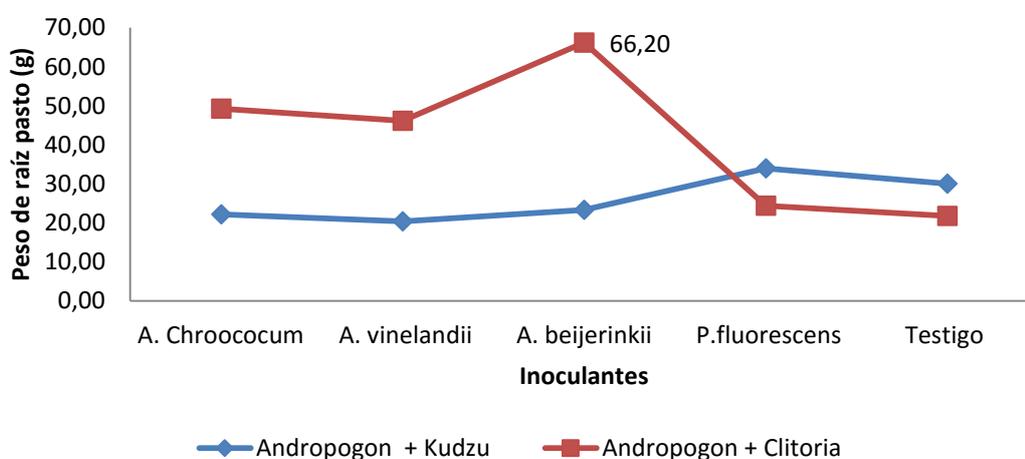


Figura 13. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 60 días en la asociación Andropogon + Clitoria con 47.24 g.

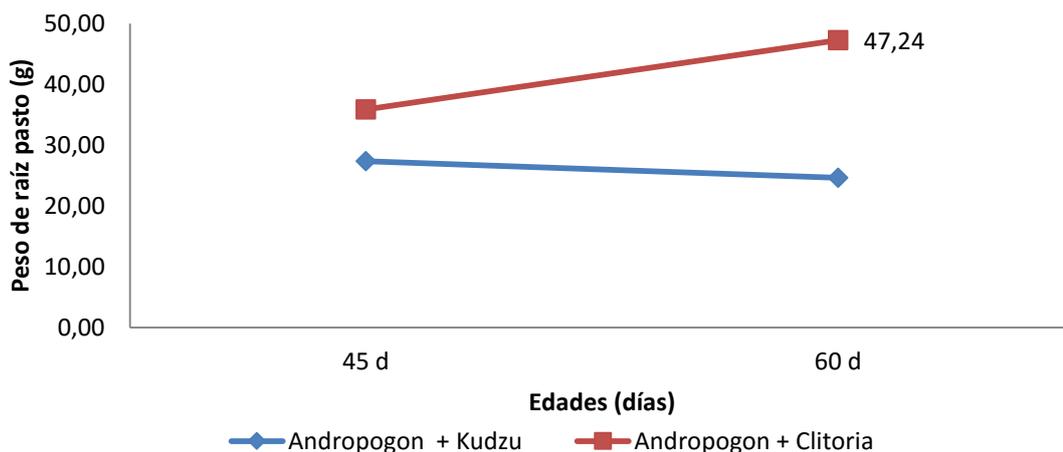


Figura 14. Edad x Pasto + leguminosas en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.5.3. Interacción Edad x inoculantes

En la investigación realizada a la 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. chroococum* con 35.21 y 36.19 g; seguido del inoculante *A. beijerinckii* con 44.13 y 45.40 g. Figura 15

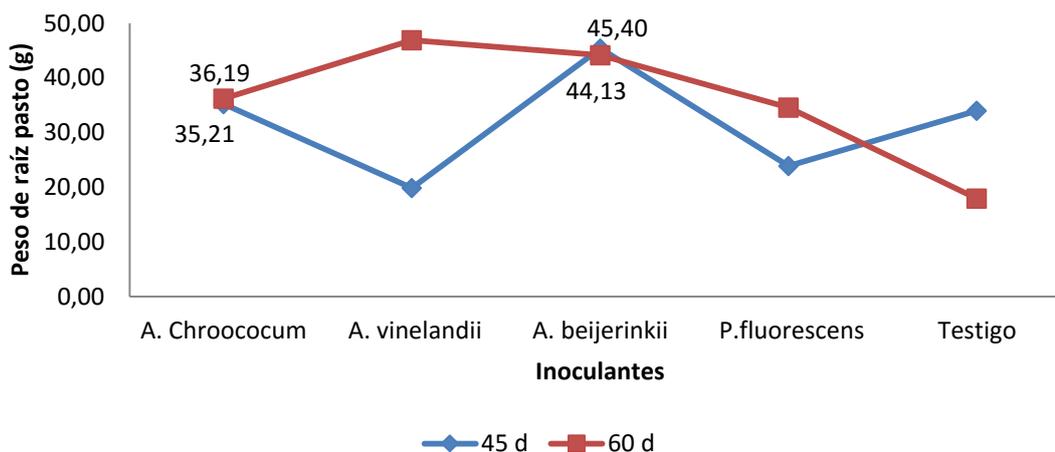


Figura 15. Edad + inoculantes en Peso de raíz pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. beijerinckii* a los 60 días; también se observa interacción en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria a los 45 días con el inoculante Testigo con 33.63 y 34.40 g.

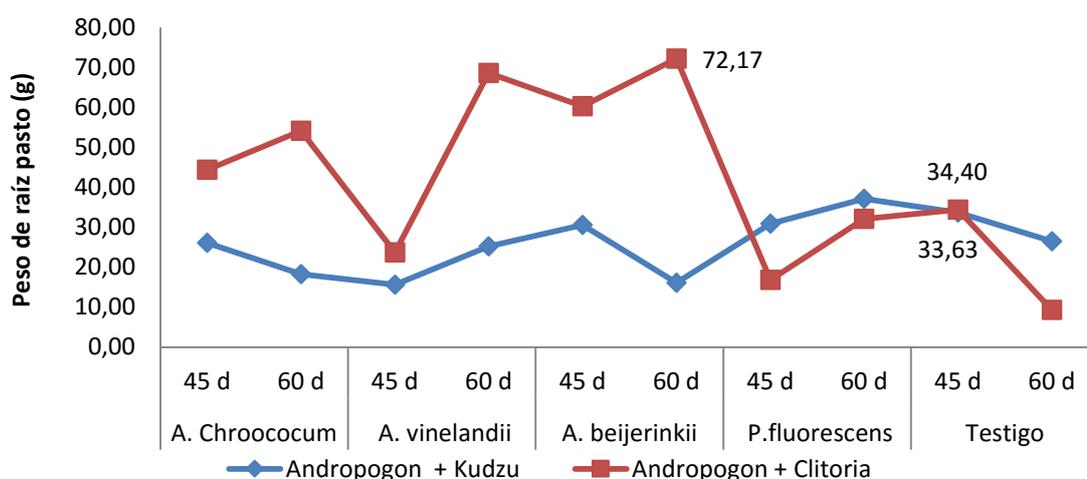


Figura 16. Pasto + Leguminosas x Inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseoides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 los mayores valores dentro de la investigación en la asociación Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. beijerinckii* con 28.86 g. Figura 17

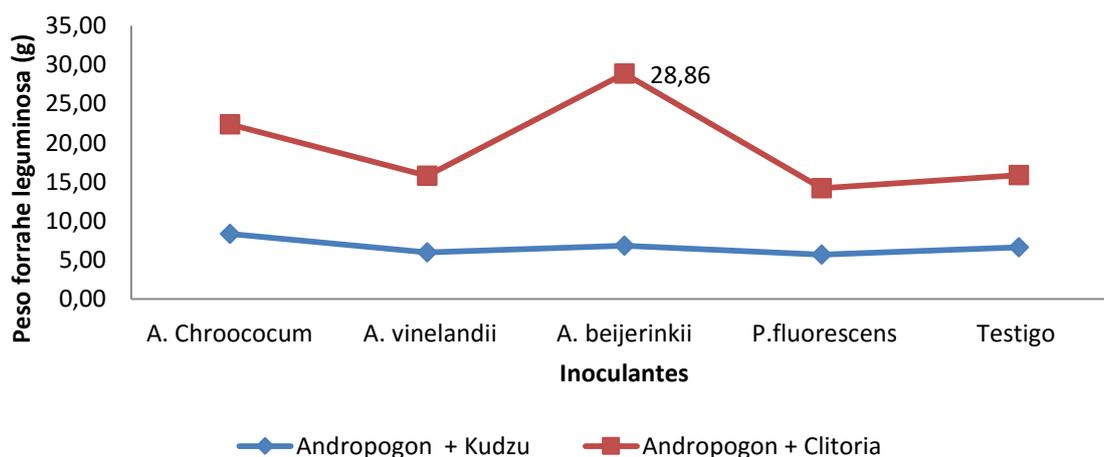


Figura 17. Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Pueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.6.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje leguminosa (g) quien demostró obtener los mayores valores dentro de la investigación en la asociación Andropogon + Clitoria con 21.46 a los 45 días Figura 18.

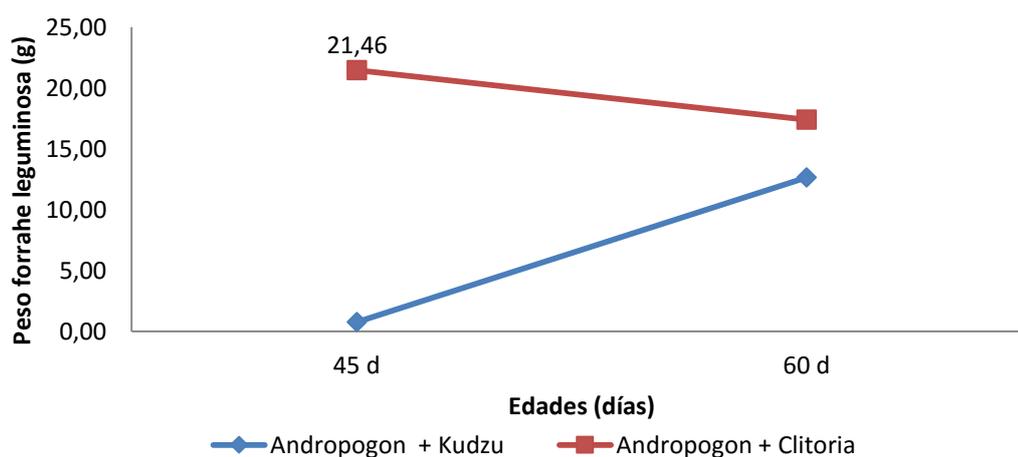


Figura 18. Edad + inoculantes en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Pueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.6.3. Interacción Edad + inoculantes

En la interacción Edad + inoculante en Peso forraje leguminosa (g) se puede constatar el mayor valor en el inoculante *A. choococum* a los 60 días; se refleja interacción a los 45 y 60 días con el inoculante *A. vinelandii* con 10.08 y 11.69 g, y *P. fluorescens* con 17.94 y 17.76 g. Figura 19.

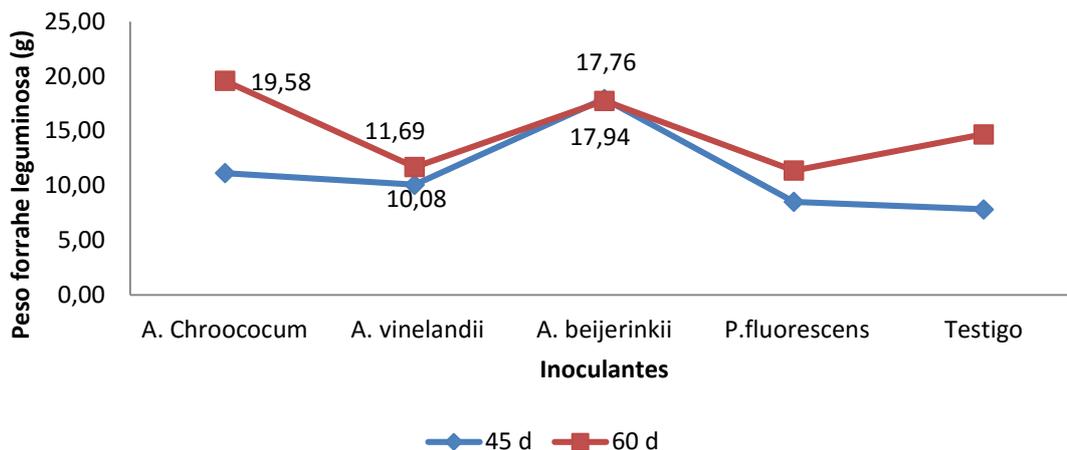


Figura 19. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria a los 60 días con el inoculante *A. vinelandii* con 11.12 y 12.27 g. y su mayor valor en la asociación Andropogon + Clitoria con 35.25 a los 45 días. Figura 20.

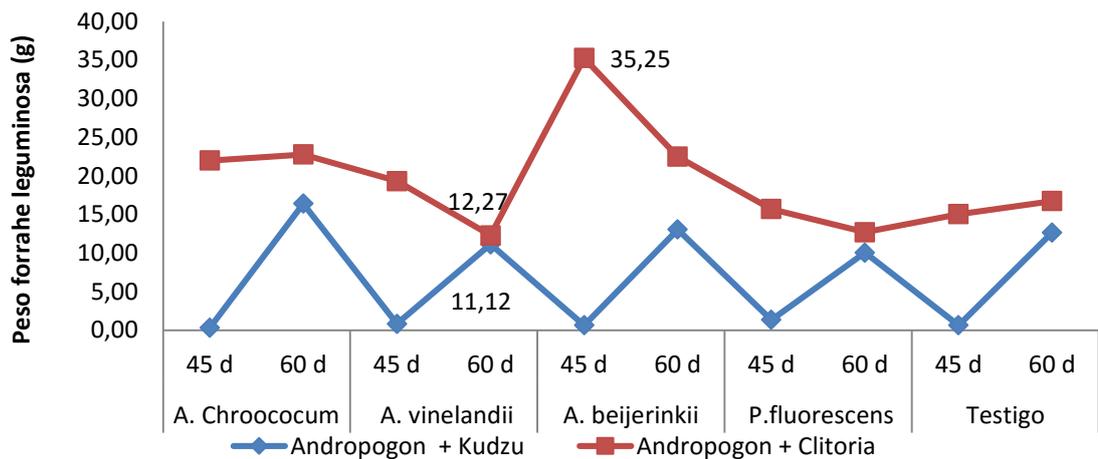


Figura 20. Pasto + Leguminosa x inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 similitud estadística dentro de la investigación en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante *P. fluorescens* con 18,28 y 20,00 g. Figura 21

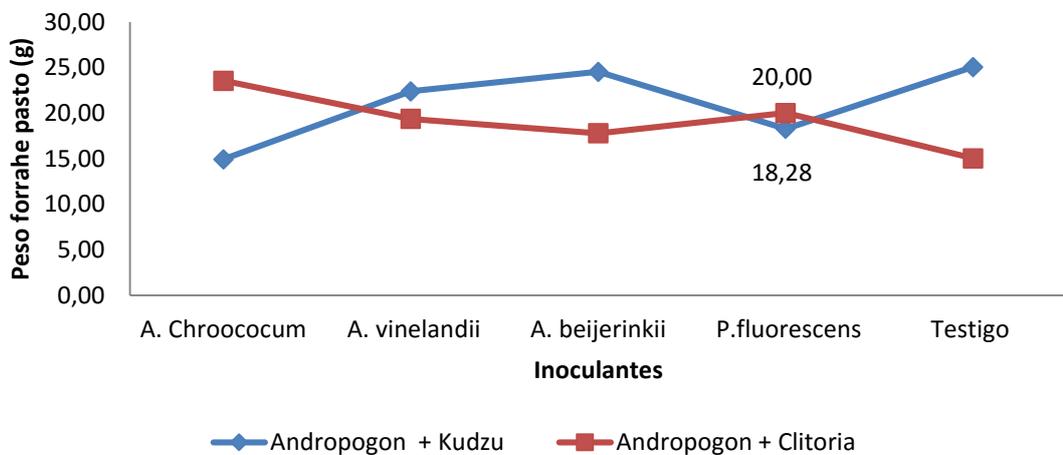


Figura 21. Pasto + Leguminosa x inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.7.2. Interacción Edad x Pasto + leguminosas

En la interacción Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje pasto (g) en la investigación se demuestra el mayor valor a los 60 días en la asociación Andropogon + Kudzu con 27.40 g. Figura 22.

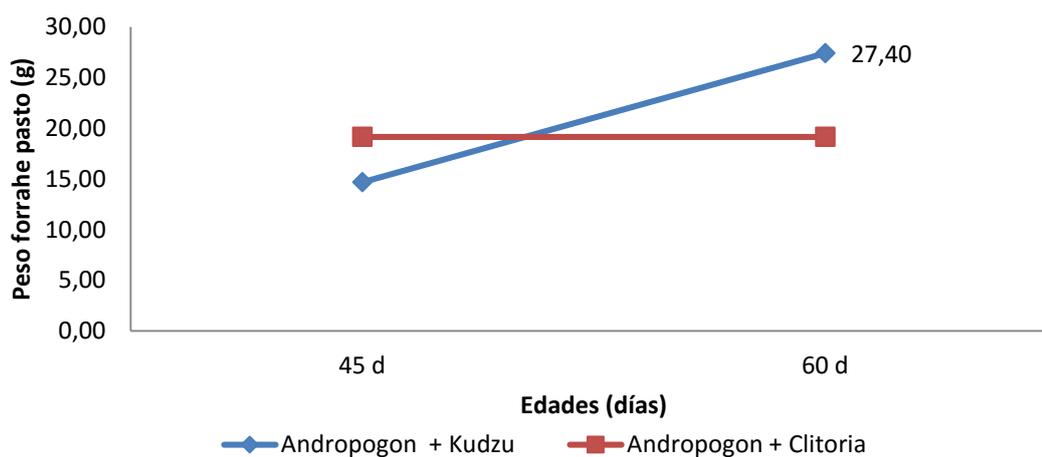


Figura 22. Edad x Pasto + leguminosas en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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* (16.29 y 17.58 g) y Testigo (19.71 y 20.38 g) y su mayor resultado a los 60 días con el inoculante *A. beijerinckii* con 27.93

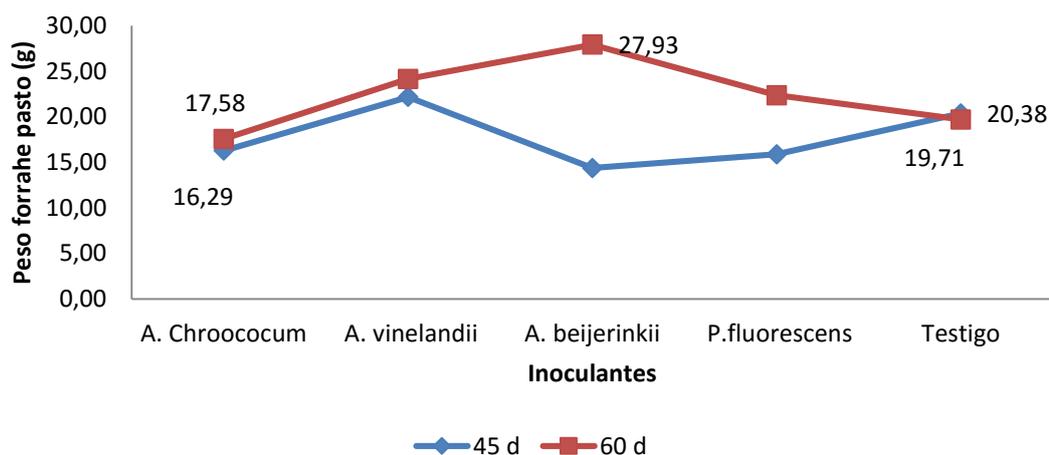


Figura 23. Edad + inoculantes en Peso forraje pasto (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

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 puede observar que hay interacción a los 45 días en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante Testigo con 20.37 y 20.40 g. y su excelente resultado a los 60 días con la asociación Andropogon + Kudzu con el inoculante *A. beijerinckii* con 36.25 g. Figura 24

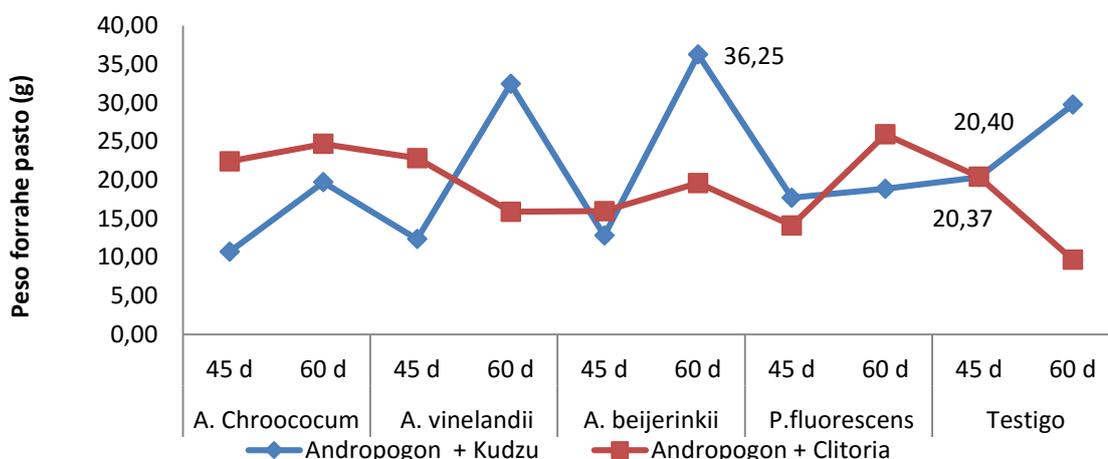


Figura 24. Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad en Peso forraje leguminosa (g) en empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación Andropogon (*Andropogon gallanus*) con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

4.8. Análisis Bromatológico

Los mayores niveles de proteína a los 45 días se reportan en la Andropogon + Kudzú + *A. beijerinckii* y *Pseudomonas fluorescens* con 5.62% respectivamente de proteína para la asociación Andropogon + Clitoria + *A. beijerinckii* se reporto con 16.30% de proteína. Cuadro 7.

A los 45 y 60 días Andropogon + Kudzú + Clitoria con el inoculante *A. vinelandii* presentan el nivel de proteína mas alto con 10.58% y 10.62%. Cuadro 8.

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 bacterias es para el Pasto Andropogon + Leguminosa + *A. vinelandii* con 7.5×10^6 a los 60 días seguido de la población de hongos en el Pasto Andropogon + Leguminosa + *P. fluorescens* con 7.5×10^4 a los 60 días; en lo referente a los Actinomicetes con el pasto Andropogon + leguminosa con 9.8×10^3 a los 45 días.

Mientras que en los grupos funcionales los mejores resultados encontrados en los Solubilizadores en el tratamiento Andropogon + Leguminosa + *A. vinelandii* con 8.1×10^4 y en los Celulíticos con el pasto Andropogon + Leguminosa + *A. vinelandii* con 6.4×10^3 a los 45 días; en lo referente a la Fijadores de N de vida libre sus excelentes resultados las reflejo en el pasto Andropogon + Leguminosa + *P. fluorescens* con 1.3×10^5 a los 60 días. Cuadro 9.

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

Pasto	Leguminosa	Inoculante	Humedad (%)	Materia seca (%)	Proteína (%)	Ext. Etéreo (%)	Ceniza (%)	Fibra (%)	E.L.N.N (%)	Otros (%)
Andropogon	Kudzú	<i>A. Chroococum</i>	44.88	55.12	4.37	7.83	8.90	45.00		33.90
	Kudzú	<i>A. vinelandii</i>	34.59	65.41	3.75	8.83	8.99	45.50		32.93
	Kudzú	<i>A. beijerinckii</i>	31.63	68.37	5.62	6.95	8.88	44.50		34.05
	Kudzú	<i>P.fluorescens</i>	38.96	61.04	5.62	9.48	8.75	41.10		35.05
	Kudzú		37.60	62.40	3.75	6.64	10.32	42.90		36.39
	Clitoria	<i>A. Chroococum</i>	58.24	41.76	11.90	6.05	6.65	26.90		48.50
	Clitoria	<i>A. vinelandii</i>	54.99	45.01	8.80	6.45	7.58	34.00		43.17
	Clitoria	<i>A. beijerinckii</i>	64.94	35.06	16.30	8.75	7.64	32.70		34.61
	Clitoria	<i>P.fluorescens</i>	56.82	43.18	10.00	5.57	7.38	28.90		48.15
	Clitoria		74.03	25.97	11.60	3.97	8.07	26.40		49.96

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

Pasto	Leguminosa	Inoculante	Humedad (%)	Materia seca (%)	Proteína (%)	Ext. Etéreo (%)	Ceniza (%)	Fibra (%)	E.L.N.N (%)	Otros (%)
Andropogon	Kudzu	<i>A. Chroococum</i>	53.06	46.94	7.02	3.62	7.56	41.40		40.40
	Kudzu	<i>A. vinelandii</i>	35.49	64.51	10.58	3.91	8.19	34.30		43.02
	Kudzu	<i>A. beijerinckii</i>	49.09	50.81	5.42	3.31	14.07	43.30		33.70
	Kudzu	<i>P. fluorescens</i>	20.17	79.83	8.08	2.01	7.79	25.30		55.82
	Kudzu		45.00	55.00	8.70	2.03	8	28.40		45.89
	Clitoria	<i>A. Chroococum</i>	47.24	52.76	6.87	9.21	5.49	32.50		45.93
	Clitoria	<i>A. vinelandii</i>	48.45	51.55	10.62	7.41	6.17	16.60		59.2
	Clitoria	<i>A. beijerinckii</i>	54.56	45.44	6.87	7.93	7.49	21.80		55.91
	Clitoria	<i>P. fluorescens</i>	51.44	48.56	9.37	9.77	6.52	30.90		43.44
	Clitoria		51.98	48.02	8.75	8.1	9.14	23.60		50.41

Cuadro 9. Poblaciones totales y Grupos funcionales de asociaciones de pastos con leguminosas a los 60 días en el empleo de rizobacterias como promotores de crecimiento vegetal en la asociación *Andropogon (Andropogon gallanus)* con Kudzú (*Phueraria phaseloides*) y Clitoria (*Clitoria ternatea*).

Tratamiento		Poblaciones Totales			Grupos funcionales		
		Bacterias	Hongos	Actinomicetes	Solubilizadores de Fósforo	Celulolíticos	Fijadores de N de vida libre
Andropogon + Leguminosa + A. Chroococum	45	2.7×10^5	3.5×10^5	1.5×10^4	6.2×10^2	4.4×10^3	3.5×10^2
	60	2.0×10^4	4.6×10^3	1.1×10^7	1.2×10^4	3.9×10^5	1.5×10^4
Andropogon + Leguminosa + A. vinelandii	45	1.6×10^5	3.1×10^5	1.8×10^4	8.1×10^4	1.1×10^4	2.2×10^2
	60	7.5×10^6	6.8×10^6	2.8×10^5	0.00	6.4×10^3	5.8×10^2
Andropogon + Leguminosa + A. beijerinckii	45	6.7×10^4	1.4×10^5	2.6×10^4	2.3×10^2	1.8×10^3	1.2×10^2
	60	2.4×10^5	1.9×10^4	3.8×10^5	1.4×10^3	4.2×10^5	2.1×10^3
Andropogon + Leguminosa + P.fluorescens	45	1.4×10^5	4.7×10^5	4.4×10^4	0.00	2.6×10^4	2.2×10^3
	60	1.3×10^6	7.5×10^4	7.2×10^6	2.2×10^4	1.3×10^4	1.3×10^5
Andropogon + Leguminosa	45	7.3×10^4	5.1×10^4	9.8×10^3	0.00	8.1×10^2	9.1×10^2
	60	6.2×10^5	4.8×10^4	7.5×10^4	1.2×10^2	6.3×10^3	3.4×10^3

V. DISCUSIÓN

La longitud de raíz en ambas edades y en las asociaciones de *Andropogon* con las dos leguminosas son inferiores a los reportados por **Rendón (2011)** quien obtiene 99.33 cm, en relación al peso de raíz los valores son superiores ya que Rendón (2011) obtiene 20.18 g, a edades de 60 a 102 días, en el peso de forraje los valores son superiores ya que se obtiene 38.80 g.

Con relación a la composición bromatológica a los 45 y 60 días en el pasto *Andropogon* + *Clitoria* y los inoculantes los valores son superiores a los presentados por Rendón quien obtiene promedios de proteína de 5.62 a 9.08%.

Al estudiar el efecto simple de la edad 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 (19.71 y 20.38 g); en lo que corresponde a la asociación pasto – leguminosa x inoculante la interacción la obtuvo en la investigación en el pasto *Andropogon* + Kudzu y *Clitoria* en la variables con 18.28 y 20.00 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. beijerinckii*; *P. fluorescens*; y *Testigo*) es en la variable Peso forraje pasto con (10.20; 19.82; 19.78; 19.16 y 18.89) lo reportado por **Campillo Ricardo (2003)** 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 días en la asociación *Andropogon* + Kudzu y *Andropogon* + *Clitoria* con el inoculante Testigo 20.37 y 20.40 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. La asociación gramínea-leguminosa: pasto *Andropogon gayanus* con *Clitoria* (*Clitoria ternatea*), inoculada con *Azotobacter chroococum* mostrará la mayor población microbiana.

Con estos resultados nos permitimos rechazar las hipótesis: El valor nutritivo de la asociación gramínea-leguminosa: pasto *Andropogon gayanus* con Clitoria (*Clitoria ternatea*), inoculada con *Azotobacter chroococcum* será superior en las dos edades de cosecha.

La asociación gramínea-leguminosa: pasto *Andropogon gayanus* con clitoria (*Clitoria ternatea*), inoculada con *Azotobacter chroococcum* mostrará la mayor población microbiana.

VI. CONCLUSIONES

- La edad de 60 días presenta los mayores valores en todas las variables estudiadas
- La asociación Andropogon más Clitoria presenta los mayores valores
- Los inoculantes no presentaron diferencias estadísticas en cada una de las variables actuó un diferente microorganismos.
- En el análisis de cada una de las interacciones se pudo observar que existe una relación entre las asociaciones, las edades y los diferentes tipos de inoculantes.
- El uso de microorganismos capaces de promover el crecimiento de los pastos representa 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 condiciones de suelo y época climática.
2. Aislar cepas nativas de microorganismos para comprobar la capacidad de fijación de las mismas.
3. Analizar el efecto de *Azotobacter sp.* en las variables morfológicas y fisiológicas en otros pastos y leguminosas.
4. Realizar la presente investigación a campo abierto para validar los resultados obtenidos

VIII. RESUMEN

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

La presente investigación se realizó en la finca experimental "La María", de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo 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* y *Pseudomonas fluorescens* en las asociaciones Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria a las edades de 45 y 60 días, utilizando un diseño completamente al Azar (DCA) con tres repeticiones.

En lo que corresponde la interacción del pasto + Leguminosa x inoculantes x edad se puede observar que hay interacción a los 60 días en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante *A. chroococum* y *A. beijerinckii* (44.33; 45.50 cm) y (40.67; 41.00 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 Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculantes *A. chroococum* con 38.67 y 33.00 cm.

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 Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante *P. fluorescens* con 11.60 y 11.77 g. a los 60 días; en la Interacción Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad refleja similitud estadística en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria a los 45 días con el inoculante Testigo con 33.63 y 34.40 g; y su vez en los Pasto + Leguminosa x inoculantes x edad del peso forraje leguminosa hay interacción en la asociación Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria a los 60 días con el inoculante *A.*

vinelandii con 11.12 y 12.27 g; 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 Andropogon + Kudzu y Andropogon + Clitoria con el inoculante Testigo con 20.37 y 20.40 g

IX. SUMMARY

This research was conducted at the experimental farm "La Maria" from the State Technical University Quevedo had a duration of 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 plant growth promoting rhizobacteria: chroococum Azotobacter, Azotobacter vinelandii, Azotobacter and Pseudomonas beijerinckii paspalifluorecens 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 x age interaction shows that there are 60 days in the association and AndropogonAndropogon+ Clitoria+ Kudzu with the inoculant A. chroococum and A. beijerinckii (44.33, 45.50 cm) and (40.67, 41.00 cm) in relation to the interaction Pasto + legume inoculants x age x can be seen that there is interaction at 60 in the association and AndropogonAndropogon + + Clitoria Kudzu with inoculants A. with 38.67 and 33.00 chroococum cm.

It can be seen that within the interaction results in the Grass & Legume x inoculant x age interaction reflects a strong partnership and AndropogonAndropogon + + Clitoria Kudzu with the inoculant P. fluorescens and 11.77 g with 11.60. at 60 days in the Interaction Legume Grass + x inoculant x age reflects statistical similarity in the association AndropogonAndropogon+ Clitoria Kudzu and 45 days with the inoculant Witness with 33.63 and 34.40 g, and time in the Grass & Legume inoculants x age x weight in forage legume interaction is the association Kudzu and AndropogonAndropogon + + Clitoria at 60 days with the inoculant A. with 11.12 and 12.27 vinelandi g; In this corresponds to the interaction of grass + legume inoculants x x age interaction shows that there are 45 days in the association and AndropogonAndropogon + Clitoria Kudzu with the inoculant Witness with 20.37 and 20.40 g

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.
- 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). 2005: 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. Inoculantes de crecimiento de las plantas-la promoción de las bacterias para su uso en la agricultura. Biotechnol. Adv. Pág:729-770.
- Benizri, E., Baudoin, E. y Guckert, A. 2001. colonización en las raíces de crecimiento de las plantas inoculadas rizobacterias promotoras. Biocontrol Ciencia. Tecnología. Págs.557-574.
- Bowen, GD y Rovira, AD 2007. La rizosfera y su gestión para mejorar el crecimiento de las plantas. Adv. Agron. 66:1-102.
- CEBA. 2006. "Kudzu Tropical (*Pueraria Phaseoloides*)". Disponible en: <http://www.ceba.com.co/kudzu.htm>. Consultado el 17 de abril del 2010.
- 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 1996. Los patrones de utilización de C fuente potencial de las comunidades rizosfera. Biol. suelo. Biochem. 28:223-230.

González, Rayza; Domínguez, Q.; Expósito, L. A.; González, J. L.; Martínez, Teresa e Hidalgo, M. Efecto de diferentes cepas de *Azotobacter* sp. en el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de piña (*Annanacomosus*) durante la fase de adaptación. II Taller sobre biofertilización en los trópicos. 16-18 de noviembre. La Habana. Cultivos Tropicales 15 (3). 2002: 66.

HuayamalloAgrosemillas. 2009. “Kudzú tropical”. Disponible en: <http://www.huallamayo.com.pe/kudzu.htm>. Consultado el 13 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>).

INIFAP 1999. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Descripción del pasto *Andropogon gallanus*. En línea. Disponible en www.inifap.gob-mx

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

Kloepper, JW 2008. Crecimiento de las plantas-la promoción de rizobacterias como agentes de control biológico. Páginas 255-274 en: Ecología microbiana del suelo: Aplicaciones en Gestión Ambiental y Agrícola. Metting FB, Jr., ed. Marcel Dekker Inc., Nueva York, EE.UU.

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

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., Hernández 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. Anfitrión de variación para las interacciones con los beneficios del consumo de los microbios de la planta. Ann. Phytopathol Apocalipsis. 37:473-491.

Sorensen, J. Jensen, LE, y Nybroe, O. 2001. 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. Planta de suelo Págs.:97-108.

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

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

Torres, R. 2000. 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 Forages 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 pantas según Russel. Ediciones Mundi – prensa. Madrid – España. Pág. 556 – 559.

ANEXOS



Anexo 1. Inicio de la investigación



Anexo 2. Distribución de los tratamientos



Anexo 3. Inoculantes utilizados en la investigación



Anexo 4. Mezcla de inoculantes para incorporar al suelo



Anexo 5. Raíz de gramínea



Anexo 6. Toma de muestra de raíz



Anexo 7. Toma de datos en campo



Anexo 8. Toma de muestra longitud de raíz