



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

Proyecto de Investigación previo
a la obtención del título de
Ingeniero en Horticultura y
Fruticultura.

Título del Proyecto de Investigación:

**“EFECTO DE INOCULACIÓN CON RIZOBACTERIAS EN EL CRECIMIENTO
Y PRODUCCIÓN DE TRES VARIEDADES DE SOYA (*Glycyne max L*) EN EL
CANTÓN QUEVEDO”**

Autor:

Damián Antonio Cedeño Saavedra

Director del Proyecto de Investigación:

DR. Hayrón Fabricio Canchignia Martínez

Quevedo – Los Ríos - Ecuador

2016

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Damián Antonio Cedeño Saavedra**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Damián Antonio Cedeño Saavedra
Autor

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, Dr. **Hayron Fabricio Canchignia Martínez**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Damián Antonio Cedeño Saavedra**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**EFECTO DE INOCULACIÓN CON RIZOBACTERIAS EN EL CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE TRES VARIEDADES DE SOYA (*Glycyne max L*) EN EL CANTÓN QUEVEDO**”, previo a la obtención del título de **Ingeniero en Horticultura y Fruticultura**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Dr. Hayron Fabricio Canchignia Martínez

Director del Proyecto de Investigación

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y /O PLAGIO ACADÉMICO



Urkund Analysis Result

Analysed Document: URKUN damian tesis.docx (D19517406)
Submitted: 2016-04-27 17:56:00
Submitted By: hcanchignia@uteq.edu.ec
Significance: 9 %

Sources included in the report:

HFC PGPR genes de activación.docx (D14962281)
TESIS Doctorado HFCM ter.pdf (D9920851)
COSECHA ROBADA CAP. 2.docx (D12751109)
GUERRA PROYECTO DE INVESTIGACION 25-02-2016.docx (D18180626)
LUIS ALBERTO BAUTISTA PALMA.pdf (D11288605)

Dr. Hayron Fabricio Canchignia Martínez

Director del Proyecto de Investigación



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGIENERIA EN HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

Certificación de aprobación por tribunal de sustentación

PROYECTO DE INVESTIGACION

Título:

Efecto de inoculación con rizobacterias en el crecimiento y producción de tres variedades de soya (*Glycine max L*) en el Cantón Quevedo

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero en Horticultura y Fruticultura.

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Ramiro Gaibor

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Cesar Bermeo

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Luis Llerena

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2016

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos a Dios por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres Félix Cedeño y Rosa Saavedra por ser mis pilares y fortaleza en mi crecimiento y formación como persona y profesional, y a mis hermanos Jenny, Tomas, y Vanessa por su apoyo y lucha incondicional a mi lado.

A mis sobrinos: Joselyn, Ricardo, Kevin, Thomas, Oscarito y Anthony, quienes han sido esa fuente de motivación para ser un ejemplo de lucha y constancia mostrando que querer es poder.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias Carrera Ingeniería Horticultura y Fruticultura y el cuerpo de Docente que colaboraron en mi formación como profesional.

Al Director de Tesis, Fabricio Canchignia, por su orientación técnica y oportuna en el transcurso y culminación de la presente investigación.

A la empresa Rizobacter S.A. por permitirme desarrollar mi tema con la cobertura brindada y su aportación de las muestras de los inoculantes fabricados por los mismos.

Damián Antonio Cedeño Saavedra

DEDICATORIA

*A mis padres y a Dios
porque le debo todo lo que soy.*

Damián Antonio Cedeño Saavedra

RESUMEN

La producción de soya se ha visto afectada por la variabilidad climática, que se ha hecho visible en la fluctuación de los niveles de producción, por lo que fue necesario realizar una investigación en condiciones de humedad remanente en la zona de Quevedo en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal del Departamento de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, con el objetivo de determinar el efecto de inoculación con rizobacterias en el crecimiento y producción de tres variedades de soya (*Glycine max L*), cuantificando el carácter morfológico de longitud y número de raíces en tres variedades de soya, tratadas con *Bradyrhizobium japonicum* y *Pseudomona* spp in vitro, verificando la formación de nódulos en tres variedades de soya al ser inoculadas por *Bradyrhizobium japonicum* y *Pseudomona* spp, en invernadero, y analizando la respuesta morfológica por rizobacterias para la etapa fisiológica de producción. Los tratamientos ensayados estuvieron constituidos por dos factores: tres variedades y cuatro cepas (rizobacterias) con los cuales se establecieron doce tratamientos que fueron sometidos al análisis de varianza y la prueba de Tukey al nivel 0.05. Se evaluaron los caracteres, longitud de radícula y número de raicillas, altura de planta, longitud de raíz principal, números total de nódulos, días a floración, número de vainas, peso de 100 semillas, rendimiento. Del análisis e interpretación de los resultados se concluye: La bacteria *Bradyrhizobium japonicum* tuvo un efecto positivo en el desarrollo radicular a los 7 días en germinación in vitro en la variedad de soya ICA-P34 e Iniap 307, no así en Iniap 308, los inóculos bacterianos *Pseudomona fluorescens* CHA0 y *Pseudomona veronii* R4 mostraron un efecto significativo para el estudio de esta variable se observó mayor número de raicillas en la variedad Iniap 307 al ser tratadas con *Bradyrhizobium japonicum*. En nodulación la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* presento la mayor cantidad de números de nódulos en la variedad Iniap 308 viendo su eficacia en la interacción genotipo – cepa, y la no formación de nódulos al ser expuesta a solución que contenía *Pseudomona fluorescens* CHA0 y *Pseudomona veronii* R4. Cuando se aplica la rizobacteria *Bradyrhizobium japonicum* acelero ligeramente el número de días a la floración en comparación con cada variedad sin rizobacteria. El mayor número de vainas se obtuvo cuando se aplica *Bradyrhizobium japonicum* ratificando lo positivo de *Bradyrhizobium japonicum* en las variedades ICA-P34 e Iniap-307 en lo que tiene que ver al peso de 100 semillas.

Abstract

Soy production has been affected by climate variability, which has become visible in the fluctuation of production levels, so it was necessary to investigate in wet conditions remaining in the area of Quevedo in the Laboratory of Microbiology environmental and Plant Biotechnology Department of the State Technical University of Quevedo, in order to determine the effect of inoculation with rhizobacteria on growth and production of three varieties of soybean (*Glycine max L*), quantifying the morphological character length and number roots in three soybean varieties, treated with *Bradyrhizobium japonicum* and *Pseudomonas spp* in vitro, verifying the formation of nodules in three soybean varieties to be inoculated *Bradyrhizobium japonicum* and *Pseudomonas spp*, in greenhouses, and analyzing the morphological response rizobacterias for physiological stage of production. The treatments tested were constituted by two factors: three varieties and four strains (rizobacterias) with which twelve treatments were subjected to analysis of variance and Tukey test at 0.05 level were established. Characters, radicle length and number of rootlets, plant height, main root length, the total number of nodules, days to flowering, number of pods, and weight of 100 seeds performance were evaluated. Analysis and interpretation of the results it is concluded: The bacterium *Bradyrhizobium japonicum* had a positive effect on root growth at 7 days germinating in- vitro in soybean variety ICA-P34 and Iniap 307, but not in Iniap 308, the CHA0 bacterial inoculants *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas veronii* R4 showed a significant effect for the study of this variable highest number of rootlets was observed in 307 Iniap variety when treated with *Bradyrhizobium japonicum*. In nodulation bacteria *Bradyrhizobium japonicum* present as many numbers of nodules in the variety Iniap 308 seeing its effectiveness in the interaction genotype - strain, and no nodule formation when exposed to solution containing *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and *Pseudomonas veronii* R4. When applied rizobacteria *Bradyrhizobium japonicum* slightly sped up the number of days to flowering compared with each variety without rizobacteria. The highest number of pods was obtained when applied *Bradyrhizobium japonicum* confirming the positive of *Bradyrhizobium japonicum* in the ICA-P34 and Iniap-307 varieties in what you have to do the weight of 100 seeds.

TABLA DE CONTENIDO

Portada.....	i
Declaración de Autoría y Cesión de Derechos.....	ii
Certificación de Culminación del Proyecto de Investigación.....	iii
Certificación del reporte de la Herramienta de Prevención de Coincidencia y/o Plagio Académico.....	iv
Certificación de aprobación por tribunal de sustentación.....	v
Agradecimiento.....	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
Tabla de Contenido.....	x
Índice de Gráfico.....	xiv
Índice de Figuras.....	xv
Índice de Tablas.....	xvi
Índice de Anexos.....	xvi
Código Dublin.....	xvii
Introducción.....	1
CAPÍTULO I.....	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1 Problema de investigación.....	4
1.1.1 Planteamiento del problema.....	4
1.1.2 Formulación del problema.....	4
1.1.3 Sistematización del problema.....	4
1.2 OBJETIVOS.....	5
1.2.1 Objetivo General.....	5
1.2.1 Objetivos específicos.....	5
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	6
CAPÍTULO II.....	7
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	7
2.1 Marco Conceptual.....	8
2.1.1 Inoculación.....	8
2.1.2 Rizobacterias.....	8
2.1.3 Crecimiento.....	8
2.1.4 Producción.....	8

2.1	Marco Referencial.....	9
2.2.1	Producción de Soya.....	9
2.2.2	Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.....	9
2.2.3	La Presencia de Rizobacterias en la Planta.....	9
2.2.4	Efectos de las PGPR en las Plantas.....	9
2.2.4.1	PGPR Promotoras en el Desarrollo de Raíces.....	10
2.2.4.2	Fisiología de la Promoción del Crecimiento.....	10
2.2.4.3	Mecanismos Promoción del Crecimiento Vegetal.....	10
2.2.5	Producción de Fitohormona del Tipo AIA (Acido 3 indol acético).....	10
2.2.6	Las PGPR como Biofertilizantes.....	11
2.2.7	<i>Pseudomona veronii</i> R4.....	11
2.2.8	<i>Pseudomona fluorescens</i> CHA0.....	12
2.2.9	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	12
2.2.9.1	Rizobios.....	12
	• Taxonomía.....	12
	• Sistemática.....	13
	• Morfología.....	13
2.2.9.2	Especificidad y diversidad de rizobios.....	13
2.2.10	La provisión del Nitrógeno.....	14
2.2.10.1	El nitrógeno del suelo.....	14
2.2.11	La fijación Biológica del Nitrógeno.....	14
2.2.11.1	El nitrógeno es Fijado por Bacterias Libres y Bacterias Simbióticas.....	14
2.2.11.2	La Fijación de Nitrógeno Necesita Condiciones Anaeróbicas.....	15
2.2.12	La Planta en la Simbiosis.....	15
2.2.12.1	Las Leguminosas Noduladas.....	15
2.2.12.2	El proceso de Infección y Formación del Nódulo.....	15
2.2.12.3	El Proceso de Fijación y Asimilación de Nitrógeno.....	17
2.2.13	Soya (<i>Glycine max L</i>).....	17
2.2.13.1	Origen.....	17
2.2.13.2	Descripción Morfológica.....	17
2.2.13.3	Variedad de Soya ICA-P34.....	18
2.2.13.4	Variedad de Soya INIAP 308.....	19
2.2.13.5	Variedad de Soya INIAP 307.....	20
2.2.14	Exigencia de la Nutrición de la Soya.....	21
2.2.15	Inoculación de la Soya.....	21
2.2.16	Rizo Liq TOP.....	21
2.2.17	Ventajas de la Inoculación.....	21
2.2.18	Importancia de la Tecnología de Inoculación en las Leguminosas.....	22
CAPITULO III.....		23
METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN.....		23
3.1	Localización.....	24
3.1.1	Ubicación del Ensayo.....	24
3.2	Tipo de Investigación.....	24
3.3	Métodos de la Investigación.....	24

3.4	Fuentes de Recopilación de Información.....	24
3.5	Diseño de la Investigación.....	24
3.6	Instrumento de la Investigación.....	24
3.6.1	La investigación se Condujo en Tres Fases Experimentales.....	25
3.6.1.1	Capacidad Germinación de las Variedades <i>Glycine max L.</i> por Inoculación de las Rizobacterias.....	25
3.6.1.2	Evaluación de los Caracteres Morfológicos por Aplicación de las Rizobacterias a los 30 Días.....	26
3.6.1.3	Evaluación de Productividad por Aplicación de las Rizobacterias a los 120 Días.....	26
3.6.2	Datos registrados y formas de evaluación.....	27
3.6.2.1	Capacidad Germinación de las Variedades <i>Glycine max L</i> por Inoculación de las Rizobacterias. 27	
	• Longitud de Radícula Evaluados 7 (dpi) cm.....	27
	• Número de raicillas (NR).....	27
3.6.2.2	Evaluación de los Caracteres Morfológicos por Aplicación de las Rizobacterias a los 30 días.....	27
	• Altura de Planta (AP) (cm).....	27
	• Longitud de la raíz (LRP) (cm).....	28
	• Números total de nódulos por planta (NTNP).....	28
	• Peso de nódulos (PN) (g).....	28
3.6.2.3	Evaluación de Producción por Aplicación de las Rizobacterias a los 120 días.....	28
	• Días a la floración (DF).....	28
	• Numero de vainas por planta (NVP).....	28
	• Peso de 100 semillas (g).....	28
	• Rendimiento.....	28
3.7	Tratamientos de los datos.....	29
3.8	Combinación de los tratamientos.....	29
3.9	Recursos humanos y materiales.....	30
CAPITULO IV		32
RESULTADO Y DISCUSION		32
4.1	RESULTADO.....	33
4.1.1	Germinación de Variedades <i>Glycine max L.</i> por Efecto de Inoculación de Rizobacterias.	33
4.1.1.1	Longitud de Radícula Evaluados 7 (dpi) cm.....	33
4.1.1.2	Número de Raicillas a 7 (dpi).....	35
4.1.2	Evaluación de los caracteres morfológicos por aplicación de las rizobacterias a los 30 días	37
4.1.2.1	Altura de planta.....	37
4.1.2.2	Longitud de raíz principal por planta de soya.....	39
4.1.2.3	Número de nódulos por planta.....	41
4.1.2.4	Peso de nódulos.....	43

4.1.3 Evaluación de caracteres morfológicos al desarrollo vegetativo en la etapa de producción	44
4.1.3.1 Días a floración	44
4.1.3.2 Número de vainas por planta	46
4.1.3.3 Peso de 100 semillas de soya en (g)	48
4.1.3.4 Rendimiento	50
4.2 Discusión.....	51
CAPITULO V.....	54
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
5.1 Conclusiones.....	55
5.2 Recomendaciones.....	56
CAPITULO VI.....	57
BIBLIOGRAFIA	57
6.1 Literatura citada.....	58
CAPITULO VII.....	64
ANEXO.....	64
Anexo 1 Trabajo de Campo.....	65

ÍNDICE DE GRAFICO

Grafico 1 Prueba de germinación de variedades de semillas de soya con o sin rizobacterias. Longitud de radícula: variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias. .34	
Grafico 2 Número de raicillas de variedades de soya ICA- P34; INIAP- 308; 307 con o sin rizobacterias <i>B. japonicum</i> , <i>P. fluorescens</i> CHA0, <i>P. veronii</i> R4. Evaluado a los 7 días. ..36	
Grafico 3 Variedad ICA- P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias <i>B. japonicum</i> , <i>P. fluorescens</i> CHA0, <i>P. veronii</i> R4. Evaluado a los 30 días.....38	
Grafico 4 Longitud de raíz principal por planta de soya a los 30 días variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias <i>B. japonicum</i> , <i>P. fluorescens</i> CHA0, <i>P. veronii</i> R4. Evaluado a los 30 días.40	
Grafico 5 Numero de nódulos por planta variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias <i>B. japonicum</i> , <i>P. fluorescens</i> CHAO, <i>P. veronii</i> R4. Evaluado a los 30 días.42	
Grafico 6 Peso de nódulos, inoculados con <i>Bradyrhizobium japonicum</i> en balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de ± 0.143	
Grafico 7 Días a floración de soya variedades ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias <i>B. japonicum</i> , <i>P. fluorescens</i> CHA0, <i>P. veronii</i> R4.45	
Grafico 8 Número de vainas por planta de soya A) ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias <i>B. japonicum</i> , <i>P. fluorescens</i> CHAO, <i>P. veronii</i> R4.....47	
Grafico 9 Peso de 100 semillas ICA-P34, INIAP-308, 307, expuestas a las rizobacterias <i>B.</i> <i>japonicum</i> , <i>P. fluorescens</i> CHA0, <i>P. veronii</i> R4.....49	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Micrografía de un hilo de infección la flecha simple señala el enrollado en la punta del pelo radicular y flecha doble el hilo o canal de infección, por donde los rizobios migran hacia las células subcorticales de la raíz	16
Figura 2	Micrografía electrónica original demostrando el enrollado de un pelo radicular.	16
Figura 3	Longitud radicular: a. ICA- P34 con <i>B. japonicum</i> ; b. ICA- P34 con CHA0; c. INIAP-308 con R4; d. ICA-P34 con R4; e. INIAP-307.	34
Figura 4	Número de raicillas a. ICA-P34 con <i>B.japonicum</i> ; b. INIAP-307 con <i>B.japonicum</i> ; c. INIAP-307 con <i>P.veronii</i> R4	36
Figura 5	a. Variedad ICA-P34 con <i>B. japonicum</i> ; b. ICA- P34 con <i>P. fluorescens</i> CHA0.	38
Figura 6	Variedad a. ICA-P34 con <i>B. japonicum</i> ; b. INIAP – 308 con <i>P. fluorescens</i> CHA0; c. INIAP-307- <i>P. veronii</i> R4.....	40
Figura 7	Variedades. a. ICA-P34 con <i>B. japonicum</i> ; b. INIAP - 308 con R4; c. INIAP- 307 con <i>P. fluorescens</i> CHA0.	42
Figura 8	Variedad de soya a. ICA-P34 con <i>B.japonicum</i> ; b. INIAP- 308 con CHA0; c. INIAP-307 con <i>P. veronii</i> R4.....	45
Figura 9	B) Variedad de soya a. ICA- P34 con <i>P. fluorescens</i> CHA0, b. INIAP-308 con <i>B. japonicum</i> , c. INIAP-307 con <i>P.veronii</i> R4.	47
Figura 10	Peso de 100 semillas variedad INIAP-307 en balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de ± 0.1	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Características agronómicas ICA- P34 - Fuente: (Ledesma, 2009).	198
Tabla 2 Característica agronómica INIAP 308 - Fuente: (Jimenez, 2009).	19
Tabla 3 Características agronómica INIAP-307 - Fuente: (Guaman J, 2004).	20
Tabla 4 Combinación de los factores Genotipo– Cepa establecidos en doce tratamientos	29

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Trabajo de Campo.....	65
Anexo 2 Certificado de Desarrollo de Proyecto de Investigación de Tesis Estudiando el Inoculante a Base de Bradyrhizobium japonicum Fabricado por la Empresa Rizobacter S.A.....	68
Anexo 3 Costo de la Investigación Hecha por el Autor.....	69
Anexo 4 Análisis de Varianza de Longitud de Radícula Evaluados a los 7 días	71
Anexo 5 Análisis de Varianza del Numero de Raicillas a los 7 días.....	71
Anexo 6 Análisis de Varianza de Altura de Planta a los 30 días.....	71
Anexo 7 Análisis de Varianza de Longitud de Raíz por Planta a los 30 días.....	72
Anexo 8 Análisis de Varianza del Numero de Nódulos por planta de Soya.....	72
Anexo 9 Análisis de Varianza del Peso de Nódulos por Planta.....	72
Anexo 10 Análisis de Varianza de días a Floración	73
Anexo 11 Análisis de Varianza del Numero de Vainas por Planta.....	73
Anexo 12 Análisis de Varianza del Peso de 100 semillas	73
Anexo 13 Análisis de Varianza del Rendimiento por Planta.....	74

CODIGO DUBLIN

Título:	Efecto de inoculación con rizobacterias en el crecimiento y producción de tres variedades de soya (<i>Glycyne max L</i>) en el cantón Quevedo				
Autor:	Damián Antonio Cedeño Saavedra				
Palabras clave:	Rizobacteria	Crecimiento	Producción	<i>Glycyne max L</i>	AIA
Fecha de publicación:					
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2015.				
Resumen:	<p>La producción de soya se ha visto afectada por la variabilidad climática, que se ha hecho visible en la fluctuación de los niveles de producción, por lo que fue necesario realizar una investigación en condiciones de humedad remanente en la zona de Quevedo en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal del Departamento de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, con el objetivo de determinar el efecto de inoculación con rizobacterias en el crecimiento y producción de tres variedades de soya (<i>Glycyne max L</i>), cuantificando el carácter morfológico de longitud y número de raíces en tres variedades de soya, tratadas con <i>Bradyrhizobium japonicum</i> y <i>Pseudomona</i> spp in vitro, verificando la formación de nódulos en tres variedades de soya al ser inoculadas por <i>Bradyrhizobium japonicum</i> y <i>Pseudomona</i> spp, en invernadero, y analizando la respuesta morfológica por rizobacterias para la etapa fisiológica de producción. Los tratamientos ensayados estuvieron constituidos por dos factores: tres variedades y cuatro cepas (rizobacterias) con los cuales se establecieron doce tratamientos que fueron sometidos al análisis de varianza y la prueba de Tukey al nivel 0.05. Se evaluaron los caracteres, longitud de radícula y número de raicillas, altura de planta, longitud de raíz principal, números total de nódulos por planta, días a floración, número de vainas, peso de 100 semillas, rendimiento. Del análisis e interpretación de los resultados se concluye: La bacteria <i>Bradyrhizobium japonicum</i> tuvo un efecto positivo en el desarrollo radicular a los 7 días en germinación in- vitro en la variedad de soya ICA-P34 e Iniap 307, no así en Iniap 308, los inóculos bacterianos <i>Pseudomona fluorescens</i> CHA0 y <i>Pseudomona veronii</i> R4 mostraron un efecto significativo para el estudio de esta variable se observó mayor número de raicillas en la variedad Iniap 307 al ser tratadas con <i>Bradyrhizobium japonicum</i>. En nodulación la bacteria <i>Bradyrhizobium japonicum</i> presento la mayor cantidad de números de nódulos en la variedad Iniap 308 viendo su eficacia en la interacción genotipo – cepa, y la no formación de nódulos al ser expuesta a solución que contenía <i>Pseudomona fluorescens</i> CHA0 y <i>Pseudomona veronii</i> R4. Cuando se aplica la rizobacteria <i>Bradyrhizobium japonicum</i> acelero ligeramente el número de días a la floración en comparación con cada variedad sin rizobacteria. El mayor número de vainas se obtuvo cuando se aplica <i>Bradyrhizobium japonicum</i> ratificando lo positivo de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> en las variedades ICA-P34 e Iniap-307 en lo que tiene que ver al peso de 100 semilla.</p>				
Descripción:	91 hojas: dimensiones, 29,7 ×21 cm + CD-ROM				
URI:					

Introducción

El cultivo de la soya es una oleaginosa de alto valor nutritivo siendo consumida por niños y adultos por su alto nivel proteico y nutricional. Tiene una demanda importante en el país, siendo el mayor consumidor el sector avícola debido a que la torta de soya representa alrededor del 15 al 20 % de la composición de los alimentos balanceados.

En el Ecuador la soya es cultivada generalmente en suelos pobres en nitrógeno lo cual repercute en sus bajos rendimientos y para incrementar estos, una alternativa es la utilización de microorganismo con efectos benéficos para la planta y el medio ambiente.

El uso excesivo de agroquímicos interfiere en el equilibrio ecológico y ocasiona daño en la salud de los seres vivos, como intoxicaciones cuando se consume vegetales que han sido irrigados, y contaminación del agua, cuando se infiltran hacia aguas subterráneas que surten a ríos y lagos.

Más de 120 especies conforman el grupo *Pseudomonas spp.*, incluyendo bacterias con un amplio espectro y características diferentes, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal *Pseudomona veronii* R4 y CHAO y rizobios como *Bradyrhizobium japonicum* que crecen en asociación con las plantas y estimulan su crecimiento. Los cuales cumplen diferentes funciones benéficas y por lo general logran cuando se combinan en una misma aplicación, efectos sinérgicos.

Las rizobacterias inducen al desarrollo de raíces al estar en contacto con ellas, el ácido indolil-3-acético (AIA) es la principal auxina en plantas, al controlar muchos procesos fisiológicos, división y alargamiento celular, diferenciación de tejidos. La síntesis del AIA por la bacteria en asociación con la planta, captan el triptófano del producto de degradación en raíces y los exudados radiculares y mejoran la proliferación de raíces por la producción de AIA.

En cambio la interacción rizobios - leguminosa le permite a la planta disponer de N asimilable para sus diferentes requerimientos metabólicos y adaptarse bien a suelos empobrecidos con este nutriente, contribuyendo al crecimiento y a la productividad de las plantas.

El beneficio del uso de microorganismo está enmarcado dentro de una agricultura sostenible que a largo plazo, contribuye a mejorar la calidad ambiental y los recursos básicos de los

cuales depende la agricultura, satisfaciendo las necesidades básicas de fibra y alimentos humanos, mejorando calidad de vida del productor y de la sociedad.

El presente trabajo plantea el uso de Rizobacteria *Pseudomonas veronii* R4, CHAO y *Bradyrhizobium japonicum* para su inoculación en semillas de soya y promover la germinación, en ambiente controlado. También se evaluó desarrollo y producción para: altura de planta (cm), longitud de raíz principal (cm), número de nódulos por plantas, peso de nódulos por planta (g), días a floración, numero de vaina por planta, peso de 100 semillas, en gramo (g), rendimiento por planta (g) a fin de determinar parámetros para evaluaciones posteriores.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Problema de investigación

1.1.1 Planteamiento del problema

En Ecuador la degradación y contaminación de los recursos naturales para la producción agrícola es el mayor problema ambiental del país, lo que supone un serio riesgo para la seguridad alimentaria de la población.

La creciente e inevitable demanda de alimentos en el mundo ha llevado a que los agricultores utilicen cada vez más grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados en sus cultivos para aumentar los rendimientos.

La falta de información técnica por parte del agricultor en cuanto a la cantidad y momentos de su aplicación. Esto ha provocado efectos negativos en la salud humana y en el medio ambiente por contaminación de aguas superficiales y subterráneas. Por otra parte, ocasionan desequilibrio nutricional en el suelo que afectan su fertilidad y su uso agrícola.

El inadecuado uso y manejo de los suelos para los cultivos como la aplicación intensiva de agroquímicos a nivel mundial, ha provocado en éstos, severos procesos de deterioro ambiental que se reflejan en su desactivación biológica y en la pérdida de sus condiciones para producir, lo que pone en serio riesgo la seguridad alimentaria de la sociedad.

1.1.2 Formulación del problema

¿Cómo incide el efecto de inoculación con rizobacterias en el crecimiento y producción de tres variedades de soya (*Glycine max L*) en el cantón Quevedo?

1.1.3 Sistematización del problema.

- ¿Cómo cuantificar los caracteres morfológicos de longitud y número de raíces en tres variedades de soya con *Bradyrhizobium japonicum* y *Pseudomonas* spp, in vitro?
- ¿Cómo verificar la formación de nódulos en tres variedades de soya al ser inoculadas por *Bradyrhizobium japonicum* y *Pseudomonas* spp, en invernadero?
- ¿Cómo determinar el resultado de las tres variedades de soya de mejor respuesta a la inoculación con rizobacterias durante el crecimiento y producción?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Determinar el efecto de inoculación con rizobacterias en el crecimiento y producción de tres variedades de soya (*Glycine max L*) en el cantón Quevedo.

1.2.2 Objetivos específicos

- Cuantificar el carácter morfológico de longitud y número de raíces en tres variedades soya, tratadas con *Bradyrhizobium japonicum* y *Pseudomonas* spp, *in vitro*.
- Verificar la formación de nódulos en tres variedades de soya al ser inoculadas por *Bradyrhizobium japonicum* y *Pseudomonas* spp, en invernadero.
- Analizar la respuesta morfológica a la inoculación por rizobacterias para la etapa fisiológica de producción.

1.3 Justificación

El trabajo de investigación tiene como objetivo desplazar o minimizar el empleo excesivo de agroquímicos en la fertilización del cultivo de soya. El estudio se focaliza al empleo de tres rizobacterias que poseen características funcionales distintas a la producción de metabolitos secundarios.

Dentro de este grupo de microorganismo, se destacan las rizobacterias no patogénicas del género *Pseudomonas* spp y *Bradyrhizobium japonicum*.

El empleo de *Bradyrhizobium japonicum*, *fluorescens* CHA0 y *veronii* R4 en la agricultura mantiene funciones específicas que mejoran la productividad de las plantas, estos beneficios se ven atribuidos por la capacidad de fijación de nitrógeno la producción de fitohormonas y metabolitos secundarios que promueven el desarrollo en las plantas. De esta manera se quiere corroborar si la inoculación de estos microorganismos favorece al desarrollo e incremento en la productividad en tres variedades de soya ICA- P34 – INIAP 308 – INIAP 307.

La simbiosis que se establece entre las bacterias *Pseudomonas* spp y *Bradyrhizobium japonicum* en la soya es muy beneficiosa, no solo para las bacterias y las plantas, sino también para el productor, dado que es factible esperar un incremento de rendimiento de la soja (*Glycine max L*) con un costo muy bajo.

Así mismo la aplicación al cultivo de forma conjunta de bacterias PGPR con bacterias fijadoras de nitrógeno, presenta efecto benéfico que incluyen mejoras en el establecimiento del sistema nodular, promoción del cultivo, y aumento de rendimiento.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Conceptual

2.1.1 Inoculación

Cuando un suelo no contiene naturalmente los *Rhizobium* o *Bradyrhizobium* específicos para una leguminosa que se quiere cultivar, las cepas bacterianas necesarias tienen que ser agregadas a ese suelo. Esta operación, es fácilmente llevada a cabo durante la siembra *Rhizobium* (como un inoculante) sobre la semilla o en el surco de la siembra (Roma, 1995).

El término “**inoculación**” se refiere a la incorporación de una sustancia en un organismo los cuales al ser aplicados al suelo o a las semillas pueden favorecer el aprovechamiento de los nutrimentos en asociación con una planta y su rizosfera (Redesmicrobianas, 2016).

2.1.2 Rizobacterias

Rizobacterias es el término que se utiliza para designar las bacterias capaces de colonizar las raíces de las plantas. Como una forma más corta de designarlas se usa la sigla PGPR, la cual corresponde a la expresión en inglés Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (Hoyos, 2011).

2.1.3 Crecimiento

Es un aumento irreversible de las dimensiones del organismo y de la masa celular, la formación de nuevas estructuras de células y en toda la planta (Vegetal, 2012).

2.1.4 Producción.

La producción es la actividad a través de la cual los seres humanos actuamos sobre la naturaleza, modificándolo para adaptarla a nuestras necesidades, o, lo que es lo mismo, el proceso mediante el cual se transforman materiales en productos o se realiza un servicio (Luque, 2010). También se puede decir que es la cantidad de producto primario obtenido de un cultivo en el período de referencia, ciertos productos requieren un tratamiento preliminar para su comercialización o almacenamiento (INEC, 2010).

2.1 Marco Referencial

2.2.1 Producción de Soya

Según (BCE, 2013) el representante de la empresa APROCICO en el cantón Quevedo, indicó que la superficie cosechada se mantuvo igual al período del año pasado; en cambio los rendimientos fueron menores y la producción también decreció en -20%. Los que manejan dicha empresa no se encuentran optimista en cuanto a la producción, pues prevé que la superficie sembrada se va a mantener igual, tampoco experimentará cambios en su producción. Fue unánime al manifestar que la superficie cosechada fue menor, con un decrecimiento de entre el 25% y 40%, en relación a similar período del año 2012. De igual forma, consideran que el volumen de producción también decreció en el mismo porcentaje.

2.2.2 Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), se caracterizan por lo siguiente distintivos intrínsecos que deben ser competentes para colonizar la superficie de la raíz, deben sobrevivir, multiplicarse y competir con otras microbiotas, al menos por el tiempo necesario para expresar sus actividades de promoción / protección crecimiento de las plantas, y se debe promover un crecimiento de las plantas (Kloepper, 1994).

2.2.3 La Presencia de Rizobacterias en la Planta

Las PGPR son bacterias de suelo que tienen la capacidad de colonizar raíces y estimular el crecimiento en las plantas se pueden encontrar en los diferentes géneros bacterias: *Arthrobacter*, *Chryseobacterium*, *Curtobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, y por los cuales las PGPR promueven mecanismos de defensa tales como la resistencia sistemática inducida actualmente están siendo investigados intensamente desde el punto de vista de las vías de transducción dentro de las plantas (Solano, 2008).

2.2.4 Efectos de las PGPR en las Plantas

Dentro de los efectos benéficos que las PGPRs pueden tener sobre las plantas hay dos grandes posibilidades: promoción del crecimiento (biofertilización) y reducción en el daño causado por enfermedades (biocontrol). Con respecto a la promoción del crecimiento vegetal, los beneficios reportados incluyen incrementos en las tasas de germinación, peso, altura, desarrollo radical, productividad, área foliar, contenido de clorofila, contenido de

magnesio, contenido de nitrógeno, contenido de proteína, actividad hidráulica, tolerancia a la sequía y retraso en la senescencia foliar (Hoyos, 2011).

2.2.4.1 PGPR Promotoras en el Desarrollo de Raíces

Las rizobacterias del suelo tienen la capacidad de colonizar raíces y estimular el crecimiento en plantas. Esta capacidad de promover el crecimiento ha sido relacionada con diferentes actividades fisiológicas: 1) La síntesis de fitohormonas, como son citoquininas, giberelinas y auxinas; 2) Mejora los factores que afectan la nutrición mineral, como la solubilización de fosforo; 3) Protección de plantas hacia fitopatógenos (Rodríguez. D, 2007).

2.2.4.2 Fisiología de la Promoción del Crecimiento

La actividad de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal en general se inicia con mecanismos de quimiotaxis que están relacionados con la presencia de flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente. Estos factores tienen gran importancia sobre la habilidad de colonizar la rizosfera y mantener la comunicación entre las células de la raíz con los microorganismos presentes en el suelo las bacterias capaces de interactuar con las raíces de las plantas son atraídas por sustancias excretadas por la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia el rizoplano de la planta y de esta forma dar inicio a una relación de beneficio mutuo. (Camelo M. , 2011).

2.2.4.3 Mecanismos Promoción del Crecimiento Vegetal

Los mecanismos directos de promoción vegetal encierran varios procesos en los cuales, las bacterias alteran el desarrollo vegetal. Estos mecanismos, empleados por bacterias, son muy diversos y en algunos casos poco estudiados, sin embargo, se pueden diferenciar claramente dos procesos esenciales: el primero consiste en la producción de sustancias orgánicas, producto del metabolismo secundario de las bacterias, que son capaces de promover respuestas fisiológicas específicas en las células vegetales. El segundo mecanismo se puede encontrar en la intervención directa de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos, en los cuales pueden hacer disponibles compuestos orgánicos e inorgánicos que son aprovechados por las plantas (Camelo, 2012).

2.2.5 Producción de Fitohormona del Tipo AIA (Acido 3 indol acético)

La síntesis microbiana de las fitohormonas auxina (ácido indol acético/AIA) ha sido conocido por mucho tiempo. Se reporta que el 80% de los microorganismos aislados de la

rizosfera de diversos cultivos poseen la capacidad de sintetizar y liberar las auxinas como metabolitos secundarios (Ahemad, 2013). Generalmente, AIA es secretada por rizobacteria e interfiere con la planta en muchos procesos de desarrollo endógeno en la planta (Glick, 2012).

En general, IAA afecta la división celular vegetal, la extensión y la diferenciación; estimula las semillas y la germinación de los tubérculos; aumenta la tasa de xilema y desarrollo de las raíces; controla los procesos de crecimiento vegetativo; inicia la formación de raíces laterales y adventicias; media las respuestas a la luz, y la gravedad de fluorescencia; afecta a la fotosíntesis, la formación de pigmento, la biosíntesis de varios metabolitos, y la resistencia a condiciones de estrés. Acido indo acético, producido por rizobacterias probablemente interfiere en los procesos fisiológicos de las plantas superiores, cambiando la piscina planta auxina. Por otra parte, IAA bacteriana aumenta el área de superficie de la raíz y la longitud, y por lo tanto proporciona a la planta un mayor acceso a los nutrientes del suelo. (Ahemad, 2013).

2.2.6 Las PGPR como Biofertilizantes

La rizosfera es la zona bajo influencia directa de la raíz, es una zona rica en microflora y nutrientes que provienen de los procesos fotosintéticos de la planta. Los microorganismos que componen esa micro flora están fuertemente regulados tanto por las señales que envía la planta como entre las que envían ellos mismos, existe un gran “diálogo molecular” en toda la zona. Las PGPR colonizan el sistema radicular incrementando en muchos casos la superficie de la rizosfera a la vez mejoran la disponibilidad de nutrientes al alcance de la planta. Por si fuera poco expulsan de la rizosfera a posibles patógenos que podrían dañar a la planta (GAIA, 2012).

2.2.7 Pseudomonas veronii R4

Las *Pseudomonas* spp son un grupo de bacterias con importantes propiedades de biodegradación y/o de control biológico pueden ocurrir por varias cepas en el grupo. Entre éstos, los aislados de *Pseudomonas veronii* (es decir, R4), tiene actividad nematicida por la generación de los metabolitos secundarios, tal como 2,4-diacetilfloroglucinol (2,4 DAPG) y enzimas líticas extracelulares (Siddiqui, 2005).

La capacidad de enraizamiento en hojas adultas de vid. Para la cepa RE4 presentó una importante correlación entre la producción de ácido indolacético e inducción de raíces secundarias Estudio sugieren que *Pseudomonas fluorescens* RE4 puede ser para bio-

controlador de *X. index* y adicionalmente promover el desarrollo de raíces de las plantas con las que interacciona. (Canchignia, 2014).

2.2.8 *Pseudomonas fluorescens* CHA0

Rizobacterias como *Pseudomonas fluorescens* CHA0, promueven el crecimiento de la planta e inducen la respuesta defensiva a RSI, a diferencia de RSA. La respuesta defensiva RSA en particular es inducida por un patógeno (Meziane, 2005). Y se ha comprobado que contribuyen a la producción de AIA y suprime una variedad de enfermedades de la raíz causadas por patógenos de hongos del suelo (Stutz et al, 1986) y produce varios metabolitos secundarios, en particular HCN, 2,4-diacetilfloroglucinol, pyoluteorin e indol - ácido 3-acético (IAA) (DCfagoet al & .. DCfago & Haas, 1990).

2.2.9 *Bradyrhizobium japonicum*

Es una bacteria fijadora de nitrógeno gram negativa, en forma de barra, que desarrolla una simbiosis con la planta de soya *Glycine max*, pertenece a la familia, *Rhizobiaceae* que incluye otras bacterias fijadoras de nitrógeno que se desarrollan simbiosis con leguminosas (Misoury, 2008).

2.2.9.1 Rizobios

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

- **Taxonomía**

En 1888, fueron demostrado los orígenes bacterianos de la fijación de nitrógeno en nódulos de las de leguminosas, nódulos que ya fueron descritos por Malpighi en 1679, y de donde Beijerinck en el año 1888 obtuvo el primer cultivo bacteriano puro, que lo llamo *Bacillus radicicola*. Posteriormente, Frank en 1889, propuso el nombre de *Rhizobium* para estos aislados, (Bastida, 2014).

- **Sistemática**

Los rizobios están agrupados sistemáticamente en la familia Rhizobiaceae en reino Procariotas, que se caracteriza porque sus miembros tienen la capacidad de interactuar con plantas, ya sea formando simbiosis estrechas, o dando origen a interacciones patogénicas.

Con el conocimiento de la existencia de cierta selectividad rizobios/ leguminosa, se habían reconocido seis especies teniendo en cuenta la especie principal de leguminosa que nodulan. Esto permitió definir dos grupos de acuerdo a su tasa de crecimiento, y se designaron como *Bradyrhizobium* a los rizobios de crecimiento lento. Mientras que los de crecimiento rápido se separaron en cuatro géneros: *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium* (García, 2004).

- **Morfología**

Los rizobios son bacilos gram-negativos, móviles con flagelación peritrica, polar o subpolar se los encuentra aislados, de a pares, y a veces en disposición estrellada formando rosetas. No forman esporos y en cultivos de células en estado estacionario pueden contener gránulos de poli-P- hidroxibutirato (PHB). Los rizobios son bacterias que viven tanto en vida libre en el suelo o dentro de los nódulos de las leguminosas en una forma llamada bacteroide. Ambas formas difieren en su morfología y en su metabolismo (Quispel & Lodwig y Poole, 2003). Principalmente, en vida libre son bacilos móviles, incapaces de fijar N₂ y utilizan una variedad de fuentes de C, mientras que los bacteroides tienen formas irregulares, son inmóviles, fijan N₂ y sólo pueden utilizar ácidos dicarboxílicos como succinato o malato como fuentes de C. La diferenciación del rizobio a bacteroide va acompañada de profundos cambios en el patrón de expresión génica, que se traduce en los cambios morfológicos y fisiológicos mencionados (Oke y Long & Natera et al., 2000) Los bacteroides son totalmente dependientes de la planta hospedadora (García, 2004).

2.2.9.2 Especificidad y diversidad de rizobios

Según (Ferrera R. Cerrato, 2010), la relación entre los rizobios y su hospedero es específica, es decir, cada especie nodula a un número definido de hospederos y cada hospedero nodula con un número determinado de especies de rizobios. El grado de especificidad varía ampliamente entre las especies de rizobios, de tal forma que algunas tienen un amplio rango de hospederos y nodulan leguminosas de diferentes tribus y subfamilias; otras tienen rangos más estrechos, nodulan géneros relacionados o solo especies de un género. En el caso más

extremo de especificidad ocurre cuando las cepas de rizobios discriminan hospederos dentro de una misma especie de leguminosa.

2.2.10 La provisión del Nitrógeno

Los suplementos del nitrógeno o fertilizantes cargados de proteínas en formas orgánicas, usualmente son liberados de manera sustancial durante el primer año después de su aplicación (Ramirez, 2007).

2.2.10.1 El nitrógeno del suelo

El nitrógeno del suelo es uno de los elementos de mayor importancia para la nutrición de las plantas y más ampliamente distribuido en la naturaleza. Se asimila por las plantas en forma catiónica de amonio NH_4^+ o amónico de nitrato NO_3^- . A pesar de amplia distribución en la naturaleza se encuentra en forma inorgánica por lo que no se pueden asimilar directamente. Además existen las formas gaseosas de N pero son muy pequeñas y difíciles de detectar como óxido nitroso (N_2O), o óxido nítrico (NO), dióxido de nitrógeno (NO_2), amoniacó (NH_3) y nitrógeno molecular presente en la atmósfera del suelo (N_2) (FAO, 2010).

2.2.11 La fijación Biológica del Nitrógeno

La fijación biológica del nitrógeno implica que la mayor parte del nitrógeno de N_2 atmosférico es fijado a amonio, representando un punto clave de la entrada del N_2 molecular en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno. En esta sección describiremos las propiedades de los enzimas nitrogenasas que fijan el nitrógeno y plantas superiores, las estructuras especializadas que forman las raíces cuando son infectadas por una bacteria fijadora de nitrógeno y las interacciones genéticas y de señalización que regulan la fijación en los procariotas simbióticos y sus huéspedes (Zeiger L. T., 2006)

2.2.11.1 El nitrógeno es Fijado por Bacterias Libres y Bacterias Simbióticas

Como se señala anteriormente, algunas bacterias pueden convertir el nitrógeno atmosférico en amonio. La mayoría de estos procariotas fijadores de nitrógeno viven libremente en el suelo. Unos pocos forman asociaciones simbióticas con plantas superiores, la bacteria aporta a la planta hospedadora nitrógeno fijado y lo intercambia por otros nutrientes y carbohidratos. Dicha simbiosis tiene lugar en los nódulos que se forman en las raíces de la planta y que contienen las bacterias fijadoras de nitrógeno.

El tipo más común de simbiosis se produce en los miembros de la familia Leguminosae y las bacterias del suelo del género *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Photorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium* (llamados generalmente rizobios). Otro tipo común de simbiosis se produce entre algunas especies vegetales leñosas como los árboles aliso y las bacterias del suelo del género *Frankia*. Hay también otro tipo de relación simbiótica entre las herbáceas *Gunnera* de Sud América y un pequeño helecho de agua *Azolla* con las cianobacterias *Nostoc* y *Anabaena*, respectivamente (Zeiger L. T., 2006).

2.2.11.2 La Fijación de Nitrógeno Necesita Condiciones Anaeróbicas

Así que el oxígeno inactiva irreversiblemente a la nitrogenada implica en la fijación del nitrógeno, el proceso de fijación de nitrógeno tiene lugar en condiciones anaeróbicas. Cada uno de los organismos fijadores de nitrógeno funcionan bien bajo condiciones anaeróbicas o bien crean un entorno interno anaeróbico en presencia de oxígeno.

En las cianobacterias, las condiciones anaeróbicas se crean en unas células especializadas llamadas *heterocistos*. Los heterocistos son células de gruesas paredes celulares que se diferencian cuando las bacterias filamentosas se ven privadas de NH_4 . Estas células, entre otras adaptaciones, carecen de fotosistemas II, el fotosistema productor de oxígeno en la fotosíntesis, por lo que se genera oxígeno. Los heterocistos son una adaptación para la fijación de nitrógeno ya que están extendidos en cianobacterias filamentosas aeróbicas que fijan nitrógeno (Zeiger L. T., 2006).

2.2.12 La Planta en la Simbiosis

2.2.12.1 Las Leguminosas Noduladas

La familia de las leguminosas es un grupo muy diverso con cerca de 20000 especies, la mayoría fija nitrógeno en simbiosis con los rizobios del suelo. Se cree que la familia tuvo su origen en las regiones tropicales, probablemente en África. No se tiene certeza de cuándo aparecieron las leguminosas; no obstante, se tienen evidencias fósiles de que las leguminosas ya eran abundantes entre 35 y 54 millones de años atrás (Ferrera R. Cerrato, 2010).

2.2.12.2 El proceso de Infección y Formación del Nódulo

El proceso de infección se inicia de dos maneras diferentes que dependen de la especie de planta. El más estudiados es el proceso mediante el cual los rizobios penetran por los pelos radiculares a través de un canal que se prolonga hasta las zonas subcorticales (Gage y Margolin & Limpens y Bisseling, 2003). En el otro proceso, compartido con los nodos de

infección en sistemas de fijación simbiótica de N₂ en no leguminosas, los rizobios penetran por roturas que generalmente ocurren en las axilas de raíces secundarias emergentes y se dispersan luego por los espacios intercelulares (Rossum, 1997). Dado que el primer proceso es el que ocurre en soya, los expondremos con más detalles a continuación (García, 2004).

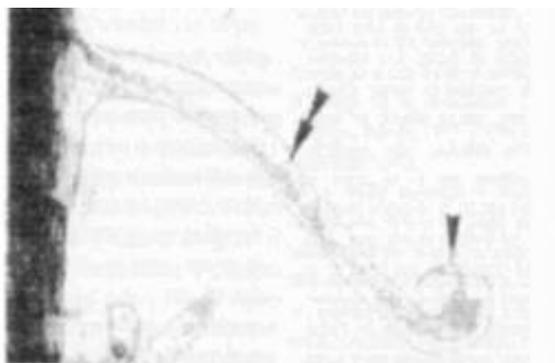


Figura 1. Micrografía de un hilo de infección la flecha simple señala el enroscamiento en la punta del pelo radicular y flecha doble el hilo o canal de infección, por donde los rizobios migran hacia las células subcorticales de la raíz



Figura 2. Micrografía electrónica original demostrando el enroscamiento de un pelo radicular

El proceso de infección y nodulación es complejo e involucra mecanismo de comunicación entre la raíz de la planta hospedera y los rizobios. Las bacterias se multiplican en la rizosfera. Debido a la disponibilidad de material orgánico de fácil asimilación liberado por la raíz; la interacción inicia por el intercambio de señales químicas entre ambos organismos. La raíz libera flavonoides que activan la expresión de los (genes Nod) de los rizobios, que conduce a la síntesis de oligosacáridos específicos denominados factores Nod (Ferrera R & Shultze y Kondorosi, 2010).

Estos factores son liberados por la bacteria e inducen respuestas en la raíz, que incluyen la despolarización de la membrana celular la deformación de los pelos radicales y la inducción de la expresión de los genes de la planta relacionados con la formación y función de los nódulos. Las respuestas ocurren solo en una pequeña área de la raíz donde los pelos radicales están creciendo (Ferrera R & Shultze y Kondorosi, 2010).

En las etapas tempranas de la interacción los rizobios se adhieren firmemente al pelo radical, el cual se deforman y se curvan. También en estas etapas tempranas, se forma el meristemo nodular. En nódulos indeterminados, el meristemo nodular se forma en el córtex interno y, los nódulos determinados, este se forma en el córtex externo, justo debajo de la epidermis la infección se inicia cuando los rizobios inducen una hidrólisis localizada de la pared celular,

mientras que la membrana celular se invagina y se sintetiza nueva pared, dando origen al hilo de la infección, una estructura tubular por donde penetran los rizobios. Al final del proceso, los sistemas vasculares del nódulo y del tejido radical se juntan, completando así la formación del nódulo (Ferrera R & Shultze y Kondorosi, 2010).

Los nódulos determinados detienen la división celular en etapas tempranas de desarrollo y continúan creciendo por expansión de las células hasta que alcanzan su tamaño. La mayor parte de estas células son infectadas casi desde el principio por la división de células ya infectadas. Los nódulos indeterminados, por el hecho de tener un meristemo apical, continúan creciendo por división celular y continuamente adicionan nuevas células al tejido nodular. En este caso, las células son infectadas por los rizobios a medida que se van diferenciando, por lo que se establece un gradiente de células (Ferrera R C. M., 2010).

2.2.12.3 El Proceso de Fijación y Asimilación de Nitrógeno

La fijación de nitrógeno inicia entre los primeros 15 a 20 días después de la emergencia, cuando los primeros nódulos se han formado (Ferrera R C. M., 2010). En esta etapa los nódulos se transforman en una demanda activa de carbono a tal punto que cuando alcanzan su mayor actividad pueden recibir entre 13 y 28 % del carbono neto producido por la planta (Ferrera R. Cerrato, 2010)

La leghemoglobina le confiere el color rojo a los nódulos y puede alcanzar hasta 30 % del total de las proteínas solubles. En nódulos muy activos hay una alta proporción de esta proteína, la cual se incrementa un poco antes de que inicie la actividad de la enzima nitrogenasa el amonio producido es liberado por el bacteroide y es asimilado en el citoplasma de las células infectadas (Ferrera & Whipps, 2010).

2.2.13 Soya (*Glycine max L*)

2.2.13.1 Origen

La soya se originó en el norte y centro de China y está considerado como uno de los cultivos más antiguos. Las evidencias históricas y geográficas sugieren que la soya fue domesticada primero en la mitad oriental de China entre los siglos XVII y XI a.C (Gomez, 2014).

2.2.13.2 Descripción Morfológica

La soya pertenece a la familia de las papilionáceas y es una planta de ciclo anual que tiene una altura de 20 centímetros a 2 metros. Las hojas son trifoliadas con hasta 4 folíolos por

hoja, finos pelos de color gris y marrón cubren vainas, tallos y hojas de esta planta, y su fruto está compuesto por una vaina que contiene de una a cuatro semillas. Son: entre 400 a 600 mm de lluvia durante el ciclo de la planta, 12 horas de luz por día, una temperatura de 22 a 30 °C, y un suelo de franco arenoso o franco arcilloso con un pH que oscile entre 5,5 a 7,0. La cosecha de esta planta puede ser utilizada como vegetal o como oleaginosa. Por lo tanto la soya como oleaginosa tiene un alto contenido de aceite de aproximadamente el 20%, su cantidad de proteínas bordea del 38 al 45% (Gomez, 2014).

2.2.13.3 Variedad de Soya ICA-P34

La soya ICAP-34 es el resultado del mejoramiento genético adelantado por el ICA en el centro Experimental Palmira (Colombia). Es una variedad de alto rendimiento. Es resistente a la mancha de ojo (*Cercospora sojina*), al mildui veloso (*Pernospora manchurica*) y la mancha purpura (*Cercospora kikuchii*). Se comporta tolerante a pústula bacterial (*Xanthomonas phaseoli*) al complejo viroso y a los crisomélidos.

Nombre Varietal y comercial: Soyica P-34

Genealogía: Davis × [AGS 129 × 568-(3)-1-7M...] (Ledesma, 2009).

- **Característica Agronómica**

Tabla 1. Características agronómicas ICA- P34

Agronómicas	
Hábitos de crecimiento	Indeterminado
Días a floración	35 a 40
Días a cosecha	100 a 110
Altura de planta (cm)	70 a 80
Altura de 1er vaina	15 a 17
Acame de planta	Tolerante
Vaina por planta	49 a 74
Semillas por vaina	2 a 4

Semillas por planta	109 a 150
Peso de 100 semillas (g)	18 a 20
Rendimiento promedio (kg ha ¹)	2400 – 2700

Fuente: (Ledesma, 2009).

2.2.13.4 Variedad de Soya INIAP 308

La variedad INIAP 308 es una variedad mejorada por selección de un grupo de cultivares que fueron introducidos en el 2000 desde Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. A la línea seleccionada en 24 ensayos en las zonas de: Buena Fe, San Carlos, Pichilingue, Ventanas San Juan, Montalvo, Pueblo Nuevo y en la Estación Experimental del Litoral Sur “Dr. Enrique Ampuero Pareja” (Boliche). La nueva Variedad supera los 3900 Kg/ha, y por otro lado presenta una moderada resistencia a la enfermedad fungosa Mildiu (*Pernospor manshurica*) (Jimenez, 2009).

- **Características Agronómicas**

Tabla 2 Característica agronómica INIAP 308

Agronómicas	
Hábitos de crecimiento	Determinado
Días a floración	40 a 46
Días a cosecha	110 a 120
Altura de planta (cm)	67 a 78
Altura de 1er vaina	14 a 16
Acame de planta	Tolerante
Vaina por planta	49 a 74
Semillas por vaina	2 a 3
Semillas por planta	109 a 150
Peso de 100 semillas (g)	17 a 20
Rendimiento promedio (kg ha ¹)	3984

Fuente: (Jimenez, 2009).

2.2.13.5 Variedad de Soya INIAP 307

Esta variedad fue desarrollada por PRONAOL durante el periodo 1993-2003. Proviene del cruce AGS-269 × UFV-10, con el pedigree Es546F2-39-3-2M y experimentalmente fue denominada como línea 10528, se caracteriza por su alto rendimiento, no susceptible al acame, adaptabilidad a las zonas altas y bajas, resistencia a cercosporosis, virosis, en menor grado al nematodo agallador de las raíces. Este material es de buena altura de planta y de carga, lo que facilita la cosecha mecanizada, además, presenta un promedio de 48 vainas por planta, misma que en más de 50% presenta tres semillas (Guaman J, 2004).

- **Características Agronómicas**

Tabla 3. Característica agronómica INIAP-307

Agronómicas	
Hábitos de crecimiento	Determinado
Días a floración	43 a 48
Días a cosecha	105 a 120
Altura de planta (cm)	60 a 78
Altura de 1er vaina	14 a 18
Acame de planta	Tolerante
Vaina por planta	40 a 60
Semillas por vaina	2 a 3
Semillas por planta	80 a 180
Peso de 100 semillas (g)	16 a 20
Rendimiento promedio (kg ha ¹)	4467

Fuente: (Guaman J, 2004).

2.2.14 Exigencia de la Nutrición de la Soya

La soya, presenta una alta acumulación de proteínas en las semillas que la convierte en el cultivo con la mayor demanda de Nitrógeno (N) y la menor producción de biomasa de semilla por foto asimilado producido. Por eso, el N es el nutriente más crítico para el cultivo. Se estima que se requieren entre 70 y 80 kg de N para producir una tn de grano de soja. Es decir, un rendimiento promedio de aproximadamente 3000 kg/ha es equivalente a una demanda de 240 kg/ha de N (Guaman J, 2004).

2.2.15 Inoculación de la Soya

Para dar respuesta a esta problemática, la ciencia y la industria desarrollaron la tecnología de inoculación que, por su demostrado desempeño, se constituye como forma más eficiente para garantizar una adecuada provisión de nitrógeno necesario en la composición de proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares; afectando positivamente sobre los rendimientos y la sustentabilidad del sistema productivo (Rizobacter, 2015).

2.2.16 Rizo Liq TOP

Tecnología Osmo Protectora, representa una evolución en inoculantes, es un inoculante bacteriano que promueve un alto rendimiento metabólico y fisiológico de las bacterias.

La inclusión de sustancias Osmo Protectoras en su composición y el manejo diferencial de sus procesos de fabricación, permiten mejorar el estado fisiológico de las bacterias; a la vez que aumentan la concentración y la supervivencia bacteriana sobre la semilla y en el envase. Contiene 1×10^{10} bacterias/mL a la fecha de elaboración y 1×10^9 bacterias/mL a la fecha de vencimiento. Su formulación en base a *Bradyrhizobium japonicum*, asegura que la radícula de la semilla germinada se infecte rápidamente, acelerando así el proceso de Fijación Biológica del Nitrógeno. Permite el tratamiento anticipado de la semilla sin la necesidad de agregar ningún tipo de aditivo extra. (Rizobacter, 2015).

2.2.17 Ventajas de la Inoculación

La inoculación es una práctica fundamental sobre todo en áreas donde antes no se ha cultivado soya, aun cuando puede haber crecido en el mismo sitio otras fabáceas. La ventaja de una buena inoculación es proveer a cada semilla de una cantidad adecuada y suficiente cantidad de bacterias en excelente estado fisiológico para lograr una efectiva nodulación (Cruz, 2012).

2.2.18 Importancia de la Tecnología de Inoculación en las Leguminosas

A través de la inoculación se agregan – sobre la semilla o directamente en el suelo – microorganismos de la familia de los rizobios, especialmente seleccionados por su capacidad para fijar nitrógeno, contenidos en los inoculantes.

Estos microorganismos poseen una enzima gracias a la cual inducen en la leguminosa las formaciones nodulares fijadoras del nitrógeno del aire, el que se incorpora al organismo del vegetal para su proceso metabólico y desarrollo saludable.

La soja se abastece de N principalmente por la fijación biológica. Si el suelo no dispone de los *rizobios* adecuados para una eficiente FBN en simbiosis, se recurre a la inoculación. Mediante esta práctica se agregan sobre la semilla o directamente en el suelo gran cantidad de *Rizobios* que fijarán el nitrógeno adecuadamente. La obtención de altos rendimientos en soja requiere de una adecuada provisión de nitrógeno (Rizobacter, 2015).

CAPITULO III

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización

3.1.1 Ubicación del Ensayo

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal del Departamento de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicado en la Av. Quito Km 1 ½ vía a Santo Domingo de los Tsáchilas de la provincia de Los Ríos.

3.2 Tipo de Investigación

Se realizó una investigación de tipo experimental en la cual se evaluaron diferente material vegetal de soya (*Glycyne max L*), ICA-P34, INIAP 307, INIAP 308 y rizobacterias *Bradyrhizobium japonicum* (extranjeras) donadas por Rizobacter S.A., Argentina y *P. veronii* R4, *P. fluorescens* CHA0 del laboratorio de biotecnología de la UTEQ.

3.3 Métodos de la Investigación

Se utilizó el método observación y analítico partiendo de los resultados obtenidos en cada proceso.

3.4 Fuentes de Recopilación de Información.

En esta investigación se recopiló información de fuentes primaria mediante la observación directa del experimento realizado, donde se mide la diferentes variables, sumándose a esto (textos, revistas científicas, documentos y otros) fuente secundaria.

3.5 Diseño de la Investigación

Se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial con doce tratamientos cada uno con tres repeticiones y 4 unidades experimentales.

3.6 Instrumento de la Investigación

Los instrumentos de investigación empleados en este trabajo se basan en procedimientos experimentales validados por el efecto de las rizobacterias en el crecimiento y producción de la soya, análisis de datos mediante la aplicación de software estadísticos y registro de datos, en función del diseño experimental aplicado.

3.6.1 La investigación se Condujo en Tres Fases Experimentales.

3.6.1.1 Capacidad Germinación de las Variedades *Glycine max L.* por Inoculación de las Rizobacterias.

a.- Preparación del medio de cultivo 1L de King B, (peptona, 20,0; glicerol, 15 ml; K_2HPO_4 , 1,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$, 1,5; agua destilada (pH 7,2).

b.- Los aislados bacterianos crecieron en 250 ml de King B, a 28°C y 200 RPM hasta alcanzar una concentración de células de $1,11^{10}$ células/mL, por las 24 horas. Se distribuyeron 150 ml en tubos falcon de 15 ml⁻¹ del medio de cultivo y fueron centrifugados a 3000 x g por 10 min.

c.- Las bacterias fueron lavadas dos veces con un mismo volumen de PBS (Cloruro de sodio NaCl, 8g; Cloruro de potasio KCl, 0,2g; Fosfato de disodio Na_2HPO_4 , 1.44 g; Fosfato de potasio monobásico KH_2PO_4 , 0,24g, para 1L) estéril (pH 6,5 min) y re suspendidas en la misma solución.

d.- Las semillas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5% durante tres minutos y lavadas con agua destilada estéril por tres veces para retirar el exceso de agua fueron secadas con papel toalla estéril.

e.- Las semillas de las tres variedades fueron sumergidas por 30 min en 10 ml de la solución PBS que contenían las rizobacterias: *P. veronii* R4, *P. fluorescens* CHA0. Del inoculante RIZO – LIQ TOP que contenían como ingrediente activo *Bradyrhizobium japonicum* (3ml/kg) de semillas, y del protector PREMAX (1ml/kg), las dos soluciones fueron homogenizadas para una correcta distribución del inoculante, sumergidas por 30 min.

f.- Para evaluar la respuesta de germinación de las semillas por efecto de los inoculantes se ubicaron 4 semillas por cajas Petri que contienen Agar agua equivalente al 7%, para después proceder a evaluar a los 7 días post inoculación (dpi).

g.- Las variables registradas fueron: longitud de radícula (**LR**) y número de raicillas (**NR**), las variables longitud de radícula se midió desde el brote hasta el extremo final con una cinta métrica expresando en centímetro los resultados y número de raicillas se hizo mediante un conteo manual.

h.- Se realizó un Diseño Completamente al Azar doce tratamientos cada uno con tres repeticiones y 4 unidades experimentales. Los datos fueron sujetos al ANOVA, los

promedios fueron separados por procedimiento de comparación múltiple de Tukey SD con un nivel de significancia del 5%, empleando Statgraphics.

3.6.1.2 Evaluación de los Caracteres Morfológicos por Aplicación de las Rizobacterias a los 30 Días.

a.- La desinfección de semillas y la preparación de los inoculantes bacterianos fueron realizados como se describe en el apartado (1d - 1e), para su inoculación en recipiente con un volumen 158,5 (g) que contenían (50 y 50 %) de turba y sustrato de tierra estéril.

b.- Fueron registrados las variables de crecimiento como: altura de planta (cm) **AP**, y longitud de raíz principal (cm) **LRP**, número de nódulos por plantas **NNP**, peso de nódulos por planta (g) **PNP**, evaluados a los 30 días pos-inoculación de las rizobacterias.

c.- Las variables altura de planta (cm), desde la base de la planta (cuello), hasta el último crecimiento apical. Longitud de la raíz principal desde la base de la planta (cuello) hasta el final de la cofia de la raíz se empleó una cinta métrica. Se realizó el conteo de peso de nódulos por planta, para peso de nódulos en (g) se empleó una balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de ± 0.1 .

d.- Se realizó un Diseño Completamente al Azar con doce tratamientos cada uno con tres repeticiones y cuatro unidades experimentales. Los datos fueron sujetos al ANOVA, los promedios fueron separados por procedimiento de comparación múltiple de Tukey SD con un nivel de significancia del 5%, empleando Statgraphics.

3.6.1.3 Evaluación de Productividad por Aplicación de las Rizobacterias a los 120 Días.

a.- El siguiente ensayo fue realizado en fundas de vivero de 10 * 12 para evaluar variables de producción a los 120 días, el proceso de desinfección e inoculación fue realizado como lo descrito anteriormente en el apartado (1d - 1e),

b.- La desinfección de semillas y la preparación de los inoculantes bacterianos fueron realizados como se describe anteriormente, para su inoculación en recipiente con un volumen de 1328,0 g con (50 y 50 %) de turba y sustrato de tierra estéril.

c.- Fueron registradas las variables de producción como: días a floración (**DF**), número de vainas por planta (**NVP**), peso de 100 semillas en gramo (**g**), rendimiento (g).

d.- La variable días a floración se determinó el número de días transcurridos desde la siembra hasta cuando el 50% más una del total de las plantas de cada tratamiento presento por lo menos una flor abierta. El número de vainas por planta se la hizo tomando doce plantas al azar, la variable semillas por vaina se realizó tomando 20 vainas y dividida por el número de vainas por planta. El peso de 100 semillas (g) se utilizó una balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de ± 0.1 , para cuantificar esta última variable se ajustó la humedad de la semilla al 13%. Y el rendimiento por parcela se peso la producción (g) de la parcela útil a final del experimento al 13% de humedad.

e.- Se realizó un Diseño Completamente al Azar con doce tratamientos cada uno con tres repeticiones y 4 unidades experimentales. Los datos fueron sujetos al ANOVA, por la prueba de comparación múltiple Tukey SD 95% de probabilidad, empleando Statgraphics.

3.6.2 Datos registrados y formas de evaluación

3.6.2.1 Capacidad Germinación de las Variedades *Glycine max L* por Inoculación de las Rizobacterias.

En donde se evaluaron las siguientes variables

- **Longitud de Radícula Evaluados 7 (dpi) cm**

Se tomó doce semillas germinadas tomadas al azar y se midió desde el brote de la radícula hasta el extremo final con una cinta métrica expresado en centímetro.

- **Número de raicillas (NR)**

Se tomó 12 semillas germinadas tomadas al azar y se realizó el conteo de las raicillas de forma manual.

3.6.2.2 Evaluación de los Caracteres Morfológicos por Aplicación de las Rizobacterias a los 30 días.

Para poder analizar los caracteres morfológicos se evaluaron las siguientes variables.

- **Altura de Planta (AP) (cm)**

Se midieron doce plantas de cada tratamiento, tomando desde la base de la planta (cuello), hasta el último crecimiento apical usando una cinta métrica, se expresó en centímetro. Los datos se registraron con base al promedio de plantas de cada tratamiento.

- **Longitud de la raíz (LRP) (cm)**

Se midieron doce plantas de cada tratamiento, tomando desde la base de la planta (cuello) hasta el final de la cofia de la raíz, usando una cinta métrica, se expresó en centímetro. Los datos se registraron con base al promedio de plantas de cada repetición.

- **Números total de nódulos por planta (NTNP)**

Se contó el número de nódulos de cada unidad experimental, dando como resultado el número total de nódulos de los tratamientos, este trabajo se realizó cuando la planta tenía 30 días.

- **Peso de nódulos (PN) (g)**

El registro de peso de nódulos en (g) se realizó tomando 100 nódulos al azar del tratamiento se empleó una balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de $\pm 0.1.$, este trabajo se realizó cuando la planta tenía 30 días.

3.6.2.3 Evaluación de Producción por Aplicación de las Rizobacterias a los 120 días.

Para Evaluar los Caracteres Morfológicos a Producción.

- **Días a la floración (DF)**

Se determinó el número de días transcurridos desde la siembra hasta cuando el 50% más una del total de las plantas de cada repetición presento por lo menos una flor abierta.

- **Numero de vainas por planta (NVP)**

Se tomaron doce plantas por tratamiento y se determinó el número de vainas por planta se promedió.

- **Peso de 100 semillas (g)**

Se tomaron al azar cien semillas enteras por tratamiento. El dato fue expresado y ajustado al 13 % de humedad.

- **Rendimiento**

Se peso la producción por tratamiento (g) de la parcela útil final del experimento ajustado al 13%

3.7 Tratamientos de los datos

Se empleó un diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 3*4 con doce tratamientos cada uno con tres repeticiones y 4 unidades experimentales. Todos los datos fueron sometidos al ANOVA, los promedios fueron separados por procedimiento de comparación múltiple Tukey SD con un nivel de significancia del 5%, empleando Statgraphics.

3.8 Combinación de los tratamientos:

Tabla 4. Combinación de los factores Genotipo – Cepa establecidos en doce tratamientos

Tratamiento	Variedad	Cepa	Descripción
T1	P34	Bj	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
T2	P34	CHA0	<i>Pseudomona fluorescens</i>
T3	P34	RE4	<i>Pseudomona fluorescens</i>
T4	P34	-	Sin aplicación
T5	INIAP 308	Bj	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
T6	INIAP 308	CHA0	<i>Pseudomona fluorescens</i>
T7	INIAP 308	RE4	<i>Pseudomona fluorescens</i>
T8	INIAP 308	-	Sin aplicación
T9	INIAP 307	Bj	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
T10	INIAP 307	CHA0	<i>Pseudomona fluorescens</i>
T11	INIAP 307	RE4	<i>Pseudomona fluorescens</i>
T12	INIAP 307	-	Sin aplicación

Autor: Damian Cedeño S.

3.9 Recursos humanos y materiales

Esta investigación se llevó a cabo con la dirección del Dr. Fabricio Canchignia Martínez, y los gastos derivados de esta investigación fueron del tesista y equipos e insumos del Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal del Departamento de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Materiales

Materiales de oficina

- Laptop *hp*
- Impresora
- Carpeta varilla de color
- Resmas de papel bond A4
- Libreta de campo
- Internet

Material de campo

- Algodón
- Cajas Petri
- Papel de aluminio
- Papel de cocina
- Gafa transparente
- Lápiz demográfico
- Mechero de alcohol
- Pinzas
- Mascarilla
- Pipetas
- Picetas
- Probetas graduadas
- Vasos de precipitación
- Tubos eppendorf 1,5 ml
- Guantes de examinación
- Tubos Falcon 15 ml

- Micro-pipetas 1000 uL, 200 uL,

Reactivos De Laboratorio

- Bacto Agar
- Fosfato de Potasio K_2HPO_4
- Sulfato de Magnesio $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
- Glicerol
- Peptona
- Alcohol
- Cloruro de sodio NaCl
- Cloruro de potasio KCl
- Fosfato de disodio Na_2HPO_4
- Fosfato de potasio monobásico KH_2PO_4

Insumos

- Vasos de 10 onz
- Semillas
- Sustrato y tierra estéril
- Fundas de vivero 10 * 12
- Inoculante bacteriano
 - *Bradyrhizobium japonicum*
 - *Pseudomonas fluorescens* CHAO
 - *Pseudomonas veronii* R4

Equipos

- Centrifugadora
- Balanza de precisión
- Agitador y calentador
- Autoclave
- Flash memory (*hp*)
- Cámara fotográfica Sony
- Cámara de flujo laminar

CAPITULO IV

RESULTADO Y DISCUSION

4.1 Resultado

4.1.1 Germinación de Variedades *Glycine max L.* por Efecto de Inoculación de Rizobacterias.

4.1.1.1 Longitud de Radícula Evaluados 7 (dpi) cm.

La capacidad de regeneración del sistema radicular fue evaluada para la variable longitud de raíz, encontrando diferencia significativa entre los tratamientos. Los resultados en la variedad ICA- P34 por aplicación de *B. japonicum* mejora la respuesta fisiológica con el aumento del sistema radicular con 5.00 cm, a diferencia de las semillas no tratadas que se obtuvieron longitudes de 3.67 cm. Por el contrario la aplicación de *P. veronii* R4 y *P. fluorescens* CHA0, inhibieron la formación tejido radicular con longitudes de 0.6 y 0.00 cm respectivamente.

Las semillas de INIAP 308, al no ser tratadas con los inoculantes bacterianos, respondieron con el mayor promedio de longitud radicular de 5 cm, a diferencia de las semillas expuestas con *Bradyrhizobium japonicum*, la formación de tejido disminuye con longitudes promedios de 3 cm. La aplicación de *P. veronii* R4 y *P. fluorescens* CHA0 repercute en el proceso de germinación no existiendo la formación de tejido radicular.

Las semillas de soya INIAP 307 que fueron tratadas *B. japonicum*, mejoran la formación de raíces con longitudes de 8.67 cm. Y las semillas al no estar inoculadas presentó formación radicular de 6 cm, disminuyendo la formación de raíces al estar las semillas tratadas con las cepas *P. veronii* R4 y *P. fluorescens* CHA0, con promedios de longitudes de 4 y 1 cm. respectivamente.

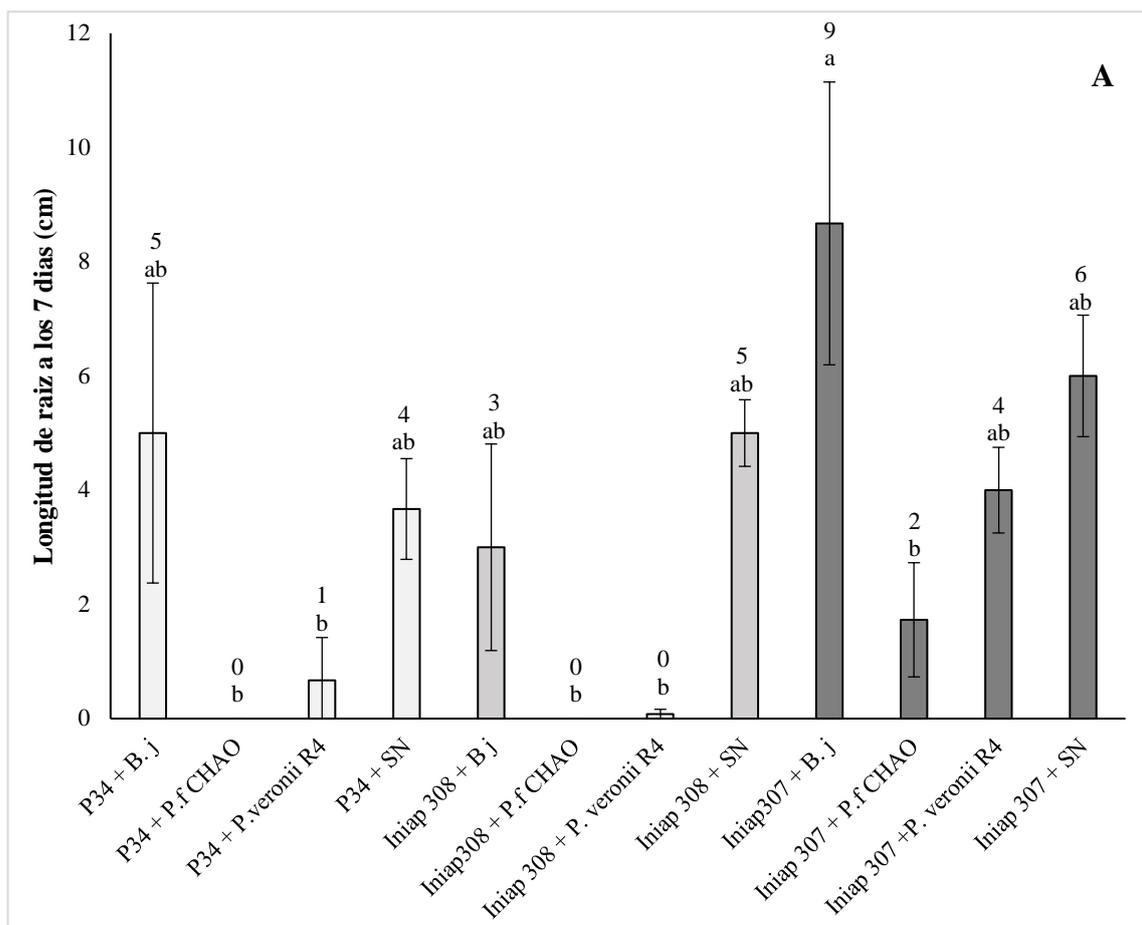


Grafico 1 Prueba de germinación de variedades de semillas de soja con o sin rizobacterias. Longitud de radícula: variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias.



Figura 3 Longitud radicular: a. ICA- P34 con *B. japonicum*; b. ICA- P34 con CHAO; c. INIAP-308 con R4; d. ICA-P34 con R4; e. INIAP-307.

Prueba de germinación de variedades de semillas de soja con o sin rizobacterias. A)

Longitud de radícula: variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4. Evaluado a los 7 días. **B)** Longitud radicular: a. ICA- P34 con *B. japonicum*; b. ICA- P34 con CHAO; c. INIAP-308 con R4; d. ICA-P34 con R4; e. INIAP-307 con *B. japonicum* Germinación de Los valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4.1.1.2 Número de Raicillas a 7 (dpi)

La formación al número de raíces secundarias por semilla germinada, muestra alta significancia estadística entre las variedades de soya e los inoculantes bacterianos. Los resultados obtenidos en la variedad ICA-P34 por aplicación *B. japonicum*, no mejoró la respuesta fisiológica en el aumento de raicillas de 2 por semilla, a diferencia de las semillas no tratadas que obtuvieron mayor número de raicillas de 3 para esta variedad. Por el contrario la aplicación de *P. fluorescens* CHA0 y *P.veronii* R4 inhiben en formación de tejido radicular.

Los resultados obtenidos en la variedad INIAP-308 en el control generó el mayor promedio de 4 raíces por semilla, a diferencia de las semillas tratadas con *B. japonicum* que disminuyo a 2 raíces por semilla. Las exposiciones de las semillas de INIAP-308 a *P. fluorescens* CHA0 y *P. veronii* R4, no permite la generación de sistema radicular, inhibiendo completamente la formación de raíces.

Las semillas de soya INIAP-307 que fueron tratadas con las rizobacteria *B. japonicum*, mejoran en formación de 9 raicillas por semilla germinada. Las semillas de INIAP-307 como control regeneran un promedio de 5 raíces por semilla. La aplicación de *P. fluorescens* CHA0 y *P. veronii* R4 disminuye en regeneración de tejido radicular con un promedio de 1 y 4 raíces por semilla, respectivamente.

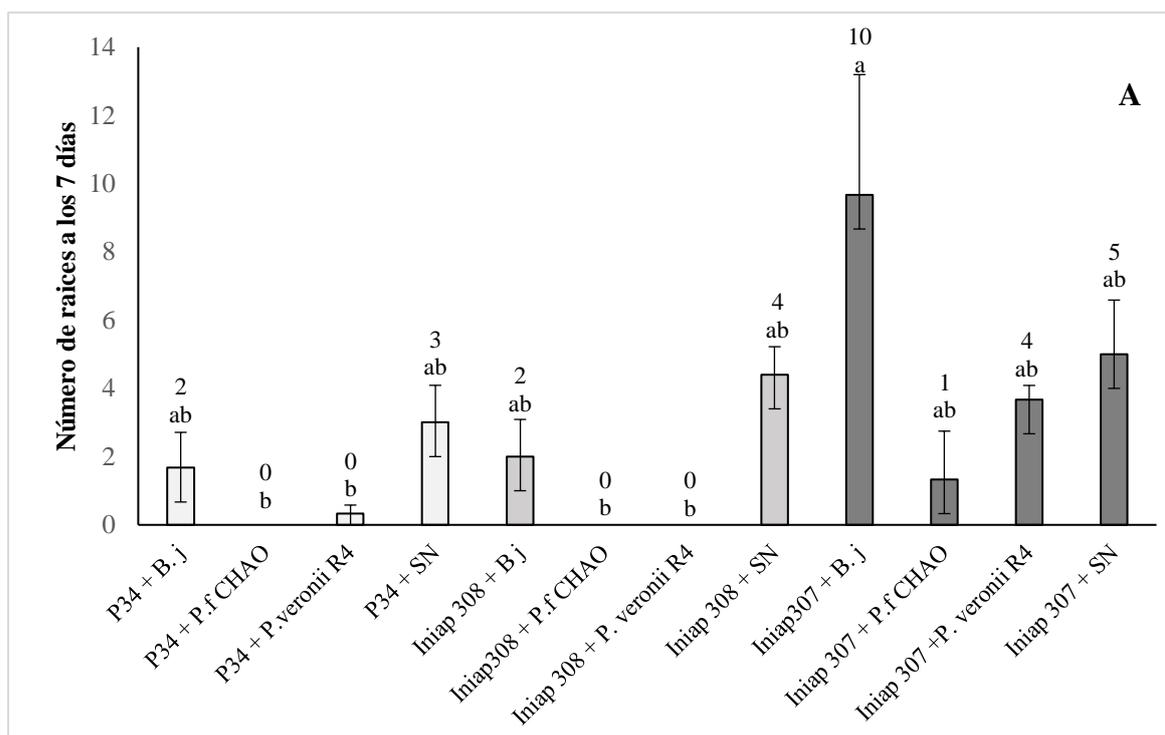


Gráfico 2 Número de Raicillas de Variedades de Soya ICA- P34; INIAP- 308; 307 con o sin rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4. Evaluado a los 7 días.

B



Figura 4 Número de raicillas a. ICA-P34 con *B. japonicum*; b. INIAP-307 con *B. japonicum*; c. INIAP-307 con *P. veronii* R4

Número de raicillas de variedades de semillas de soya con o sin rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4. Evaluado a los 7 días. B) a. ICA-P34 con *B. japonicum*; b. INIAP-307 con *B. japonicum*; c. INIAP-307 con *P. veronii* R4 Germinación de Los valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4.1.2 Evaluación de los caracteres morfológicos por aplicación de las rizobacterias a los 30 días.

4.1.2.1 Altura de planta

La altura que se generó por cada variedad de soya tratada con las rizobacterias evaluada a los 30 días en la fase de vivero, presento diferencia estadística significativa entre las variedades y los inoculantes bacterianos. En la variedad ICA-P34 los inoculantes *B. japonicum* y *P. fluorescens* CHA0 genera el mayor promedio de altura de planta de (21,33 y 20,67 cm). A diferencia de las semillas tratadas con *P. veronii* R4 o sin la bacteria disminuye en altura de planta (18,67 - 18,33 cm) respectivamente.

Los resultados en la variedad INIAP-308 al inocular las semillas con *B. japonicum* se obtuvo la mayor altura por planta con un promedio de 18,00 cm, en igualdad estadística al tratamiento sin el inoculante bacteriano con 17,60 cm. La aplicación de *P. fluorescens* CHA0 y *P. veronii* R4, disminuye en altura con promedios entre 16,00 y 14,33 cm respectivamente.

La aplicación de la rizobacteria *Pseudomonas fluorescens* CHA0 en la variedad INIAP-307 incrementó la altura de planta de soya con 22,00 cm, seguido de los tratamientos que contuvieron rizobacterias *Pseudomonas veronii* R4 con 21,67 cm y *Bradyrhizobium japonicum* con 21,33 cm. Observando la menor altura de planta sin inoculante bacteriano con 17,00 cm.

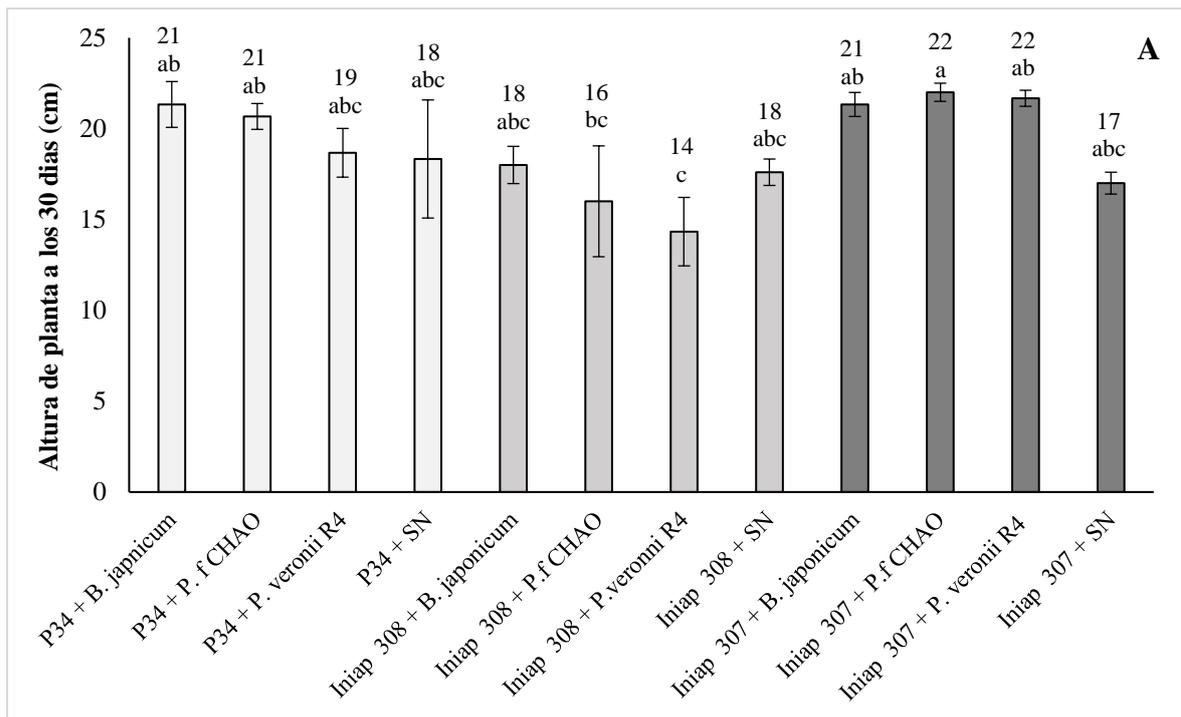


Grafico 3 Variedad ICA- P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4. Evaluado a los 30 días.

B

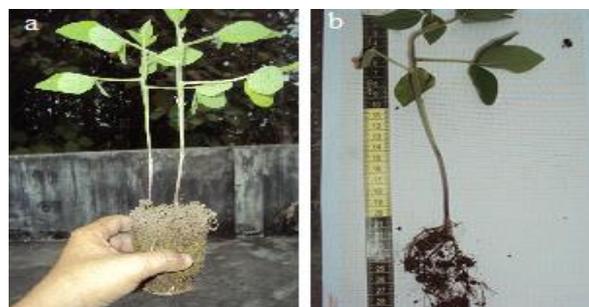


Figura 5 a. Variedad ICA-P34 con *B. japonicum*; b. ICA- P34 con *P. fluorescens* CHA0.

A). Caracteres morfológicos por aplicación de las rizobacterias altura de planta a los 30 días. ICA- P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4. Evaluado a los 30 días. **B)** a. ICA-P34 con *B. japonicum*; b. ICA- P34 con CHA0. Valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4.1.2.2 Longitud de raíz principal por planta de soya

Al analizar longitud de raíz por planta se determinó diferencias estadísticas entre los tratamientos a los 30 días después de la inoculación, la variedad ICA-P34, al ser expuesta a la rizobacteria *P. veronii* R4 y sin el inoculante genera el mayor promedio en longitud con (14 y 13 cm). La disminución del sistema radicular se verificó en presencia de la rizobacteria *B. japonicum* y *P. fluorescens* CHA0 con promedios de 12 y 11 cm respectivamente.

En la variedad INIAP-308, las semillas inoculadas con *B. japonicum*, *P. veronii* R4 y sin el inoculante las plantas generan el mayor promedio en longitud del sistema radicular con 15 cm respectivamente, siendo similares estadísticamente entre sí pero difiriendo estadísticamente de la rizobacteria *P. fluorescens* CHA0 que obtuvo el promedio más bajo con 11 cm de longitud de raíz.

La variedad INIAP-307, se determinó la mayor longitud de raíz por aplicación de *P. fluorescens* CHA0 y *P. veronii* R4 con (20 - 21 cm). Se verificó la disminución del sistema radicular por aplicación de *B. japonicum* y el control con promedios entre (17 y 15 cm) respectivamente.

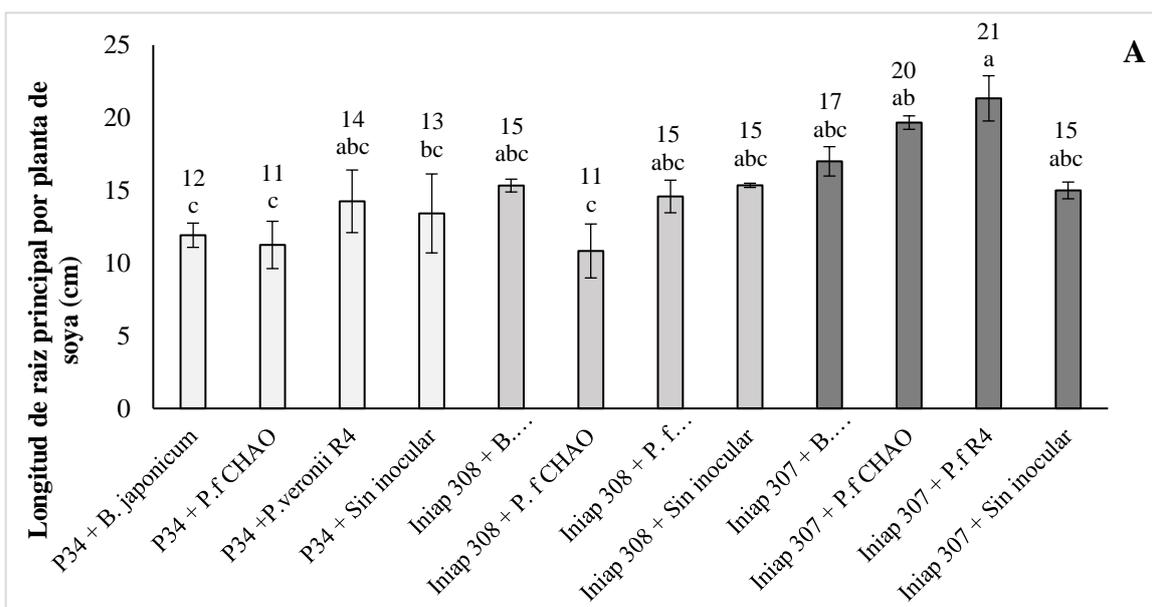


Grafico 4 Longitud de raíz principal por planta de soya a los 30 días variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4. Evaluado a los 30 días.

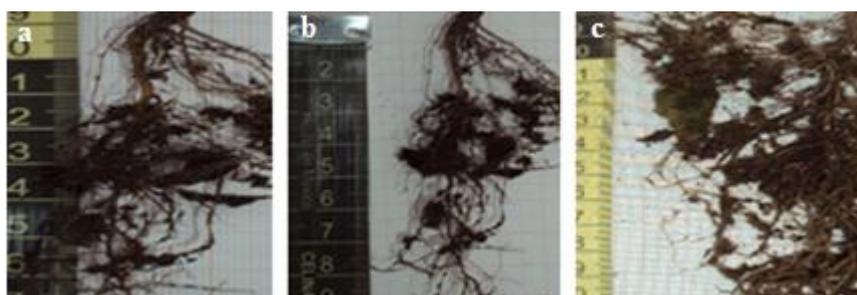


Figura 6 Variedad a. ICA-P34 con *B. japonicum*; b. INIAP – 308 con *P. fluorescens* CHAO; c. INIAP-307- *P. veronii* R4.

A) Longitud de raíz principal por planta de soya a los 30 días variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4. Evaluado a los 30 **B)** a ICA-P34 con *B. japonicum*; b. INIAP – 308 con CHAO; c. INIAP-307- *P. veronii* R4. Los valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4. 1.2.3 Número de nódulos por planta

El número de nódulos que se generó para cada variedad de soya tratada con las rizobacterias evaluadas a los 30 días en la fase de vivero, se determinó diferencias estadísticas entre los tratamientos. En la variedad ICA-P34 y la rizobacteria *B. japonicum* presento un promedio de 10 nódulos/planta. La exposición de las semillas a *P. fluorescens* CHA0, *P.veronii* R4 y el control no existe generación de nódulos en el sistema radicular.

La variedad INIAP 308 se observa capacidad de nodulación al ser tratadas con *B. japonicum* presentando un promedio de 14 nódulos/planta, a diferencia de los demás tratamientos *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4, y el control que no presentaron nódulos respectivamente.

La variedad INIAP 307 que fueron tratadas *B. japonicum*, presento un promedio de 10 nódulos / plantas donde los demás inoculantes bacterianos como *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4, no presentaron formación de nódulos.

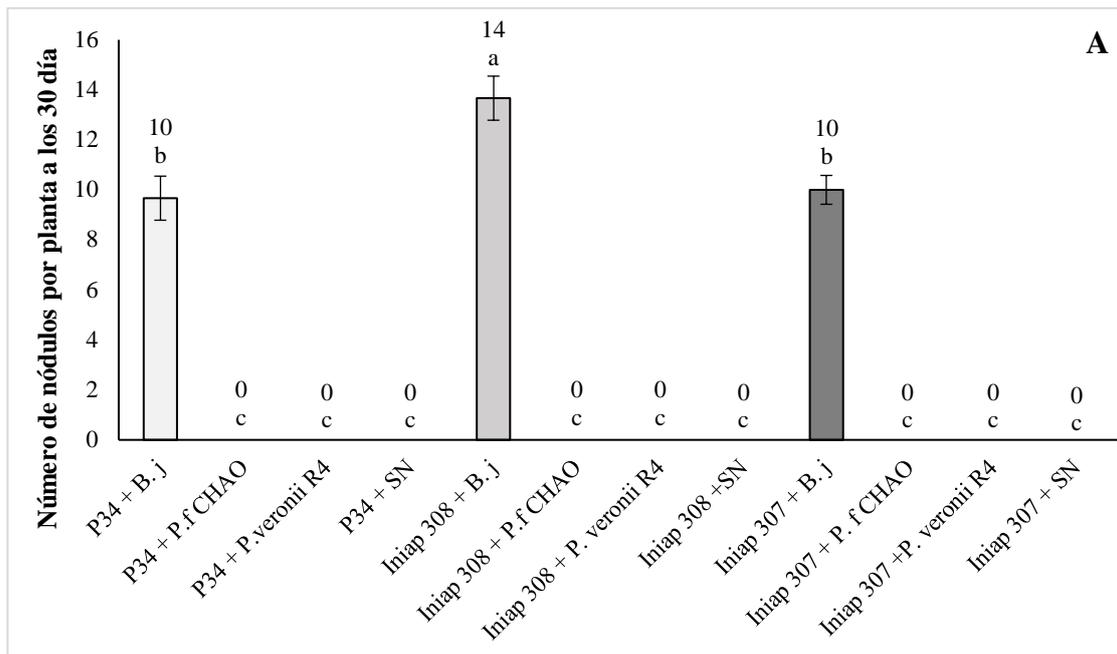


Grafico 5 Numero de nódulos por planta variedad ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4. Evaluado a los 30 días.

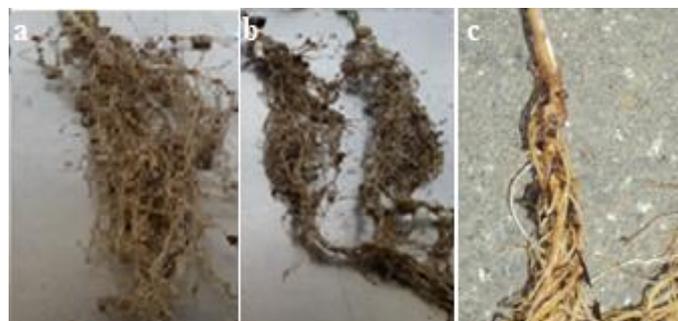


Figura 7 Variedades. a. ICA-P34 con *B. japonicum*; b. INIAP - 308 con R4; c. INIAP- 307 con *P. fluorescens* CHAO.

A) Numero de nódulos por planta ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4. Evaluado a los 30 días. **B)** a. ICA-P34 con *B. japonicum*; b. INIAP - 308 con R4; INIAP- 307 con *P. fluorescens* CHAO. Los valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4.1.2.4 Peso de nódulos

El peso de nódulos que se generó para cada variedad de soya tratada con las rizobacterias evaluadas a los 30 días en la fase de vivero, se determinó diferencias estadísticas entre los tratamientos. En la variedad ICA-P34 y la rizobacteria *B. japonicum* presento un promedio de 4,27 g. La exposición de las semillas a *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4 y el control no existe generación de nódulos en el sistema radicular.

La variedad INIAP 308 se observa que el inoculante bacteriano *B. japonicum* presentando un promedio de peso de nódulos de 6,51 g, a diferencia de los demás tratamientos *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4, y el control que no presentaron nódulos respectivamente.

La variedad INIAP 307 que fueron tratadas *B. japonicum*, presento un promedio de 5,20 g, donde los demás inoculantes bacterianos como *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4, no hay formación de nódulos.

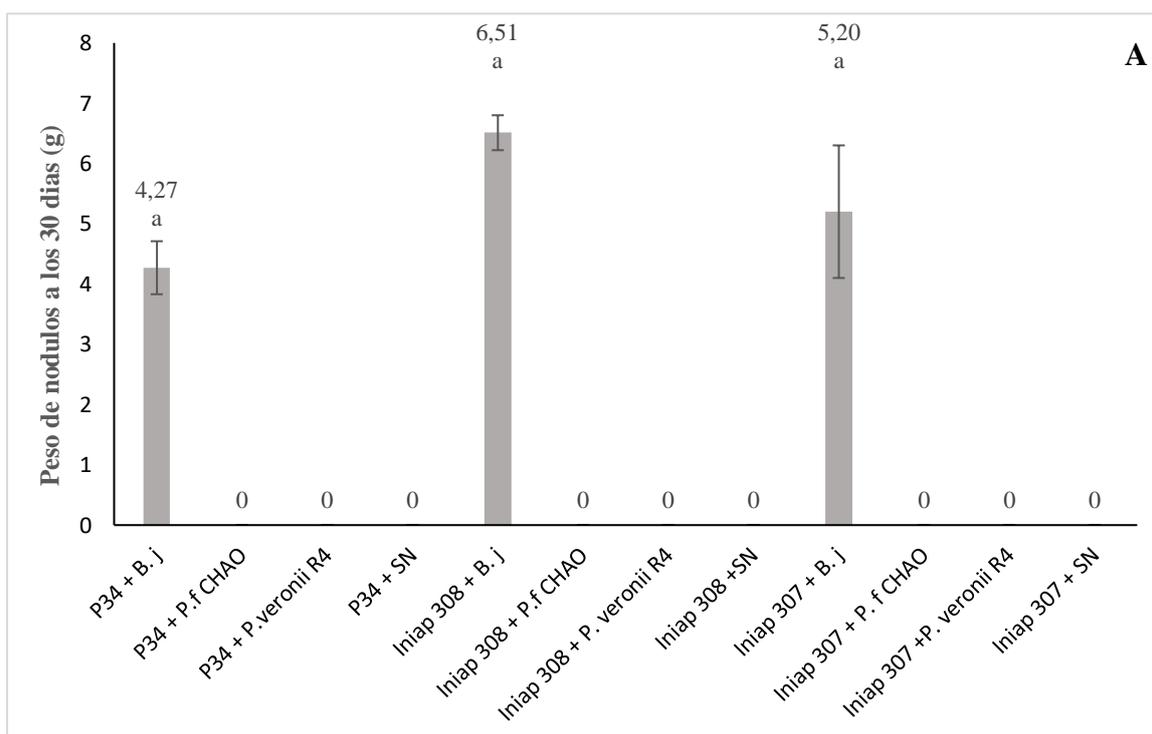


Grafico 6 Peso de nódulos, inoculados con *Bradyrhizobium japonicum* en balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de ± 0.1 .

4.1.3 Evaluación de caracteres morfológicos al desarrollo vegetativo en la etapa de producción

4.1.3.1 Días a floración

Los días a floración en la variedad ICA-P34 por respuesta a la aplicación de rizobacterias, se determinó diferencias estadísticas entre los tratamientos. Las semillas que fueron tratadas con *B. japonicum* reduce los días a floración a 35 días. A diferencia de rizobacterias *P. fluorescens* CHA0 y las no tratadas con inoculante bacteriano que los días a floración aumentan con 42 días y mientras que *P. veronii* R4 mostro promedio de 40 días/floración.

La variedad INIAP 308, que fue tratada con el inoculante *B. japonicum* se reduce los días de 45 en comparación al tratamiento sin inocular con 50 días/floración. Mientras que las rizobacterias *P. fluorescens* CHA0 y *P. veronii* R4 mostraron promedio entre (47 – 46 días/floración) respectivamente.

La variedad INIAP 307, tratadas con *B. japonicum* reduce en 43 días/floración y en comparación a los demás tratamientos *P. fluorescens* CHA0., *P. veronii* R4., y sin inocular que presentaron promedios entre 42 – 45 - 47 días.

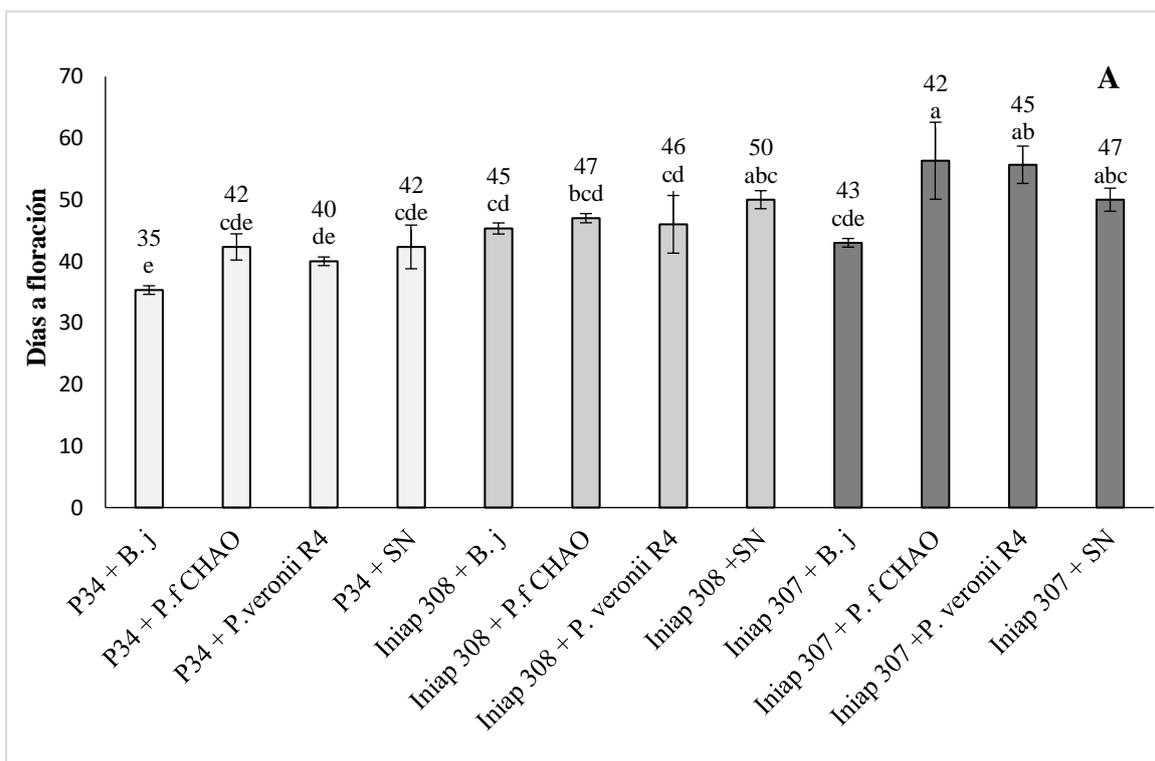


Grafico 7 Días a floración de soja variedades ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4.

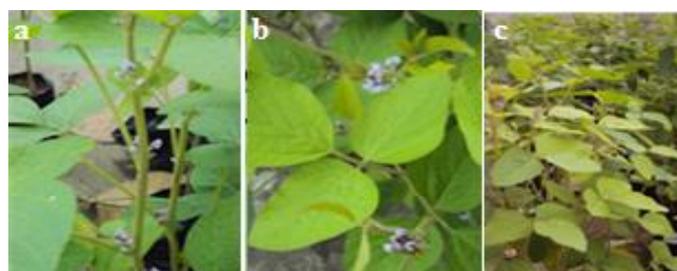


Figura 8 Variedad de soja **a.** ICA-P34 con *B. japonicum*; **b.** INIAP- 308 con CHA0; **c.** INIAP-307 con *P. veronii* R4.

A). Días a floración de soja de ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4. **B)** a. ICA-P34 con *B. japonicum*; b. INIAP- 308 con *P. fluorescens* CHA0; INIAP-307 con *P. veronii* R4. Los valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4.1.3.2 Número de vainas por planta

Para evaluar el número de vainas por planta, muestran alta significancia estadística para los tratamientos. La aplicación de rizobacteria en las variedades de soya se observa el aumento en número de vainas por planta en ICA- P34 por la aplicación del inoculante *B. japonicum* que presentó el mejor promedio con 49 vainas/planta, seguido *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4 que presentaron promedios entre 36 – 31 vainas/plantas obteniendo el promedio más bajo el tratamiento sin inocular con 27,67 % para esta variedad.

La aplicación de *B. japonicum* en la variedad INIAP-308 se observa el mejor promedio para esta variedad con 46 vainas/plantas. A diferencia de la aplicación de *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4 con 38 – 32 vainas/planta en el orden respectivo, donde el tratamiento sin inocular difirió estadísticamente de los demás tratamientos presentando el promedio más bajo con 28 vainas/planta.

Los resultados observados en INIAP-307 por aplicación de *B. japonicum* se obtiene el mayor número con 50 vainas/plantas. A diferencia de la aplicación de *P. fluorescens* CHA0 – *P. veronii* R4 con promedios que van desde 37 – 35 vainas/plantas que fueron superiores al tratamiento sin inocular con 21 vainas planta respectivamente.

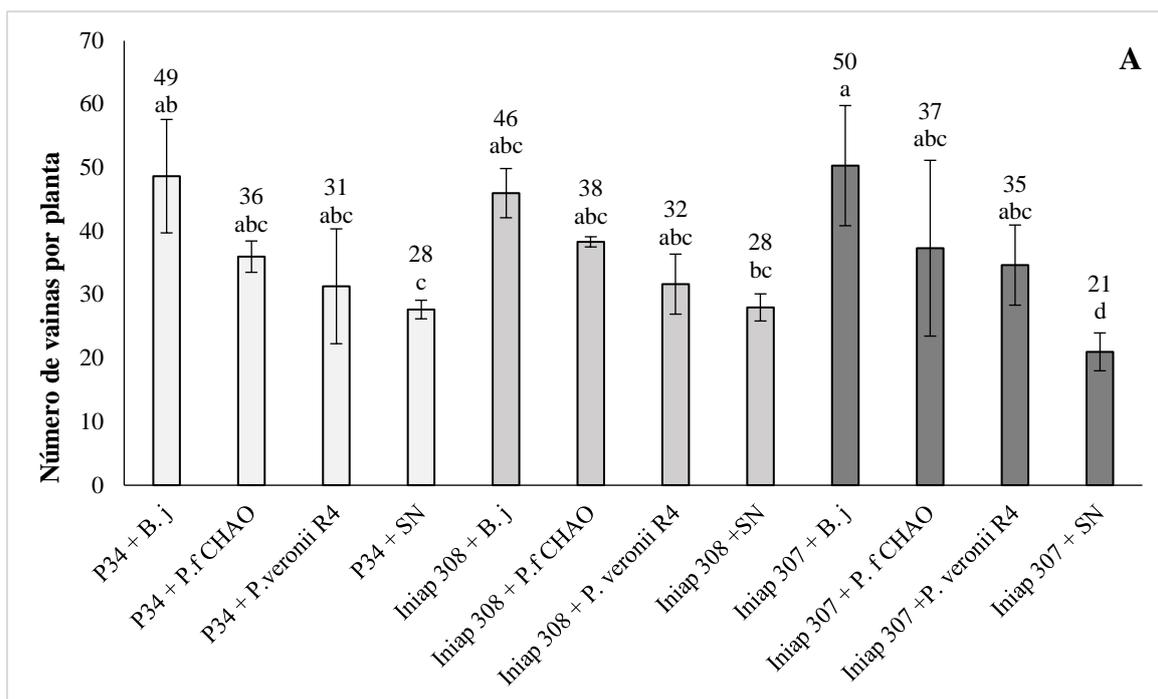


Grafico 8 Número de vainas por planta de soya A) ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4.

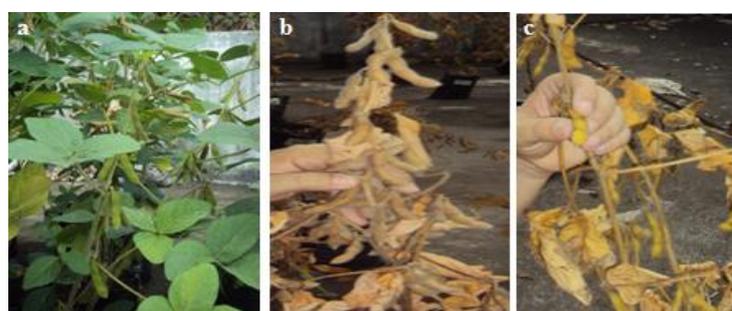


Figura 9 Variedad de soya a. ICA- P34 con *P. fluorescens* CHAO, b. INIAP-308 con *B. japonicum*, c. INIAP-307 con *P.veronii* R4.

A). Número de vainas por planta de soya **A)** ICA-P34, INIAP 308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4. **B)** a. ICA- P34 con CHAO, b. INIAP-308 con *B. japonicum*, INIAP-307 con *P. veronii* R4. Los valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4.1.3.3 Peso de 100 semillas de soya en (g)

En relación al peso de 100 semillas, plantas tratadas con la rizobacteria en fase de vivero, presento diferencia estadística significativa entre las variedades e inoculantes bacterianos. La variedad ICA-P34 con *B. japonicum* registró el mejor promedio más alto con 17,34 g, y *P. fluorescens* CHA0 con 15,89 g. A diferencia de las semillas tratadas con *P. veronii* R4 y el control que presentaron promedios entre (15,81 – 14,49 g) respectivamente.

La variedad INIAP-308 tratadas con *P. veronii* R4 presentó el promedio más alto con 15,78 g seguido del tratamiento *P. fluorescens* CHA0 con 15, 41 g comportándose estadísticamente similar. La aplicación de *B. japonicum* registro un promedio de 12,08 g, y sin el inoculante bacteriano con 11,38 g fueron los promedios más bajos para esta variedad.

Al observar los resultados de peso de 100 semillas en la variedad INIAP-307 con el inoculante bacteriano *B. japonicum* presento el promedio más alto con 17,35 g. A diferencia *P.veronii* R4 y *P. fluorescens* CHA0 presentaron promedios de (15,78g y 14,65 g) respectivamente siendo similares estadísticamente. El promedio más bajo lo obtuvo el tratamiento sin inocular con 12,00 g para esta variedad.

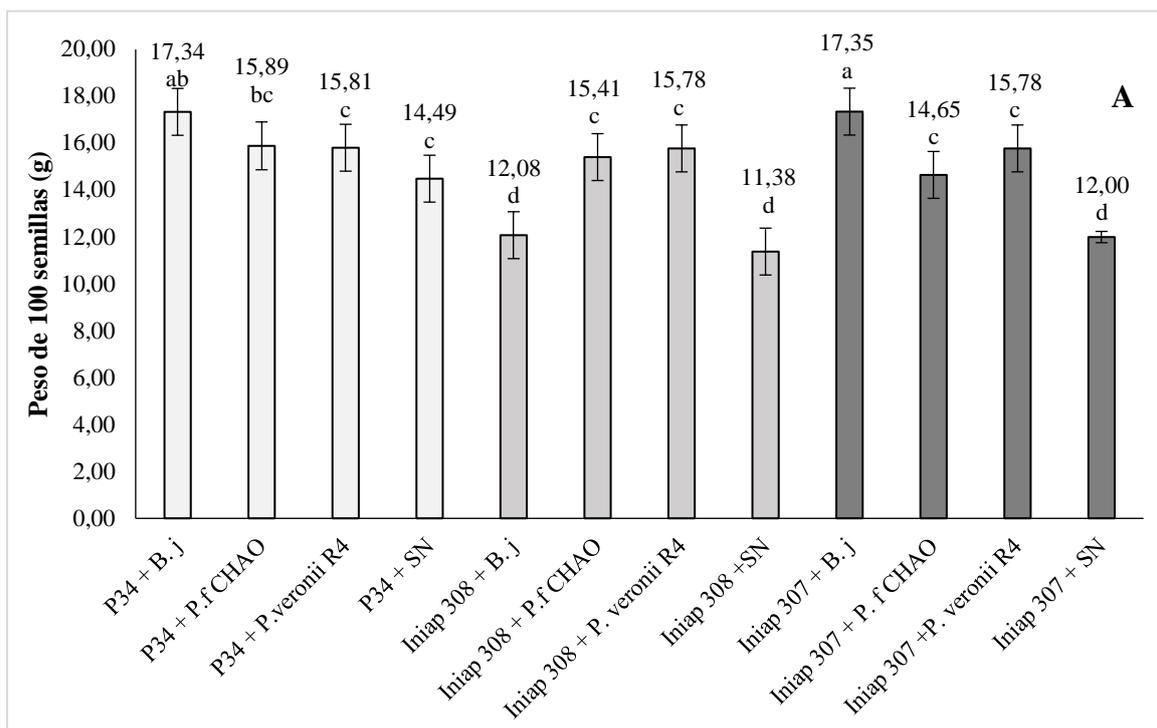


Grafico 9 Peso de 100 semillas ICA-P34, INIAP-308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4.



B

Figura 10 Peso de 100 semillas variedad INIAP-307 en balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de ± 0.1 .

A). Peso de 100 semillas ICA-P34, INIAP-308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens* CHAO, *P. veronii* R4. **B)** a. peso de 100 semillas variedad INIAP-307 en balanza Scout Pro de 2,000 g con una precisión de ± 0.1 . Los valores con letras similares no presentan diferencia estadística a nivel de ($P < 0,05$), por el procedimiento de comparaciones múltiples de Tukey. Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

4.1.3.4 Rendimiento

En relación al rendimiento las plantas con la rizobacterias en fase de vivero la variedad ICA-P34 con *B. japonicum* registro el mejor promedio más alto con 18,50 g, y *P. fluorescens CHA0* con 15,40 g. A diferencia de las semillas tratadas con *P. veronii R4* y el control que presentaron promedios entre (12,24 – 13,19 g) respectivamente.

La variedad INIAP-308 tratadas con *P. fluorescens CHA0* presento el promedio más alto con 15,50 g seguido del tratamiento *P. veronii R4* con 15,39 g comportándose estadísticamente similar. La aplicación de *B. japonicum* registro un promedio de 12,65 g, y sin el inoculante bacteriano con 11,55 g fueron los promedios más bajos para esta variedad.

Al observar los resultados de rendimiento en la variedad INIAP-307 con el inoculante bacteriano *B. japonicum* presento el promedio más alto con 21,09 g. A diferencia *P. veronii R4* y *P. fluorescens CHA0* presentaron promedios de (16,33 y 15,02 g) respectivamente siendo similares estadísticamente. El promedio más bajo lo obtuvo el tratamiento sin inocular con 9,03 g para esta variedad.

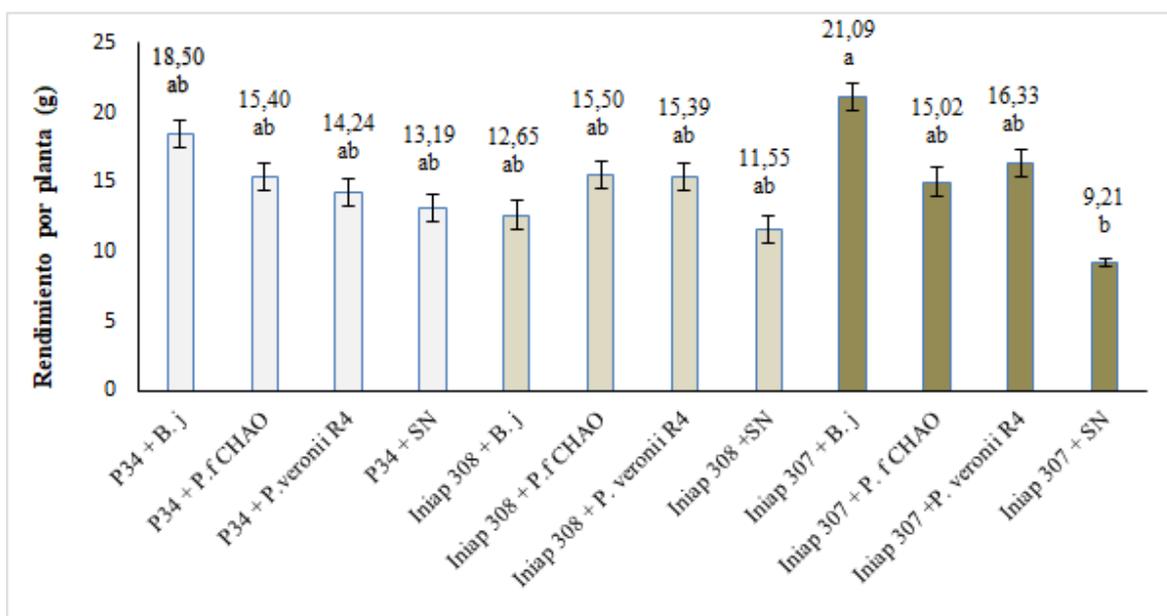


Grafico 10 Rendimiento por tratamiento ICA-P34, INIAP-308, 307, expuestas a las rizobacterias *B. japonicum*, *P. fluorescens CHA0*, *P. veronii R4*.

4.2 Discusión

Germinación de *Glycine max L.* por Efecto de Inoculación de Rizobacterias

El proceso de germinación de variedades de soya al ser expuesta a las rizobacterias se determinó longitud de raíz *in vitro* a los 7 días, encontrando la mayor longitud radicular de 9 cm para INIAP 307 con *B. japonicum*, estos resultados concuerdan con los obtenidos por (Cassán, 2009), verificando longitud radicular con 9 cm, de semillas de soya expuesta a *B. japonicum* con las cepas (E109 y Az39). La no inoculación de *B. japonicum* en semillas de INIAP-307, reduce la longitud a 6 cm, concordando con (Cassán, 2009), que las semillas sin el inoculante bacteriano disminuye la longitud radicular.

La inoculación de *P. fluorescens* CHA0 y *P. veronii* R4 reduce la longitud radicular con un promedio de 2 - 4 cm en las variedades de soya INIAP 307, 308 y ICA- P34 obteniendo resultados inferiores a los de (Dey, 2004) que reporto el aumento en longitud de raíz de cacahuete, JL24 cultivar de *Pseudomona fluorescens* PGPR1, PGPR2, PGPR4, PGPR5, PGPR6 y PGPR7 con 8,4 cm y no fluorescens PGPR3, PGPR8, PGPR9 con y 7,6 cm. En la variedad ICA-P34 la adición de *B. japonicum* mejora el desarrollo radicular con 5 cm.

La aplicación de *B. japonicum* a las semillas de soya de las tres variedades, mejoran en longitud y número de tejido radicular. Las rizobacterias en contacto con las raíces de las plantas son capaces de sintetizar reguladores de crecimiento de tipo auxinico. Las auxinas como el AIA favorecen al desarrollo del sistema radicular, estos reguladores de crecimiento son sintetizados por las rizobacterias (Garcia, 2004).

La altura de soya a los 30 días post inoculación con las rizobacterias en las tres variedades de soya INIAP- 307, 308 y ICA-P-34 alcanzaron longitudes inferiores entre 14 – 22 cm a los encontrados por (Dey, 2004) que obtuvo en sus resultados entre 30.60 – 28.60 cm utilizando *Pseudomona* spp obteniendo así mayor altura de planta a los controles. Al inocular las semillas con *B. japonicum* los resultados alcanzados en este trabajo fueron superiores a los valores reportados por (Sotelo, 2006) en su investigación emplearon *B. japonicum* + Cianobacterias en soya evaluado a los 30 días, con la altura de planta de 10,58 cm.

La longitud del sistema radicular por variedades de soya, mejora la habilidad de las plantas con la absorción de nutrientes disponible del suelo, que ejercen cambios en las propiedades morfológicas y fisiológicas del sistema radicular. Donde la variable longitud de raíz por planta a los 30 días el mejor resultado lo obtuvo la variedad INIAP- 307 inoculada con la

rizobacteria *P. veronii* R4 con 21 cm, siendo inferiores a obtenidos por (Dey, 2004) observando parámetros de crecimiento en la longitud de raíz utilizando *Pseudomona fluorescens* en cultivo de maní que obtuvo entre 33,40 – 38,90 siendo superiores a los resultados obtenidos en este ensayo.

La producción de auxinas por las PGPR incide en la estructura de la arquitectura del sistema radicular. Rizobacterias sobre-productoras del AIA inciden en la formación excesiva de las raíces adventicias. (Pietrarelli & J.L. Zamar, 2008).

La formación al número de nódulos por planta a los 30 días post-inoculación de las rizobacterias, en las tres variedades de soya se observa la formación de esta característica por la inoculación de *B. japonicum*. En la variedad INIAP-308 inoculada con *B. japonicum* se obtuvo promedio de 14 nódulos. Caso contrario la aplicación de *B. japonicum* en *Lotus corniculatus* L. (Barrientos, 2002) obtuvo 9,6 nódulos a los 30 días. La formación de nódulos en las raíces son responsabilidad de los microorganismos y si no existe la presencia de ellos no hay plantas que formen nódulos (UPNA, 2008). No se mostró formación de nódulos por aplicación de *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4.

El peso de nódulos es un indicador que existe presencia de N² en ellos mientras más pesa el nódulo más cantidad de N² en su interior en ser liberado (Racca, 2010). En relación al peso de nódulos se encuentran entre 4,27 y 6,51 g, por aplicación de *B. japonicum*. Los resultados alcanzados en este trabajo fueron superiores a lo reportado por (Palma, 2014), quien empleo turba estéril + *B. japonicum* no alcanzaron los valores promedios encontrados en la presente investigación a los 30 días post-evaluación con 5,47g. Según (IPNI, 2012) indica que el color rojo al interior de los nódulos es producido por la presencia de un inoculo, el mismo que obliga a la planta a provocar una proteína llamada Leghemoglobina esta proteína especial contiene hierro y molibdeno y es responsable por inmovilizar el oxígeno del nódulo lo que permite un ambiente favorable para las bacterias permitiéndoles vivir y fijar nitrógeno.

Los aspectos morfológicos a la edad productiva de la soya, la cantidad de número de vainas alcanzados en esta investigación fueron superiores con 50 vainas en la variedad de soya INIAP – 307 inoculadas con *B. japonicum* siendo superior a los reportados por (Franco, 2015) que obtuvo 25,2 en la variedad de soya Vernal utilizando *B. japonicum*. Y (Hernandez, 2008) utilizando *Bradyrhizobium japonicum* + Vitavax en la variedad Verónica con promedio de 36,59 número de vainas por planta.

En relación al peso de 100 semillas los resultados obtenidos en las tres variedades de soya la que mejor promedio mostro en relación a esta variable fue la variedad INIAP - 307 con 17,35g siendo superior a los reportados por (Hernandez, 2008) con promedios 16,93 g, utilizando *Bradyrhizobium japonicum* + Vitavax en la variedad Verónica, y siendo inferiores a los de (Mejía, 2012) que registro promedios de 19,26 utilizando *Micorrizas* + *B. japonicum* en soya.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- La bacteria *Bradyrhizobium japonicum* mostro su mayor eficacia en el desarrollo radicular a los 7 días en germinación *in-vitro* en las variedades de soya ICA-P34 e INIAP 307, no así en INIAP-308.
- Los inóculos bacterianos *Pseudomona fluorescens* CHA0 y *Pseudomona veronii* R4 mostraron un efecto no significativo para el estudio de esta variable. Se observa mayor numero raicillas en la variedad INIAP-307 al inocularla con *Bradyrhizobium japonicum*.
- En nódulos, la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* presento la mayor cantidad de numero de nódulos en la variedad INIAP 308 viendo su eficacia en la interacción genotipo - cepa, y la no formación de nódulos al ser expuestas al inóculo *Pseudomona fluorescens* CHA0 y *Pseudomona veronii* R4.
- Se determinó que la rizobacteria *Pseudomona veronii* R4 aumento la longitud de raíz en las variedades de soya ICA-P34. INIAP 307, a los 30 días.
- Cuando se aplica la rizobacteria *Bradyrhizobium japonicum* acelero ligeramente el número de días a la floración en comparación con cada variedad sin rizobacterias.
- El mayor número de vainas se obtuvo cuando se aplica *Bradyrhizobium japonicum* ratificando lo positivo de *Bradyrhizobium japonicum* en las variedades ICA-P34 e INIAP-307 en lo que tiene que ver el peso de 100 semillas.
- Se comprobó que la variedad de soya INIAP-307 inoculado con *Bradyrhizobium japonicum* genera un mayor rendimiento en la producción de esta variedad.

5.2 Recomendaciones

- Utilizar la rizobacteria *Bradyrhizobium japonicum* para el desarrollo radicular a los 7 días en germinación *in-vitro* en las variedades de soya ICA-P34 e INIAP 307.
- Usar la rizobacteria *Bradyrhizobium japonicum* por su efecto en la formación nódulos en plantas de soya INIAP-308 gracias a su eficacia en la interacción genotipo- cepas.
- Aplicar la rizobacteria *Bradyrhizobium japonicum* de tipo comercial para acelerar ligeramente los días de floración.
- Emplear la rizobacteria *Bradyrhizobium japonicum* para aumentar el número de vainas en las variedades ICA-P34 e INIAP-307 en lo que tiene que ver al peso de 100 semillas.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

6.1 Literatura citada

- Ahemad, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting. Retrieved febrero 11, 2016, from http://ac.els-cdn.com/S1018364713000293/1-s2.0-S1018364713000293-main.pdf?_tid=f8d947f4-d197-11e5-a188-00000aab0f6b&acdnat=1455288815_1ccc7da536abeaf1d266b7d8fdbf11ff
- Barrientos, L. (2002). Efectividad de cepas naturalizadas de mesorhizobium loti y Bradyrhizobium sp (Lotus) EN PLANTAS DE TRES ESPECIES DEL GENERO lotus. Retrieved from www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0365-280720072002000200005&scrip=sci_arttext
- Bastida, L. (2014). Inoculacion con Bradyrhizobium japonicum sobre la nodulacion de semillas de soya variedad ssk (Glicine max) QUEVEDO - LOS RIOS , 2013. Quevedo, Los Rios, Ecuador.
- BCE. (2013). REPORTE DE COYUNTURA SECTOR AGROPECUARIO, No. 86 - IV-13; Marzo 2014, SOYA PRODUCCION, consultado en línea, Ecuador Pg 65. .
- Camelo. (2012). Mecanismo de accion de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Retrieved from <http://www.bashanfoundation.org/nomembers/bonillamechanis.pdf>
- Camelo, M. (2011). Retrieved from Mecanismo de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.: <http://www.bashanfoundation.org/nomembers/bonillamechanis.pdf>
- Canchignia. (2014). Aislamiento y caracterización de cepas Pseudomonas fluorescens y estudio de sus efectos antagonistas hacia el nematodo Xiphinema index y promotor del desarrollo de vid ‘Thompson Seedless’.
- Cassán, D. P. (2009). Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (Zea mays L.) and soybean (Glycine max L.). Retrieved Abril 15, 2016, from https://www.researchgate.net/publication/215588656_Azospirillum_brasilense_Az_39_and_Bradyrhizobium_japonicum_E_109_promote_seed_germination_and_earl

y_seedling_growth_independently_or_co-
inoculated_in_maize_Zea_mays_L_and_soybean_Glycine_max_L

- Cruz. (2012). Produccion de soya (Glicine max L) con aplicacion de Bradyrhizobium japonicum y Micorrizas arbusculares, provincia de Santa Elena. Retrieved Junio 18, 2015, from <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/123456789/969/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-8.pdf>
- DCfagoet al, 1., & .. DCfago & Haas. (1990). Pseudomonads as antagonists of soilborne plant pathogens: modes of action and genetic analysis. In *Soil Biochemistry*, vol. 6 , pp. 249-291. Edited by J. M. Bollag & G. Stotzky. New York & Basel: Marcel Dekker. Retrieved from <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/micro/137/10/mic-137-10->
- Dey, ., K. (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501304000710>
- FAO. (2010). Portal del suelo de la FAO. Retrieved febrero 03, 2016, from www.fao.org/soils-portal/levantamiento-de-suelos/propiedades-del-suelo/propiedades-quimicas/es/
- Ferrera R, C. L., & Shultze y Kondorosi, 1. (2010). *Microbiologia agricola hongos, bacterias micro y macro fauna, control biologico y planta y micoorganismo*. Edicion primera, 226. Mexico. Retrieved febrero 14, 2016
- Ferrera R, C. M. (2010). *Microbiologia agricola hongos, bacterias micro y macro fauna, control biologico y planta y micoorganismo*. Primera. Mexico. Retrieved febreto 15, 2016
- Ferrera R. Cerrato, A. A. (2010). *MICROBIOLOGÍA AGRICOLA Hongos, bacterias, micro y macro fauna, control biológico y planta-microorganismo*. Primera edición. México. Pág. 227.
- Ferrera, & Whipps. (2010). (233), primera. Retrieved Febrero 12, 2016
- Ferrera, & Whipps. (2010). *Microbiologia agricola hongos, bacterias micro y macro fauna, control biologico y planta y micoorganismo*. Primera. Mexico.

- Franco, D. (2015). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm. 2 15 de febrero - 31 de marzo, 2015 p. 227-238. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n2/v6n2a1.pdf>
- Gage y Margolin, 2., & LImpens y Bisseling, 2. (2003). Hanging by a thread: invasion of legume plants by rhizobia. *Curr. Opin. Microbiol.* 3: 613-617.
- GAIA, m. (2012). Bacterias agricultoras, las PGPR. Retrieved from www.microgaia.net/2012/10/bacterias-agricultoras-las-pgpr.html
- Garcia, S. L. (2004). Interaccion tempranas entre *Bradyrhizobium japonicum* y soja: efectos de la escasez de N y la distribucion de los rizobios sobre la raiz. Retrieved noviembre 11, 2015, from <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/2258>
- Glick. (2012). *Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications*. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica. Retrieved febrero 11, 2016
- Glick. B, P. C. (1999). *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria*. Imperial College press. London. 270 p.
- Gomez. (2014). Regeneracion in vitro a partir de semillas maduras en la variedad de soja (*Glicine max* L. Merrill) Soyica P34. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/39718/1/dianacomezg.2014.pdf>. pg 15-16.
- Guaman J, R. (2004). Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=EC2005000026>
- Hernandez. (2008). La coinoculacion glomus hoi like-*Bradyrhizobium japonicum* en la produccion de soja (*Glicine max*) variedad Veronica para semilla. Retrieved from scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0258-5936200800400006
- Hoyos. (2011). *Enfermedades de las plantas control biológico*. Retrieved Febrero 12, 2015, from <http://www.bashanfoundation.org/kloepper/kloeppercontrolbiolo.pdf>. pg 102
- INEC. (2010). *Definiciones basicas*. Retrieved from anda.inec.gob.ec/anda/index.php/catalog/206/download/4114
- IPNI. (2012). *International Plant Nutrition Institute (IPNI) 2012, Efecto del fosforo en la fijacion de nitrogeno*. Retrieved from <http://www.ipni.net/publication/ia/laphp.nsf>

- Jimenez, R. G. (2009). INIAP 308 Nueva variedad de soya de alto rendimiento y de buena calidad de semillas para el Litoral. Boletín divulgativo n° 364. Yaguachi, - Guayas, - Ecuador.
- Kloepper. (1994). Plant growth-promoting rhizobacteria (other. Retrieved febrero 11, 2016
- Ledesma, S. E. (2009). Evaluación de varios Bioestim. Retrieved febrero 07, 2016, from <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/31742/D-65778.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>
- Luque, A. G. (2010). Sociopsicología del trabajo. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=HWZwRMIUrGYC&pg=PA179&dq=definicion+de+produccion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjN7Pfs3PzKAhXIWh4KHS8SCcoQ6AEIJzAC#v=onepage&q=definicion%20de%20produccion&f=true>
- Mejía, M. E. (2012). Producción de Soya (*GlycinemaxL.*) con aplicación de *Bradyrhizobiumjaponicum* y Micorrizas arbusculares en la Granja Experimental Limoncito, Provincia de Santa Elena.
- Meziane. (2005). Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. *Molecular Plant Pathology*. 6: 177–185.
- Misoury, M. a. (2008). *Bradyrhizobium japonicum*. Retrieved Febrero 04, 2016, from <http://web.mst.edu/~djwesten/Bj.html>
- Oke y Long, 1., & Natera et al., 2. (2000). Bacteroid formation in the *Rhizobium*-legume symbiosis. *Curr. Opin. Microbiol*. 2: 641-6.
- Palma, L. A. (2014). Inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* sobre la nodulación de semillas de soya variedad SSK (*Glicine max*) Quevedo- Los Rios - Eciadpr.
- Pietrarelli, L., & J.L. Zamar, H. L. (2008). Efectos de diferentes prácticas de manejo en la nodulación y en el rendimiento del cultivo de soja.
- Quispel, 1., & Lodwig y Poole, 2. (2003). *he biology of nitrogen fixation*. North Holland Publishing Company, Amsterdam, Holanda.
- Racca. (2010). Inoculación en soja: una herramienta fundamental para maximizar la productividad. Retrieved from <http://www.fertilizando.com/articulos/inoculacion%20en%20soja.asp>

- Ramirez, F. D. (2007). Control de plagas y enfermedades en los cultivos. (G. L. Ltda, Ed.) Retrieved enero 08, 2016, from www.gleditores.com
- Redesmicrobianas. (2016). Inoculacion. Retrieved from <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:kp2piv-y4tAJ:www.redesmicrobianas.com/inoculacion/+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=ec>
- Rizobacter. (2015). Retrieved from <http://www.rizobacter.com/argentina/>
- Rodríguez. D, S. M. (2007). Attachment of bacteria to the roots of higher plants. FEMS Microbiology Letters 272: 127-136. Retrieved enero 19, 2016, from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6968.2007.00761.x/epdf>
- Roma. (1995). Manual Tecnico de la Fijacion Simbiotica de nitrogeno. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=Lcf6ZUeOvdAC&pg=PT94&dq=definicion+de+inoculacion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj3qmFrfrKAhVGIB4KHcA0AR0Q6AEIGjAA#v=onepage&q=definicion%20de%20inoculacion&f=false>
- Rossum, B. y. (1997). Nodulation of groundnut by Bradyrhizobium: a simple infection process by crack entry. FEMS Microbiol. Rev. 21: 5-27.
- Siddiqui. (2005). Extracellular protease of Pseudomonas fluorescens CHA0, a biocontrol factor with activity against the root-knot nematode Meloidogyne incognita. App Environ Microbiol.
- Solano, R. (2008). Protection Against Pathogen and Salt Stress by Four Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Isolated from Pinus sp. on Arabidopsis thaliana. The American Phytopathologica Society 98: 6. Retrieved enero 01, 2016, from <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PHYTO-98-6-0666>
- Sotelo, C. E.-I.-C.-Z. (2006). Inoculación y Coinoculación Bradyrhizobium – Cianobacterias. Retrieved from <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/05-Agrarias/2006-A-039.pdf>
- Stutz et al, 1. (1986). Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black root rot of tobacco. Phytopathology 76, 181 - 185.
- UPNA. (2008). Ecología Microbiana. Retrieved from <http://www.unavarra.es/grnmic/curso%20microbiologia%20general/51-habitats&20los%20microorganismo.htm>

- Vegetal, F. (2012). Crecimiento y desarrollo vegetal. Retrieved from fisiologiavegetl.blogspot.com/2012/10/crecimiento-y-desarrollo.html
- Wang, T. J.-M.-L.-R.-R. (2001). Rhizobium y su destacada simbiosis Microbios. Centro de investigaciones sobre Fijación de Nitrógeno. Universidad Nacional Autónoma de México,. Retrieved 01 19, 2016, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442011000300005
- Zeiger, L. T. (2006). FISILOGIA VEGETAL. Retrieved enero 16, 2016, from <https://books.google.com.ec/books?isbn=8480216018>
- Zeiger, T. L. (2006). Auxin: The growth hormone. En: Plant Physiology. Sinauer Associates. Inc. Publishers (4 Ed). Sunderland, Massachusetts, USA. 467-507.

CAPITULO VII

ANEXO

Anexo 1 Trabajo de Campo



Suspensión bacteriana en Buffer PBS de cepas *P. fluorescens* CHAO; *P. veronii* R4.



Siembra de semillas de soya dentro de la cabina de flujo laminar



Plántulas de soya ICA-P34, INIAP -308, INIAP-307. Inoculada con *Bradyrhizobium japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4.



Plantas de soya en fase vegetativa ICA-P34, INIAP -308, INIAP-307. Inoculada con *Bradyrhizobium japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4.



Peso de 100 semillas (g). Balanza Scout Pro de 2,000 g con precisión de ± 0.1 - INIAP-307. Inoculada con *Bradyrhizobium japonicum*, *P. fluorescens* CHA0, *P. veronii* R4.

Anexo 2 Certificado del Desarrollo del Proyecto Investigativo de Tesis Estudiando el Inoculante a Base de *Bradyrhizobium japonicum* Fabricado por la Empresa Rizobacter S. A.



Pergamino, 25 de abril del 2016

A quien corresponda:

Acredito por medio de la siguiente nota que el señor Damián Antonio Cedeño Saavedra, portador de la C.I # 120506693-7, ha cooperado con la empresa Rizobacter Argentina S.A, realizando su tesis de grado estudiando la interacción entre el inoculante fabricado por la empresa, a base de la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* y distintas variedades de soja locales presentes en Ecuador. Agradecemos desde ya su esfuerzo y valiosa ayuda para generar información local sobre la eficacia de nuestro producto.

Sin otro particular saluda muy atte,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "G. M. Ramírez Cáceres", written over a horizontal line.

Ing. P.A. Guido M. Ramírez Cáceres
Responsable de Servicio Técnico
Comercio Exterior-Rizobacter

Avda. Dr. Arturo Frondizi N° 1150
Parque Industrial - C.P. B2702HDA
Pergamino (Bs. As.) - Argentina

TE: +54 2477 409400 - FAX: +54 2477 432893
info@rizobacter.com.ar
www.rizobacter.com



Anexo 3 Costos de la investigación

DESCRIPCION DE GASTOS

FECHA	MATERIALES DE LABORATORIO	RAZON SOCIAL	CANTIDAD	VALOR UNITARIO	SUBTOTAL 12%	IVA 0%	IVA 12%	TOTAL
20/8/2015	ALCOHOL POTABLE	PROQUILIM productos Químicos de Limpieza	4	1,56	6,24		0,75	6,99
	ALGONDON	DISTRIBUIDORA MOCACHE	2	2,5	2,5			5,00
30/6/2015	GUANTES DE EXAMINACION	LA VICTORIA Distribuidor de productos farmacéuticos	1	7,5	7,5		0,90	8,40
	GAFAS TRANSPARENTE		1	1,43	1,43		0,17	1,60
	CLORO 5%		2	1,15	2,3		0,28	2,58
15/17/2015	MASCARILLA BLANCA DESECHABLE	CASA FERRETERIA FONG	3	0,09	0,27		0,03	0,30
20/8/2015	MASCARILLA BLANCA DESECHABLE	CASA FERRETERIA FONG	1	0,09	0,09		0,01	0,10
19/8/2015	MASCARILLA BLANCA DESECHABLE	CASA FERRETERIA FONG	1	0,09	0,09		0,01	0,10
9/7/2015	MASCARILLA BLANCA DESECHABLE	CASA FERRETERIA FONG	2	0,09	0,18		0,02	0,20
12/8/2015	MASCARILLA DESCARTABLE CINTA	BOTICA INGLESA S. A	1	0,18	0,18		0,02	0,20
12/8/2015	MASCARILLA DESCARTABLE CINTA	BOTICA INGLESA S. A	1	0,18	0,18		0,02	0,20
24/8/2015	MASCARILLA DESCARTABLE CINTA	BOTICA INGLESA S. A	1	0,18	0,18		0,02	0,20
25/6/2015	MASCARILLA PLASTICA FILTROS SENCILLA	CASA FERRETERIA FONG	1	3,53	3,53		0,42	3,95
29/7/2015	MASCARILLA	CORPORACION EL ROSADO S. A	1	0,13	0,13		0,02	0,15
9/5/2015	MANDIL	PATO'S ORIGINAL	1	17,5	15,63		1,88	17,51
							Suma=	47,48
	MATERIALES DE OFICINA							
8/8/2015	CARPETA BARILLA DE COLOR	MUNDO OFFICE	3	0,31	0,93		0,11	1,04
	CARPETAS DE CARTON		10	0,27	2,7		0,32	3,02
	CD		2	1,5				3,00
21/9/2015	ESFERO BIG FINA AZUL/NEGR	MUNDO OFFICE	2	0,31	0,62		0,07	0,69
	MARCADOR DEMOGRAFICO		2			1,5	0,00	3,00
	RESMA DE HOJA		1			3,4		3,40
							Suma=	14,15
	MATERIALES VARIOS							
29/4/2016	COPIA /ANILLADO				18			18,00
14/8/2015	CINTA DE EMBALAJE	COORPORACION EL ROSADO S.A	1	0,53	0,53		0,06	0,59
14/8/2015	CINTA DE EMBALAJE	COORPORACION EL ROSADO S.A	2	0,58	1,16	0	0,14	1,44
3/10/2015	CINTA METRICA	JUAN MARCET	2	1,07	2,14		0,26	2,40
6/8/2015	CLAVOS	CORPORACION EL ROSADO S.A	1	1,95	1,95		0,23	2,18
8/7/2015	EMBUDO	COMISARIATO LA FORTUNA	1	0,85	0,85		0,10	0,95
19/7/2015	PAPEL ALUMINIO	TIA	3	1,78	5,34		0,64	5,98
8/7/2015	PAPEL DE ALUMINIO GOLD	COMERCIAL PEÑAFIEL	1	1,2	1,2		0,14	1,34
25/11/2015	PAPEL DE COCINA	DISTRIBUIDOR SUPER TIENDA QUEVEDO	2	1,5	3		0,36	3,36

14/7/2015	PAQUETE DE MOLDE ALUMINIO	JIMSANPLASTIC	1	1,34	1,34		0,16	1,50
	VASOS DE 10 ONZ		4	0,75	3		0,36	2,22
							SUMA =	39,96
	MOVILIZACION							
	TRANSPORTE	1340 x 0,25						335,00
	FLETES			15	15			15,00
							SUMA =	350,00
	COMPRA DE LAPTO							
30/8/2013	COMPRA DE LAPTO	CLARO	1	430	383,12		46,07	430,00
							TOTA L=	430,00
	REPARACION DE LAPTO							
19/5/2016	REPARACION DE LAPTO EN PLACA NIVEL 3	AXA PC	1		62,5	0	7,50	70,00
							SUMA =	70,00
	INSUMOS							
3/8/2015	TIERRA	CORPORACION EL ROSADO S. S. A	1	1,55	1,55			1,55
4/8/2015	TIERRA Y MASCARI	CORPORACION EL ROSADO S. A	1		1,68		0,20	1,88
26/7/2015	TIERRA ABONADA	CORPORACION EL ROSADO S. A	2	1,68	3,36	0	0,00	3,36
13/7/2015	TIERRA ABONADA	COORPORACION EL ROSADO S.A	2	1,68	3,36		0,40	3,76
	FUNDAS PARA VIVERO 10*10		1	3	3		0,36	3,36
28/9/2015	FUNDAS PARA VIVERO 8*12	JIMSANPLASTIC	1	1,79	1,79		0,21	2,00
14/8/2015	BIO-ESTIMULANTE EVERGREEN 250CC	AGRIPAC S. A	1	6,74				6,40
9/6/2015	SEMILLAS ECUAQUIMICA							
	SEMILLAS AGRIPC S. A			KILO S				
	ENVIO DE INOCULANTE BACTERIANO	RIZOBACTER S. A						70,00
							SUMA =	92,31
	INTERNET CNT							
10/07/2014 - 29/04/2016	INTERNET CNT	CORPORACION NACIONAL DE TELECOMUNICACION CNT	21	20,24			SUMA L=	425,04
							VALOR TOTAL =	1468,94

Anexo 4. Análisis de varianza de prueba de germinación - longitud de radícula evaluada a los 7 días en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	396,9200			
Variedad	2	95,3200	48,0000	10,0000	0,0001 **
Cepas	3	171,9400	57,0000	13,0000	<0,0001 **
Variedad * Cepas	6	20,2500	3,0000	1,0000	0,6226 NS
Error	24	109,4200	5,0000		

Coefficiente de variación 36,00 %

NS = No significativo

** = Altamente significativo

Anexo 5. Análisis de varianza del número de raicillas a los 7 días en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	438,8900	35,0000		
Variedad	2	166,0600	83,0000	17,0000	<0,0001 **
Cepas	3	104,4400	35,0000	7,0000	0,0015 NS
Variedad * Cepas	6	49,7200	8,0000	2,0000	0,1702 NS
Error	24	118,6700	5,0000		

Coefficiente de variación 42,77 %

NS = No significativo

** = Altamente significativo

Anexo 6. Análisis de varianza de altura de planta a los 30 días en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	287,8900			
Variedad	2	128,7200	64,0000 **	18,0000	<0,0001 **
Cepas	3	35,0000	12,0000 NS	3,0000	0,0401 NS
Variedad * Cepas	6	37,5000	6,0000 NS	2,0000	0,1570 NS
Error	24	86,6700	4,0000		

Coefficiente de variación 10,03 %

NS = No significativo

** = Altamente significativo

Anexo 7. Análisis de varianza de longitud de raíz por planta a los 30 días en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	476,3700			
Variedad	2	201,7600	101,0000	17,0000	<0,0001 **
Cepas	3	39,5900	13,0000	2,0000	0,1173 NS
Variedad * Cepas	6	89,3500	15,0000	2,0000	0,0541 NS
Error	24	145,6700	6,0000		

Coefficiente de variación 16.44 %

NS = No significativo

** = Altamente significativo

Anexo 8. Análisis de varianza del número de nódulos por planta de soya en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	857,9100			
Variedad	2	7,2000	3,6000	691,0000	<0,0001 **
Cepas	3	828,1500	275,0000	53002,0000	<0,0001 **
Variedad * Cepas	6	22,4400	3,7400	718,0000	0,0001 **
Error	24	0,1300	0,0010		

Coefficiente de variación 2.57 %

** = Altamente significativo

Anexo 9. Análisis de varianza del peso de nódulos por planta en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	23,5200			
Variedad	2	0,0800	0,0040	2503,5000	<0,0001 **
Cepas	3	23,1900	7,7300	463704,0000	<0,0001 **
Variedad * Cepas	6	0,2500	0,0400	2503,5000	<0,0001 **
Error	24	0,1300	0,0010		

Coefficiente de variación 0,42 %

** = Altamente significativo

Anexo 10. Análisis de varianza de días a floración en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	1468,2400			
Variedad	2	815,5500	408,0000	52,0000	<0,0001 **
Cepas	3	299,6700	100,0000	13,0000	<0,0001 **
Variedad * Cepas	6	164,7700	27,0000	4,0000	0,0148 NS
Error	24	188,2500	8,0000		

Coefficiente de variación 6.09 %

NS = No significativo

** = Altamente significativo

Anexo 11. Análisis de varianza del número de vainas por planta en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	3401,2600			
Variedad	2	4,9600	2,0000	0,0000	1,0000 NS
Cepas	3	2229,5800	743,0000	16,0000	<0,0001 **
Variedad * Cepas	6	82,3400	14,0000	0,0000	1,0000 NS
Error	24	1084,3800	45,0000		

Coefficiente de variación 18.57 %

NS = No significativo

** = Altamente significativo

Anexo 12. Análisis de varianza del peso de 100 semillas en el estudio del efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35	146,4100			
Variedad	2	34,6800	17,3400	187.7800	< 0.0001 **
Cepas	3	65,0500	21,6800	234.8100	<0,0001 **
Variedad * Cepas	6	44,4600	7,4100	80.2400	<0.0001 **
Error	24	2,2200	0.0900		

Coefficiente de variación 2.05 %

** = Altamente significativo

Anexo 13. Análisis de varianza del rendimiento por planta en el estudio del Efecto de inoculación con rizobacteria en tres variedades de soya – Quevedo. 2016

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculada	p-valor
Total	35				
Variedad	2	0,2800	0,1400	0,3200	0,7301 NS
Cepas	3	2,7200	0,9100	2,0400	0,1356 NS
Variedad * Cepas	6	1,8400	0,3100	0,6900	0,6604 NS
Error	24	10,6800	0,4400		

Coefficiente de variación 17,43 %

NS = No significativo