

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**DETERMINACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE CEPAS
NATIVAS DE *Bradyrhizobium sp.* QUE NODULAN EN
SOYA (*Glycine max L. Merr.*) EN CONDICIONES DE
CLIMA Y SUELO DE PUCALLPA.**

Tesis para optar el título profesional de:

INGENIERO AGRÓNOMO

JUAN CARLOS ROJAS LLANQUE

016458

Pucallpa – Perú

2003

DEDICATORIA

En cada tramo del camino nuestro destino es guiado por la mano santa de Dios, gracias Señor por tu sabia y bendita luz. Gracias Padre Pedro Urraca por iluminarme.

*A mis padres:
SUSANA Y ARTIDORO, por darme la vida, el amor, la educación y fortalecerme con valores morales y espirituales. Y ser ellos la razón de mi lucha y existencia.*

*A mis hermanas:
ROCIO y MARIA, por compartir conmigo una familia, por motivarme siempre a luchar, a ser mejor y mirar el futuro con fé y optimismo.*

*A mi esposa:
LOURDES MELITA, por ser amiga, compañera y el amor que me fortalece en esta vida.*

AGRADECIMIENTO

Expreso mi sincero agradecimiento a:

- La Universidad Nacional de Ucayali, Facultad de Ciencias Agropecuarias; por brindarme la oportunidad de ser un profesional.
- Los docentes de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por haber contribuido en mi formación profesional y personal.
- El Ing. Eliel Sánchez Marticorena, docente de la Universidad Nacional de Ucayali y asesor del presente trabajo de tesis, por su apoyo y confianza.
- Los Dres. Luzmila Ludeña y Fredi Carrasco, coasesor de la presente tesis, ejemplo del profesional honesto y justo.
- El Instituto Nacional de Investigación Agraria – INIA, Estación Experimental Pucallpa, por el apoyo para la realización de este trabajo de tesis y brindarme la oportunidad de iniciarme en la investigación agraria.
- El Ing. Pablo Villegas Panduro, amigo y colega quien me brindó el apoyo en el desarrollo de este trabajo de tesis.
- Finalmente, a todas aquellas personas que contribuyen en forma desinteresada con sus consejos y ejemplos en mi permanente desarrollo profesional.

ACTA DE SUSTENTACION

Esta tesis fue aprobada por el Jurado Calificador de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Ucayali, como requisito para obtener el título profesional de Ingeniero Agrónomo.

ING. GUSTAVO CELI AREVALO, Mg.


.....
Presidente

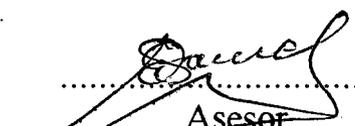
ING. GIRALDO ALMEIDA VILLANUEVA, M.Sc.


.....
Secretario

BLGO. IDELFONSO AYALA ASCENCIO, M.Sc.


.....
Miembro

ING. ELIEL SANCHEZ MARTICORENA.


.....
Asesor

BACH. JUAN CARLOS ROJAS LLANQUE


.....
Candidato

INDICE

Resumen	vii
Lista de cuadros	x
Lista de gráficos	xii
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	4
2.1. La simbiosis rizobio-leguminosa.....	4
2.2. Evolución Taxonómica de los Rizobios.....	5
2.3. Género <i>Bradyrhizobium</i>	7
2.4. Tipos de nódulos y especificidad de la interacción rizobio-leguminosa	
2.4.1. Importancia del nitrógeno en el ecosistema terrestre.....	9
2.4.2. Ciclo biogeoquímico del nitrógeno.....	12
2.4.3. Cantidad de nitrógeno fijado anualmente por vía biológica.....	13
2.4.4. Evolución de los fijadores de nitrógeno.....	14
2.5. La simbiosis Rhizobium – leguminosa.....	15
2.6. Inoculación con Rhizobium.....	17

2.7.	Factores ambientales que limitan la fijación de nitrógeno.....	18
2.8.	Soya, Soja - <i>Glycine max</i>	23
	2.8.1. Variedad Pacacocha – INIA.....	24
III.	Materiales y métodos.....	25
3.1.	Campo experimental.....	25
	3.1.1. Ubicación geográfica.....	25
	3.1.1. Condiciones de clima.....	25
	3.1.2. Suelo.....	25
3.2.	Material experimental.....	26
	3.2.1. Semilla botánica.....	26
	3.2.2. Tratamientos.....	26
	3.2.3. Área del experimento.....	27
3.3.	Metodología de la investigación.....	29
	3.3.1. Variable a medir.....	29
	3.3.2. Datos a registrar.....	29
	3.3.3. Diseño experimental.....	30
3.4.	Evaluación de las variables.....	30
	3.4.1. Altura de plantas (cm)	30
	3.4.2. Numero de vainas por planta.....	30
	3.4.3. Numero de semillas por vaina.....	30
	3.4.4. Peso de 100 granos de semilla (g)	30
	3.4.5. Numero de nódulos totales por planta.....	31
	3.4.6. Numero de nódulos efectivos por planta.....	31
	3.4.7. Rendimiento de granos (kg/ha)	31

3.5.	Procedimiento del trabajo.....	31
3.5.1.	Recolección y conservación de cepas de <i>Bradyrhizobium</i>	31
3.5.1.1.	Recolección de nódulos.....	31
3.5.1.2.	Conservación de nódulos.....	31
3.5.2.	Selección del área experimental.....	32
3.5.3.	Muestreo del suelo del área experimental.....	32
3.5.4.	Preparación del terreno del área experimental.....	33
3.5.5.	Inoculación de la semilla.....	33
3.5.6.	Siembra.....	33
3.5.7.	Fertilización.....	34
3.5.8.	Control de malezas.....	34
3.5.9.	Control fitosanitario.....	34
3.5.10.	Cosecha.....	35
IV.	Resultados y Discusiones.....	36
V.	Conclusiones.....	50
VI.	Recomendaciones.....	51
VII.	Bibliografía.....	52
VIII.	Anexos.....	57

RESUMEN

Este experimento se realizó en el terreno de Investigación del Instituto Nacional de Investigación Agraria – INIA, Estación Experimental Pucallpa, ubicado en el Km. 4,00, margen izquierdo de la carretera Federico Basadre, ciudad de Pucallpa, distrito de Calleria, provincia de Coronel Pedro Portillo, departamento de Ucayali.

El suelo se caracterizó por ser de textura Franco arenosa, con pH de 4,6; 1,82% de materia orgánica y con bajo contenido de nitrógeno (0,06%); las condiciones climáticas aparentemente son propicias para el cultivo de leguminosas.

En estas condiciones de clima y suelo se determinó la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium* para lo cual se recolecto nódulos de plantaciones de cultivo de soya (*Glycine max*) ubicadas en tres zonas: Pacacocha (suelo aluvial). Parahuasha (suelo aluvial) y km. 7 carretera Federico Basadre.(suelo de altura).

La variedad de soya inoculada fue INIA – Pacacocha, siendo el objetivo: 1) Determinar la efectividad de fijación de nitrógeno atmosférico de las cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* en la simbiosis con soya (*Glycine max L. Merr*) en condiciones de clima y suelo de Pucallpa. La siembra de soya en campo se realizó el 15 de octubre de 1998 y la cosecha se realizó el 17 de febrero de 1999, el período vegetativo fue de 125 días. Los resultados evidenciaron una influencia positiva del tratamiento con fertilizante úrea de las plantas de soya, obteniéndose mayor rendimiento de granos (845,71 kg/ha) frente a los tratamientos con inoculantes provenientes de Parahuashá, Pacacocha y C.F.B. km. 7, que dieron un rendimiento de 702,87; 702,63 y 703,63 kg/ha, respectivamente. El tratamiento testigo absoluto dió como resultado un rendimiento de 487,59 kg/ha. Aunque se obtuvo un menor

rendimiento en los tratamientos con inoculantes se ha podido determinar que existe una efectividad en las poblaciones de bacterias que nodulan en plantaciones tradicionales de soya en la selva, lo cual indica la importancia de las bacterias fijadoras de nitrógeno como una alternativa al solo uso de fuentes químicas de nitrógeno frente a la protección del medio ambiente y un recurso económico para el agricultor. Se recomienda usar estos resultados para futuros trabajos a fin de determinar la especie de *Bradyrhizobium sp.* que nodula en las plantaciones de soya en selva.

Palabras Claves : Bradyrhizobium, soya, efectividad, poblaciones nativas.

LISTA DE CUADROS

No.	Pág.
1. Contenido global de nitrógeno y flujo en el suelo.....	11
2. Tratamientos en estudio.....	26
3. Promedio de la altura de plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999	39
4. Promedio del numero total de nódulos de <i>Rhizobium</i> en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.	41
5. Promedio del numero de nódulos efectivos de <i>Rhizobium</i> en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	43
6. Promedio del numero de vainas por planta de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	45
7. Promedio del numero semillas por vainas en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	47

8.	Promedio del peso de 100 granos de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.	49
9.	Promedio del rendimiento en kilogramos por hectárea de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	51
10.	Análisis de varianza de la altura de plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	63
11.	Análisis de varianza del numero de vainas por planta de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	63
12.	Análisis de varianza del numero semillas por vainas en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	64
13.	Análisis de varianza del peso de 100 granos de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	64

14. Promedio del numero total de nódulos de <i>Rhizobium</i> en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Rhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	65
15. Promedio del numero de nódulos efectivos de <i>Rhizobium</i> en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	65
16. Promedio del rendimiento en kilogramos por hectárea de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	66
17. Datos metereológicos de Octubre de 1998 a marzo de 1999, Pucallpa, Perú.....	67
18. Resultado del Análisis fisico químico del suelo experimental, Octubre de 1998.....	67

LISTA DE GRAFICOS

	Pág.
1. Diagrama de una parcela o tratamiento experimental.....	27
2. Distribución de los tratamientos y área total del campo experimental.....	28
3. Comparativo del promedio altura de plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	37
4. Comparativo del número total de nódulos en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	39
5. Comparativo del promedio del numero de nódulos efectivos en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	41
6. Comparativo del promedio del numero de vainas por planta de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.....	43
7. Comparativo del promedio del numero de semillas por vainas en plantas de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú,1999.	45

8. Comparativo del promedio del peso de 100 granos de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.....	47
9. Comparativo del promedio rendimiento en kilogramos por hectárea de soya (<i>Glycine max</i>) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de <i>Bradyrhizobium</i> que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.....	49

I. INTRODUCCIÓN.

El desarrollo del uso racional del suelo, sugiere el establecimiento de estrategias que permitan aprovechar los recursos naturales que el trópico ofrece. Una de estas estrategias consisten en la aplicación de programas de fertilización racional y efectiva, para la obtención de una producción alta y rentable en beneficio del agricultor. Uno de estos recursos de importancia y disponible para su aprovechamiento lo constituyen las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico que realizan simbiosis con las leguminosas, esta relación representa un porcentaje importante en la fijación biológica de este macronutriente, el cual constituye uno de los factores que limitan la producción agrícola de las tierras cultivadas.

La industria de abonos nitrogenados requiere cantidades importantes de derivados del petróleo para su funcionamiento, lo que ha provocado en las últimas décadas un encarecimiento progresivo de este tipo de fertilizantes. Por otra parte, considerando el aumento de la población mundial, las necesidades en abonos nitrogenados químicos sólo podrán ser solventadas gracias a la construcción de nuevas plantas de fertilizantes nitrogenados, volviéndose su precio cada día más prohibitivo para los países pobres. Sin embargo, estos volúmenes crecientes en la demanda de este abono podrían ser alternativamente paleados por un aumento en las cantidades de nitrógeno fijadas biológicamente por bacterias del suelo, en particular de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. En efecto, las plantas pertenecientes a la familia de las leguminosas pueden no necesitar fertilizantes nitrogenados, porque sus raíces están asociadas a bacterias específicas que fijan el nitrógeno del aire y lo transfieren a la planta a través de sus raíces. Esta asociación es responsable de la fijación de cerca del 50% del nitrógeno total fijado en la superficie continental.

La simbiosis es de especial significancia para la leguminosa hospedera, si la inoculación de la semilla es con cepas efectivas lo cual trae consigo un incremento en el rendimiento. En términos económicos constituye una alternativa para el agricultor en el establecimiento de estos cultivos. Ya que se estará aminorando la contaminación del recurso suelo, al disminuir el uso de fertilizantes químicos nitrogenados.

El aprovechamiento de la fertilidad del suelo, por medios naturales, contribuye indirectamente a reducir los costos en materia de insumos agroquímicos, disminuyendo los riesgos de envenenamiento de los agroecosistemas por el uso irracional de químicos en la agricultura. Gorc (1993), señala que recientes estudios han demostrado que un uso exagerado de fertilizantes nitrogenados, puede ocasionar una pérdida de oxígeno y hace que el suelo produzca cantidades excesivas de metano y de óxido nitroso, aunque estos gases proceden también de otras fuentes. Actualmente se considera el uso de fertilizantes nitrogenados como una de las causas principales del aumento de las emisiones.

La producción de leguminosas no sería practicable sin la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico, y sin tal fijación, la posibilidad de la producción de leguminosas en nuevas áreas, no podría ser correctamente evaluada. El establecimiento efectivo de la fijación simbiótica del nitrógeno en las zonas donde las leguminosas no han sido cultivada puede ser difícil si no es manejada correctamente, particularmente en suelos tropicales (Borkert y Sfredo 1995).

Los bajos niveles de nitrógeno en suelos tropicales de altura en contraste con extenso follaje de algunas plantas como el kudzu motivan a inclinarse por una relación entre *Rhizobium* - leguminosa benéfica para esta última. Este tipo de

relación también se extiende a otras especies de leguminosas; la soja cuenta con dos fuentes de nitrógeno: el aportado por el suelo, merced a la mineralización de N orgánico y la fijación biológica de nitrógeno (FBN), que se realiza mediante una asociación mutualística entre la planta de soja y *Bradyrhizobium japonicum*. Ambas fuentes deben complementarse para la obtención de rendimientos máximos (Buttery y Park, 1991); sin embargo, la primera condiciona la magnitud de la segunda a través de un complejo sistema de control ejercido a niveles tan diferentes como la formación de nódulos (Herridge y Brockwell, 1984).

En las condiciones edafo-climáticas de Pucallpa, los estudios en cuanto a la fertilización de las leguminosas como la soja a partir de la fijación de nitrógeno atmosférico por poblaciones nativas de *Rhizobium* son aún incipientes, por lo que se planteo el presente estudio de investigación con el objetivo de determinar la efectividad de fijación de nitrógeno atmosférico de las cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* en la simbiosis con soja (*Glycine max*).



II. REVISION DE LITERATURA

2.1. La simbiosis rizobio-leguminosa

El nitrógeno es muy abundante en la atmósfera, sin embargo, las plantas no pueden utilizarlo en su forma elemental y tienen que obtenerlo del suelo principalmente en forma de nitratos o amonio. La fijación biológica de nitrógeno es un proceso clave en la biósfera, por el cual microorganismos portadores de la enzima nitrogenasa convierten el nitrógeno gaseoso en nitrógeno combinado. El grupo de bacterias al que se conoce colectivamente como rizobios, inducen en las raíces (o en el tallo) de las leguminosas la formación de estructuras especializadas, los nódulos, dentro de los cuales el nitrógeno gaseoso es reducido a amonio. Se estima que este proceso contribuye entre el 60-80 % de la fijación biológica de nitrógeno. La simbiosis es inhibida si existe un exceso de nitrato o amonio en el suelo. En esta simbiosis en los nódulos, la planta huésped obtiene nutrientes nitrogenados de la bacteria (rizobios) y ofrece a ésta una fuente de carbono y un ambiente favorable para fijar nitrógeno. Esta simbiosis contribuye con una parte considerable del nitrógeno combinado en la tierra y permite a las plantas leguminosas crecer sin fertilizantes nitrogenados y sin empobrecer los suelos.

Las leguminosas muestran una amplia diversidad tanto morfológica como de hábitat y ecología, encontramos desde formas herbáceas anuales hasta árboles tropicales. Muchas leguminosas son noduladas por los rizobios. La fijación de nitrógeno en la simbiosis rizobio-leguminosa es de considerable importancia en agricultura, porque causa un aumento significativo del nitrógeno combinado en el suelo. Dado que la carencia de nitrógeno suele darse en suelos desnudos y sin

abonar, las leguminosas noduladas ofrecen una ventaja selectiva en tales condiciones y pueden crecer bien en zonas donde no lo harían otras plantas. Es por ello que leguminosas arbustivas y arbóreas se emplean como plantas pioneras en la reforestación de zonas áridas y semiáridas. Por el interés que estas bacterias representan para la agricultura, empleándose como inoculantes (bio-fertilizantes) y en los cultivos, se han realizado investigaciones extensas sobre este sistema simbiótico, incluyendo estudios sobre la diversidad y la taxonomía de los rizobios. El *Rhizobium* fue la primera bacteria producida a gran escala y se ha añadido como inoculante durante 105 años a diversos cultivos agrícolas, con éxito en muchos casos.

Por otro lado, el uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados en agricultura ha ocasionado graves problemas de contaminación. No todo el fertilizante que se aplica lo aprovecha la planta sino que en una cantidad importante acaba en lagos y lagunas, la fijación biológica de nitrógeno es la opción natural de fertilización química.

2.2. Evolución Taxonómica de los Rizobios

La clasificación taxonómica del género *Bradyrhizobium* sp. es el siguiente: Clase Schyzomycetes, orden Eubacteriales, familia Rhizobiaceae y las especies japonicum, elkanii

Hadri y Brewin (1998), mencionan que Spaink Beijerinck en 1888 obtuvo el primer cultivo bacteriano puro de un nódulo de raíz de leguminosa y lo llamó *Bacillus radicola*. Posteriormente, Frank propuso el nombre *Rhizobium* para estos aislados basada en la especificidad de los huéspedes para 1929 ya se habían reconocido seis especies: *R. leguminosarum*, *R. trifolii*, *R. phaseoli*, *R. meliloti*, *R. japonicum* y *R. lupini*. En esta clasificación, cada especie se componía de cepas que

compartían un grupo de leguminosas huésped. Trabajos posteriores desafiaron esta designación de especies basada en la especificidad del huésped. Poupot y Prome (1993), mencionan que en 1944, Wilson reportó un gran número de nodulaciones que cruzaban las fronteras de las diferentes especies. En 1964 Graham y en 1968 Moffett y Golwell sugirieron revisar la taxonomía basándose en resultados de la taxonomía numérica. Más tarde, en 1974, Jordan y Allen dividieron estas especies en dos grupos de acuerdo con sus tasas de crecimiento, flagelos y reacciones ácido/alcalinas en medio YMA (medio de cultivo de extracto de levadura, manitol, sales y agar). Además de estas seis especies, se incluyó un grupo misceláneo designado como *Rhizobium* spp. La taxonomía actual de los rizobios se basa en un enfoque polifásico que incluye morfología, bioquímica, fisiología, genética y filogenia. El uso del enfoque polifásico ha conferido a la taxonomía una base más natural y más confiable. De acuerdo con la definición aceptada de especie en bacteriología, cada especie de rizobios consta de un grupo de cepas que comparten características que las distinguen como grupo de otros grupos de bacterias.

Hasta la fecha se han propuesto 6 géneros, que son: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium*, todos los rizobios definidos son miembros de la subdivisión "a" de las Proteobacterias. En esta misma subdivisión se encuentran bacterias del género *Agrobacterium* que forman tumores en plantas. Los 6 géneros de los rizobios son 6 grupos filogenéticos entremezclados con otros géneros de las α -Proteobacteria. En el árbol filogenético los géneros *Azorhizobium* y *Bradyrhizobium* son dos ramas separadas de los otros géneros de rizobia.

2.3. Género *Bradyrhizobium*.

Bradyrhizobium sp. es una bacteria fijadora de nitrógeno que forma nódulos en las raíces de las plantas de leguminosas, caso soya.

Estas bacterias son bacilos de 0.5-0.9 x 1.2-3.0 μm . Se mueven con un flagelo polar o subpolar. Este género consiste de cepas de lento crecimiento, productoras de álcali. Las colonias son circulares, rara vez translúcidas, blancas y convexas con un diámetro menor a 1 mm entre 5 y 7 días de incubación. Las tres especies definidas en este género, *B. japonicum* (especie tipo), *B. elkanii* y *B. liaoningense* pueden nodular a la soya (*Glycine max*). *B. japonicum* tiene una amplia gama de plantas huéspedes, incluyendo muchas leguminosas tropicales y algunas de zonas templadas. Algunas especies fijan nitrógeno en vida libre bajo ciertas circunstancias. Algunos rizobios fotosintéticos formadores de nódulos de tallo aislados de la leguminosa acuática *Aeschynomene* han sido identificados como miembros de *B. japonicum*. *B. elkanii* se distingue de *B. japonicum* por diferencias en sus secuencias de ADN, en patrones de enzimas metabólicas de exopolisacáridos, en su contenido de ácidos grasos y hemo proteínas al igual que por diferencias en sus patrones de resistencia a antibióticos. El tiempo de generación de estas dos especies es de 8 horas o más. Las dos especies de tienen una relación filogenética cercana a *Rhodopseudomonas palustris*, *Afinis spp.* y *Blastobacter denitrificans*. Se desconoce la posición filogenética exacta de *B. liaoningense* porque no se dispone de una secuencia completa del gen 16S rRNA de esta especie. El análisis comparativo de la secuencia parcial del gene 16S rRNA indica que *B. liaoningense* tiene una relación más cercana con *B. japonicum* que con *B. elkanii*. Las cepas de *B. liaoningense* crecen mucho más despacio (tiempo de generación entre 16-39 hr) que las cepas de *B. japonicum* y *B. elkanii*. Algunas

características bioquímicas y diferentes patrones de utilización de carbohidratos permiten distinguir a *B. liaoningense* de las otras dos especies. Se han obtenido también aislados de *Bradyrhizobium* de otras leguminosas pero no se ha definido la especie a la que corresponden. De las especies identificadas, ninguna tiene plásmido simbiótico y los genes simbióticos están localizados en el cromosoma. Se ha reportado que existe sólo un operón del gen ribosomal en *Bradyrhizobium*.

2.3. Tipos de nódulos y especificidad de la interacción rizobio-leguminosa

Hay que recordar que la familia de las leguminosas es enorme y diversa, y comprende alrededor de 20.000 especies. Dada esta diversidad, no es adecuado hacer generalizaciones, hay diferentes modos de infección (no siempre es a través de canales de infección) las formas y modos de desarrollo de los nódulos pueden ser muy variadas. En general, los nódulos se pueden dividir en dos tipos: 1) nódulos indeterminados, que contienen un meristemo persistente resultando en formas cilíndricas y a menudo ramificadas y 2) nódulos determinados que carecen de un meristemo persistente y tienen forma redondeada. La formación de una simbiosis efectiva es un proceso altamente específico, sin embargo, el grado de especificidad varía tremendamente entre los diferentes rizobios. Así algunas cepas tienen un rango de hospedador muy reducido como por ejemplo *R. leguminosarum* biovar trifolii que sólo fija nitrógeno en especies de *Trifolium* (trébol) o *S. meliloti*, que nodula especies de los géneros *Medicago*, *Melilotus* y *Trigonella*. Otras por el contrario muestran un amplio rango de hospedador, este es el caso de *Rhizobium* sp. NGR234 que nodula 112 géneros incluyendo la no-leguminosa *Parasponia*.

Jordan (1984), menciona que las bacterias fijadoras de nitrógeno forman parte de la familia Rhizobiaceae, en la cual se encuentran los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* formadores de nódulos radicales con las raíces de las leguminosas. *Rhizobium* forma nódulos en raíces de leguminosas de zonas templadas y *Bradyrhizobium* en leguminosas tropicales y en algunas de zonas templadas.

Martínez y Caballero (1996), especifican que la amplia distribución geográfica de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* está relacionada con una gran diversidad genética encontrada cuando se hacen estudios de poblaciones . De igual forma, Van Berkium y Eardly (1998), comentan que la caracterización de cepas autóctonas de estas bacterias se hace necesario para determinar las más eficientes para los estudios de inoculación, ya que las interacciones planta-microorganismos pueden ser altamente específicas y la colección de germoplasma exótico de sitios autóctonos también requiere colección de muestras de rizosfera para el aislamiento de germoplasma bacteriano apropiado.

2.4. Importancia del nitrógeno en el ecosistema terrestre

El nitrógeno es un elemento que cuantitativamente y tras el carbono, oxígeno e hidrógeno es el más abundante en la materia viva que constituye un 8-16%. Cualitativamente forma parte de moléculas muy importantes para la actividad biológica como los ácidos nucleicos, donde se asienta la información genética o las proteínas y enzimas, compuestos estructurales fundamentales en la organización de la materia viva y catalizadores de los procesos biológicos respectivamente. Como constituyente de las proteínas está en una proporción del 10-15%.

La tierra es muy rica en nitrógeno, con más de 60 000 billones de toneladas de

las que el 94% se encuentra en la corteza terrestre. Del 6% restante, el 99,86% se haya en la atmósfera como nitrógeno molecular y el 0,04% aparece en los organismos vivos, suelos y aguas en forma de compuestos orgánicos e inorgánicos. Las plantas y la mayoría de los organismos son dependientes de formas inorgánicas de este elemento (nitratos, amonio...) mientras que los animales requieren nitrógeno orgánico obtenido directa o indirectamente de las plantas. Las plantas pueden acumular nitrógeno en la vegetación por periodos de cientos de años (árboles), o en ciclos estacionales (cosechas anuales). La cantidad de nitrógeno estimada absorbida anualmente por las plantas puede obtenerse de los valores de carbono asimilado por fotosíntesis. La cantidad global de carbono fijado es alrededor de 70000 Tg (terragramo = 1 millón de toneladas métricas) aunque no existe relación única C-N para las plantas (50:1 es la relación más frecuente).

Las plantas utilizan solamente entre un 30-60% del nitrógeno mineral asequible en el suelo. Por tanto, para una eficacia del 40%, es aproximadamente el 3% del nitrógeno total contenido en el suelo.

La fijación simbiótica del nitrógeno representa el 8,5% del consumo total de nitrógeno de la planta, debido a la eficacia de la transferencia de este nitrógeno fijado a la misma. Los fertilizantes aportan una cantidad de nitrógeno equivalente al 50% del nitrógeno asimilado por la fijación biológica.

Las alteraciones del ecosistema natural son las principales causas de la pérdida de nitrógeno, tanto en ambientes gaseosos como acuosos. Las áreas perturbadas ecológicamente y las áreas cultivadas son las que requieren un mayor aporte de nitrógeno. Hadri y Brewin (1998), cuantificaron el contenido del nitrógeno y el flujo en el suelo, este se presenta en el cuadro 1.

Cuadro No 1. Contenido global de nitrógeno y flujo en el suelo.

DINAMICA DEL NITROGENO	NITRÓGENO
	Contenido (Tg) Flujo anual (Tg)
Nitrógeno atmosférico.	3.9x10 ⁹
Nitrógeno en el suelo.	105.000
Nitrógeno mineralizado en el suelo.	3500
Consumo por plantas.	1400
Fijación simbiótica del nitrógeno.	120
Fijación asociativa y libre de nitrógeno.	50
Fertilizantes nitrogenados.	65
Fertilizantes nitrogenados utilizados.	26
Aportaciones de la atmósfera.	25
Desnitrificación, volatilización.	135
Erosión.	25
Lixiviación.	93

Tg (terragramo) = 1 millón de toneladas métricas

2.4.1. Ciclo biogeoquímico del nitrógeno

El ciclo biogeoquímico de nitrógeno es un conjunto de transformaciones donde se dan varias etapas:

- A. Mineralización: formación de nitrógeno inorgánico, como amoníaco, nitrito y nitrato, a partir de nitrógeno orgánico procedente de la desintegración de los organismos y sus excreciones.
- B. Absorción: El nitrógeno inorgánico puede ser absorbido por plantas y microorganismos, pasar de nuevo a formar parte de la materia viva y circular a lo largo de las cadenas alimenticias.
- C. Desnitrificación: El nitrógeno puede ser transformado en nitrógeno molecular y sus óxidos, que mediante este proceso pueden escapar a la atmósfera.
- D. Fijación: El nitrógeno molecular atmosférico pasa a forma combinada.

El Balance de nitrógeno esta dado por :Ganancias que tiene su origen en la fijación biológica, fijación espontánea y abonos nitrogenados. Las perdidas son causadas por la desnitrificación, lavado de nitratos, volatización de amonio y explotación de cosechas

La fijación de nitrógeno en la biosfera se estima en unos 275 millones de toneladas anuales, de las cuales 175 corresponden a la fijación biológica, 70 a la industrial y 30 a la espontánea.

Por lo tanto la fijación biológica supone más del 60% del nitrógeno fijado y es con mucho el proceso más importante.

2.4.3. Cantidad de nitrógeno fijado anualmente por vía biológica

De los 175 millones de toneladas de nitrógeno fijado anualmente por vía biológica, 140 millones de toneladas corresponden a ecosistemas terrestres y 35 millones de toneladas a ecosistemas marinos.

Dentro de los ecosistemas terrestres, 45 millones de toneladas son fijadas por tierras de cultivo, 45 millones de toneladas por prados y pastos y 50 millones de toneladas por áreas forestales y otras.

Las simbiosis entre el *Rhizobium* y leguminosa respectivamente, se establecen como resultado de la expresión de unas características propias del microbio de la planta hospedadora y de la asociación de ambos. Entre las propiedades de la simbiosis cabe destacar:

- A. **La especificidad:** propiedad por la que el microbio infecta selectivamente a la planta hospedadora. La magnitud de la misma varía de unas simbiosis a otras.
- B. **Infectividad:** la capacidad de un microbio para invadir la planta.
- C. **Efectividad:** capacidad para que en un nódulo se realice la secuencia de un proceso que lleve a la reducción de nitrógeno atmosférico en amoníaco.

El microbio entra en la planta bien por los pelos absorbentes de la raíz bien a través de su epidermis, posteriormente se ubican en los nódulos aislado del ambiente exterior. Esta localización plantea la necesidad de la existencia de un intercambio metabólico entre los dos simbiosis que implica el suministro por la planta de los nutrientes y componentes carbonados necesarios para el microbio, así como el

transporte hacia la planta de los productos nitrogenados resultantes de la actividad fijadora del microbio.

2.4.4. Evolución de los fijadores de nitrógeno

Hace unos 3100 millones de años, parecen haber existido microbios procariotas, según se deduce de los microfósiles encontrados en Canadá. Estas primeras formas vivas tuvieron que ser anaerobias porque en la atmósfera primitiva no existía oxígeno libre, posteriormente fueron apareciendo microbios fotosintéticos liberadores o no de oxígeno, formas autótrofas no fotosintéticas, y heterótrofos aerobios. Se calcula que el oxígeno libre aparece en la atmósfera hace 2 000 millones de años.

La proliferación de estos grupos sobre la tierra fue uno de los factores que hizo posible la colonización de los ambientes terrestres muy pobres en nutrientes hasta entonces.

Algunas características de la dinitrogenasa, relacionan su presumible antigüedad con las condiciones del medio primitivo:

- A. Sólo funciona en ausencia de oxígeno libre.
- B. Su composición es una metaloproteína que tiene hidrógeno y azufre, elementos presentes en el medio donde se desarrollan las primeras formas vivas.
- C. Los aminoácidos que la componen se encuentran entre los termodinámicamente más estables, lo cual sólo ocurre en moléculas primitivas.

El origen de la fijación simbiótica es mucho más reciente, aproximadamente 150 millones de años. Una de las hipótesis que trata de explicar la evolución de la simbiosis supone una adaptación ecológica que debió ocurrir de acuerdo con las siguientes fases;

- 1) Asociación entre un fijador de vida libre y la planta sobre la superficie radical.
- 2) Establecimiento de la simbiosis dentro del tejido cortical de la raíz.
- 3) Formación de un tejido especializado en la fijación de nitrógeno, el nódulo.

Quizás la fijación simbiótica es todavía demasiado joven, y en una previsible evolución de las plantas surjan especies vegetales fijadoras de nitrógeno, con orgánulos semejantes a los cloroplastos en sus hojas y/o raíces, como sugiere J-R. Postgate. o quizás existen ya estas especies y aún no las hemos encontrado.

2.5. La simbiosis *Rhizobium* - leguminosa

Las leguminosas constituyen la familia de plantas con flores más numerosa después de las gramíneas, con unos 700 géneros y 14000 especies.

La nodulación es una característica de las leguminosas en general, pero existen géneros que no forman tales estructuras (en la subfamilia Papilionoideae, donde se incluyen alfalfa, soja, judía garbanzo, se dan nódulos en un 95% de los individuos examinados, en la Caesalpinioideae no se ha encontrado nodulación en un 67% de los miembros estudiados). Si se tiene en cuenta que más del 50% de las leguminosas no han sido examinadas respecto si nodulan o no, se llega a la conclusión de que este tema necesita mayor atención.

Muchas de las plantas que no nodulan en su ambiente natural quizás pudieran hacerlo si las condiciones fueran otras. La cantidad de nitrógeno fijado depende de la cepa o estirpe de bacteria, de la planta hospedadora y de las condiciones ambientales.

El empleo de las leguminosas en la agricultura aparece junto con el de los cereales, ya en registros arqueológicos, y el reconocimiento de que fertilizan el suelo y que tienen, por tanto, gran interés para la cosecha siguiente, se manifiesta en algunos de los escritos más antiguos de griegos, romanos, chinos y civilizaciones precolombinas.

Las estimaciones recientes indican que contribuyen en la actualidad con más de la mitad del nitrógeno fijado por sistemas biológicos, con un aporte anual superior al de fertilizantes químicos.

Las leguminosas se utilizan para forraje, fertilización de pastizales, obtención de aceites y grano para el consumo y como abono verde (práctica muy extendida en regiones tropicales y subtropicales).

Aproximadamente los dos tercios del nitrógeno total se encuentran en la parte aérea de la planta, de forma que si ésta se retira como heno, por pastoreo, o por cosecha de la semilla, irá en perjuicio del suelo disminuyendo la cantidad de nitrógeno que va a parar a él.

El tiempo que media desde el enterrado de la leguminosa hasta la siembra del cultivo principal es un factor crítico, pues ha de transcurrir un período de tiempo suficiente para la descomposición del abono verde, pero no excesivo, para evitar que haya pérdidas por drenaje. El estado de madurez en el que se encuentra la leguminosa en

el momento de enterrarla constituye otro factor importante en el aumento de la fertilidad del suelo.

En el caso de su empleo como forrajes para la alimentación animal se ha de elegir una que tenga calidad nutritiva aceptable, y que sea capaz de persistir y regenerarse aun cuando el pastoreo sea intensivo.

El animal en régimen de pastoreo favorece la transferencia de nitrógeno de la leguminosa a la gramínea, ya que retiene solamente una pequeña parte del que toma del pasto, desechando el resto en forma de orina y estiércol. Este nitrógeno devuelto al suelo es reutilizado por las plantas del pasto, por eso es recomendable el sistema del pastoreo. Se ha estimado que la mitad o los dos tercios del nitrógeno fijado por la leguminosa se incorpora al suelo por acción del ganado.

“Transferencia de nitrógeno fijado por la leguminosa a la gramínea no fijadora en un pasto mezcla de ambas. El hombre puede intervenir en el sistema suelo-planta-animal regulando la proporción de mezcla, así como la adicción de nitratos, materia orgánica y carga mineral”.

El efecto beneficioso de las leguminosas puede manifestarse también en el área de la selvicultura, donde especies de tipo leñoso, como Robinia (falsa acacia) o bien herbáceas forrajeras o de grano, como tréboles, pueden ser utilizadas en algunas explotaciones forestales de plantas no fijadoras.

2.6. Inoculación con Rhizobium

La inoculación de leguminosas con microbios adecuados es de gran importancia para el desarrollo de éstas.

Un criterio de selección es que el rizobio forme nódulos en las raíces de la planta hospedadora bajo un amplio espectro de condiciones ambientales, muestre capacidad de competir con ventaja sobre otros rizobios no deseados, sobreviva y se multiplique en el suelo, tenga resistencia a pesticidas, desecación, etc.

Se han obtenido resultados muy satisfactorios cuando se inocula el suelo directamente y a continuación se siembra la semilla.

Otra posibilidad para obtener simbiosis efectivas *Rhizobium-leguminosa* consiste en seleccionar las plantas a fin de reducir su especificidad simbiótica, lo que les permitirá asociarse con cepas nativas del suelo.

2.7. Factores ambientales que limitan la fijación de nitrógeno

°La sequía: En el Suroeste de Australia se observó que el 94% de las leguminosas poseían nódulos activos en invierno, pero que sólo un 3% los conservaban en verano. Se presenta por lo tanto un marcado descenso de la fijación durante el verano.

° Las Inundación periódicas limitan el desarrollo de las poblaciones de las bacterias nitrificantes.

° La presencia de compuestos fenólicos procedentes de materia orgánica en descomposición afectan a las bacterias.

° Bajas temperaturas en invierno, este fenómeno limita el desarrollo y la efectividad de las bacterias..

° Salinidad, no permite el desarrollo de las bacterias.

° pH bajo, en suelos extremeadamente acidos no hay desarrollo de las bacterias.

° Reducida disponibilidad de nutrientes, esta afecta la relación simbiótica entre la bacteria y el hospedero.

° Defoliación debida al fuego, sequía y presencia de animales herbívoros.

° La formación de rocío, factor que puede provocar una fluctuación diaria en la actividad fijadora especialmente de las cianobacterias.

Tanto la proliferación de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* como la formación de nódulos, requieren presencia de potasio, calcio, zinc, cobre y boro. El proceso de fijación en si demanda hierro, molibdeno, cobalto, zinc, fósforo y en menor grado cobre, azufre y calcio. El problema es que algunos de estos nutrientes asociados con la actividad nodular tales como fósforo, hierro, calcio, molibdeno, cobre, cobalto y zinc son escasos; muy poco móviles y/o lixiviados en algunos de los suelos mediterráneos.

Según González y Cols(1995), la reducción de la fijación de nitrógeno observada como consecuencia del estrés hídrico podría estar causada por una menor actividad fotosintética y, por lo tanto, una menor disponibilidad de carbohidratos para el nódulo; un déficit en el flujo transpiratorio, encargado de exportar los productos nitrogenados desde el nódulo o algún efecto directo sobre la permeabilidad o la actividad metabólica nodular.

Carroll y Mathews (1990), afirman que la nodulación también está controlada por factores externos entre los que el nitrato del suelo resulta de especial significación. La inhibición de la nodulación por el nitrato, una vieja cuestión en el campo de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, no es un efecto nutricional como en un tiempo se pensó, sino más complejo, implicando estadios tempranos en la

ontogenia del nódulo de forma similar a la respuesta de autorregulación pero al contrario que ésta, se trata de un efecto localizado y no sistémico. El efecto de la sequía en las leguminosas no resulta diferente de esta descripción general. Sin embargo, su capacidad para establecer relaciones simbióticas con las bacterias de los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* y *Azorhizobium*, a través de las cuales se produce la fijación simbiótica de nitrógeno en las estructuras denominadas nódulos, aporta la característica diferencial de que la asimilación de nitrógeno se produce totalmente en la zona radical, en lugar de en la parte aérea, como sucede en condiciones no simbióticas. Este hecho es posiblemente determinante en la mejor respuesta a la sequía que presentan las leguminosas noduladas frente a las no noduladas.

Aparicio-Tejo et al. (1994), obtuvieron resultados que permiten confirmar que existe un efecto del déficit hídrico sobre el funcionamiento de los nódulos, previo a los efectos de una disminución en el aporte de foto asimilados como consecuencia de efectos sobre la fotosíntesis. En los nódulos de soja y de guisante cv. Solara los efectos primarios detectados en los nódulos son dos: (a) un descenso en la actividad del enzima sacarosa sintasa, lo que conlleva una disminución de la disponibilidad de sustratos energéticos para los bacteroides y (b) una acumulación de los productos de la fijación (ureidos en soja y aminoácidos en guisante), como consecuencia de un menor flujo transpiratorio, lo que podría producir una retroinhibición de la nitrogenasa. Ambos mecanismos tendrían como consecuencia una menor actividad respiratoria de los nódulos, lo que causaría un incremento en la resistencia a la difusión de oxígeno. La coincidencia de mecanismos en dos especies relativamente alejadas y con tipos de nódulos diferentes resulta muy prometedora desde la

perspectiva de proponer un modelo general sobre el efecto del déficit hídrico en nódulos de leguminosas.

Según Lett et al. (1997), la soja se puede asociar simbióticamente a bacterias del género *Bradyrhizobium* y formar nódulos capaces de fijar nitrógeno con variada eficiencia. Esta característica determina que el cultivo pueda cubrir sus requerimientos de este nutriente a partir del aporte del suelo, ya sea por la mineralización del N orgánico o por el N inorgánico presente y por la fijación biológica.

Cuando opera la fijación biológica, el N_2 atmosférico se transforma a NH_4^+ en las células de los nódulos infectadas de bacterias; de allí pasa a células no infectadas donde se transforma principalmente en ureidos, que son, a su vez, transportados hacia los tejidos vegetales. Ambas fuentes, el suelo y la FBN (fijación biológica de nitrógeno) deben complementarse para determinar rendimientos máximos. Sin embargo, se reconoce que la primera fuente condiciona la magnitud de la expresión de la segunda, a través de la definición del número de nódulos y de la actividad enzimática de los mismos. En consecuencia, el aporte global por FBN para la soja es menor en suelos bien provistos de N que en aquellos en que el nutriente es deficitario, situación que se relaciona con niveles bajos de materia orgánica, suelos arenosos o suelos sometidos a agricultura continua.

En aquellos suelos con altos niveles de materia orgánica y de N inorgánico ($N-NO_3^- + N-NH_4^+$) del orden de 60 kg/ha, el 90% del sistema radicular de la soja se concentra en los primeros 30 cm, estrato donde se concentra. Antes bien, los nódulos aparecen tempranamente y son funcionales. Desde luego, la proporción de N fijado por el cultivo en nuestra región es inferior a la registrada en suelos menos fértiles. En

Balcarce, solamente alrededor del 30% del N acumulado en el rendimiento biológico procede de la FBN. Su impacto sobre el rendimiento de la soja depende principalmente de las variables climáticas, principalmente de la disponibilidad de agua en dos momentos:

- En los primeros quince días después de la siembra, cuando se instala el sistema nodular.
- En el período crítico para la definición de rendimiento, entre los estadios R₄ y R₆, que coincide con el llenado de los granos.

Sin embargo, el proceso de FBN es altamente sensible al estrés hídrico, de tal modo que cada vez que el agua útil de suelo disminuye por debajo de 60%, umbral crítico para soja durante el llenado de granos, se compromete también la fijación de N, que es máxima en esta etapa, disminuyendo el rendimiento potencial a través de la influencia que el suministro de nitrógeno fijado ejerce sobre él.

En suelos que no albergan población naturalizada de rizobios específicos para soja, (*Bradyrhizobium japonicum* y otras), se pueden esperar incrementos en el rendimiento, por efecto de una inoculación exitosa, del orden de 500 kg/ha, para rendimientos de 3 000 a 3 500 kg/ ha. Sin embargo, si se optimiza el rendimiento mediante el empleo de tecnología ajustada de fecha de siembra, espaciamiento, control de malezas y plagas y fertilización fosfatada, se han obtenido a nivel experimental incrementos de 700 a 1 000 kg/ha sobre el testigo no inoculado, cuando se utilizan inoculantes a base de cepas eficientes. La siembra directa, por su efecto sobre la dinámica del N del suelo y su impacto sobre la economía del agua estimula la FBN cuando se la compara con la labranza convencional

2.8. Soya, Soja - *Glycine max*

Normalmente cultivada tanto en la amazonía baja y alta. Es un producto cultivado e introducido de la China. En la actualidad es una de las oleaginosas más importantes del mundo. El producto se puede consumir en forma entera y en diferentes preparaciones como leche, harina.

Es una planta herbácea anual originaria de la zona comprendida entre China, Japón y Manchuria, constituyéndose ahí la base de la alimentación humana donde se le denomina carne vegetal por su gran poder alimenticio. Es una planta que mejora y enriquece los suelos por fijar nitrógeno atmosférico en las raíces (a través de simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*)

Es un tallo de hasta 1,20 m de altura, con vainas oscuras y con tres a cuatro granos de colores variados. Las flores son axiales formándose racimos azulados violetas. Básicamente es de polinización autógama. Para un buen desarrollo de la planta es necesario un suelo suelto, y debe recibir luz y calor intensamente.

La propagación es por semilla, de 20 a 30 kg de semilla por hectárea.

La cosecha se realiza cuando los tallos se ponen amarillos y las hojas se caen. Luego de la cosecha se debe secar al exterior hasta que tengan un 14% de humedad. La cosecha puede alcanzar hasta 2 500 kg /ha.

La principal plaga es el gusano cortador de plantas tiernas, los cuales ocasionan una considerable pérdida de las plantas, disminuyendo la densidad por hectárea. La semilla es atacada por gorgojos, los cuáles inician la infestación en el campo por lo cual deben ser controlados antes de iniciar la cosecha.

La soja tiene un alto valor nutritivo, debido a la riqueza de proteínas del grano. El cual mezclado con el trigo hasta un 20 % proporciona un pan nutritivo y vitaminado.

2.8.1 Taxonomía

La clasificación taxonomía de la soja es la siguiente: Clase Dicotiledoneas, orden Fabales, familia Fabaceae, género *Glycine*, especie *max* (L.) Merr., nombre científico *Glycine max* (L.) Merr, nombre vulgar Soya, soja, soybean y la variedad utilizada para esta investigación es Pacacocha – INIA.

2.8.2 Variedad Pacacocha – INIA

- **Origen**

Proviene de una selección masal de la línea FP -3, introducida de Venezuela en 1990 por la Estación Experimental “El Chira” de Piura y seleccionada en 1995 para la región Ucayali, por la Estación Experimental Pucallpa del INIA. Esta variedad se caracteriza agrónomicamente por adaptarse a las regiones de costa y selva, presenta una altura promedio de 95 a 130 cm, florece a los 46 días aproximadamente y la maduración a los 123 días,

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. CAMPO EXPERIMENTAL

3.1.1. Ubicación geográfica

El trabajo de investigación se desarrollo en el campo experimental del Instituto Nacional de Investigación Agraria. INIA – Estación Experimental Pucallpa. Ubicado en el km. 4 de la carretera Federico Basadre, margen izquierda. Coordenadas geográficas: 8°22'00" de Latitud Sur y 74°34'00" Longitud Oeste, a 54 msnm.

El estudio se realizó entre los meses de Octubre de 1998 a Marzo de 1999.

3.1.2. Condiciones de clima

La región corresponde al ecosistema de Bosque Tropical Semi-siempre verde estacional (Cochrane y Sánchez, 1982).

El clima es cálido húmedo, con temperatura promedio anual de 26°C y precipitación promedio de 1 600 mm al año, con épocas marcadas de mínima y máxima precipitación, elevada humedad relativa de 86% al año .

3.1.3. Suelo

El experimento se desarrolló en un suelo ultisol, caracterizándose por presentar una coloración roja y amarilla de baja fertilidad natural que corresponde a terrazas altas, de bajo contenido en materia orgánica y nutrientes, de reacción fuertemente ácida por el alto contenido de aluminio que alcanzan concentraciones superiores al 40%. Se caracteriza por su textura franca, pero a medida que aumenta la profundidad hay un incremento muy considerable de la fracción arcilla, bajo contenido de fósforo y saturaron de bases, contenido medio de potasio y alta saturación de aluminio.

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

3.2.1. Semilla botánica

La semilla botánica de soya usada fue la variedad INIA – Pacacocha, proporcionado por el Instituto Nacional de Investigación Agraria, Estación Experimental Pucallpa; es una variedad que rinde entre 2,00 a 2,50 t/ha, con 123 días de periodo vegetativo promedio y de grano aceptable para el consumo directo (Morales, 1995).

3.2.2. Tratamientos

Cuadro No. 2. Tratamientos en estudio

Nº TRATAMIENTO	CLAVE	TRATAMIENTOS
1	T1	Testigo absoluto (sin fertilizar, sin inocular)
2	T2	Aplicación de Nitrógeno 60% (130,4 kg de urea/ha)
3	T3	Cepa de <i>Bradyrhizobium</i> sp. de suelo de Restinga Parahuasha
4	T4	Cepa de <i>Bradyrhizobium</i> sp. de suelo de Restinga Pacacocha
5	T5	Cepa de <i>Bradyrhizobium</i> sp. de suelo Altura (C.F.B km 7)

3.2.3. Área del experimento

Dimensiones del terreno:

Área de tratamiento	:	11,25 m ² .
Área del bloque	:	56,25 m ² .
Área total del experimento	:	256,00 m ²
Numero de bloques	:	04
Numero de parcelas por bloque	:	05
Numero total de parcelas	:	20

Disposición Experimental

Grafico No. 1. Diagrama de una parcela o tratamiento experimental

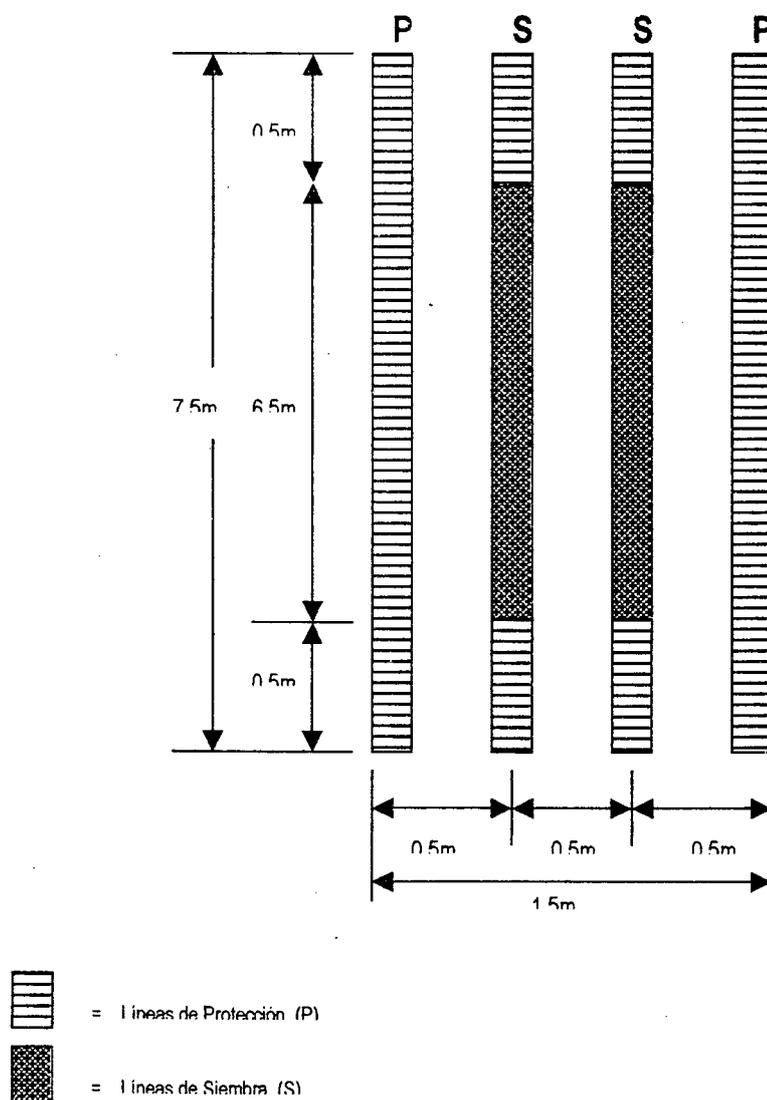
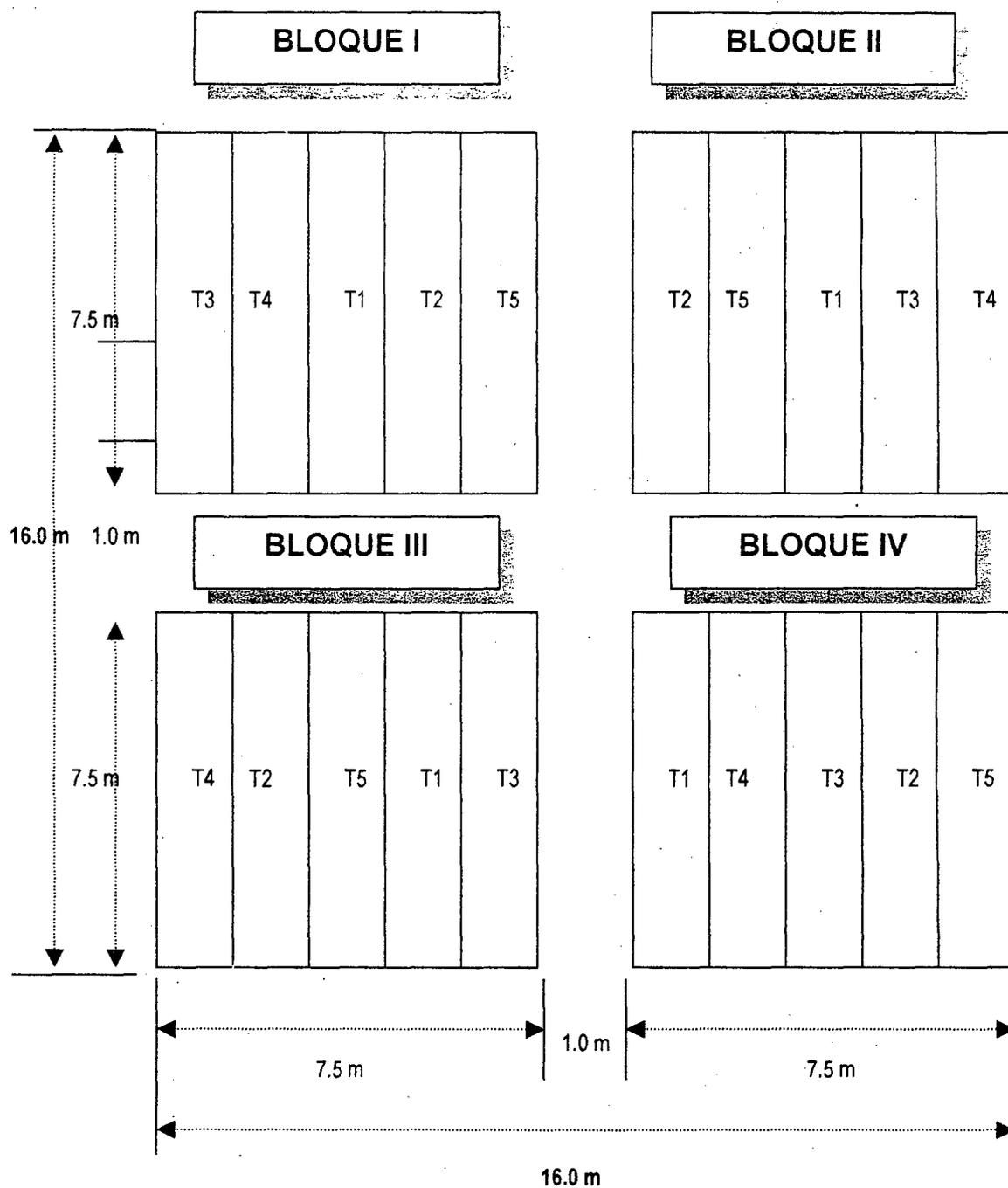


Grafico No. 2. Distribución de los tratamientos y área total del campo experimental



3.3. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1. Variable a medir

- Altura de planta
- Numero de vainas por planta
- Numero de semillas por vaina
- Peso de 100 granos de semilla
- Numero de nódulos totales por planta
- Numero de nódulos efectivos por planta
- Rendimiento en kg/ha

3.3.2. Datos a registrar

- Registro metereológico.
- Análisis fisico químico de suelo.
- Fecha de siembra.
- Fecha de cosecha.
- Poder germinativo de la semilla.
- Presencia de plagas y enfermedades

3.3.3. Diseño experimental

Los tratamientos serán distribuidos en el campo utilizando el Diseño Bloques Completamente Randomizados (BCR) con cinco (5) tratamientos y cuatro (4) repeticiones haciendo un total de 20 unidades experimentales. El análisis estadístico se realizó a través de la prueba de Duncan. Siendo el modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + E_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk} = Cualquier observación en estudio (k-ésima observación, j-ésimo bloque en el i-ésimo tratamiento)
- μ = Media general.
- T_i = Efecto del i - ésimo tratamiento en estudio
- B_j = Efecto del j - ésimo tratamiento en estudio
- E_{ijk} = Error residual normal o independiente distribuido.

3.4. EVALUACION DE LAS VARIABLES

3.4.1. Altura de plantas (cm)

Se tomaron 15 plantas al azar por cada unidad experimental, midiéndose desde la base de la planta hasta la primera vaina.

3.4.2. Numero de vainas por planta

Se tomaron 15 plantas al azar por cada unidad experimental, procediéndose a contar el numero de vainas por planta.

3.4.3. Número de semillas por vaina

Se tomaron al azar 50 vainas por cada unidad experimental

3.4.4. Peso de 100 granos de semilla (g)

De los granos cosechados en cada unidad experimental se tomaron al azar 100 granos procediéndose a pesarlos.

3.4.5. Número de nódulos totales por planta

Se extrajeron al azar 10 plantas por cada unidad experimental, esta se realizó utilizando una pequeña pala recta la cual en cada extracción era limpiada. Esta evaluación se realizó durante los primeros inicios de floración procediéndose a contar el número de nódulos por planta.

3.4.6. Numero de nódulos efectivos por planta

Esta evaluación se realizó en las mismas plantas que se evaluaron para determinar el número total de nódulos por planta, para seleccionar los nódulos no efectivos se tomo como criterio que éstos se caracterizan por presentar una superficie y forma no compacta, vacíos y al realizar el corte presentan en su interior una coloración amarillenta o blanca. Por diferencia se determino los nódulos efectivos quienes presentan en su interior una coloración roja.

3.4.7. Rendimiento de granos (kg/ha)

El rendimiento se registró del área neta por cada tratamiento registrándose en gramos, luego se realizo la conversión a kg/ha.

3.5. PROCEDIMIENTO DEL TRABAJO

3.5.1. Recolección y conservación de cepas de Bradyrhizobium en nódulos de soya

3.5.1.1. Recolección de nódulos:

Se recolectaron 200 nódulos de plantaciones de soya variedad Pacacocha-INIA en tres zonas de Pucallpa las cuales no habían sido inoculadas :

- Suelo en Restinga : Parahuashá (rio Ucayali) y Pacacocha (lago Yarina cocha)
- Suelo en Altura : Carretera Federico Basadre km. 7

Ubicado el cultivo de soya en periodo de floración, se recolectaron los nódulos por cada planta al azar teniendo cuidado de no dañar las raíces ni a los nódulos, utilizando para ello una pala pequeña con la que se retiró la tierra hasta descubrir las raíces, procediendo a cortar la raíz y guardarla inmediatamente en bolsas de papel previamente identificadas.

3.5.1.2. Conservación de nódulos

Una vez en el laboratorio se procedió a retirar los nódulos de las raíces y colocarlas en frascos de vidrio conteniendo silica – gel para su conservación.

3.5.2. Selección del área experimental

Se seleccionó el terreno en el cual se estuvo cultivando el pasto *Brachiaria decumbens*, la cual es una gramínea y ello aminora la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno.

3.5.3. Muestreo del suelo del área experimental

Una vez seleccionado el terreno para el área experimental, se procedió a tomar muestras de suelo, utilizando un muestreador de suelos tipo sacabocado, la profundidad de las muestras tomadas fue de 0-20cm. Se tomaron cuatro (4) sub muestras las cuales fueron homogenizadas hasta obtener una muestra total la cual fue remitida en una bolsa plástica al laboratorio para su respectivo análisis fisico químico.

3.5.4. Preparación del terreno del área experimental

La preparación del terreno se realizó utilizando el arado de disco con el cual se realizó una pasada. Seguidamente se pasó la rastra en forma cruzada, esto permitió mejorar las características físicas del suelo que mostraban cierta compactación.

3.5.5. Inoculación de la semilla

La inoculación se realizó en la madrugada del día de la siembra, para lo cual con mucho cuidado utilizando pinzas se procedió a retirar las cepas de los frascos de conservación colocándose en frascos de vidrio donde se les agregó agua destilada a fin de hidrolizarlos, posteriormente se colocaron en un mortero donde se procedió a triturar 50 nódulos luego se volvió a colocar en un frasco de vidrio donde se le agregó 50 mL de solución al 40% de goma arábica agregándose finalmente la semilla pre germinada de soya listo para su siembra.

Se debe de señalar que este procedimiento se aplicó por igual a las 03 grupos de cepas recolectadas. Con el propósito de evitar una posible contaminación, se utilizaron diferentes instrumentos y materiales, así como guantes quirúrgicos.

3.5.6. Siembra

Un día antes se aplicó agua en el área de siembra a fin de que la tierra esté húmeda para la siembra. Utilizando un cordel de 20 m y dos palas rectas se procedió a alinear y preparar los surcos. Posteriormente se realizó la siembra para lo cual se inició la siembra de las semillas bajo los tratamientos 01 y 02, posteriormente los tratamientos 03,04 y 05 que correspondían a

semillas inoculadas. Cada parcela estaba conformada por dos hileras de 6,5 metros. La siembra de la semilla se realizó en forma continua sobre las líneas de siembra. Al mes de haber establecido el experimento se realizó un raleo a fin de dejar una densidad de siembra de 20 plantas por metro lineal.

Los tratamientos 01 y 02 fueron realizados por una persona, los tratamientos 03,04 y 05 por diferentes personas a fin de evitar posibles contaminaciones.

3.5.7. Fertilización

La fertilización se realizó sobre el tratamiento T2 (60% de N) equivalente a 130,4 kg de urea/ha. La aplicación se fraccionó en dos partes de 50% cada una, teniendo como fuente de nitrógeno a la úrea (46% de N), la primera dosis se aplicó al momento de la siembra y la segunda a los 40 días después de la siembra. Para aplicar la úrea se hicieron surcos a 10 cm de la base del tallo de las plantas incorporándose el fertilizante en forma homogénea, a razón de 3,9 gramos de urea por planta.

La primera aplicación se realizó al momento de la siembra y la segunda a los 40 días de la siembra.

3.5.8. Control de malezas

Esta actividad se realizó utilizando las herramientas tradicionales azadón y pala recta; se hicieron tres controles de malezas a fin de evitar su competencia con el cultivo principal.

3.5.9. Control fitosanitario

Se aplicó Sevin 85% P.M.(polvo mojable) a razón de 1kg/ha, para el control de insectos chupadores de hojas, se identificó la presencia de virosis (virus del mosaico de la soya) en algunas plantas, optándose inmediatamente por la eliminación de la planta infectada; el ataque de insectos no fue

significativo. Se noto la presencia de *Diabrotica sp.* y “cigarrita” *Empoasca sp.*

3.5.10 Cosecha

A los 125 días, se inició la cosecha manual con machete. Antes de proceder a trillar se dejó secar la cosecha. Se cosecharon los surcos que estaban hacia el lado interior de los bloques, excluyendo los surcos ubicados en los bordes exteriores de los bloques.



IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Altura de planta (cm)

En el cuadro 3 se presenta el análisis de variación para la altura de la planta, en el cual se encontró una diferencia altamente significativa para los tratamientos en evaluación, con el fin de ver los efectos entre los tratamientos se utilizó la prueba de Duncan donde se determinó que todos los tratamientos son superiores al testigo absoluto, obteniéndose el valor máximo de 121,5 cm que corresponde al tratamiento T5 (inoculación con cepas de suelo de altura) y el mínimo valor para el testigo absoluto con 76.08 cm.

El tratamiento con nitrógeno dio un valor menor a los otros tratamientos con inoculantes, aunque no es significativo este comportamiento puede ser originado por que la planta no ha asimilado el 100% de nitrógeno aplicado en forma de urea. Según Jutian Su y Shigeo Katagir (1990) Indican que existe pérdidas de nitrógeno inorgánico aplicado al suelo y estas pérdidas pueden seguir tres caminos: la absorción por medio de cultivos competidores, la inmovilización en la biomasa microbiana del suelo y el lavado de nitratos del suelo.

El valor del coeficiente de variación fue de 7,7%, para la característica en estudio esta dentro de los rangos esperados, especialmente por la respuesta homogénea al efecto de aplicación de fertilizantes y los tipos de inóculos a pesar de ser una característica cuantitativa.

Cuadro No. 3. Promedio de la altura de plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Tratamiento	promedio	Duncan 5%
5	121.49	a
3	121.46	a
4	119.31	a
2	116.23	a
1	76.08	b

C.V. 7,7 %

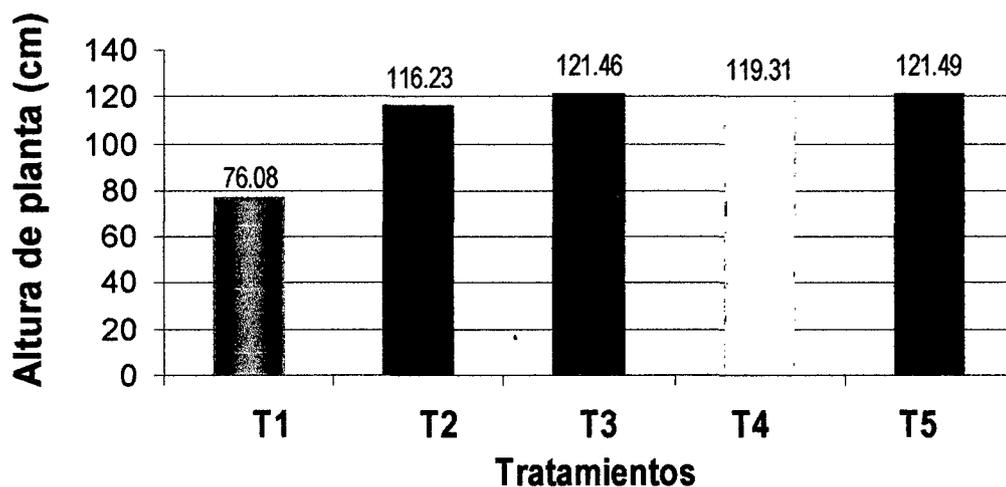


Grafico No. 3. Comparativo del promedio altura de plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

4.2. Número total de nódulos por planta

En el cuadro 4 se presenta el número total de nódulos por planta, donde se observa que existe una diferencia altamente significativa entre los tratamientos; para determinar estadísticamente esta diferencia se desarrolló la prueba de Duncan, encontrándose que los tratamientos T4 y T3 (cepas provenientes de suelos de restingas) son similares con 236,25 y 229,66 nódulos totales respectivamente; pero superiores a T2 (N 60%) y T1 (testigo absoluto) que fueron muy bajos 5.23 y 6.25 nódulos totales respectivamente. El tratamiento T5 (cepas de suelo de altura) presentó una diferencia estadística frente a los otros tratamientos en estudio. Siendo menor a los tratamientos T4 y T3 y mayor a los tratamientos T1 y T2.

La presencia mínima de nódulos en el tratamiento T2 (N 60%) se explica en un efecto de inhibición en la nodulación ocasionado por la urea. Según Chamber (1980), plantea que dosis crecientes de nitrógeno inhiben la nodulación y por ende la fijación simbiótica.

En cuanto al coeficiente de variación fue de 7,2%, nos indica que esta en los límites inferiores de variabilidad, y la conducción del experimento se ha realizado en forma eficiente así como la toma de datos en forma oportuna.

Cuadro No. 4. Promedio del número total de nódulos de *Rhizobium* en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo de Pucallpa, 1999.

Tratamiento	Promedio	Duncan 0,05
T4	236.25	a
T3	229.66	a
T5	203.82	b
T1	6.23	c
T2	5.23	c

C.V. 7.23 %

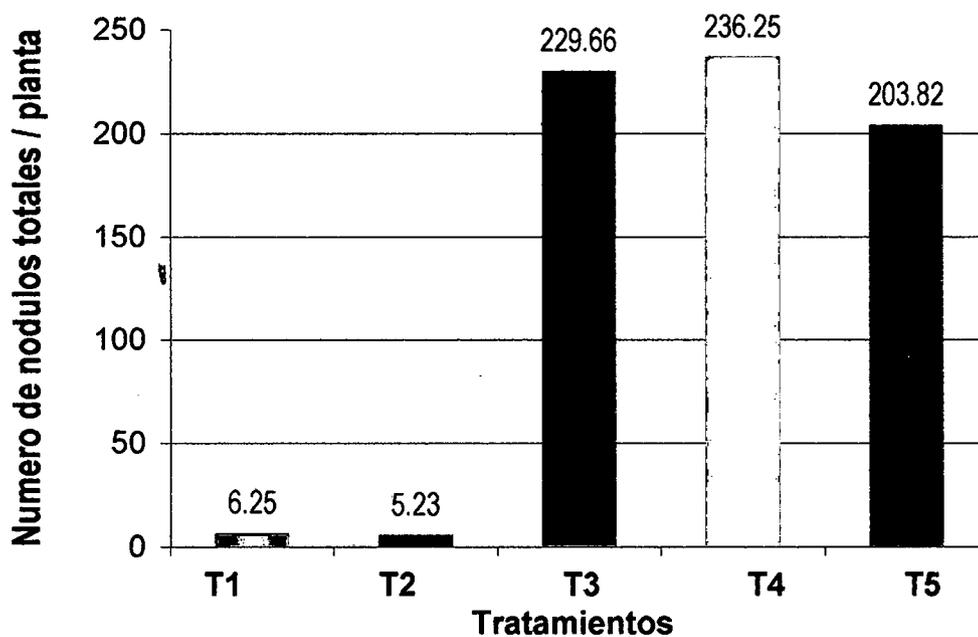


Grafico No. 4. Comparativo del número total de nódulos en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

4.3. Número de nódulos efectivos por planta

En el cuadro 5 se presenta el número de nódulos efectivos por planta, donde se observa que existe una diferencia altamente significativa entre los tratamientos, para ver entre que tratamientos está la diferencia, se desarrolló la prueba de Duncan, encontrándose que los tratamientos con inoculación T4 y T3 son similares con 233,83 y 225,95 nódulos respectivamente; pero superiores al tratamiento con aplicación de nitrógeno y al testigo que fueron muy bajos 3,8 y 2,9 nódulos respectivamente. Ello determina que la inoculación y nodulación en las plantas tuvieron una respuesta positiva. Mellor y Collinge (1995), indican que en las leguminosas la formación de nódulos radicales está regulada en gran medida por la planta. Así, en raíces de diversas especies se ha observado la formación de nódulos en ausencia de *Rizobios* y también se sabe que la planta determina la morfología de los nódulos y su número mediante un mecanismo sistémico de retroinhibición llamado autorregulación.

En cuanto al coeficiente de variación fue de 7,8% que nos demuestra como variable cuantitativa esta dentro de los límites inferiores de variabilidad, y la conducción del experimento en forma eficiente así como la toma de datos en forma oportuna.

Cuadro No. 5. Promedio del numero de nódulos efectivos de *Rhizobium* en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Tratamiento	Promedio	Duncan 0,05
T4	233.83	a
T3	225.95	a
T5	199.45	b
T1	3.85	c
T2	2.96	c

C.V. 7.89 %

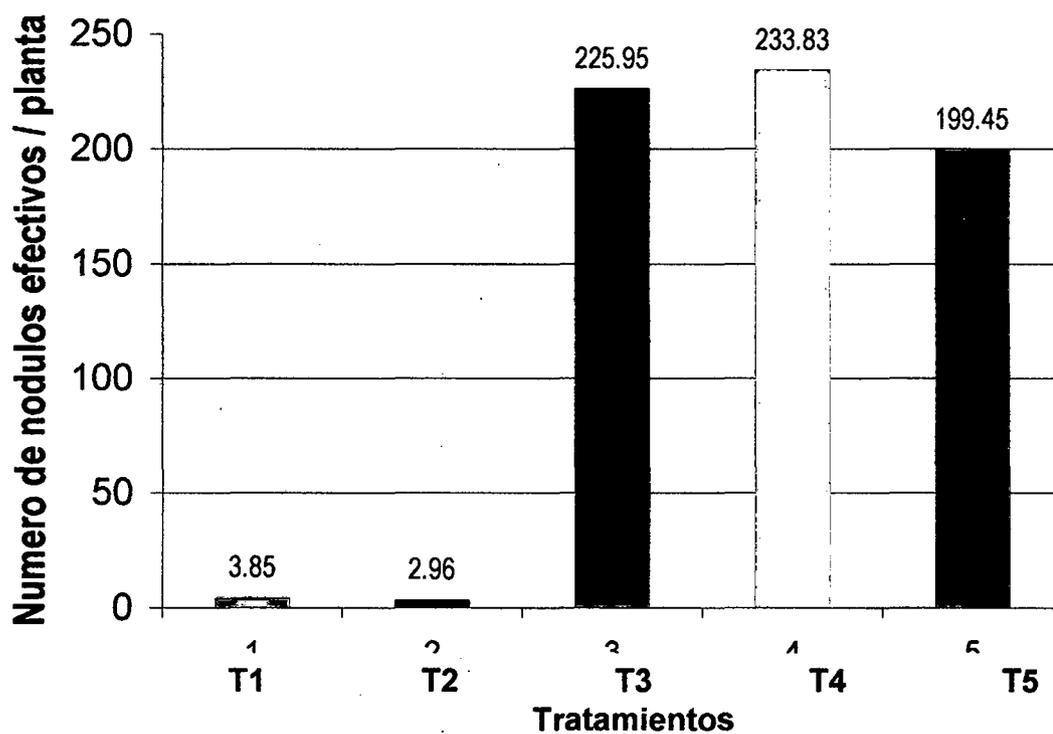


Grafico No. 5. Comparativo del promedio del numero de nódulos efectivos en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

4.4. Numero de vainas por planta

En el cuadro 6 se muestra el análisis de variancia del numero de vainas por planta, donde se determinó que existe una diferencia altamente significativa. Siendo superiores los tratamientos T2 (N 60%) y T3 (cepas restinga Parahuashá) con un promedio de vainas por planta de 86,07 y 83,8 respectivamente frente a los demás tratamientos. El testigo absoluto presento el menor numero de vainas siendo este de 79,2 vainas por planta.

El número de vainas esta influenciado por el nivel de nutrientes del suelo, densidad de siembra y otros factores en menor proporción, razón por la cual el tratamiento aplicado con fertilizantes químicos es el que responde mejor que los tratamientos con aplicaciones de inoculantes, la influencia de otros factores como densidad de siembra es descartado debido a que todos los tratamientos tienen la misma densidad. Debido a que la variable evaluada es un componente de rendimiento, es preciso tomar en cuenta estos resultados, lo que si es preciso tener en cuenta es que el uso excesivo de fuentes de nitrógeno químico origina efectos de contaminación al suelo. Peñalosa, et al. (1982) determinaron que el número de vainas de soya disminuyen en suelos de pH de 5,3.

El coeficiente de variabilidad tuvo un valor de 3,09%, para la característica de la variedad esta dentro de lo esperado, cuyo valor nos demuestra la uniformidad de la variedad.

Cuadro No. 6. Promedio del numero de vainas por planta de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Tratamiento	Promedio	Duncan 0,05
T2	86,07	a
T3	83,80	a b
T5	80,01	a c
T4	79,37	c
T1	79,23	c

C.V. 3,09 %

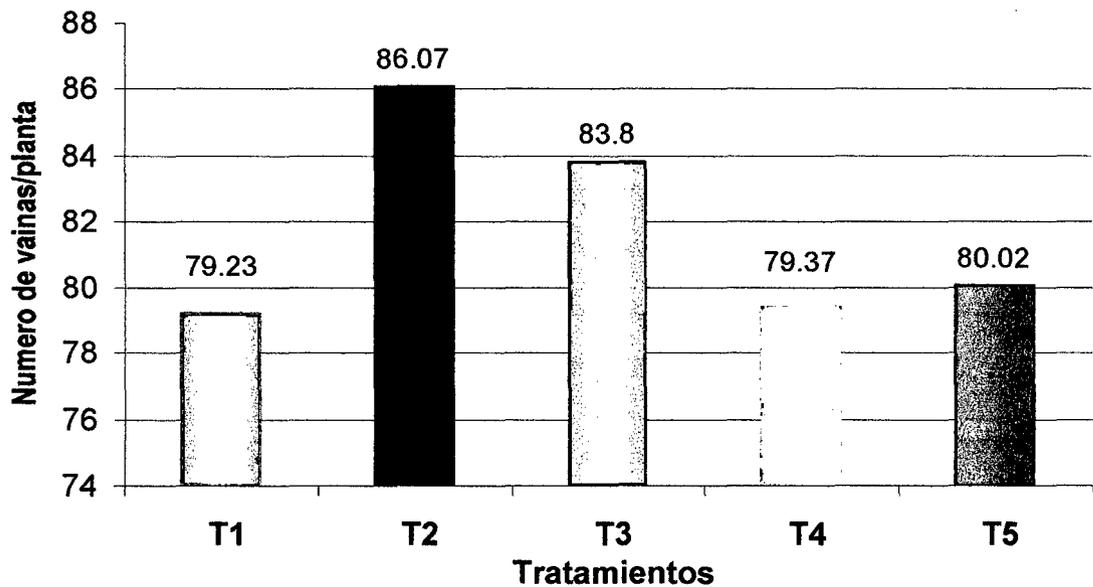


Grafico No. 6. Comparativo del promedio del numero de vainas por planta de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

4.5. Número de semillas por vaina

En el cuadro 7 se presenta el análisis de variancia para el número de semillas por vaina, donde se encontró una alta significación estadística para los tratamientos en evaluación, al realizar la prueba de Duncan para ver el efecto entre los tratamientos se determinó que el tratamiento T2 (N 60%) presentó un promedio de 2.47 semillas por vaina siendo superior estadísticamente frente a los demás tratamientos. En los tratamientos con aplicación de inoculantes, los efectos fueron similares estadísticamente, el testigo es el que obtuvo menor número de semillas con 1,2 semillas por vaina y por ende una diferencia estadística frente a los demás tratamientos.

La mejor respuesta con aplicación de fertilizantes nos demuestra que la planta lo toma inmediatamente y cuya respuesta también es más rápida tanto en el crecimiento como en el desarrollo en comparación con las bacterias fijadoras de nitrógeno, donde el nitrógeno atmosférico no es aprovechado inmediatamente y en ciertas situaciones la fijación de nitrógeno se reduce por efecto de factores ambientales. Según González (1995), la reducción de la fijación de nitrógeno observada como consecuencia del estrés hídrico podría estar causada por una menor actividad fotosintética y, por lo tanto una menor disponibilidad de carbohidratos para el nódulo; originado una reducción drástica de la fijación de nitrógeno.

El valor del coeficiente de variación fue de 10,7%, para la característica este valor puede que haya aumentado por efectos de virosis que se presentó durante el desarrollo de la plantación.

Cuadro No. 7. Promedio del número semillas por vainas en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Tratamiento	Promedio	Duncan 0,05
2	2.47	a
4	2.06	b
3	1.10	b
5	1.96	b
1	1.23	c

C.V. 10,71 %

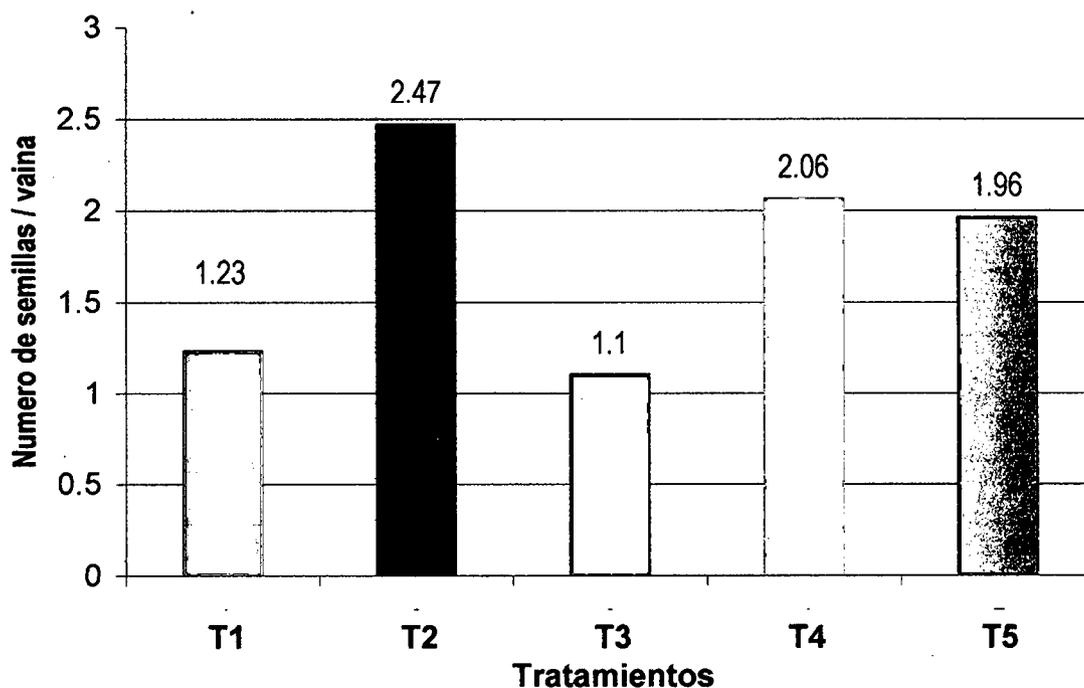


Grafico No. 7. Comparativo del promedio del número de semillas por vainas en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

4.6. Peso de 100 granos (g)

En el cuadro 8 se presenta el análisis para el peso de 100 granos de semilla, en la cual se encontró una diferencia altamente significativa entre los tratamientos por lo que se utilizó la prueba de Duncan para ver los efectos entre los tratamientos. Se determinó que el tratamiento T2 (N 60%) fue superior a los demás con 24,77 gramos, mientras que los tratamientos con inoculantes T3, T4 y T5 con 20,93; 20,57 y 20,53 gramos respectivamente son similares estadísticamente; el testigo es el que presentó un menor peso con 19,04 gramos, lo cual determinó que sea diferente estadísticamente frente a los demás tratamientos.

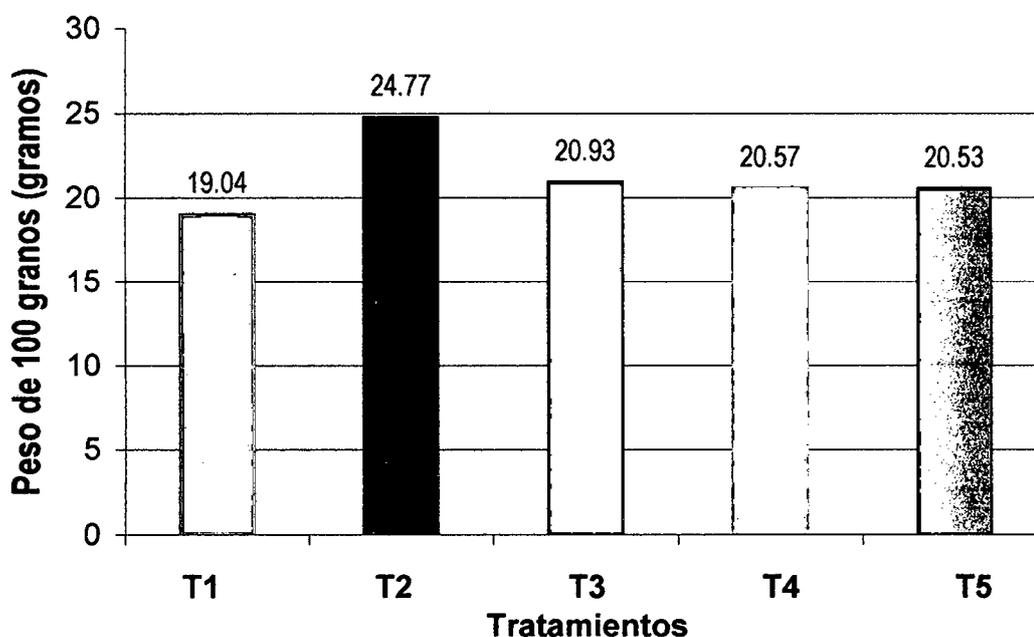
Estos resultados nos indican que la mejor respuesta al peso de los granos es con la aplicación de fertilizantes comparando con la aplicación de inóculos. Los fertilizantes son utilizados inmediatamente por la planta, no solo en el crecimiento sino también en el desarrollo lo que no ocurre con la inoculación cuyo aprovechamiento de la planta va a estar condicionada por diferentes factores: deficiencia hídrica, temperatura, humedad, incendios, poblaciones nativas, etc.

En cuanto al coeficiente de variabilidad tuvo un valor de 2.47%, pero la característica que está dentro de los rangos establecidos porque la uniformidad tanto del tamaño como del peso de los granos es estable lo cual es característica de la variedad.

Cuadro No. 8. Promedio del peso de 100 granos de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Tratamiento	Promedio	Duncan 0,05
T2	24,77	a
T3	20,93	b
T4	20,57	b
T5	20,53	b
T1	19,04	c

C.V. 2,47 %



GGrafico No. 8. Comparativo del promedio del peso de 100 granos de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

4.7. Rendimiento (kg/ha)

En el cuadro 9, se muestra los resultados para el, donde se encontró una diferencia altamente significativa, con el fin de determinar entre tratamientos la diferencia, se sometió a la prueba de Duncan, donde se encontró que el tratamiento T2 (N 60%) con un rendimiento de 845,71 kg fue superior a los demás tratamientos. Los tratamientos con inoculación T5, T3 y T4 con rendimientos 703,41, 702.87 y 702.63 kgs respectivamente son similares. El testigo T1 que no tuvo ninguna aplicación fue el que obtuvo menor rendimiento con 487.59 kg.

Morales (1995), reporta a la variedad INIA-Pacacocha con rendimientos promedios de 1500 a 2000 kg/ha en suelos ultisoles. Así mismo reporta que la variedad INIA-Pacacocha fue liberada para suelos de restinga; pero también responde en suelos de altura con un rendimiento menor a 1 000 kg/ha en promedio

Se obtuvo un coeficiente de variabilidad de 3,41%, lo que significa que los resultados obtenidos son bastantes confiables, así como el procedimiento para el registro de datos.

Cuadro No. 9. Promedio del rendimiento en kilogramos por hectárea de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallna Perú 1999

Tratamiento	Promedio	Duncan 0,05
T2	6,02	a
T4	5,59	a
T3	5,43	a
T5	5,28	a
T1	4,30	b

C.V. 8,78 %

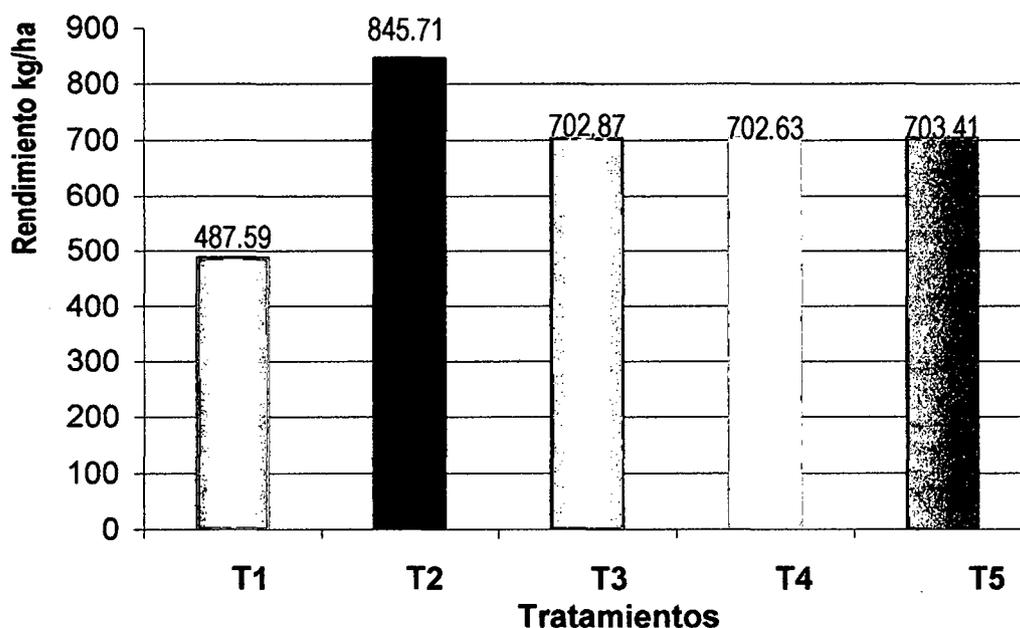


Grafico No. 9. Comparativo del promedio rendimiento en kilogramos por hectárea de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

V. CONCLUSIONES

Las conclusiones de este trabajo de investigación son las siguientes:

1. Existe una relación simbiótica efectiva entre la soya (*Glycine max*) y las cepas de *Bradyrhizobium sp.* recolectadas en suelos de restinga y altura.
2. Las cepas de *Bradyrhizobium sp.* recolectadas en suelos de restinga son más eficientes que las recolectadas en suelos altura, aunque esta diferencia no es significativa estadísticamente.
3. La aplicación de fertilizantes nitrogenados afectan la nodulación en plantas de soya.

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar los estudio de evaluación de cepas recolectadas a un nivel de identificación y determinar la especie que nodula en las plantas de soya .
2. Si bien es cierto que el tratamiento con úrea como fuente de nitrógeno dió el mayor rendimiento frente a los tratamientos con inoculantes, se debe tener en cuenta que estos últimos están disponibles. La propagación y su uso masificado por parte de los agricultores bajaría los costos de inversión frente a l uso de fuentes químicas, además permitiría una mejor protección del medio ambiente.
3. Realizar un trabajo de investigación basado en aplicar nitrógeno químico tipo úrea e inocular cepas a un mismo tratamiento, a fin de determinar los niveles tolerantes entre las bacterias y el nitrógeno químico en el suelo a fin de disminuir la demanda de productos químicos y se proteja al medio ambiente .

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. APARICO TEJO et al. 1994. Metabolismo de Carbono y Nitrógeno en Nódulos de Leguminosas En Condiciones de Sequía. Edit. Acción Integrada Hispano-Británicas B-127, al proyecto DGICYT PB93-0667 y al proyecto del Gobierno de Navarra OF 510/1994. España.
2. BORKERT, C. M. y G. J. SFREDO. 1995. La fertilización de los suelos tropicales para el cultivo de la soya (ed): FAO (ed). El cultivo de la Soya en los trópicos. Mejoramiento y producción, Colección FAO: Producción y protección vegetal, #27. Roma. pag. 175-200.
3. BUTTERY, B. y PARK, S.J. 1991. Potential for increasing nitrogen fixation in grain legumes. Canada. J. Plant Sci., 72:323-349.
4. CARROLL, B.J. y MATHEWS, A. 1990. En: *Molecular Biology of Symbiotic Nitrogen Fixation*. Gresshoff, P.M. ed. CRC Press, USA. Pag 159-180.
5. CIAT. 1985. Evaluación, selección y sistemas de manejo leguminosas – rizobio para aumentar la fijación de nitrógeno. Programa de pastos tropicales y programa de frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, Cali, Colombia. 25p.
6. CHAMBER PÉREZ, M. A. (1980). Especificidad en la simbiosis entre tres variedades de soya (*Glycine. max. (L) Merril*) y cuatro razas de *Rhizobium japonicum*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Serie Producción Vegetal #12. INIA. Ministerio de la Agricultura. Venezuela, 286 p.

7. CROCHRANE, T. y SÁNCHEZ P. (1981). Caracterización Agro ecológica para el desarrollo de pasturas en suelos ácidos de América Tropical. In J. M. Toledo. Ed. 1982. Manual para la evaluación agronómica Red Internacional de evaluación de pastos tropicales. Cali, Colombia.
8. FAO. 1985. Inoculantes para leguminosas y su uso. Proyecto de Fijación de Nitrógeno por Leguminosas de Agricultura Tropical (NIFTAL). USA, 65p.
9. FERRERA, R. y GONZALEZ, M. 1993. Manual de Agromicrobiología. Editorial Trillas, México. 142p.
10. FRECHILLA S. 1994. Influencia de la nutrición nitrogenada en la respuesta de *Pisum sativum* al déficit hídrico. Tesis Doctoral. Universidad Pública de Navarra.
11. GORC, H. 1993. La agricultura sustentable y su potencial en el trópico. Retos de la humanidad en el presente y en el futuro. Salidas que propone el IPIAT. Revista IPIAT. USA, 125p.
12. GONZÁLEZ Y COLS. 1995. Stress nitration fixation. *Journal of Experimental Botany*, USA46,151p.
13. HADRI, A. E., y N. J. BREWIN. 1998. Diversity of root nodulation and rhizobial infection processes, p 347-360. En: H. P. Spaink,, A. Kondorosi, and P. J. J. Hooykaas (eds), *The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda.

14. HERRIDGE, D.F y BROCKWELL, J. 1984. Effect of rhizobia and soil nitrate on the establishment and functioning of the soybean symbiosis in the field. *Aust. J. Agric. Res.*, 35:149-161.
15. JORDAN, D. C. 1984. Rhizobiaceae. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Edited by N.R. Krieg, Baltimore, Maryland. USA .pp 234-256.
16. JUTIAN SU y SHIGEO KATAGIR. 1990. Nitration Fixation in Tropical Soils. Edit. Faculty of life and Enviromentel Sciences. Shimane University, Matsuda, Japón.
17. LETT L. et al. 2000. Nodulación y rendimiento de soja en relación a diferentes alternativas de manejo cultural. Presentado en la II Reunión Científico Técnica de Biología del suelo del NOA, España.
18. MARTÍNEZ, E y J. CABALLERO. 1996. *Rhizobium* phylogenies and bacterial genetic diversity. *Critical Reviews in Plant Science* 15(2): 113-140.
19. MELLOR, R.B. y COLLINGE, D.B. J. 1995. *Nodulation and fixation. Exp. Bot*, Vol 46, USA 24p.
20. MORALES, J. 1995. Informe anual de la red Oleaginosas y leguminosas tropicales de Estación Experimental Pucallpa - INIA Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias - Pucallpa Perú.
21. POUPOT, y J.-C. PROMÉ. 1993. Nodulation factors from *Rhizobium tropici* are sulfated or nonsulfated chitopentasaccharides containing an N-methyl-N-acylglucosaminyl terminus. *Biochemistry*, USA, Vol32, p. 0430-10435.

22. PEÑALOSA, A. et al (1982) Comportamiento de variedades y/o líneas de soya (*Glycine max*) en suelos ácidos, neutros y sódicos del valle geográfico del río Cauca. Rev. ICA, Colombia, 155p.
23. SÁNCHEZ PEDRO y SALINAS G. JOSÉ. 1981. Low-Input Technology for Managing Oxisols and Ultisols in Tropical America. *Advances in Agronomy Academic Press. New York - U.S.A, Vol. 34. Pp. 380-382.*
24. SAUMELL, H. 1980. Soja, información técnica para su mejor conocimiento y cultivo. Editorial Hemisferio sur. Argentina, 145 p.
25. SOMASEGARAN O. y HOBEN H. 1985. *Methods in legume- Rhizobium NifTAL – Hawaii, 456p.*
26. UNESCO. 1995. *The Biology and fertility of tropical soils: Bibliography and Abstracts. Tropical Soil Biology and Fertility Program UNESCO - ROSTA, Nairobi, Kenya.*
27. VAN BERKIJM, y B. D. EEARLY. 1998. *Rhizobium mongolense* sp. Nov. is one of the three rhizobial genotypes identified which nodulate and form nitrogen-fixing symbioses with *Medicago ruthenica* (L.) Ledebour, *International Journal of Systematic Bacteriology* 48:13 -22.
28. VINCENT, J.M. 1980. *A Manual for the practical study of nodule bacteria. IMP Handbook N° 15. Blackwell Scientific Publications*

29. WOOMER, P. y BOHLOOL, B. 1988. Ecological indicators of native Rhizobia in tropical soils. Applied and Enviromental Microbiology 54:1112-1116. Hawaii- USA.

VIII. ANEXO

Cuadro No. 10. Análisis de varianza de la altura de plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrada media	F-calculada	Significancia
Repetición	3	421,08	140,36	1,92	N.S
Tratamiento	4	6142,10	1535,52	21,04	*
Error	12	875,85	72,99		
Total	19	7439,03			

C.V. 7.7%

Cuadro No. 11.: Análisis de varianza del número de vainas por planta de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrada media	F-calculada	Significancia
Repetición	3	43,34	14,45	2,26	N.S.
Tratamiento	4	151,69	37,92	5,94	*
Error	12	76,62	6,38		
Total	19	271,66			

C.V. 3.1%

Cuadro No.12. Análisis de varianza del número de semillas por vainas en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrada media	F-calculada	Significancia
Repetición	3	0,30	0,10	2,33	N.S.
Tratamiento	4	3.22	0,80	18,58	*
Error	12	0.52	0.04		
Total	19	4.04			

C.V. 10.71%

Cuadro No. 13. Análisis de varianza del peso de 100 granos de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo. Pucallpa, Perú, 1999.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrada media	F-calculada	Significancia
Repetición	3	2,86	0,95	3,49	N.S.
Tratamiento	4	73,46	18,37	67,15	*
Error	12	3,28	0,27		
Total	19	79,60			

C.V. 2.47 %

Cuadro No. 14. Promedio del número total de nódulos de *Rhizobium* en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium* que nodulan en condiciones de clima y suelo de Pucallpa, 1999.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrada media	F-calculada	Significancia
Repetición	3	473,86	157,95	1,62	N.S.
Tratamiento	4	229428,16	57357,04	589,63	*
Error	12	1167,32	97,28		
Total	19	231069,34			

C.V. 7.24 %

Cuadro No. 15. Promedio del numero de nódulos efectivos de *Rhizobium* en plantas de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo de Pucallpa, 1999.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrada media	F-calculada	Significancia
Repetición	3	596,46	198,82	1,80	N.S.
Tratamiento	4	227248,73	56812,18	514,37	*
Error	12	1325,39	110,45		
Total	19	229170,58			

C.V 7.89 %

Cuadro No. 16. Promedio del rendimiento en kilogramos por hectárea de soya (*Glycine max*) variedad Pacacocha, según la efectividad de cepas nativas de *Bradyrhizobium sp.* que nodulan en condiciones de clima y suelo de Pucallpa, 1999.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrada media	F-calculada	Significancia
Repetición	3	2778,41	926,14	1,68	
Tratamiento	4	262829,31	65707,33	119,15	
Error	12	6617,68	551,47		
Total	19	272225,40			

C.V:3.41 %

Cuadro No. 17. Datos meteorológicos de Octubre de 1998 a marzo de 1999, Pucallpa, Perú

	Mes	Temperatura °C			Precipitación pluvial mm	Humedad Relativa %	Radiación Solar Horas y décimas
		Max.	Min.	Med.			
1998	Octubre	32,7	22,8	27,7	140,0	85,5	168,2
	Noviembre	31,4	22,3	26,9	228,2	87,9	159,0
	Diciembre	31,3	21,9	25,8	179,1	88,0	104,2
1999	Enero	33,1	22,2	27,6	182,4	91,3	106,4
	Febrero	32,4	21,3	26,9	185,5	92,4	108,3
	Marzo	33,3	22,4	27,9	234,5	93,6	105,2
Promedio		32,4	22,2	27,1	191,6	89,8	125,2
Total					1149,7		

* Fuente: Estación climatológica principal, Dirección General de Investigación, Universidad Nacional de Ucayali

016458

Cuadro No. 18. Resultado del Análisis físico químico del suelo experimental, Octubre de 1998

Codigo muestra	Prof cm	%			Clase Textural	pH	Acid mEq	Ca mEq	Mg mEq	K mEq	CIC mEq	P ppm	M.O %	N %
		Aren	Arcl	Limo										
INIA E.E. Pucallpa	0-20	60,7	16,2	24,1	Franco Arenoso	4,6	12,8	3,52	1,23	0,35	17,97	16,2	1,82	0,06

Fuente: Laboratorio de Análisis de Suelos y tejidos, E.E. Pucallpa -INIA