



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Agronomía

Efecto de la inoculación de Rizobacterias en el crecimiento y desarrollo del cultivo de soya (*Glycine max* L.) bajo condiciones controladas en la Quinta experimental “La Argelia”

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma

AUTORA:

María Angela Silva Quezada

DIRECTOR:

Ing. Klever Iván Granda Mora PhD.

Loja – Ecuador

2024

Educamos para **Transformar**



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Sistema de Información Académico
Administrativo y Financiero - SIAAF

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, **Granda Mora Klever Ivan**, director del Trabajo de Integración Curricular denominado **Efecto de la inoculación de rizobacterias en el crecimiento y desarrollo del cultivo de soya (Glycine max L.) bajo condiciones controladas en la Quinta experimental "La Argelia"**, perteneciente al estudiante **MARIA ANGELA SILVA QUEZADA**, con cédula de identidad N° **1150735650**. Certifico que luego de haber dirigido el **Trabajo de Integración Curricular** se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de **Integración Curricular**, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Integración Curricular del mencionado estudiante.

Loja, 24 de Agosto de 2023



Empleo electrificado por:
KLEVER IVAN GRANDA
MORA

F) -----
DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



Certificado TIC/TT.: UNL-2023-000670

Autoría

Yo, **María Angela Silva Quezada**, declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional - Biblioteca Virtual.

Firma:

A handwritten signature in blue ink that reads "María Silva." The signature is written in a cursive style with a horizontal line underneath.

Cédula de identidad: 1150735650

Fecha: 18/06/2024

Correo electrónico: maria.a.silva@unl.edu.ec

Teléfono: 0996747939

Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular.

Yo, **María Angela Silva Quezada**, declaro ser autor del Trabajo de Integración curricular denominado: **Efecto de la inoculación de Rizobacterias en el crecimiento y desarrollo del cultivo de soya (*Glycine max* L.) bajo condiciones controladas en la Quinta experimental “La Argelia”**, como requisito para optar por el título de **Ingeniera Agrónoma** autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización suscribo, en la ciudad de Loja a los 18 días del mes de junio de dos mil veinticuatro.

Firma:



Autor: María Angela Silva Quezada

Cédula de identidad: 1150735650

Dirección: Av. Pablo Palacio - Barrio San José de Carigán.

Correo electrónico: maria.a.silva@unl.edu.ec

Celular: 0996747939

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora del Trabajo de titulación: Ing. Klever Iván Granda Mora, PhD.

Dedicatoria

La presente investigación lo dedico a mi familia, esencialmente a mis padres Isabel Quezada y Ángel Silva que han sido mi fuerza y mi apoyo incondicional para continuar con mis estudios y superarme como persona, a mis hermanos Nathaly, Geordyn, Juanito, Ángel y Dany, quienes han estado siempre presentes en el transcurso de mi carrera y me han brindado su apoyo cuando más lo necesitaba.

Maria Angela Silva Quezada

Agradecimiento

Primero le agradezco a Dios por permitirme llegar hasta este momento en mi vida, por iluminarme y darme la sabiduría suficiente para afrontar cada obstáculo durante el transcurso de la carrera, a mis padres Ángel Solanito Silva Salinas y Luz Isabel Quezada Ramón por estar siempre conmigo brindándome su apoyo, por creer en mí, guiarme, por formarme como persona e incentivar me valores los cuales me han ayudado a formarme y llegar a cumplir una meta más en mi vida.

A mis hermanos Naty, Geordyn, Juan, Ángel y Dany, por estar presentes y brindándome su ayuda en cada práctica que realizaba, por motivarme a continuar con mis estudios y por sus ánimos y risas cuando me sentía decaída y cansada.

A mis amigos y compañeros, por compartir momentos maravillosos, por su solidaridad, paciencia y ayuda en cada tarea o práctica.

A mis profesores quienes han sido a base fundamental para llegar hasta esta meta, transmitiéndome nuevos conocimientos y enseñanzas.

A mi director Ing. Iván Granda, por la paciencia y ayuda durante todo el desarrollo de mi investigación.

Maria Angela Silva Quezada

Índice de contenido

Portada	i
Certificación.....	ii
Autoría	iii
Carta de autorización.	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
1. Título	1
2. Resumen.....	2
Abstract	3
3. Introducción	4
4. Marco teórico	7
4.1.1. Taxonomía.....	7
4.1.2. Origen	7
4.1.3. Importancia.....	8
4.1.4. Distribución geográfica en Ecuador	8
4.1.5. Morfología.....	9
4.1.6. Condiciones Climáticas	10
4.2. Fenología del cultivo de soya	10
4.3. Requerimientos Nutricionales	12
4.4. Manejo Agronómico.....	13
4.4.1. Siembra.....	13
4.4.2. Poblaciones y distancia de siembra	13
4.4.3. Fertilización	13
4.5. Variedad de soya INIAP 308.....	14
4.6. Microorganismos benéficos para la agricultura.....	15
4.7. Inoculantes Microbianos.....	16
4.7.1. <i>Bradyrhizobium</i>	17
4.7.2. <i>Azospirillum</i>	18
4.8. Inoculación	18
4.9. El nitrógeno del suelo.....	18
5. Metodología	20
5.1. Localización del área de estudio	20

5.2. Tipo de investigación	20
5.2.1. Diseño Experimental	21
5.3. Modelo matemático.....	22
5.4. Metodología General.....	22
5.5. Metodología para el Primer Objetivo.....	23
5.6. Metodología para el Segundo Objetivo	24
5.7. Análisis estadístico.....	26
6. Resultados	27
6.1. Resultados para el primer objetivo.....	27
6.1.1. Germinación	27
6.1.2. Diámetro del tallo.....	27
6.1.3. Altura de la planta	28
6.1.4. Número de hojas	29
6.1.5. Número de nódulos	30
6.1.6. Peso seco de nódulos.....	31
6.1.7. Peso seco radicular	32
6.2. Resultados para el segundo objetivo	32
6.2.1. Medición con SPAD	32
6.2.2. Contenido de nitrógeno	33
6.2.3. Materia seca aérea	34
7. Discusión.....	36
8. Conclusiones	42
9. Recomendaciones.....	43
10. Bibliografía	44
11. Anexos	47

Índice de Figuras

Figura 1: Rendimiento internacional por años y por países del cultivo de soya (MAG, 2021).	8
Figura 2: Distribución Geográfica de la soya en Ecuador.	9
Figura 3: Mapa de localización del área de estudio; Estación Experimental “La Argelia”.	20
Figura 4: Diseño experimental.	21
Figura 5: Dinámica del porcentaje de germinación considerado a partir del tercer día después de la siembra.	27
Figura 6: (A): Efecto de los tratamientos en el parámetro de diámetro del tallo a los 90 DDS; (B): Diámetro del tallo de las plantas de soya con frecuencia de 8 días evaluadas en mm.	28
Figura 7: (A): Efecto de la altura de las plantas de soya a los 90 DDS; (B): Incremento de altura de las plantas de soya evaluadas en cm desde los 15 hasta los 90 DDS.	29
Figura 8: (A): Efecto de la inoculación de rizobacterias frente al parámetro número de hojas, a los 90 DDS. (B): Incremento del número de hojas con frecuencia de 8 días, en las plantas de soya.	30
Figura 9: Evaluación del número de nódulos encontrados en las plantas de soya a los 90 DDS presentes en las raíces primarias y secundarias (Anexo 14).	30
Figura 10: Peso seco de los nódulos determinado a los 90 DDS, fecha en la que se finalizó el ensayo. (Anexo 15).	31
Figura 11: Evaluación del peso seco de la raíz, evaluado en g a los 90 DDS, fecha en la cual se dio como finalizado el ensayo (Anexo 16).	32
Figura 12: (A): Evaluación del índice SPAD de las plantas de soya de los promedios a los 90 DDS; (B): Dinámica del índice de clorofila desde los 15 días hasta 90 DDS. (Anexo 18).	33
Figura 13: Contenido de Nitrógeno determinado en g, obtenido de todos los tratamientos, adicional a ellos el control, a partir del método de Kjeldahl (Anexo 17).	33
Figura 14: Evaluación del peso de masa seca aérea determinado en base seca.	35

Índice de Tablas

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la soya Cortez (2020).	7
Tabla 2: Principales provincias productoras de soya en Ecuador (MAG, 2021).....	8
Tabla 3: Fenología del cultivo de soya en base a la escala desarrollada por Fehr et al, (1971), más utilizada para la descripción de los estadios fenológicos externos del cultivo de soja.	10
Tabla 4: Recomendación de fertilización con N, P, K y S para el cultivo de soya (INIAP, 2014).	14
Tabla 5: Características de la Soya var. INIAP 308.	14
Tabla 6: Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, efectos y cultivos antes evaluado. .	15
Tabla 7: Tabla resumen de los tratamientos con sus respectivas dosis y número de aplicaciones que se aplicó en el ensayo.	21
Tabla 8: Porcentaje de fijación biológica de nitrógeno, determinado a partir de la fórmula de %FBN.	34
Tabla 9: Análisis de correlación entre variables.	35

Índice de Anexos

Anexo 1: A) Siembra; B) Primera aplicación de tratamientos; C) Segunda aplicación de tratamientos (15DDS).....	47
Anexo 2: Emergencia de las plantas de soja (8DDS) / Primera toma de datos SPAD.....	47
Anexo 3: Colocación de trampas etológicas para el control de la mosca blanca; Uso de cebolla de hoja como repelente para plagas.	48
Anexo 4: Floración del cultivo a los 73 DDS.....	48
Anexo 5: Extracción de las plantas para la contabilización de nódulos.....	48
Anexo 6: Nódulos encontrados y por consiguiente presencia de leghemoglobina en el tratamiento 2.	49
Anexo 7: Registro del peso de las muestras antes y después de ingresar a estufa a 60°.	49
Anexo 8: Trituración de muestras / Ingreso de las muestras a estufa	50
Anexo 9: Fase de laboratorio (Contenido de N).....	50
Anexo 10: Análisis estadístico de la altura de las plantas de soja a los 90 DDS.	50
Anexo 11: Análisis estadístico del diámetro del tallo a los 90 DDS.....	51
Anexo 12: Análisis estadístico de la variable número de hojas.	51
Anexo 13: Análisis estadístico del número de nódulos, variable evaluada a los 90 DDS.	51
Anexo 14: Análisis estadístico del peso seco de los nódulos.	51
Anexo 15: Análisis estadístico del peso seco de la raíz.	52
Anexo 16: Análisis estadístico del Contenido de nitrógeno.....	52
Anexo 17: Análisis de varianza de la variable masa seca aérea.	52
Anexo 18: Análisis estadístico del Índice SPAD a los 90 DDS.....	52
Anexo 19: Protocolo de laboratorio para determinar la materia seca total de las muestras de soja.	53
Anexo 20: Procedimiento del método de KJELDAHL.....	55
Anexo 21: Certificación de traducción del resumen.	56

1. Título

Efecto de la inoculación de Rizobacterias en el crecimiento y desarrollo del cultivo de soya (*Glycyne max* L.) bajo condiciones controladas en la Quinta experimental “La Argelia”.

2. Resumen

La soya es una oleaginosa de gran importancia económica en el Ecuador, reconocida a nivel mundial por su composición nutricional, destacándose por su alto grado de concentración de aceite y contenido de proteínas, su producción en Ecuador se concentró en las provincias de Los Ríos y Guayas, registrando una superficie cosechada de 13 399 ha con una producción de 28 818 t. El objetivo de la investigación consistió en determinar el efecto de la aplicación de diferentes rizobacterias en los parámetros de crecimiento y desarrollo del cultivo de soya. El proyecto se ejecutó en la Estación Experimental La Argelia bajo condiciones de invernadero, aplicando un DCA con 5 tratamientos y 10 repeticiones. Las variables evaluadas fueron, porcentaje de germinación, altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas, índice de clorofila, cuantificación de N total, número de nódulos, peso seco de los mismos y masa seca de la parte aérea, el registro de datos se tomó con una frecuencia semanal. Los resultados concernientes a parámetros de crecimiento, desarrollo del cultivo, contenido de nitrógeno y masa seca aérea fueron significativos con la inoculación de las rizobacterias. Los resultados promisorios del uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y la estimulación efectiva en soya abren las puertas para su uso potencial para mejorar los rendimientos de este cultivo y reducir la aplicación de fertilizantes químicos.

Palabras clave: soya, rizobacterias, contenido de N, nódulos, fertilizantes químicos

Abstract

Soybeans are an oilseed of great economic importance in Ecuador, recognized worldwide for their nutritional composition, with a high oil concentration and protein content; its production in Ecuador is concentrated in the provinces of Los Ríos and Guayas, with a harvested area of 13,399 ha and a production of 28,818 t. The objective of the research was to determine the effect of the application of different rhizobacteria on the growth and development parameters of the soybean crop. The project was carried out at the La Argelia Experimental Station under greenhouse conditions, applying a DCA with 5 treatments and 10 replications. The evaluated variables were, germination percentage, plant height, stem diameter, number of leaves, chlorophyll index, total N quantification, number of nodules, nodule dry weight and dry mass of the aerial part, the data were recorded week. The results concerning growth parameters, crop development, nitrogen content and aerial dry mass were significant with rhizobacteria inoculation. The promising results of the use of plant growth-promoting bacteria and effective stimulation in soybean open the door for their potential use to improve soybean yields and reduce the application of chemical fertilizers.

***Key words:** soybean, rhizobacteria, growth parameters, nitrogen content, chemical fertilizers.*

3. Introducción

La soya (*Glycine max* L.) es considerada como una oleaginosa de gran importancia económica en el Ecuador, reconocida a nivel mundial como una especie estratégica debido a su composición nutricional, destacándose por su alto grado de concentración de aceite y contenido de proteínas, por ello este cultivo es de suma importancia para la industria de aceites vegetales (Suárez, 2022).

En el año 2020, la superficie sembrada de soya en nuestro país fue de 27 960 hectáreas, lo que representó el 5,7 % de la superficie total que se requiere para cubrir la demanda nacional. Las provincias más productoras en el país son Los Ríos, Guayas, Santa Elena, Bolívar, Loja y Morona Santiago (Sánchez et al., 2020).

El nitrógeno es uno de los elementos de mayor importancia para la nutrición de las plantas y más ampliamente distribuido en la naturaleza, representa el 78 % de los gases que componen la atmósfera, sin embargo, no se encuentra totalmente disponible para las plantas (Fornasari & Toniutti, 2015), por lo que los cultivos requieren un importante aporte extra de nitrógeno. El incremento en el costo de los insumos agrícolas, la pérdida de la fertilidad del suelo y el uso inadecuado de fertilizantes nitrogenados ha ocasionado graves problemas ambientales, generalmente en los suelos, causando lixiviación, erosión y contaminación, ya que no todo el fertilizante aplicado por los agricultores es aprovechado eficientemente por la planta, sino que una cantidad importante acaba en lagos, lagunas y ríos (Díaz et al., 2021). Por otra parte, en la actualidad los rendimientos en el cultivo de soya han disminuido precisamente por el uso indiscriminado de productos con alta toxicidad que afectan su desarrollo, así como la fertilidad del suelo, lo que ha ocasionado grandes pérdidas para los productores (Soto et al., 2021). Todos estos problemas impulsan la búsqueda de estrategias sustentables de nutrición.

Es conocido que la alta demanda de nitrógeno del cultivo es mayoritariamente cubierta a partir del proceso de fijación biológica de N atmosférico (FBN) mediante la simbiosis entre la leguminosa y los rizobios. El cultivo obtiene entre el 30 y 94 % de sus requerimientos de N a partir de esta simbiosis (Nápoles et al., 2009).

La inoculación con bacterias ha sido abundantemente estudiada con la finalidad de disminuir el uso de químicos por los efectos que pueden aportar en el desarrollo y crecimiento de un sinnúmero de cultivos, y por ello se dice que el uso de rizobacterias como *Bradyrhizobium* spp.

en el cultivo de soya ha hecho posible que se considere como una práctica alterna para reemplazar el uso de fertilizantes inorgánicos en el cultivo, ya que (Díaz et al., 2017) establecieron que la soya depende de la fijación biológica del nitrógeno atmosférico mediante bacterias simbióticas. Hidalgo & Castaño (2014) también manifestaron que las cepas nativas de *Bradyrhizobium* y Micorrizas presentan un alto potencial para incrementar el rendimiento y la fijación del nitrógeno, y pueden por tanto ser seleccionadas para ser utilizadas como biofertilizantes.

Se conoce que el uso de la bacteria *Bradyrhizobium* spp. ha sido muy eficiente en el cultivo de soya en diferentes países como México y Argentina (Ferraris, 2015), pero en Ecuador que se caracteriza por un clima muy variado se han realizado muy pocas investigaciones, y en la provincia de Loja no se ha estudiado la importancia del uso de las rizobacterias, por lo cual esta investigación se realizó con el fin de conocer el efecto de su interacción con el cultivo de soya bajo condiciones controladas y con ello aportar con un bioproducto final a base de estos microorganismos, beneficiando a la sociedad y a los grandes productores de soya.

Por lo antes mencionado, se planteó en la presente investigación evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias sobre parámetros de crecimiento y así mismo cuantificar el nitrógeno en plantas de soya.

En este contexto, el presente estudio está vinculado a la línea de investigación de la Universidad Nacional de Loja denominada “Sistemas agropecuarios sostenibles para la soberanía alimentaria”. Así mismo, el plan de estudio de la Carrera de Agronomía presenta la sublínea conocida como “Tecnologías para la producción y posproducción agrícola sostenible”, y también es importante mencionar que el presente proyecto se encuentra vinculado con el programa institucional denominado “Bioproducto mixto con microorganismos benéficos para su aplicación en cultivos hortícolas” para con ello contribuir a reducir el uso excesivo de agroquímicos y reemplazarlos con un manejo orgánico. Además de ello esta investigación se encuentra relacionada directamente con el Segundo Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS 2) de las Naciones Unidas denominado “Hambre cero”.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar el efecto de la aplicación de rizobacterias sobre parámetros de crecimiento, desarrollo y contenido de nitrógeno en el cultivo de soya bajo condiciones controladas.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias sobre parámetros de crecimiento y desarrollo del cultivo de soya.
- Cuantificar el nitrógeno en plantas de soya a partir de la aplicación de rizobacterias.

4. Marco teórico

4.1. Cultivo de soya (*Glycine max* L.)

4.1.1. Taxonomía

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la soya Cortez (2020).

Reino:	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Orden:	Fabales
Familia:	Fabaceae
Género:	<i>Glycine</i> Willd., 1802
Especie	<i>G. max</i> (L.) Merr., 1917

4.1.2. Origen

La soya se centraba fundamentalmente en el noroeste de China. Según la tradición fueron los monjes budistas quienes la introdujeron en el Japón en el siglo VII, donde se convirtió en un cultivo popular. A principios del siglo XIX se comenzó a cultivar en Estados Unidos. Sin embargo, en Europa y en Norteamérica, la soya no se utilizó en la alimentación humana hasta bien entrado el siglo XX. En el año 1929 se plantó la primera cosecha de soya para suministrar semillas para la elaboración de salsa de soya. Desde esos inicios tempranos, la importancia de la soya ha sido bastante espectacular. El nombre de la soya proviene del antiguo vocablo chino “sou”, tal y como se denominaba antiguamente (Cortez, 2020).

La soya fue descubierta por el emperador chino Sheng-Nung hace más de tres milenios. Disponía de grandes campos de cultivo sembrados con esta leguminosa, y se dedicaba activamente a estudiar y describir sus propiedades alimenticias y medicinales. Para los emperadores chinos esta leguminosa era una de las cinco semillas sagradas, junto con el arroz, el trigo, la cebada y el mijo, la reconocían no solo por sus propiedades nutritivas, sino también por sus propiedades para prevenir enfermedades (Cortez, 2020).

4.1.3. Importancia

Según MAG (2021) a nivel nacional, la producción de soya se concentró en las provincias de Los Ríos y Guayas (Fig. 1), registrando una superficie cosechada en el 2021 de 13 399 has con una producción de 28 818 t; representando un incremento de 48 % con respecto al año 2020. De igual manera, el rendimiento nacional del año 2021 ascendió a 2,15 t/ha, significando un incremento de 0,51 t/ha en relación al rendimiento del período anterior (Tabla 2).

Tabla 2: Principales provincias productoras de soya en Ecuador (MAG, 2021).

Provincia	UPA	Superficie (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t/ha)
Nacional	4,814	13,399	28,818	2.15
Los Ríos	2,868	7,644	15,851	2.07
Guayas	1,946	5,755	12,967	2.25

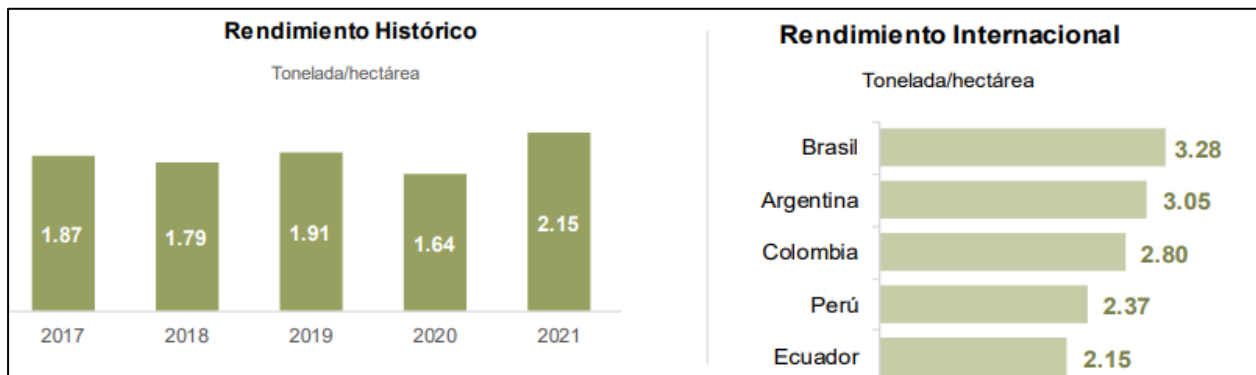


Figura 1: Rendimiento internacional por años y por países del cultivo de soya (MAG, 2021).

4.1.4. Distribución geográfica en Ecuador

La distribución geográfica se encuentra principalmente extendida en las provincias de Los Ríos con 15,851 t y Guayas con 19,967 t (Fig. 2) siendo estas las que se dedican a una mayor producción de soya, considerando desde los pequeños hasta los grandes productores (mayor a 10 ha) (MAG, 2021).

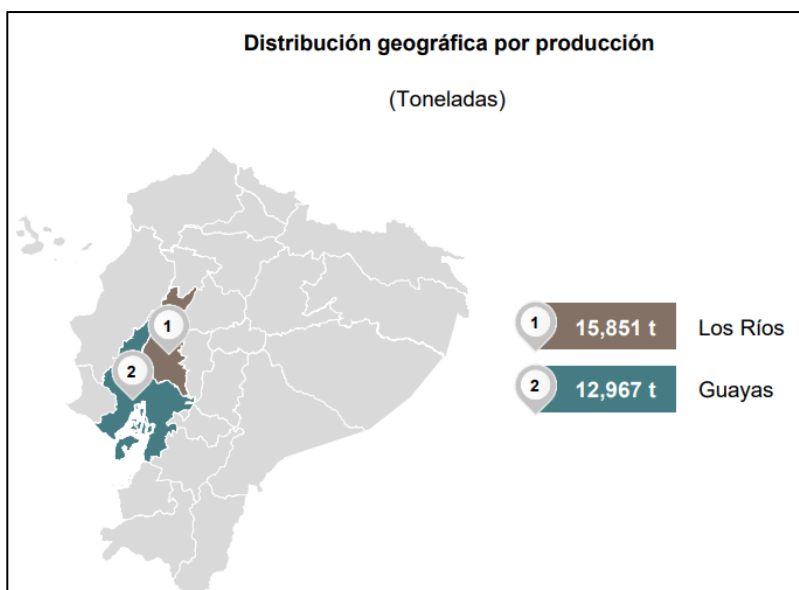


Figura 2: Distribución Geográfica de la soya en Ecuador.

4.1.5. Morfología

Espinoza (2015) establece la siguiente descripción morfológica para el cultivo de soya.

- **Planta:** Planta herbácea anual, con ciclo vegetativo de tres a siete meses y de 40 a 100 cm de envergadura.
- **Tallo:** Ramificado, pubescente, rígido y erecto, adquiere alturas de 0,4 a 1,5 m, según la variedad y las condiciones del cultivo. Tiende a encamarse, pero existen variedades resistentes al vuelco.
- **Sistema radicular:** Es potente y la raíz principal puede alcanzar hasta un metro de profundidad, aunque lo normal es que no supere los 40-50 cm. En la raíz principal y las raíces secundarias se encuentran los nódulos.
- **Hojas:** Son trifoliadas, alternas, pubescentes y compuestas, excepto las basales, que son simples, presentan folíolos oval-lanceolados de color verde característico que se torna amarillo en la madurez, quedando las plantas sin hojas.
- **Flores:** están dispuestas en inflorescencias racemosas axilares en número variable. Presentan color blanquecino o púrpura, y son amariposadas, esto es según la variedad.
- **Fruto:** Es una vaina dehiscente por ambas suturas, la longitud de la vaina puede variar de 2 a 7 cm. Cada fruto puede contener de tres a cuatro semillas.

- **Semilla:** Rica en proteínas y aceites, generalmente es esférica, del tamaño de un guisante y de color amarillo, su tamaño es mediano (100 semillas pesan desde 5 hasta 40 g, en las variedades comerciales oscila de 10 a 20 g). En algunas variedades mejoradas se presenta un balance de aminoácidos esenciales, destacando la lisina y leucina como las más importantes por lo cual el contenido de proteína es alrededor del 40-42 % y en aceites es de 20-22 %, respecto a su peso seco. A la madurez, las vainas tienen 2 - 3 semillas, pero pueden contener hasta 4 y en su forma varían desde la casi esférica, hasta discos casi aplanados y el color desde el verde pálido y amarillo hasta el marrón oscuro; son pubescentes y se encuentran distribuidas a lo largo del tallo o ramas que también lo son, al igual que las hojas. La semilla consta de cutícula y embrión; el embrión está formado por los dos cotiledones; la plúmula tiene las dos hojas unifoliadas, el hipocótilo y la radícula.

4.1.6. Condiciones Climáticas









INIAP (2014) menciona que los requerimientos climáticos y edáficos de adaptación para el cultivo de soya son los siguientes:





- **Precipitación:** 450 mm a 650 mm durante el ciclo.
- **Temperatura:** 22 a 30 °C.
- **Altitud:** 0 a 1 200 msnm.
- **Suelo:** Franco arenoso o franco arcilloso, bien drenados.
- **pH:** 5,5 a 7
- **Luz:** 12 horas de luz por día

4.2. Fenología del cultivo de soya

Tabla 3: Fenología del cultivo de soya en base a la escala desarrollada por Fehr et al, (1971), más utilizada para la descripción de los estadios fenológicos externos del cultivo de soja.

ETAPA VEGETATIVA			
VE: Emergencia	VC: Etapa cotiledonar	V1: (1er nudo)	V2: (2do nudo)

<p>Hipocótilo en forma de arco, empujando al epicótilo y a los cotiledones, haciéndolos emerger sobre la superficie</p> 	<p>El hipocótilo se endereza, los cotiledones se despliegan totalmente y en el nudo inmediato superior los bordes de las hojas unifoliadas no se tocan.</p> 	<p>El par de hojas opuestas unifoliadas están expandidas totalmente.</p> 	<p>1er hoja trifoliada ya desplegada, y en el nudo superior los bordes de cada uno de los folíolos de la 2da hoja trifoliada no se están tocando.</p> 
<p>R5: Inicio de formación de semillas</p>	<p>R6: Semilla desarrollada</p>	<p>R7: Inicio de maduración</p>	<p>R8: Maduración completa</p>
<p>Una vaina, ubicada en uno de los 4 nudos superiores del tallo principal, contiene una semilla de 3 mm de largo. La planta logra su altura máxima, número de nudos y área foliar.</p> 	<p>Fijación de N, rápida acumulación de materia seca y nutrientes. Decae el ritmo de acumulación de peso seco y nutrientes, el envejecimiento de las hojas y su caída inicia en los nudos inferiores y continúa hacia arriba.</p> 	<p>La semilla alcanza la madurez fisiológica cuando finaliza la acumulación de peso seco, y junto con la vaina, van perdiendo su coloración verde. La semilla contiene el 60 % de humedad.</p> 	<p>El 95 % de las vainas de la planta han alcanzado el color de madurez. Luego de R8, se necesitan cinco a diez días de tiempo seco (baja humedad relativa ambiente), para que las semillas reduzcan su humedad por debajo del 15 %</p> 
<p>ETAPA REPRODUCTIVA</p>			
<p>R1: Inicio de Floración</p>	<p>R2: Floración completa</p>	<p>R3: Inicio de formación de vainas</p>	<p>R4: Vainas desarrolladas</p>

<p>La floración comienza en la parte media de la planta progresando hacia la parte superior e inferior. La aparición de nuevas flores alcanza su máximo entre R2,5-R3 y culmina en R5.</p> 	<p>Comienzo de un período de acumulación diaria y constante de materia seca y nutrientes que continuará hasta poco después de R6; el ritmo de fijación de los nódulos aumenta rápidamente.</p> 	<p>La formación de vainas se inicia en los nudos inferiores, en este momento en la misma planta se encuentran vainas formándose, flores marchitas y flores abiertas.</p> 	<p>Algunas de las vainas de los nudos inferiores del tallo principal han alcanzado su máximo tamaño, pero en general la mayoría lo logra en R5.</p> 
--	--	---	---

Fuente: (Toledo, 2016).

4.3. Requerimientos Nutricionales

Baigorri & Juárez (2010), manifiestan que en la soja los nutrientes no minerales como carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O) son los principales componentes de la materia seca de la planta, representando aproximadamente entre el 91 al 93% de la misma y se obtienen o absorben como CO₂, H₂O y O₂ libre atmosférico.

Nutrientes minerales: Son obtenidos del suelo y en el caso del nitrógeno (N), también del aire por el proceso de fijación; representan aproximadamente entre 7 al 9% de la materia seca (MS) de la planta.

Son subdivididos en:

- a; Primarios:** nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) (6% de la MS).
- b; Secundarios:** calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) (1,7% de la MS).
- c; Micronutrientes:** hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), cobre (Cu), boro (B), zinc (Zn) y cloro (Cl) (0,2% de la MS). A esta lista se agrega el cobalto (Co), que es beneficioso para

la fijación de N₂. El elemento esencial más recientemente descubierto para la soja es el níquel (Ni), que es requerido únicamente por la soja, cuando fija N₂ simbióticamente.

4.4. Manejo Agronómico

4.4.1. Siembra

La fecha de siembra está relacionada con la cosecha debido a que esta labor necesita un período completamente seco. Es por ello que el cultivo debe realizarse en rotación, inmediatamente después de la cosecha del arroz o maíz, con el fin de prevenir la incidencia de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y de la roya asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) y para aprovechar al máximo la humedad residual que queda en los suelos después de la época lluviosa. La siembra durante la época lluviosa puede conllevar una serie de problemas, esto debido a la alta humedad relativa del ambiente; pueden presentarse enfermedades fungosas como: “Mildiu Velloso” (*Peronospora manshurica*), “Cercosporiosis” (*Cercospora sojina*) y “Mancha Púrpura” de la semilla (*Cercospora kikuchii*), y además de insectos-plaga, se da el volcamiento de plantas y granos de mala calidad. En cambio, en siembras tardías, además de la incidencia de plagas, el cultivo también se ve afectado en su rendimiento por la falta de humedad, principalmente en las etapas críticas como es la floración, formación y llenado de los granos (INIAP, 2014).

4.4.2. Poblaciones y distancia de siembra

La respuesta del cultivo de soja a la población y el espaciamiento entre hileras depende de la altura de la variedad, su resistencia al volcamiento, su habilidad para ramificar y para interceptar la mayoría de la radiación solar. Para obtener los máximos rendimientos y un buen tipo de planta, se debe utilizar semilla certificada con una germinación superior al 85 %, con lo que se obtendrán poblaciones de plantas adecuadas, mientras que la distancia de siembra entre surcos puede variar de 35 a 45 cm (INIAP, 2014).

4.4.3. Fertilización

El cultivo de soja requiere de la inoculación con la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* que son organismos que viven en simbiosis con esta planta formando nódulos en las raíces. Se puede emplear en suelos que no han sido anteriormente sembrados con soja, se recomienda que se inocule la semilla a utilizarse por hectárea con 500 g de la bacteria indicada. Posteriormente, en cada ciclo de siembra se debe volver a inocular la semilla con 300 g. Antes de la siembra es

conveniente realizar un análisis químico del suelo, para con base en la interpretación de los resultados realizar las aplicaciones de fertilizantes con Nitrógeno, Fósforo, Potasio y Azufre (Tabla 4) (INIAP, 2014).

Tabla 4: Recomendación de fertilización con N, P, K y S para el cultivo de soya (INIAP, 2014).

Interpretación del análisis de suelos	kg ha ⁻¹			
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	S
Bajo	46	34	50	24
Medio	23	23	30	12
Alto	0	0	0	0

Las aplicaciones de los fertilizantes a base de fósforo, potasio y el 50 % de la dosis del Nitrógeno deben aplicarse al voleo sobre la superficie del suelo e incorporarlos con el último pase de rastra; el 50 % restante del Nitrógeno junto al azufre debe aplicarse en bandas a los 15 o 25 días de edad del cultivo. Para el caso de siembra directa debe incorporarse con el mismo implemento de siembra en la hilera (INIAP, 2014).

4.5. Variedad de soya INIAP 308

A continuación, se detallan las características agronómicas, morfológicas y la reacción a las plagas de la variedad INIAP 308 establecidas por Guamán & Andrade (2009).

Tabla 5: Características de la Soya var. INIAP 308.

Características Agronómicas	Características Morfológicas
<ul style="list-style-type: none"> • Hábito de crecimiento: Determinado • Días a floración: 40 a 46 	<ul style="list-style-type: none"> • Color del hipocótilo: Púrpura • Color de la flor: Púrpura

<ul style="list-style-type: none"> • Días a cosecha: 110 a 120 • Altura de planta (cm): 67 a 78 • Altura de 1 ero Vaina (cm): 14 a 16 • Acame de plantas: Tolerante • Vainas por planta: 49a 74 • Semillas por planta: 109 a 150 • Semillas por vaina: 2 a 3 • Peso de 100 semillas (9): 17 a 20 • Rendimiento promedio (kg ha-1): 3984 • Concentración de aceite: 180/0 • Concentración de proteína: 38 % 	<ul style="list-style-type: none"> • Color de pubescencia: ceniza • Color de vaina: café claro • Color de semilla: Amarilla • Forma de la semilla: Oval • Color de hilium: Café claro
Reacción a plagas	
<ul style="list-style-type: none"> • Insectos defoliadores: Tolerante • <i>Cercospora sojina</i>: Tolerante • <i>Cercospora kikuchii</i>: Tolerante • <i>Peronospora manshurica</i>: Tolerante • <i>Phakopsora pachyrhizi</i>: Susceptible • Virosis: Tolerante • <i>Meloidogyne</i> incógnita: Susceptible 	

4.6. Microorganismos benéficos para la agricultura

Tabla 6: Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, efectos y cultivos antes evaluado.

RPCV	Efecto	Cultivos
------	--------	----------

<i>Azospirillum</i> spp., <i>Azotobacter</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Burkholderia</i> spp., <i>Gluconacetobacter</i> spp., <i>Herbaspirillum</i> spp.	Biofertilización, Fijan N ₂	Maíz, arroz, trigo, sorgo, caña de azúcar
<i>Bacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Paenibacillus</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Azospirillum</i> spp.	Biocontrol (enfermedades, patógenos e insectos)	Tomate, tabaco, pepino, pimiento morrón, maní, alfalfa, garbanzo, frijol, ciruelo.
<i>Methylobacterium</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Alcaligenes</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Variovorax</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Azospirillum</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp.	Elongación, crecimiento	Nabo, clavel, canola, soya, frijol, maíz, judías, chicharos.
<i>Aeromonas</i> spp., <i>Agrobacterium</i> spp., <i>Alcaligenes</i> spp., <i>Azospirillum</i> spp., <i>Bradyrhizobium</i> spp., <i>Comamonas</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp., <i>Paenibacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.	Productoras de fitohormonas [ácido- 3-indol-acético (AIA), citoquininas, giberelinas]	Arroz, lechuga, trigo, soya, rábano, colza, aliso.

Fuente: (Moreno Reséndez et al., 2018)

4.7. Inoculantes Microbianos

Los inoculantes microbianos pueden definirse como productos a base de microorganismos que viven en el suelo y que al incrementar su población pueden beneficiar a la planta. Es decir, se denominan biofertilizantes a aquellos que mejoran la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Estos productos pueden propiciar el aprovechamiento de una fuente de nutrientes renovables, como sucede cuando se inocula con microorganismos fijadores de nitrógeno atmosférico, o aumentar la disponibilidad de nutrientes poco móviles del suelo, como el fósforo. En este sentido, su aplicación permite reducir el uso de fertilizantes químicos. Diferentes microorganismos del

suelo se utilizan para la producción de inoculantes. Entre ellos se destacan los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* y *Streptomyces*. Estos microorganismos habitan la rizosfera y promueven el crecimiento de las plantas, por tal razón se los denomina PGPR, se traduce como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Creus, 2017).

Las PGPR colonizan el sistema radicular incrementando en muchos casos la superficie de la rizosfera y 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 (Cedeño et al., 2017).

4.7.1. *Bradyrhizobium*

Es uno de los varios géneros de bacterias fijadoras de nitrógeno capaces de formar nódulos simbióticos en las leguminosas. Las cepas de *Bradyrhizobium* se designaron previamente como *Rhizobium* de crecimiento lento y se reconocieron como un género independiente en 1982. El número de especies de *Bradyrhizobium* ha aumentado considerablemente en los últimos años. En particular, hay bacterias fotosintéticas entre los bradirizobios que no necesitan factores Nod para inducir nódulos y esto abrió una nueva área de investigación sobre la nodulación de las plantas. Los bradirizobios no simbióticos son dominantes en los suelos forestales (Ormeño & Martínez, 2019).

Diferentes especies de *Bradyrhizobium* son los principales simbioses de nódulos de leguminosas de cultivos importantes como la soja, el frijol Lima o el maní y han sido aisladas de nódulos de muchas leguminosas tropicales y templadas. Los simbioses ancestrales en *Phaseolus* podrían haber sido bradyrhizobia con un cambio simbiote posterior a *Rhizobium* en nódulos de algunas especies templadas de *Phaseolus* (Ormeño & Martínez, 2019).

El género más estudiado de esta especie es *Bradyrhizobium japonicum*, una bacteria fijadora de nitrógeno gram negativa, en forma de barra, que desarrolla una simbiosis con la planta de soja *Glycine max*, pertenece a la familia *Rhizobiaceae* que incluye otras bacterias fijadoras de nitrógeno que desarrollan simbiosis con leguminosas (Cedeño et al., 2017).

4.7.2. *Azospirillum*

Es una bacteria gram negativa, rizosférica y promotora de crecimiento. Entre los efectos más principales se encuentra la fijación de nitrógeno, la promoción de la elongación de la raíz, desarrollo de raíces adventicias y laterales, así como mayor ramificación de raíces, debido a estos beneficios se denomina como una bacteria promotora de crecimiento de plantas en general (Palacios, 2015).

Entre los diversos mecanismos de promoción de crecimiento que puede llevar a cabo esta bacteria, se encuentra la producción de fitohormonas como auxinas y giberelinas, las cuales alteran el metabolismo de plantas facilitando la absorción de minerales y agua (Palacios, 2015).

4.8. 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 de *Rhizobium* (como un inoculante) sobre la semilla o en el surco de la siembra. 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 (Cedeño et al., 2017).

4.9. El nitrógeno del suelo

El nitrógeno del suelo es uno de los elementos de mayor importancia para la nutrición de las plantas y está ampliamente distribuido en la naturaleza. Se asimila por las plantas en forma catiónica de amonio NH_4^+ o de nitrato NO_3^- . A pesar de su 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), u óxido nítrico (NO), dióxido de nitrógeno (NO_2), amoníaco (NH_3) y nitrógeno molecular presente en la atmósfera del suelo (N_2) (Cedeño et al., 2017).

Antecedentes

En Argentina estudiaron la coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Brad*, en la cual observaron que la nodulación en estadios vegetativos y reproductivos fue superior en la aplicación de *Br* + *Azo* con respecto a *Br*. Por lo cual se deduce un efecto de estimulación del crecimiento en el cultivo de soja con la aplicación de *Az. brasilense* junto a *Brad. japonicum* (Benintende et al., 2010).

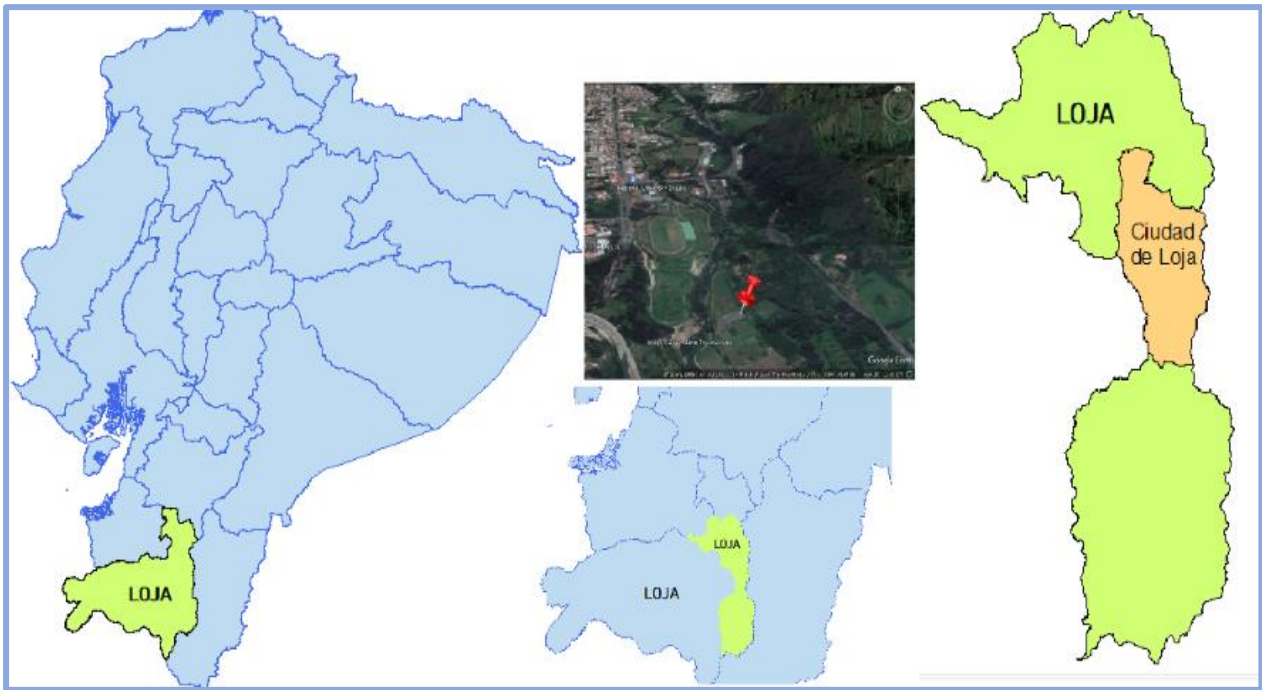
Por otro lado, también se ha investigado la aplicación de distintas formulaciones de inoculantes a base de *Bradyrhizobium japonicum* sobre la nodulación y rendimiento del cultivo de soja en Argentina. Los tratamientos que establecieron fueron: testigo sin inocular, inoculado con *B. japonicum*, con *B. japonicum* más factores Nod y con *B. japonicum* más protectores bacterianos. Los patrones de nodulación corresponden a los de un suelo con buena dotación de población naturalizada de rizobios. El número de nódulos mostró una adecuada nodulación de las plantas, aunque los valores de peso de los nódulos fueron bajos. El tratamiento inoculado más factores Nod presentó un efecto favorable sobre el desarrollo de las raíces. El rendimiento fue superior en los tratamientos inoculados, mostrando incrementos entre un 3,5 % y un 10,8 % en relación al testigo. Las plantas inoculadas con *B. japonicum* más factores Nod presentaron los mayores rendimientos (Fornasero & Toniutti, 2015).

Por otra parte, Valenzuela et al (2021) evaluó el crecimiento y nodulación de plantas de soja inoculadas con *Rhizobium* y *Bradyrhizobium japonicum* en Santa Elena (Ecuador), y valoraron los efectos de infección y efectividad en tres tipos de semillas, inoculados con tres biofertilizantes rizobianos. Se inocularon los materiales genéticos de soja INIAP 307, INIAP 308 e INTEROC SSK con los biofertilizantes Endure-Rhizobium (USA), *Bradyrhizobium* y un biofermento obtenido de la colección de cepas de *Rhizobium* del Centro de Investigaciones CIAP-UPSE. Los resultados evidencian el mutualismo que las leguminosas establecen con sus huéspedes rizobianos, obteniendo resultados significativos en la mayoría de las variables investigadas en todas las variables inoculadas, incluyendo la nodulación de *Bradyrhizobium* con *G. max.*, confirmando la especificidad que presenta la simbiosis planta-leguminosa.

5. Metodología

5.1. Localización del área de estudio

El presente proyecto de investigación se desarrolló en la Estación Experimental “La Argelia” de la Universidad Nacional de Loja, la cual está ubicada en la parroquia Punzara, sector La Argelia en el Sur de la ciudad de Loja (Fig. 3), y geográficamente se encuentra a una latitud de $4^{\circ} 2'25,64''S$, una longitud de $79^{\circ}11'57.77''O$ y a una altitud 2 135 msnm, presenta una temperatura promedio de $18^{\circ}C$, una precipitación anual media de 1 058 mm y suelos franco-limosos con pH aproximado de 5.0 a 6.0



Fuente: autor

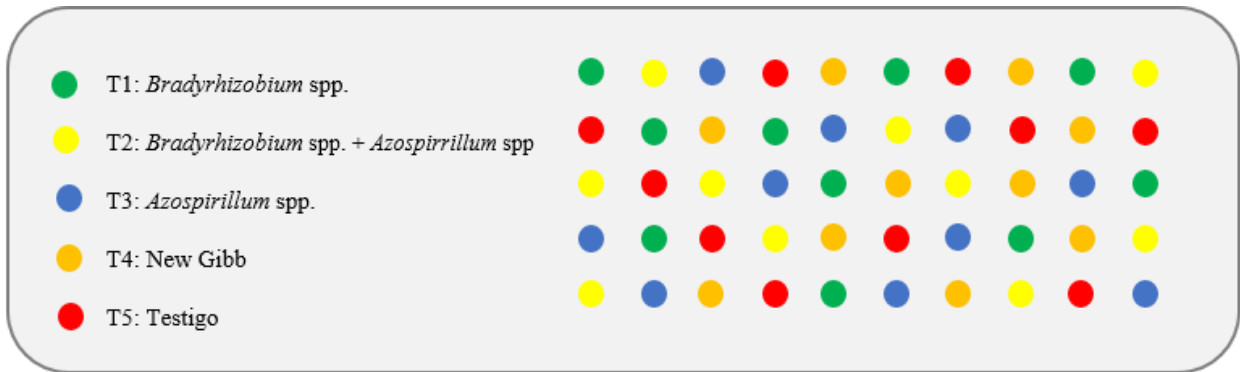
Figura 3: Mapa de localización del área de estudio; Estación Experimental “La Argelia”.

5.2. Tipo de investigación

La investigación fue de tipo experimental y explicativa, ya que se aplicaron diferentes tratamientos para explicar el comportamiento de los microorganismos benéficos sobre la fase inicial de crecimiento del cultivo de soya.

5.2.1. Diseño Experimental

El diseño experimental fue completamente al azar (DCA), con 5 tratamientos y 10 repeticiones (Fig. 4), las variables evaluadas fueron (altura, número de hojas, diámetro del tallo, índice de clorofila) las mismas analizadas con frecuencia semanal hasta los 90 DDS, fecha en la que se extrajo las plantas para medir las variables (número de nódulos, peso seco de los nódulos, contenido de nitrógeno, FBN y materia seca aérea).



Fuente: Autor

Figura 4: Diseño experimental donde se aplicó rizobacterias, más un producto químico y un testigo, en cultivo de soya. *Brad.* = *Bradyrhizobium* spp; *Az.* = *Azospirillum* spp.

En la Tabla 7, se muestran los tratamientos que se efectuaron con sus respectivas dosis, y fueron establecidos de la siguiente manera; T1: aplicación *Bradyrhizobium* spp.; T2: combinación de *Bradyrhizobium* spp + *Azospirillum* spp; T3: *Azospirillum* spp; T4: aplicación química (New-Gibb); T5: tratamiento testigo, en el cual no se realizó aplicación alguna. Además, para comparar el aporte de nitrógeno que presentan las leguminosas como el caso de la soya en comparación con una gramínea, se utilizó el cultivo de maíz. En todos los tratamientos se aplicó una segunda dosis a los 30 DDS.

Tabla 7: Tabla resumen de los tratamientos con sus respectivas dosis y número de aplicaciones que se aplicó en el ensayo.

Tratamientos		Dosis/planta
1	<i>Bradyrhizobium</i> spp. ($1 * 10^8$ UFC ml ⁻¹)	2 ml
2	<i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> spp ($1 * 10^8$ UFC ml ⁻¹)	1ml + 1 ml
3	<i>Azospirillum</i> spp ($1 * 10^8$ UFC ml ⁻¹)	2 ml
4	Tratamiento químico New-Gibb 10%	5 ppm
5	Testigo (agua estéril)	2 ml

Fuente: Autor

5.3. Modelo matemático

Las fuentes de variación para la presente investigación se efectuaron con el siguiente modelo de experimentación, cuyo esquema corresponde a: $Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$

Donde:

Y_{ij} = Total de las observaciones en estudio.

μ = Efecto de la media general.

T_i = Efecto de los tratamientos en estudio.

ϵ_{ij} = Efecto aleatorio o error experimental

5.4. Metodología General

Previo al establecimiento del ensayo en el invernadero de la Estación Experimental La Argelia, se realizó la esterilización del sustrato (humus) en una estufa a 150 °C por 3 horas con tres ciclos sucesivos de desinfección. Seguidamente el sustrato estéril se colocó en fundas plásticas de polietileno (36 x 31cm) con capacidad de 2 kg. Previo a la siembra, las semillas de soya de la variedad INIAP 308 se desinfectaron en una solución de Vitavax, luego en cada bolsa con el sustrato estéril se colocaron 2 semillas, se cubrieron las mismas con una capa de tierra de 1cm sobre la cual se realizó la inoculación de las bacterias utilizando una dosis de 2 ml, transcurridos los 30 DDS se ejecutó la segunda aplicación de tratamientos, con la misma dosis; a los 15 DD se

llevó a cabo un raleo de la planta más vigorosa y se inició con la primera toma de datos (Anexo 1).

También se realizaron monitoreos constantes durante todo el transcurso del cultivo (Anexo 3, 4), llevando un control de plagas y enfermedades, también el control de arvenses mediante prácticas culturales (deshierbe) con ayuda de herramientas de trabajo. Para el control de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) se realizó con el insecticida “Cipermetrina”, ingrediente activo alfa-cipermetrina (dosis: 1ml/1 L agua), además de ello se realizaron riegos constantes para cumplir con los requerimientos del cultivo. Para el ingreso de las muestras al laboratorio, en campo se realizó la extracción de las plantas de las fundas plásticas, se observaron la presencia de nódulos en las raíces primarias y secundarias y se contabilizó, estos se colocaron en bolsas de papel pequeñas, luego se procedió a seleccionar las plantas con un mejor desarrollo y se homogeneizó muestras, esto consistió en colocar 2 plantas en cada bolsa de papel, resultando 4 muestras por tratamiento, con un total final de 24 muestras para ingresar a laboratorio.

La segunda fase se ejecutó en las instalaciones del laboratorio de Suelos, Aguas y Bromatología de la Universidad Nacional de Loja. En laboratorio primero se eliminaron las impurezas de las muestras para continuar con los protocolos de laboratorio.

5.5. Metodología para el Primer Objetivo

“Evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias sobre parámetros de crecimiento y desarrollo del cultivo de soya.”

Variables a evaluar:

Todas las variables se midieron en todas las unidades experimentales, es decir 50 plantas.

- Porcentaje de germinación (% G)

Las evaluaciones se efectuaron a partir del tercer día después de la siembra hasta los 8 días que terminó el proceso de germinación, mediante la evaluación de la cantidad de semillas germinadas (Castro, 2017).

$$\%G = \frac{N \text{ de semillas germinadas}}{N. \text{ total de semillas}} * 100$$

- Altura de la planta

Con ayuda de un flexómetro se determinaron las medidas de la planta en cm, desde el cuello de la planta hasta la yema terminal, con una frecuencia de 8 días.

- **Diámetro de tallo**

Con un pie de rey se tomaron mediciones en mm de la parte media del tallo en la planta con una frecuencia de 8 días.

- **Número de hojas**

Se realizó el conteo de las hojas totales de forma manual de todas las unidades experimentales estudiadas con una frecuencia de 8 días.

- **Número de nódulos**

Se efectuó el conteo de los nódulos localizados en la raíz principal (nódulos primarios) y en las raíces secundarias (nódulos secundarios), a los 90 DDS (Taco & Zúñiga, 2020) (Anexo 5).

- **Peso seco de los nódulos**

Se extrajo los nódulos de la raíz a los 90 DDS, se eliminó las impurezas y se colocaron en bolsas de papel pequeñas, se determinó el peso en fresco (g) y luego se llevó las muestras a la estufa a 60 °C, y se registró el peso seco (g) (Anexo 7).

- **Peso seco de la raíz**

Se separó la raíz de la parte aérea de la planta, se procedió a lavar completamente hasta quedar libre de impurezas y se colocó en una servilleta hasta observar un secado completo, finalmente se colocó en bolsas de papel y se llevó a registrar el peso en g.

Estado fitosanitario: se tomó nota de los aspectos cualitativos de cada planta, presencia de clorosis en hojas, caída de hojas, presencia de infecciones por hongos o insectos plaga, entre otros.

5.6. Metodología para el Segundo Objetivo

*“Cuantificar el nitrógeno en plantas de soya a partir de la aplicación de *Bradyrhizobium spp.*”*

Para cumplir con este objetivo se siguieron los siguientes procedimientos.

- **Medición con SPAD**

Se determinó el índice de clorofila (índice SPAD) a los 15 DDS, a partir de ahí se tomaron datos con una frecuencia de 8 días (Anexo 2). Para el efecto, las lecturas de clorofila se realizaron por medio del instrumento Minolta SPAD-502, que evalúa cuantitativamente la intensidad del

verde de la hoja (650 a 940 nm). Se obtuvieron medias de dos plantas al azar por tratamiento con mediciones de tres hojas por planta (Cunha et al., 2015).

- **Materia seca**

Para determinar la masa seca aérea, se tomaron los órganos de la parte aérea de las plantas (hojas y tallos). Se pesó los órganos (g por planta) en conjunto en una balanza Sartorius digital, de ahí, se secó en una estufa a 60 °C hasta alcanzar masa constante (Anexo 8), determinándose la masa seca y se expresó en g (Martín et al, 2017) (Anexo 19).

Fórmula:

$$\% MS = \text{Peso de la muestra seca} / \text{peso muestra antes del secado} \times 100$$

$$\% HH = 100 - \% MS$$

- **Contenido de Nitrógeno**

La concentración de nitrógeno se evaluó a partir del método de Khjendall (Anexo 9) en el cual se determinó el porcentaje de masa seca de la parte aérea mediante la digestión húmeda con $H_2SO_4^+$ Se y a través de la metodología de Nessler de 1982 (Romero, 1997). La extracción de N ($kg\ ha^{-1}$) se calculó a partir de los datos de la masa seca de la parte aérea y su correspondiente concentración del elemento (% N), por la siguiente fórmula:

$$\text{Extracción de N} = \frac{MS\ PA \times Conc.\ N}{100}$$

Donde:

MS PA= masa seca parte aérea ($t\ ha^{-1}$)

Conc N= concentración (%N) del elemento en la masa seca de la parte aérea.

Metodología utilizada en laboratorio: AOAC 2001.11 (Anexo 20).

A partir de estos datos, se calculó el porcentaje de FBN por el método de la diferencia de N total mediante la siguiente fórmula:

$$\% FBN = \frac{\text{Contenido N Fix} - \text{Contenido N Ref}}{\text{Contenido N Fix}} \times 100$$

Donde:

FBN= Fijación biológica de nitrógeno

Fix = planta fijadora (soya)

Ref = planta no fijadora (maíz)

Para cumplir con esta última evaluación se dispuso de plantas no fijadoras de N, en este caso se utilizó plantas de maíz. Las plantas no fijadoras fueron en número y edad igual a las plantas fijadoras.

5.7. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa *INFOSTAT*, en el cual se realizó un análisis ANOVA y para la comparación de medias de los diferentes tratamientos se empleó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad con un intervalo de confianza para $\alpha=0,05$. Además, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre las variables ($p \leq 0,05$) para los tratamientos inoculados.

H0= En base a la inoculación de rizobacterias se incrementarán los parámetros de crecimientos y contenido de nitrógeno.

H1= En base a la inoculación de rizobacterias no se incrementarán los parámetros de crecimientos y contenido de nitrógeno.

6. Resultados

6.1. Resultados para el primer objetivo

6.1.1. Germinación

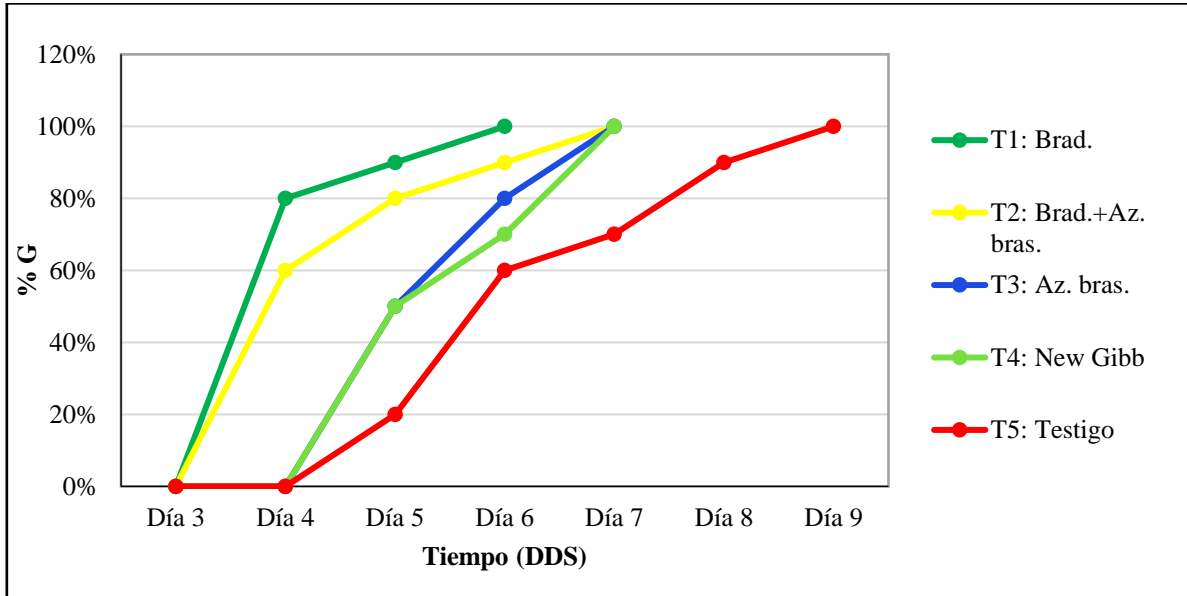
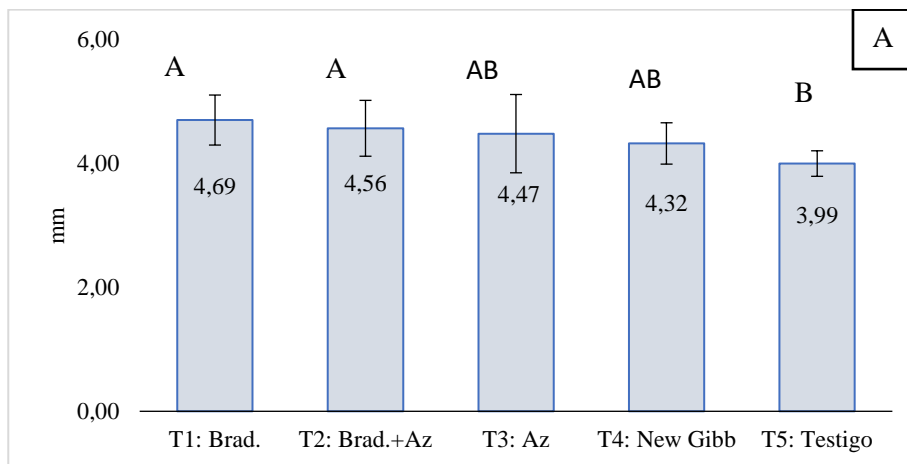


Figura 5: Dinámica del porcentaje de germinación considerado a partir del tercer día después de la siembra.

La efectividad de la cepa *Bradyrhizobium* se puso de manifiesto al promover el 100% de germinación de las semillas de soya, en cambio el T5 demoró hasta el día 9 para completar la fase de emergencia. (Anexo 2).

6.1.2. Diámetro del tallo



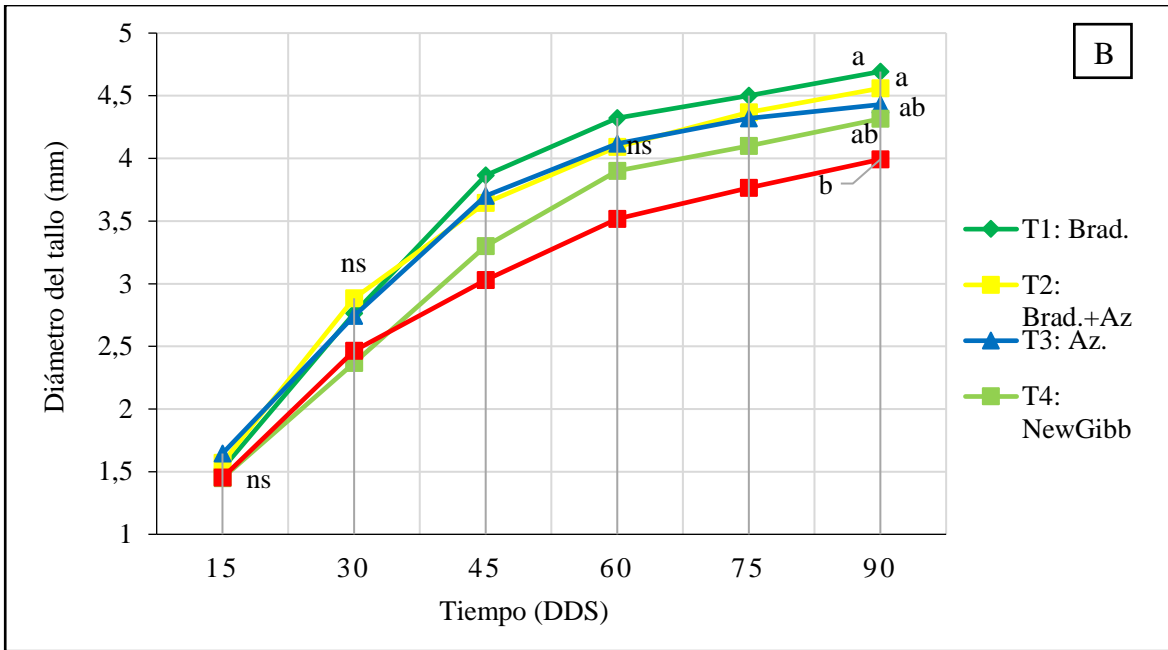
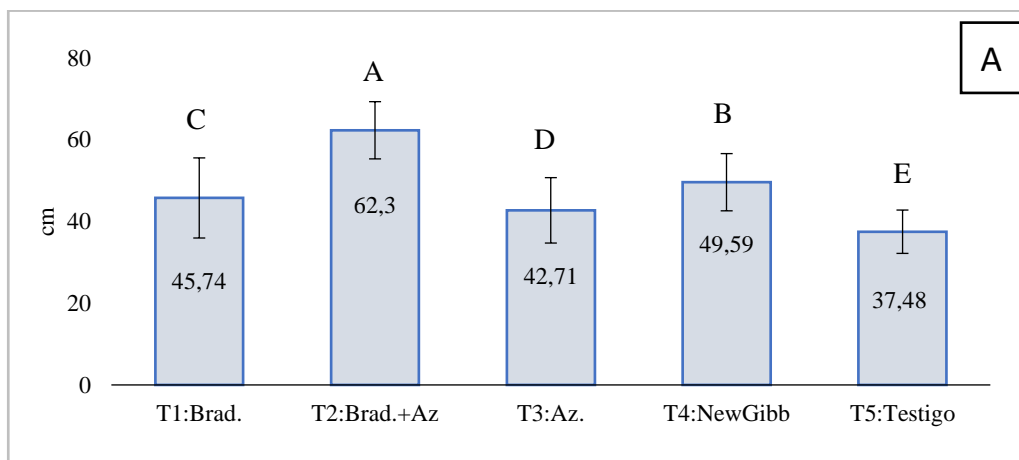


Figura 6: (A): Efecto de los tratamientos en el parámetro de diámetro del tallo a los 90 DDS; **(B):** Diámetro del tallo de las plantas de soya con frecuencia de 8 días evaluadas en mm. Las letras (ns)= no presentan diferencias significativas; (a) y (b) letras diferentes= si existen diferencias significativas entre tratamientos; (ab)= no existen diferencias estadísticamente significativas con un (p -valor >0.05); Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

El diámetro del tallo se muestra en la Figura 6, se observa que todos los tratamientos donde se hizo la inoculación con rizobacterias presentaron diferencias significativas con un rango de 4.4 a 4.6 mm en comparación al testigo, el cual alcanzó un promedio inferior de 3.99 mm (Anexo 11).

6.1.3. Altura de la planta



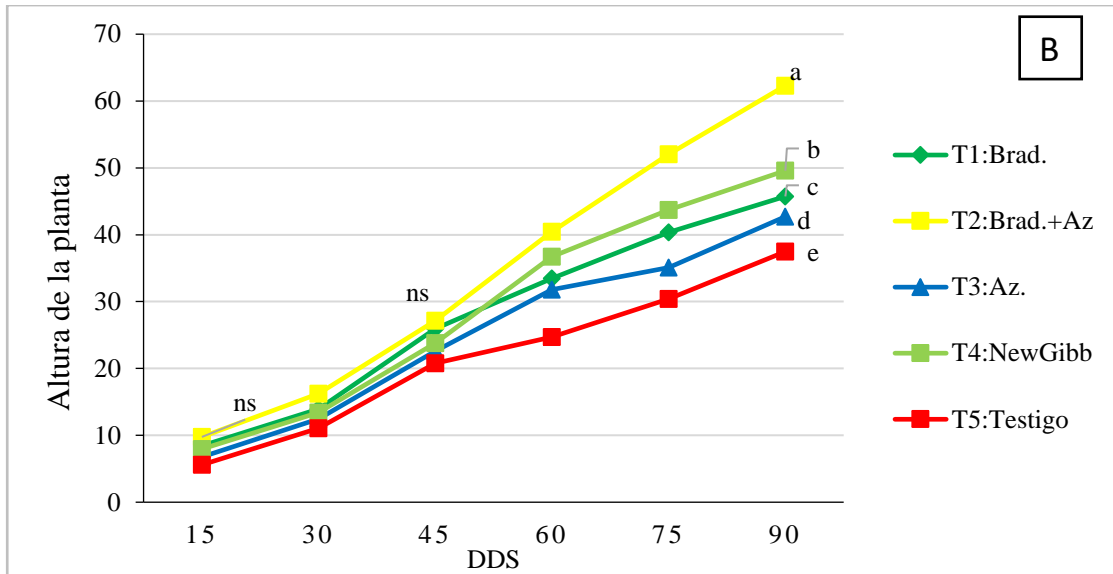
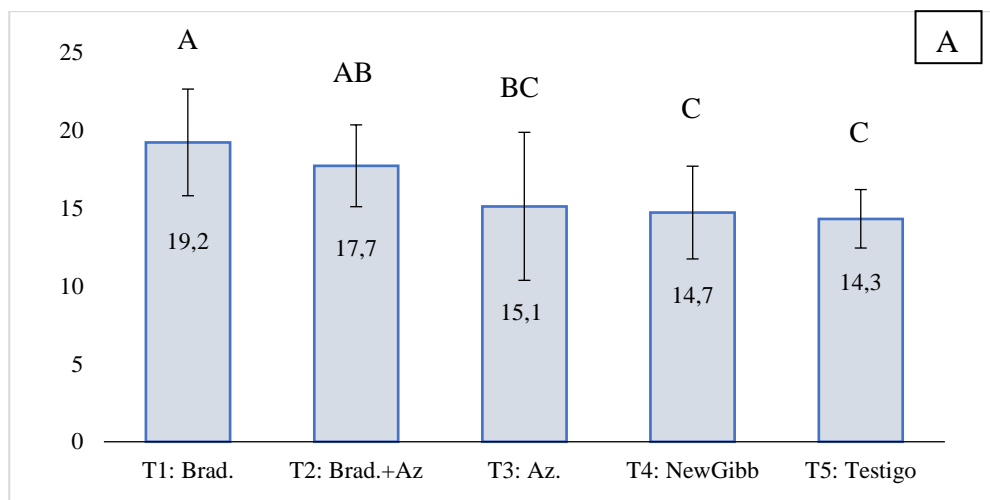


Figura 7: (A): Efecto de la altura de las plantas de soya a los 90 DDS; **(B):** Incremento de altura de las plantas de soya evaluadas en cm desde los 15 hasta los 90 DDS. Las letras (ns) significa que no presenta diferencias significativas;(a) (b)letras diferentes= si existen diferencias significativas entre tratamientos con un (p-valor >0.05). Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

La Figura 7 muestra los resultados obtenidos con respecto a la altura de la planta, hasta los 40 DDS no se evidenciaron diferencias entre los tratamientos, sin embargo, a los 45 DDS, el T2 influyó de manera positiva en el crecimiento de las plantas hasta el final del ensayo, mientras que el T3 presentó valores similares con el T5, siendo en ambos casos los más bajos (Anexo 10).

6.1.4. Número de hojas



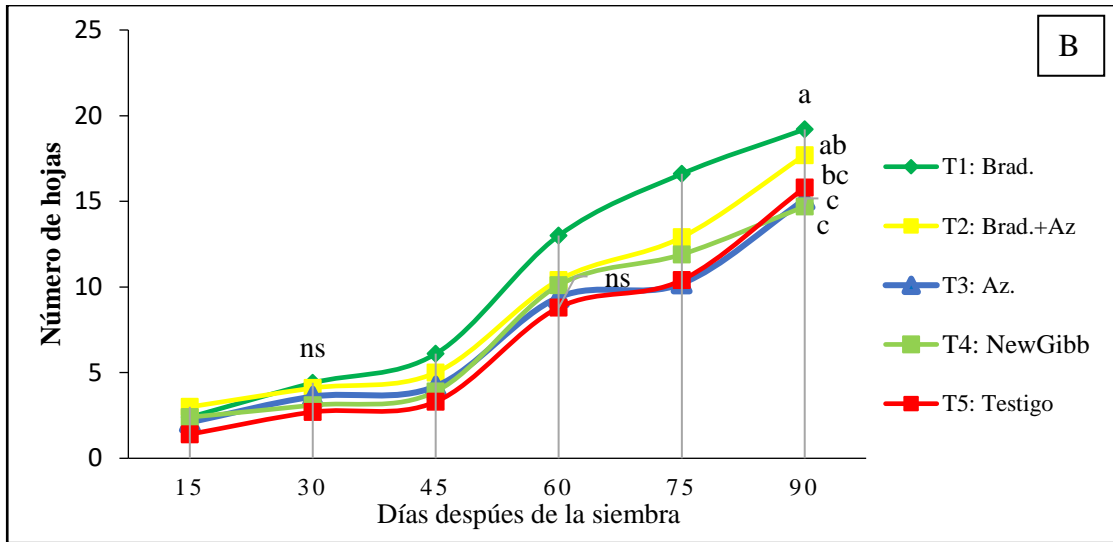


Figura 8: (A): Efecto de la inoculación de rizobacterias frente al parámetro número de hojas, a los 90 DDS. (B): Incremento del número de hojas con frecuencia de 8 días, en las plantas de soya. Las letras (ns)= no presentan diferencias significativas;(a) y (b) letras diferentes= si existen diferencias significativas entre tratamientos; (ab)= no existen diferencias estadísticamente significativas con un (p-valor>0.05). Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

Para la variable número de hojas se muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos hasta los 75 DDS, a excepción del T1 que a partir de los 60 DDS superó el número de hojas en comparación a los demás tratamientos con un promedio final de 19.2 (Figura 8, Anexo 12).

6.1.5. Número de nódulos

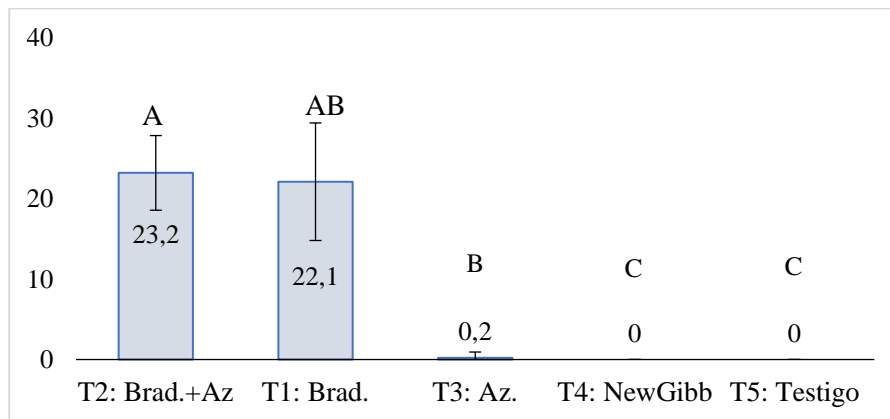


Figura 9: Evaluación del número de nódulos encontrados en las plantas de soya a los 90 DDS presentes en las raíces primarias y secundarias. Las letras (AB)= no presentan diferencias significativas; (AB) letras unidas= no presentan diferencias altamente significativas; (A) y (B) letras diferentes= si existen

diferencias significativas entre tratamientos con un (p -valor >0.05) Las barras de error indican la desviación estándar (DS) (Anexo 13).

Con respecto al número de nódulos no se visualizó estructuras formadas en la raíz primaria y secundaria en los tratamientos, T4: New Gibb y T5= Testigo, no obstante, en los tratamientos donde se realizó la inoculación de los microorganismos, el T2 generó el promedio más alto con 25.22 y T1= *Brad.* con 16.40, y referente al T3: *Az.*, el número de nódulos fue mínimo como se evidencia en la Figura 9. Es importante mencionar que, en los nódulos encontrados, a más de una buena nodulación, se evidenció una coloración rojiza (presencia de la enzima de leghemoglobina) en cada nódulo, que indica tasas de fijación biológica de nitrógeno adecuadas (Anexo 6).

6.1.6. Peso seco de nódulos

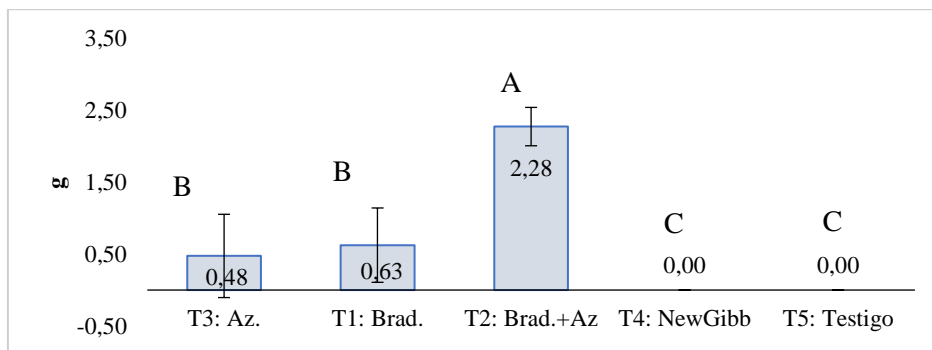


Figura 10: Peso seco de los nódulos determinado a los 90 DDS, fecha en la que se finalizó el ensayo. Las letras (A) (B)letras diferentes= si existen diferencias altamente significativas entre tratamientos con un (p -valor >0.05). Las barras de error indican la desviación estándar (DS) (Anexo 14).

El peso seco de los nódulos se muestra en la figura 10, donde queda demostrada la efectividad de la inoculación combinada de *Brad* + *Az.* (T2) con un promedio de 2.28 g, valor superior al T1 y T3 los cuales presentaron valores similares, además del T4 y T5 no presentaron la formación de nódulos respectivamente.

6.1.7. Peso seco radicular

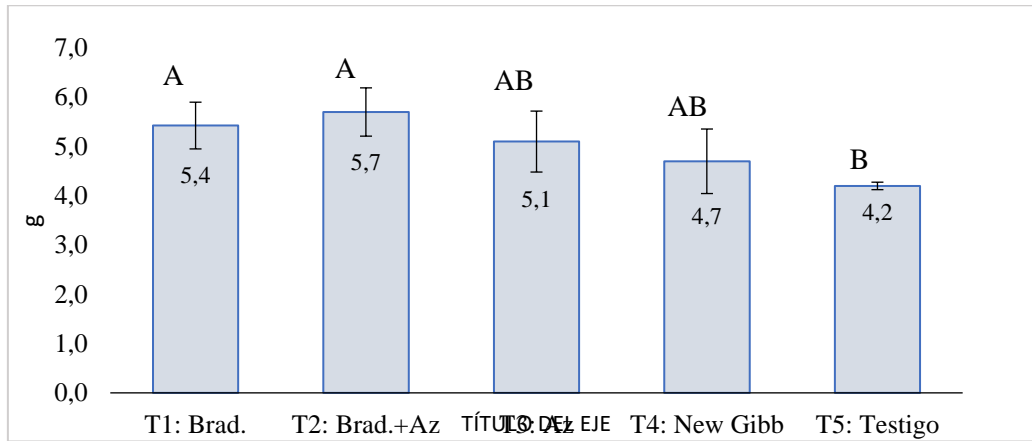
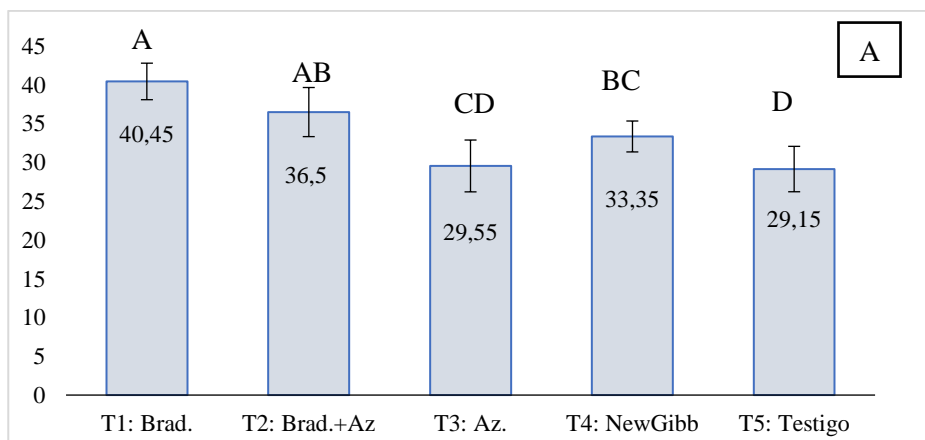


Figura 11: Evaluación del peso seco de la raíz, evaluado en g a los 90 DDS, fecha en la cual se dio como finalizado el ensayo. Las letras (AB)= no presentan diferencias significativas;(A) y (B) letras diferentes= si existen diferencias altamente significativas entre tratamientos con un (p-valor>0.05). Las barras de error indican la desviación estándar (DS) (Anexo 15).

Con respecto al peso radicular seco se encontró diferencias significativas, y se evidenció que las rizobacterias promovieron una buena colonización y desarrollo radical, esta respuesta se vio reflejada con promedios dentro de un rango de 5.1 – 5.7 g, a diferencia de los tratamientos no inoculados T4 y T5 con promedios inferiores a los antes mencionados (Figura 11).

6.2.Resultados para el segundo objetivo

6.2.1. Medición con SPAD



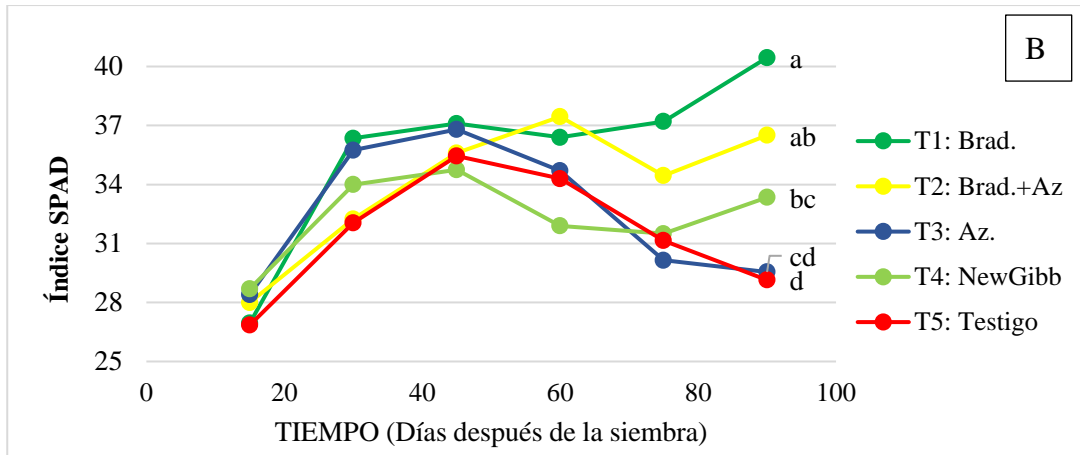


Figura 12: (A): Evaluación del índice SPAD de las plantas de soya de los promedios a los 90 DDS; (B): Dinámica del índice de clorofila desde los 15 días hasta 90 DDS. Medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). Las barras de error indican la desviación estándar (DS) (Anexo 18).

En la Figura 12 se muestra el Índice de clorofila, donde el T1 tratado con *Brad.* y el T2 *Brad.* + *Az.*, se vieron influenciados por una alta pigmentación verdosa en sus hojas y mantuvieron cifras significativas desde los 15 hasta los 90 DDS, a diferencia del T3 y T5, que tuvieron una tendencia de valores sin diferencias significativas.

6.2.2. Contenido de nitrógeno

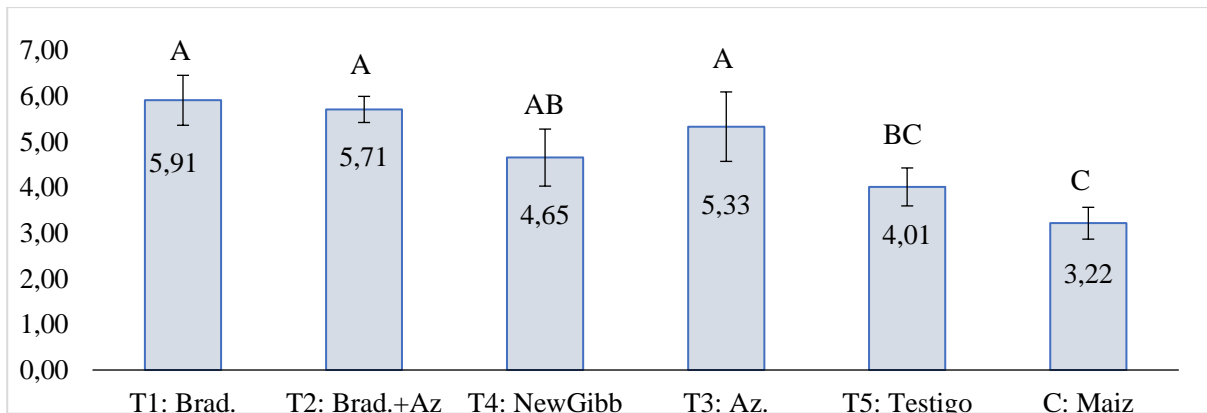


Figura 13: Contenido de Nitrógeno determinado en g, obtenido de todos los tratamientos, adicional a ellos el control, a partir del método de Kjeldahl. Las letras (AB) y (BC)= no presentan diferencias significativas; (A), (B) y (C) letras diferentes= si existen diferencias altamente significativas entre tratamientos con un (p -valor >0.05). Las barras de error indican la desviación estándar (DS) (Anexo 16).

En la figura 13, se muestra el contenido de nitrógeno evaluado de la parte aérea, en la que se destaca que las leguminosas tienen una buena interacción simbiótica con las rizobacterias, éstas ayudan a aumentar el contenido de este elemento en la planta presentando un rango de valores de 5.33 - 5.91 g, mientras que el T4 y el T5 tuvieron cifras similares e inferiores a los valores antes mencionados, y referente al control (maíz), este si se vio altamente diferido con un valor promedio de 3.22 g respectivamente.

Tabla 8: Porcentaje de fijación biológica de nitrógeno, determinado a partir de la fórmula de %FBN.

Tratamiento	% FBN
T1: <i>Brad.</i>	43,99
T2: <i>Brad.+Az</i>	38,59
T4: NewGibb	36,59
T3: <i>Az.</i>	29,12
T5: Testigo	17,46

Referente a la fijación biológica de nitrógeno se resalta que al inocular con rizobacterias como es el caso del T1, se evidenció una mayor capacidad para fijar nitrógeno y una interacción específica en las plantas con un 43.99 %, mientras que el T2 con un 38.59 %, estos con una diferencia de aproximadamente el 15 % frente al testigo respectivamente, el cual no tuvo una eficiente fijación de Nitrógeno en la planta.

6.2.3. Materia seca aérea

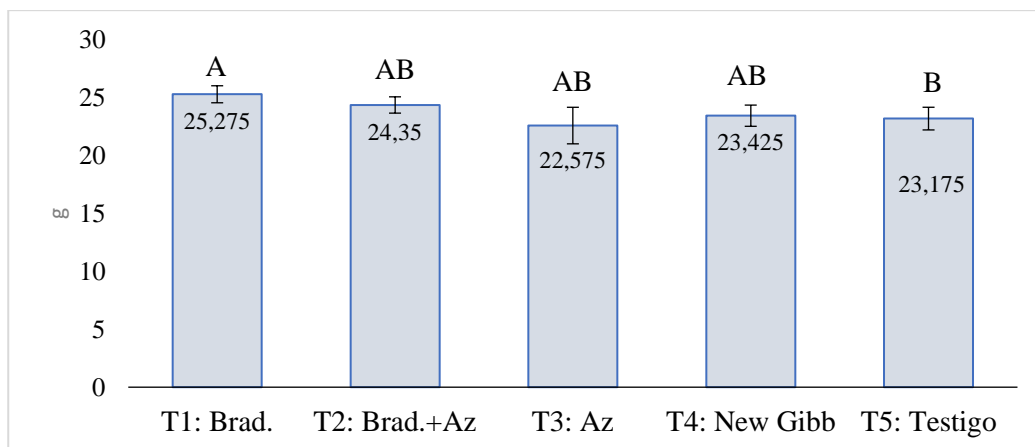


Figura 14: Evaluación del peso de masa seca aérea determinado en base seca. Las letras (AB)= no presenta diferencias significativas;(A) y (B) letras diferentes= si existen diferencias altamente significativas entre tratamientos con un (p-valor>0.05). Las barras de error indican la desviación estándar (DS).

Respecto al parámetro masa seca, esta se determinó en base seca, y los resultados obtenidos se observan en la figura 14, donde la inoculación con *Brad.* tuvo un mayor impacto en el desarrollo foliar y por consiguiente alto contenido de masa seca, no obstante, el T2, T3 y T4, presentaron cifras parecidas respectivamente, pero todos estos diferentes al testigo (Anexo 17).

Análisis de correlación

Tabla 9: Análisis de correlación entre variables.

Variables	ALTURA	DIÁM.	# HOJAS	# NOD.	PESO NOD.	N	FBN	MS	SPAD
ALTURA	1								
DIÁM.	0,54	1							
# HOJAS	0,48	0,84	1						
# NOD.	0,61	0,75	0,97	1					
PESO NOD.	-0,08	0,38	-0,02	-0,12	1				
N	0,72	0,86	0,83	0,80	-0,11	1			
FBN	0,50	1,00	0,83	0,73	0,43	0,83	1		
MS	0,43	0,63	0,92	0,91	-0,40	0,80	0,60	1	
SPAD	0,53	0,78	0,93	0,90	-0,27	0,93	0,75	0,96	1

Valores de 0.80-1.00 se considera correlación muy positiva; 0.60-0.80= correlación positiva; 0.40-0.60=correlación moderada; 0.20-0.40= correlación débil; 0.00-0.20= correlación muy débil.

Se encontró una asociación muy positiva entre las variables número de hojas con el número de nódulos ($r=0.97$), con el contenido de Nitrógeno ($r=0.83$), con la Fijación Biológica de Nitrógeno ($r=0.83$), con masa seca ($r=0.92$) y con el índice SPAD ($r=0.93$); mientras que el diámetro del tallo tuvo una correlación positiva con la variable número de hojas ($r=0.84$), contenido de nitrógeno ($r=0.86$), y con FBN ($r=1$); el número de nódulos tuvo una buena asociación con contenido de Nitrógeno ($r=0.80$), con masa seca ($r=0.91$) y con el índice SPAD ($r=0.90$); respecto al contenido de nitrógeno, este mantiene una fuerte relación con la FBN ($r=0.83$), con masa seca ($r=0.80$) e índice SPAD con ($r=0.93$) y finalmente se observa en la tabla 9 que la variable masa seca se asocia positivamente únicamente con el Índice SPAD ($r=0.96$).

7. Discusión

- **Porcentaje de germinación**

El porcentaje de germinación fue del 100% en todos los tratamientos, pero se destaca al tratamiento con inoculación de *Brad* y de *Brad + Az*, los cuales completaron su emergencia hasta los 7 días, similar a lo encontrado por Martínez & Vega, 2023 quienes mencionaron que *Bradyrhizobium* actúa de manera más rápida en función de la semilla, permitiendo que esta no se deteriore por factores bióticos o abióticos, al mismo tiempo sirve como un método de estimulación en la síntesis de nutrientes presentes en la semilla para acelerar el proceso de emergencia de plantas. (Marquina et al., 2018) en un estudio realizado en Venezuela, encontraron que las semillas de pimentón inoculadas con cepas de los géneros *Azospirillum* y *Rhizobium* alcanzaron el máximo germinativo al tercer día, acelerando la germinación en 24 horas con relación al control sin inocular. Por otro lado, Cassan et al., (2009), resaltaron que la inoculación y coinoculación con rizobacterias mejoran la germinación, iniciando a los 5 días hasta los 8 días alcanzando su porcentaje máximo, en comparación con las semillas de control que a partir de los 8 días empezó su germinación. Esto se explica a razón de la acción que ejercen las rizobacterias sobre la activación de los procesos metabólicos que se llevan a cabo en las semillas, producto de la secreción de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, tales como las giberelinas, las cuales activan la síntesis de enzimas hidrolíticas que ocurre en el endospermo (Suárez, 2006).

- **Altura de las plantas**

Para la altura las plantas inoculadas con *Brad + Az* tuvieron un promedio de 62.3 cm a los 90 DDS, similar a lo presentado por Díaz et al, (2021) con un promedio de 64.00 a los 83 DDS, siendo inferior a los datos reportados por Martínez & Vega (2023) e Irala et al (2022) quienes encontraron que a los 90 días el mayor promedio de altura se presentó con *B. japonicum* con 143.65 cm de altura con una dosis superior de 20 ml/planta y la inoculación fue directa al momento de la siembra, con ello demostraron que la presencia de este microorganismo estimula el crecimiento de la planta, similar a lo señalado por Valenzuela et al (2021) y Nápoles et al (2006), pero en este caso su estudio se enfocó en el género *B. ekanii*. Con esto se concluye que la dosis debe ser superior para que la planta tienda a tener un mayor desarrollo además de ello en este proceso interviene la hormona indol-3-piruvato (IPA) descrita principalmente en bacterias promotoras del crecimiento (PGPB), y se ha demostrado que esta fitohormona juega un rol determinante en la promoción del

crecimiento vegetal (Vega-Celedón et al., 2016). Por otro lado, Chandía (2013), en el cultivo de maní a los 110 DDS la altura máxima la obtuvo con la inoculación simple de *Bradyrhizobium* con 30.30 cm, con una dosis de 852 g ha⁻¹ con una sola aplicación al inicio del ensayo, esta dosis resulto óptima para el cultivo y superó en promedio a los demás tratamientos con dosis inferiores. Esto se da a razón de la competencia intraespecífica que se da por la luz solar, ya que a medida que la planta tiene más relación con la bacteria esta tiende a desarrollar más número de hojas y ocasiona dicha competencia.

- **Diámetro del tallo**

Se obtuvo un diámetro de tallo de 4.69 mm a los 90 dds mientras que Chandía (2013), aprecia que a los 110 dds el crecimiento del diámetro cesó y se da un aumento del tallo (6.1 mm) con una dosis de 852 g ha⁻¹ inoculado solamente con *Bradyrhizobium spp*, además establece que las diferencias se deben a la relación inversamente proporcional a la altura de la planta, cuando el cultivo entra en competencia con el mismo por la luz, las plantas se ahílan conllevando a una disminución del diámetro del tallo.

- **Número de hojas**

Respecto al número de hojas no se observó diferencias altamente significativas, esto puede deberse a que el número de hojas en el cultivo de soya es una característica genética y que la variedad carece de esta característica (Escobar, 2020). Por otro lado (Nápoles García et al., 2014), expresa que existe un posible efecto antiestrés de los inoculantes bacterianos inducidos, esto pudo permitir que las plantas no llegaran a un punto de estrés y por tanto el número de hojas sea similar.

- **Número de nódulos**

Chandía (2013), demostró que en el cultivo de maní con la inoculación de 852 g ha⁻¹ de *Brad.* a los 110 dds obtuvo 274 nódulos por planta, de tal forma afirmó que a mayor dosis existe un mayor aumento de nódulos. Por otra parte Dalolio et al., (2018) establece que la inoculación con *Bradyrhizobium* estimula la nodulación de la soja y por tanto aumenta la FBN para la planta junto con *Azospirillum* que es una bacteria que estimula el crecimiento de las raíces mediante la presencia de fitohormonas importantes. En estudios realizados sobre el crecimiento y nodulación de raíces de soja establecen que *Azospirillum* estimula el crecimiento radicular y también puede mejorar el inicio y el desarrollo de los nódulos. También se ha demostrado que existe un efecto positivo entre la coinoculación de *A. brasilense* y *B. japonicum* debido a la excreción de productos

metabólicos, especialmente de los compuestos reguladores de crecimiento de raíz, como es el ácido indolacético (Domingues Duarte et al., 2020). Casas et al (2019), menciona que las plantas de soya tratadas sólo con *A. brasilense* 8-INICA, respectivamente, no producen cambios en la altura y biomasa de las partes aéreas de la planta ni en la actividad nitrogenasa en los nódulos, pero si detectaron aumentos en la biomasa de raíces y nódulos con su inoculación, esta puede ser una razón por la cual no se evidenció la formación de nódulos en el T3. Por otro lado se consideró lo mencionado por Pietrarelli et al, (2008) si se observa una coloración rojiza, significa que hay actividad de la bacteria (nódulos efectivos), por el contrario, si presentan una coloración grisácea significa que no hay efectividad, en este caso todos los nódulos resultaron efectivos por su coloración rojiza.

- **Peso seco de nódulos**

Escobar (2020), encontró un peso seco de nódulos de 0.52 g a los 60 DDS en el tratamiento inoculado con *Rhizobium* e indican que los mayores pesos y números de nódulos por planta se observan desde el inicio de la floración hasta el llenado de grano. Además, el peso de los nódulos está relacionado en forma directa con la actividad de la fijación del nitrógeno, y el número de nódulos, es un indicativo de la condición de la raíz para la infección de las bacterias. Cuando una planta tiene pocos nódulos, en general estos son más grandes que cuando los nódulos son abundantes. Es importante resaltar que existió diferencias entre el número y el aumento del peso de los nódulos, esto no se traduce en un aumento de la actividad nitrogenasa, este aumento no puede entenderse como un aumento del número de bacteroides, sino del tejido vegetal del nódulo (Casas et al., 2019).

- **Peso seco radicular**

El autor Chandía (2013), informó que la aplicación de *Bradyrhizobium* mantiene efectos positivos en el desarrollo radicular de soja, debido a su habilidad para producir hormonas como el ácido indolacético, ácido giberélico y citoquininas, sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas que estimulan un mayor desarrollo de la raíz. Además, Bécquer-Granados et al (2016) sostiene que las moléculas promotoras del crecimiento, producidas por los rizobios presentes, ya sea en la rizosfera o en los tejidos de las plantas, estimulan el mayor desarrollo radical e incrementan la capacidad de absorción de nutrientes en beneficio de la planta. Las bacterias del género *Azospirillum* se destacan por los efectos benéficos que aportan a las plantas por la

producción de fitohormonas en cantidades significativas, lo que mejora el crecimiento de las raíces y, resultando en un mejor crecimiento y desarrollo de las plantas. Esta bacteria se desarrolla en temperaturas óptimas entre 28 y 41°C y es altamente competitiva mientras que coloniza la rizosfera, haciendo el uso de diferentes fuentes de nitrógeno como amoníaco, nitrito, nitrato, nitrógeno molecular y aminoácidos, y fuentes de carbono como ácidos orgánicos (malato, piruvato, succinato y fructosa), para el mantenimiento de su metabolismo (Domingues Duarte et al., 2020). Las bacterias suelen producir carbohidratos que confieren protección a la raíz contra condiciones externas y podrían favorecer la colonización de la bacteria en su hábitat natural (Casas et al., 2019).

- **Índice de clorofila**

El mayor índice de clorofila SPAD se registró con la inoculación de *Brad.* con un promedio de 40.45, valor superior al estudiado por Díaz et al, (2015), con la *var.* Vernal y la inoculación independiente de Cell-Tech (ingrediente activo: *Bradyrhizobium*), en la etapa de floración (R2) reportando un índice de 35.6, esto bajo invernadero mientras que en condiciones de campo 53.9, con esto se demuestra que existe un mejor desarrollo y crecimiento de la soya en campo y que este se considera un indicador del estatus nutrimental y sanitario de la planta.

- **FBN**

La aplicación de *B. japonicum* sola o junto con *A. brasilense*, favorece la absorción de N mediante el proceso FBN, y estimula la producción de hormonas vegetales que benefician y favorecen el crecimiento de las plantas (Dalolio et al., 2018), es por ello que se tuvo una mayor cuantificación de N en el T1. La eficiencia de la fijación biológica del nitrógeno está condicionada por diversos factores, fundamentalmente por el papel que desempeña cada uno de los participantes en esta interacción: como son el suelo, la planta y el microorganismo de igual forman indican que las plantas crecidas sobre suelos con pH ácido y una escasa población de bacterias, inoculadas con un biopreparado inducido, muestran mayores rendimientos (Nápoles et al., 2009). También demostraron que la fertilización inorgánica (18-46-00) en general no tuvo impacto en la producción y rentabilidad de la soya, esto es coincidente con los resultados obtenidos ya que la fertilización química, no tuvo valores significativos en las variables estudiadas.

- **Materia seca aérea**

En un experimento en campo demostraron que al someter la soya a la aplicación simple de *Bradyrhizobium* o en combinación con *Trichoderma*, existe una buena producción de

fitohormonas por parte del rizobio e incide positivamente en el desarrollo de la parte aérea, como el peso seco y la longitud del tallo (Bécquer-Granados et al., 2016). También está demostrado que al inocular con hongos micorrícicos arbusculares se dan incrementos significativos en la biomasa y rendimiento ya que estos por lo general forman simbiosis con el 80% de las plantas terrestres (Díaz et al., 2017).

- **Contenido de nitrógeno**

Respecto al contenido de nitrógeno, se evidenció que la gramínea utilizada como control presentó bajos niveles de nitrógeno (3.22%) en la planta, similar al tratamiento testigo en soja, estos en comparación con las leguminosas inoculadas con bacterias donde se demostró que estas ayudan a incrementar este elemento en la planta, esto concuerda con lo obtenido por Sangoquiza et al, (2019) quienes establecen que el contenido de nitrógeno foliar absorbido por la planta de maíz en su fase final es de 5.43%, mientras que al aplicar rizobacterias combinadas tales como *Azospirillum sp.* y *Pseudomonas fluorescens* se puede lograr un porcentaje de 5.94, de tal forma estos autores recomiendan hacer uso de estos microorganismos en este cultivo. Suárez (2006) menciona que la inoculación mixta de *Rhizobium/Azotobacter* o *Rhizobium/Azospirillum* aumentan significativamente la concentración en N principalmente en el sistema radical, mientras que en la parte aérea (que constituye la fracción mayoritaria del peso seco) los valores no sufren variación o incluso disminuyen ligeramente respecto al grupo de plantas control; por tanto existen claros efectos de la inoculación combinada sobre la distribución del N entre los distintos órganos vegetales además de repercutir favorablemente sobre la nodulación y la actividad nitrogenasa. En un ensayo con distintas densidades de siembra obtuvieron que en la etapa R2 (floración) la concentración de nitrógeno fue de 2.39 % y con ello establecen que se mantienen los niveles de nitrógeno total en planta y en grano (Laurito, 2018). Es importante considerar que el promedio del aporte de la FBN en soja ronda entre el 60 y 70 %, según cultivares con baja y alta capacidad de absorción de nitrógeno, además señala el efecto antagónico entre la fertilización nitrogenada y la respuesta de la FBN y evidenció el impacto de la incorporación de distintas fuentes y fertilizantes sobre la nodulación y posterior efecto de la FBN.(Salvagiotti et al., 2008).

- **Correlación**

En cuanto a la correlación realizada entre variables resulto similar a lo expuesto por Díaz et al (2017), quienes encontraron una asociación positiva entre el número de vainas con el índice

SPAD ($r= 0.86^{**}$), con la altura de planta ($r= 0.72^*$), con el diámetro de tallo ($r= 0.92^{**}$) y con la biomasa radical ($r= 0.85^{**}$). También es importante resaltar que no existe una correlación positiva entre el número y peso seco de los nódulos, lo que contrasta con Escobar (2020), quien estableció una baja correlación de estas variables, al encontrar que el mayor peso seco de los nódulos no se correlacionó con un mayor número de nódulos sosteniendo que cuando una planta tiene pocos nódulos, estos tienden a ser más grandes que cuando los nódulos son abundantes. Mientras que Suárez (2006) tuvo una correlación positiva entre estas 2 variables equivalente a un 82%, lo que demuestra que al existir un mayor número de nódulos totales existirá mayor materia nodular y por consiguiente el incremento de la fijación de N, dando como resultado el aumento en la materia seca de la parte aérea y radicular de las plantas. Finalmente Ferraris & Couretot (2010) señaló que la co-inoculación de *Azospirillum* más *Pseudomonas* en trigo con respuestas de rendimiento que superan el 9%. En este sentido, indicó que la respuesta en los PGPR está correlacionada positivamente con la cantidad de nitrógeno disponible.

8. Conclusiones

- El T1 a base de *Bradyrhizobium* y el T2: *Brad* + *Az.* incrementaron significativamente todos los parámetros medidos en el desarrollo del cultivo de soya, se demostró una simbiosis positiva al combinar bacterias con la leguminosa.
- La inoculación simple con la bacteria *Bradyrhizobium* incidió positivamente con el aporte de nitrógeno en las plantas de soya con un porcentaje de 5.91 %, frente al maíz con 3.22 %.

9. Recomendaciones

- Se recomienda realizar investigaciones con una mayor dosificación y frecuencia de aplicación y evaluar hasta el ciclo final del cultivo.
- Se recomienda realizar investigaciones combinando la rizobacteria *Bradyrhizobium* + hongos micorrízicos arbusculares (HMA), hasta la fase final del cultivo.

10. Bibliografía

- Benintende, S., Urich, W., Herrera, M., GangAlberto-Casas, M., Pérez, J., Jerez, F., Fajardo-Molina, S., Morcillo-Blanco, C., Fernández-Pascual, M., Alberto-Casas, M., Pérez, J., Jerez, F., Fajardo-Molina, S., Morcillo-Blanco, C., & Fernández-Pascual, M. (2019). Response of soybean (*Glycine max* (L) Merr) to inoculation with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium*. *Cultivos Tropicales*, 40(1).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362019000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Bécquer-Granados, C. J., Puentes-Pérez, A. B., Ávila-Cordoví, U., Quintana-Sanz, M., Galdo-Rodríguez, Y., Medinilla-Nápoles, F., & Mirabales-Valdés, A. (2016). Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium* sp. Y *Trichoderma harzianum* en triticale (X. *Triticosecale* Wittmack), en condiciones de estrés por sequía. *Pastos y Forrajes*, 39(1), 19-26.
- Casas, M., Pérez, J., Jerez, F., Fajardo, S., Morcillo, C., Fernández, M., Alberto-Casas, M., Pérez, J., Jerez, F., Morcillo, C., & Fernández, M. (2019). Respuesta de soya (*Glycine max* (L) Merr) a la inoculación con *Azospirillum* y *Bradyrhizobium*. *Cultivos Tropicales*, 40(1).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362019000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Casas, M., Pérez, J., Jerez, F., Fajardo-Molina, S., Morcillo, C., & Fernández, M. (2019). Respuesta de soya (*Glycine max* (L) Merr) a la inoculación con *Azospirillum* y *Bradyrhizobium*. *Cultivos Tropicales*, 40(1).
<https://www.redalyc.org/journal/1932/193261173002/html/>
- Chandía, M. A. (2013). Inoculación de maní (*Arachis hypogaea* L.) con diferentes cepas del género *Bradyrhizobium* y su efecto sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo.
https://go.openathens.net/redirector/udec.cl?url=http://tesisencap.udec.cl/chillan/agronomia/chandia_m. <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/1420>
- Dalolio, R., Borin, E., Sete da Cruz, R., & Odair, A. (2018). COINOCULACIÓN DE SOJA CON *Bradyrhizobium* y *Azospirillum*. *Journal of Agronomic Sciences*, Umuarama, v. 7, n. 2, p.1- 7.

- Díaz, A., Magallanes, A., Santacruz, A. A., & Hernández, J. L. (2017). Respuesta de la soya a inoculantes microbianos en el norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(2), 227-238. <https://doi.org/10.29312/remexca.v6i2.684>
- Díaz, F. A., Magallanes, A., Aguado, A., & Hernández, J. L. (2015). Respuesta de la soya a inoculantes microbianos en el norte de Tamaulipas, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(2), 227-238.
- Domingues Duarte, C. F., Cecato, U., Trento Biserra, T., Mamédio, D., Galbeiro, S., Domingues Duarte, C. F., Cecato, U., Trento Biserra, T., Mamédio, D., & Galbeiro, S. (2020). Azospirillum spp. En gramíneas y forrajeras. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(1), 223-240. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4951>
- Escobar Coleman, J. (2020). *Efecto de inoculante Rizobium japonicum en el crecimiento y rendimiento del cultivo de soya (Glycine max L.) variedad CEA-CH-86* [Engineer, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/4289/>
- Escobar, J. (2020). *Efecto de inoculante Rizobium japonicum en el crecimiento y rendimiento del cultivo de soya (Glycine max L.) variedad CEA-CH-86* [Engineer, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/4289/>
- Ferraris, G., & Couretot, L. (2010, noviembre). *Inoculación en soja con Bradyrhizobium japonicum, biocontroladores y microorganismos promotores del crecimiento vegetal*. Agroconsultasonline. <https://www.agroconsultasonline.com/documents/226>
- Laurito, E. (2018). *RENDIMIENTO Y CONTENIDO DE NITRÓGENO EN SOJA BAJO DENSIDADES DE SIEMBRA CONTRASTANTES*. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.
- Nápoles García, M. C., González-Anta, G., Ferreira, A., Rossi, A., Hernández Forte, I., & Costales Menéndez, D. (2014). Efecto de diferentes inoculantes sobre la nodulación de la soya cultivada en condiciones de estrés. *Cultivos Tropicales*, 35(4), 45-51.
- Nápoles, M. C., Cabrera, J. C., Varela, M., González-Anta, G., Nogueras, F., Cricco, J., Guevara, E., & Meira, S. (2009). Influencia de inoculantes y factores edáficos en el rendimiento de la soya. *Cultivos Tropicales*, 30(3), 18-22.
- Pietrarelli, L., Zamar, J. L., Leguía, H. L., Alessandria, E. E., Sánchez, J., Arborno, M., & Luque, S. M. (2008). Efectos de diferentes prácticas de manejo en la nodulación y en el rendimiento del cultivo de soja. *Agriscientia*, 25(2), 81-88.

- Salvagiotti, F., Cassman, K. G., Specht, J. E., Walters, D. T., Weiss, A., & Dobermann, A. (2008). Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Research*, 108(1), 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.001>
- Sangoquiza, C., Yáñez, C., & Borge, M. (2019, mayo 20). *Respuesta de la absorción de nitrógeno y fósforo de una variedad de maíz al inocular Azospirillum sp. Y Pseudomonas fluorescens Influencia de los biofertilizantes en la extracción de nitrógeno y fósforo.*
- Suárez, N. (2006). (PDF) *Interacción planta-microbios: Incrementos en la fijación de nitrógeno (N) mediante PGPR (Azotobacter chroococcum B. y Azospirillum brasilense T.) en frijol común (Phaseolus vulgaris L.).* https://www.researchgate.net/publication/279941595_Interaccion_planta-microbios_incrementos_en_la_fijacion_de_nitrogeno_N_mediante_PGPR_Azotobacter_chroococcum_B_y_Azospirillum_brasilense_T_en_frijol_comun_Phaseolus_vulgaris_L
- Vega-Celedón, P., Canchignia Martínez, H., González, M., & Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37, 33-39.
- Valenzuela, J. S., Suárez, A. C., & Álvarez-Vera, M. (2021). Evaluación del crecimiento y nodulación de plantas de soya (Glycine max) inoculadas con Rhizobium y Bradyrhizobium japonicum en Manglaralto, Santa Elena (Ecuador). *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 8(2), Article 2. <https://doi.org/10.26423/rctu.v8i2.577>

11. Anexos



Anexo 1: A) Siembra; B) Primera aplicación de tratamientos; C) Segunda aplicación de tratamientos (15DDS).



Anexo 2: Emergencia de las plantas de soya (8DDS) / Primera toma de datos SPAD.



Anexo 3: Colocación de trampas etológicas para el control de la mosca blanca; Uso de cebolla de hoja como repelente para plagas.



Anexo 4: Crecimiento y estado del cultivo a los 65 DDS.



Anexo 5: Extracción de las plantas para la contabilización de nódulos.



Anexo 6: Nódulos encontrados y por consiguiente presencia de leghemoglobina en el T2.



Anexo 7: Registro del peso de las muestras antes y después de ingresar a estufa a 60°.



Anexo 8: Trituración de muestras / Ingreso de las muestras a estufa



Anexo 9: Fase de laboratorio (Contenido de nitrógeno).

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,94893

Error: 5,3854 gl: 45

Tratamientos Medias n E.E.

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Brad.+Az	62,30	10	0,73	A
NewGibb	49,59	10	0,73	B
Brad.	45,74	10	0,73	C
Az.	42,71	10	0,73	D
Testigo	37,48	10	0,73	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 10: Análisis estadístico de la altura de las plantas de soya a los 90 DDS.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,50250

Error: 0,1564 gl: 45

Tratamientos Medias n E.E.

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Brad.	4,69	10	0,13	A
Brad.+Az	4,56	10	0,13	A
Az.	4,32	10	0,13	A B
NewGibb	4,32	10	0,13	A B
Testigo	3,99	10	0,13	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 11: Análisis estadístico del diámetro del tallo a los 90 DDS.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,72411

Error: 4,5956 gl: 45

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
Brad.	19,20	10	0,68	A	
Brad.+Az	17,70	10	0,68	A	B
Az.	15,10	10	0,68	B	C
NewGibb	14,70	10	0,68		C
Testigo	14,30	10	0,68		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 12: Análisis estadístico de la variable número de hojas.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=22,24339

Error: 306,4022 gl: 45

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
Brad.+Az	23,20	10	5,54	A	
Brad.	22,10	10	5,54	A	B
Az.	0,20	10	5,54	B	
Testigo	0,00	10	5,54	B	
NewGibb	0,00	10	5,54	B	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 13: Análisis estadístico del número de nódulos.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,56263

Error: 0,5122 gl: 15

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
Brad.+Az	2,28	4	0,36	A	
Brad.	0,63	4	0,36		B
Az.	0,48	4	0,36		B
NewGibb	0,00	4	0,36		B
Testigo	0,00	4	0,36		B

Anexo 14: Análisis estadístico del peso seco de los nódulos.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,19429

Error: 0,2992 gl: 15

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Brad.+Az	5,70	4	0,27	A
Brad.	5,43	4	0,27	A
Az.	5,10	4	0,27	A B
NewGibb	4,70	4	0,27	A B
Testigo	4,20	4	0,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 15: Análisis estadístico del peso seco de la raíz.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,27076

Error: 0,3198 gl: 18

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Brad.	5,91	4	0,28	A
Brad.+Az	5,71	4	0,28	A
NewGibb	5,33	4	0,28	A
Az.	4,65	4	0,28	A B
Testigo	4,01	4	0,28	B C
Maiz	3,22	4	0,28	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 16: Análisis estadístico del Contenido de nitrógeno

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,43143

Error: 1,2400 gl: 15

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Brad.	25,28	4	0,56	A
Brad.+Az	24,35	4	0,56	A B
NewGibb	23,43	4	0,56	A B
Testigo	23,18	4	0,56	A B
Az.	22,58	4	0,56	B

Anexo 17: Análisis de varianza de la variable masa seca aérea.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,98736

Error: 0,9880 gl: 5

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
Brad.	40,45	2	0,70	A
Brad.+Az	36,50	2	0,70	A B
NewGibb	33,35	2	0,70	B C
Az.	29,55	2	0,70	C D
Testigo	29,15	2	0,70	D

Anexo 18: Análisis estadístico del Índice SPAD a los 90 DDS

DETERMINACIÓN DE MATERIA SECA TOTAL (MST)

La humedad de la muestra se pierde por volatilización a causa del calor. La cantidad de material residual después de eliminar la humedad, constituye la materia seca.

Equipo.

- Estufa a 105 °C
- Crisoles
- Desecador
- Balanza analítica

Procedimiento:

♣ Los crisoles deben ser lavados, secados por espacio de 8 horas a 105 °C y luego enfriados en el desecador, hasta temperatura ambiente.

♣ Pesarse por diferencia entre 1,5 a 2 gramos de muestra en el crisol. Llevar a la estufa a 105 °C durante una noche. A la mañana siguiente retire los recipientes con la muestra y coloque en un desecador, hasta enfriar a temperatura ambiente, finalmente pesarse en balanza analítica.

Cálculo:

$$\% MS = \frac{\text{Peso de la muestra seca}}{\text{peso muestra antes del secado}} \times 100$$

$$\% HH = 100 - \% MS$$

Porcentaje de humedad higroscópica (%HH): para muestras parcialmente secas (PS)

CÁLCULO DE HUMEDAD TOTAL Y MATERIA SECA, PARA CONVERSIÓN A BASE SECA.

El secado a 65 °C, no elimina el agua de muy baja presión de vapor presente en la muestra, por lo que es necesario someterla a temperatura más elevadas a 105 °C, con vacío parcial, durante 8 horas hasta peso constante, como se indica en el método anterior. La pérdida de peso que aquí se obtiene, indica la humedad retenida, por la muestra y relacionándola con la pérdida de peso obtenida por secado a 65 °C, nos permite determinar el porcentaje total de humedad de la muestra alimenticia, mediante la siguiente fórmula:

$$H = HI + (100 - HI) \times HH / 100$$

$$\% MS = 100 - \% H$$

H= Humedad total en porcentaje.

HI= Humedad inicial (HI) en porcentaje.

HH= Humedad Higroscópica (HH) en porcentaje

Anexo 19: Protocolo de laboratorio para determinar la materia seca total de las muestras de soya.

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES: DETERMINACIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL POR EL MÉTODO DE KJELDAHL

Metodología: AOAC 2001.11

Como consecuencia de su estructura a base de aminoácidos individuales, el contenido en nitrógeno de las proteínas varía sólo entre unos límites muy estrechos (15 a 18% en promedio 16%). Para la determinación analítica del contenido en proteína total, se determina por lo general el contenido de nitrógeno (N) tras eliminar la materia orgánica con ácido sulfúrico (método de Kjeldahl), calculándose finalmente el contenido de proteína con ayuda de un factor (en general $f = 6.25$). Se asume que el SO_3 que se forma durante el tratamiento a altas temperaturas se adiciona como ácido de Lewis al grupo NH del enlace peptídico (base de Lewis) de la proteína, formándose el correspondiente ácido amidosulfónico, el que posteriormente se transforma en sulfato amónico por degradación. El sulfato amónico se determina a continuación, tras liberación del NH_3 y destilación, por medio de una valoración ácido-base. Como en el tratamiento Kjeldahl de alimentos no se determinan sólo proteínas o aminoácidos libres, sino también ácidos nucleicos y sales de amonio y también nitrógeno ligado de compuestos orgánicos vitaminas, el nitrógeno ligado orgánico se expresa como "nitrógeno total calculado como proteína o como "proteína total" ($N \times f$). No obstante, como por lo general los alimentos sólo contienen cantidades traza de compuestos aromáticos nitrogenados y de vitaminas, el error así cometido se considera despreciable.

Fundamento

La sustancia a investigar se somete a un tratamiento oxidativo con ácido sulfúrico concentrado en presencia de una mezcla catalizadora (las sales/óxidos metálicos sirven para el transporte de oxígeno con formación intermedia de oxígeno nascente; el sulfato potásico sirve para elevar el punto de ebullición, alcanzándose temperaturas de 300-400°C durante la digestión). Del sulfato amónico formado se libera el amoníaco por tratamiento alcalino y éste se transporta con ayuda de una destilación en corriente de vapor a un recipiente con ácido bórico y se realiza una titulación con una solución valorada de ácido sulfúrico. El contenido en proteína de la muestra se calcula teniendo en cuenta el contenido medio en nitrógeno de la proteína en cuestión.

Reactivos:

H_2SO_4 concentrado p.a. (98%), Catalizador, NaOH 40%, Solución H_3BO_3 4%, Solución H_2SO_4 0,1 N, Indicador Mortimer: 0,016% rojo de metilo, 0,083% verde de bromocresol en etanol.

Determinación:

a) Digestión

Colocar la cantidad adecuada de muestra (de acuerdo al contenido estimado de nitrógeno) entre 0,1 y 4 g con una precisión de ± 1 mg, en el tubo Kjeldahl de 500 ml. Agregar catalizador y 10-20 ml de H_2SO_4 concentrado. Todo el material debe estar sumergido en el ácido para que no haya pérdidas de nitrógeno. Setear la rampa de temperatura. La digestión demanda entre 1 – 3 horas

b) Destilación

Preparar un erlenmeyer con 25-50 ml de H₃BO₃ 4% (sobre el cual se va a recoger el NH₃ destilado) y gotas de indicador Mortimer (color rojo), y colocarlo a la salida del refrigerante cuidando que el extremo del mismo quede sumergido en la solución ácida. El equipo irá agregando la cantidad necesaria de solución de NaOH 40% como para neutralizar el ácido sulfúrico. El indicador vira a azul cuando empieza a destilarse el NH₃ por arrastre en corriente de vapor. Se sigue destilando hasta llegar a aproximadamente 200 ml en el erlenmeyer colector (los primeros 150 ml de destilado contienen generalmente la totalidad del NH₃).

c) Valoración

El destilado se valora con solución de H₂SO₄ 0,1 N, hasta lograr el viraje del indicador Mortimer al color inicial rojo.

d) Blanco

Se debe realizar un blanco de reactivos, siguiendo las mismas indicaciones, pero sin colocar muestra en el balón.

Cálculos:

$$\text{Proteína total \%} = (\text{VMuestra} - \text{VBlanco}) \times \text{NAcido} \times 1.4 \times \text{F/G Muestra}$$

Siendo:

VMuestra: ml de ácido gastados en la valoración de la muestra

VBlanco: ml de ácido gastados en la valoración del blanco

NAcido: normalidad del ácido sulfúrico

0.014: peso del meq de nitrógeno, en g

F: factor de conversión de nitrógeno a proteína

G: muestra peso en g de la muestra

En los cálculos para convertir nitrógeno a proteínas, usar el factor 6,25 para carnes, 5,7 para cereales y soja y 6,38 para leche y derivados.

Anexo 20: Procedimiento del método de KJELDAHL.

Lic. Andrea Sthefanía Carrión Mgs

0984079037

andrea.s.carrion@unl.edu.ec

Loja-Ecuador

Loja, 14 de junio del 2024

La suscrita, Andrea Sthefanía Carrión Fernández, Mgs, **DOCENTE EDUCACIÓN SUPERIOR** (registro de la SENESCYT número: 1008-12-1124463), **ÁREA DE INGLÉS-UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**, a petición de la parte interesada y en forma legal.

CERTIFICA:

Que la traducción del resumen del documento adjunto, solicitado por la señorita: **Maria Angela Silva Quezada** con cédula de ciudadanía No. **1150735650**, cuyo tema de investigación se titula: **Efecto de la inoculación de rizobacterias en el crecimiento y desarrollo del cultivo de soya (*Glycine max* L.) bajo condiciones controladas en la Quinta experimental "La Argelia."** ha sido realizado y aprobado por mi persona, Andrea Sthefanía Carrión Fernández, Mgs. en Pedagogía.

El apartado del Abstract es una traducción textual del Resumen aprobado en español.

Particular que comunico en honor a la verdad para los fines académicos pertinentes, facultando al portador del presente documento, hacer el uso legal pertinente.

ANDREA
STHEFANIA
CARRION
FERNANDEZ

Firmado digitalmente
por ANDREA STHEFANIA
CARRION FERNANDEZ
Fecha: 2024.06.14
15:02:26 -06'00'

Andrea Sthefanía Carrión Fernández. Mgs.

English Professor

Anexo 21: Certificación de traducción del resumen.