

720399

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

---



EFECTO DE LA INOCULACION DE RHIZOBIUM  
JAPONICUM EN EL RENDIMIENTO DE SOYA

**TESIS PROFESIONAL**

Que Para Obtener el Título de  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

MARIA DE LOURDES PINSON RINCON

México, D. F.

1978



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS 1978

00 M.T. ~~340~~ 341]

FECHA \_\_\_\_\_

PROC \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Jurado asignado originalmente según el tema:

Presidente,	profesora	Natalia Salcedo Olavarrieta
Vocal	profesor	Alfredo Echegaray Aleman
Secretario	profesora	Rosa Marfa Ramirez Gama
1er. suplente	profesora	Lilia Vierna de Garcia
2do. suplente	profesor	Jorge Soto Soria

Sustentante: Marfa de Lourdes Pinson Rincón

Asesor del tema: Rosa Marfa Ramirez Gama

## I N D I C E

### INTRODUCCION

- I.- IMPORTANCIA ECONOMICA DE LA SOYA A NIVEL MUNDIAL  
Y EN MEXICO
- II.- EFECTOS ECOLOGICOS Y CALIDAD DE INOCULANTES  
SOBRE LA NODULACION
- III.- IMPORTANCIA DEL USO DE INOCULANTES
- IV.- PROCESOS DE INOCULACION
- V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
- VI.- RESUMEN
- VII.- BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION

Mundialmente se ha dado gran atención al cultivo de la soya, por tratarse de la leguminosa con mayor y mejor fuente de protefnas de origen vegetal y también de grasas.

Las plantas leguminosas al tener mayor concentración de protefnas y consecuente de nitrógeno en relación a otras plantas (cada kilogramo de semilla de soya contiene de 60 a 70 g. de nitrógeno y la vaina de 30 a 35 g.) necesitan de una mayor cantidad de nitrógeno asimilable (de 540 a 630 kilogramos de nitrógeno son necesarios para una producción de soya de aproximadamente 6000 Kg/Ha) <sup>(31)</sup> el que se proporciona a través de la adición de fertilizantes nigrogenados y/o fijación simbiótica del mismo.

Se ha comprobado por medio de diversos experimentos de campo que la fertilización con nitrógeno aumenta la producción y que este mismo efecto se obtiene cuando se lleva a cabo una bacterización adecuada, específica y efectiva, y se establece la simbiosis entre la leguminosa y Rhizobium. Tomando en consideración que en el caso específico de las leguminosas la fertilización nitrogenada puede ser substituída, o bien limitarse a cantidades muy pequeñas con el objeto de favorecer el desarrollo de la leguminosa en tanto se establece la simbiosis, es

importante continuar con este tipo de estudios que permiten aprovechar el beneficio de la actividad simbiótica en provecho de la economía del nitrógeno, ya que al limitar la utilización de fertilizante nitrogenado en este tipo de cultivos, obviamente su aplicación se canalizaría hacia cultivos que no tienen otra posibilidad de obtención de nitrógeno, y se ha reportado que la fijación simbiótica de 100 kgs. de nitrógeno es equivalente a la aplicación de 50 kgs. de sulfato de amonio (18). Sin embargo, para que la simbiosis sea efectiva desde el punto de vista de la fijación de nitrógeno, se deben considerar diversos aspectos entre los cuales se mencionan: especificidad entre huésped y hospedero; efectividad en la fijación de nitrógeno por las diversas cepas de *Rhizobium*; necesidades de nutrimentos, las que varían de región a región, y consecuentemente es recomendable efectuar experimentaciones sucesivas en un área determinada variando dosis de fertilizante y de esta manera establecer las dosis óptimas de interacción fertilizante-inóculo-producción, esto es desde luego influido por el tipo de suelo, clima y por otros factores tales como la presencia de microorganismos antagónicos a *Rhizobium* o de organismos parásitos de las leguminosas, que repercuten en el establecimiento de una nodulación adecuada, simbiosis efectiva y en la producción.

El objetivo del presente estudio es el de recopilar los resultados que dichas investigaciones han tenido en los diversos países en que se han realizado, de tal manera que se llegue a un juicio sobre la efectividad de la inoculación, tomando en cuenta los diversos parámetros involucrados, cuyo efecto pudiera ser positivo o negativo sobre la nodulación y de esta manera afectar la producción. Dentro de estos parámetros deben ser considerados la calidad de los inoculantes, la que depende tanto del número de Rhizobia como de la efectividad de la fijación simbiótica de nitrógeno en las condiciones locales (56); así como de diversos aspectos de la fabricación de inoculantes tales como el caldo de inóculo, materiales usados como soporte, material de empaque, tipo de almacenamiento, pruebas constantes de viabilidad, los que constituyen otro aspecto muy importante, así como también los procesos mediante los cuales se efectúa la inoculación. Aquí se exponen los resultados de la acción conjunta de inoculantes y aplicación de fertilizantes sobre el rendimiento de este grano.



## I. IMPORTANCIA ECONOMICA DE LA SOYA A NIVEL MUNDIAL Y EN MEXICO

Con el aumento de la población mundial las deficiencias nutricionales han aumentado, especialmente en países subdesarrollados donde siempre han existido. La FAO <sup>(70)</sup> en 1969 reportó que el país con más baja ingesta per cápita de proteínas es la India (47.9 g.), mientras que el país con mayor ingesta de proteínas per cápita es Nueva Zelanda (108.49 g.). Los valores de ingesta de proteínas para los otros países fluctúan entre estos dos, dependiendo de su nivel de desarrollo económico.

Una de las posibles soluciones para obtener proteína de alto valor nutritivo y en mayor cantidad a menor precio, sería el de extender los cultivos de soya a mayor número de áreas y aumentar su producción, ya que se trata de la leguminosa con más alto contenido proteico (los alimentos preparados con soya contienen aproximadamente un 44% de proteínas) <sup>(53)</sup>, además de que aunque es originaria de países cálidos (se supone originaria de Filipinas), posee la capacidad de adaptarse a los ambientes más diversos. Se le ha cultivado bajo condiciones variables obteniéndose buenos resultados en cuanto a producción y éstos se optimizan cuando se emplean variedades seleccionadas y de mayor adaptación a una región dada.

Los principales países productores de soya son Estados Unidos y China, siguiendo en orden de importancia países europeos, asiáticos y americanos como la URSS, Indonesia, Japón, Canada y Brasil, siendo éste último el de mayor importancia en Latinoamérica; países como Cuba, la India, Federación Malaya; en donde en los programas de mejoramiento, tienen un papel muy importante la búsqueda de mejores fuentes de proteínas (debido a los problemas nutricionales a que se enfrentan) se han aumentado las áreas de investigación para la obtención de mayor y mejor producción de soya.

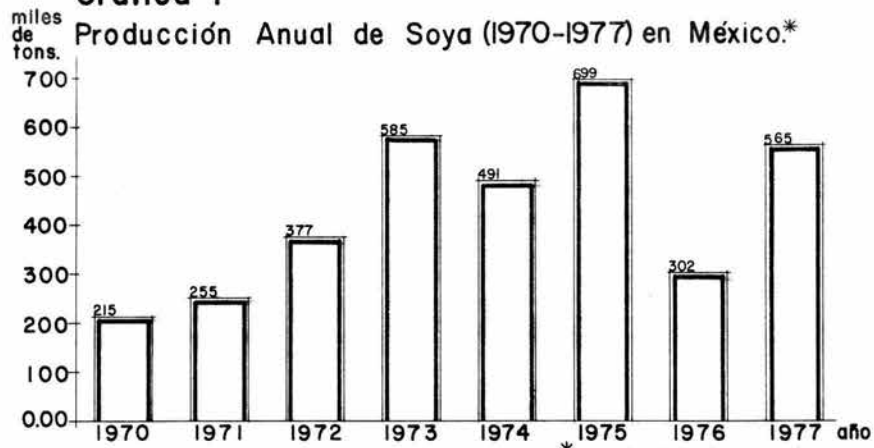
En México la explotación comercial de la soya se inició en 1958 con 300 Ha. en el estado de Sonora, aunque desde 1947 se conocía el potencial que presentaban algunas variedades. Actualmente la superficie ocupada por la soya en el país abarca 300,000 Ha., siendo las principales zonas productoras: El Valle del Yaqui, Costa de Hermosillo y Valle de Mayo en el estado de Sonora; Valle del Fuerte en el estado de Sinaloa y el sur del estado de Tamaulipas<sup>(12)</sup>.

Como puede observarse en las gráficas 1 y 2 referentes a la producción e importación anual de soya en México, aunque puede decirse que no obstante altas y bajas ha habido un aumento en la producción en el período 1970-1977 (de 215,000 ton. a 565,000 ton.), esta producción no alcanzó a cubrir las

necesidades del país, habiéndose registrado un aumento en las cifras de importación de 22,174 ton. en 1975 a 432,635 ton. en 1977. Lo cual no obstante que en 1975 se tuvo la mayor producción hasta el momento (699,000 ton.), indica que la producción no ha aumentado a la par de la demanda, y la importación, como consecuencia, ha aumentado. Esto nos indica la necesidad de aumentar la superficie cosechada (gráfica 3), así como de mejorar las técnicas de cultivo y sistemas de riego, ya que actualmente el cultivo de soya depende casi totalmente de agua de temporal, y en relación a la tecnología se observa que la producción por hectárea (gráfica 4), no varió significativamente en el período 1970-1977. Esto hace pensar que el manejo en la siembra de la soya debe ser optimizado a través de inoculación y dosis adecuadas de fertilizantes, así como de densidad de semilla y selección de variedades de soya adecuadas. Tomando en cuenta que México es un país con grandes deficiencias nutricionales, el mejoramiento del cultivo de la soya, para obtener mayores producciones que cubran las necesidades del país a menor costo que el actual (gráfica 5), sería una de las posibles soluciones.

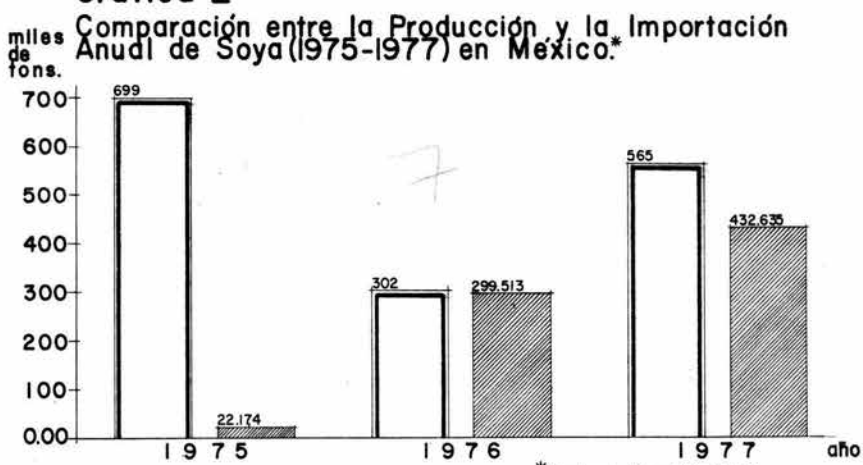
34 p... l... t...

### Gráfica 1



\*Fuente de información: S.A.R.H. Dirección General de Economía Agrícola.

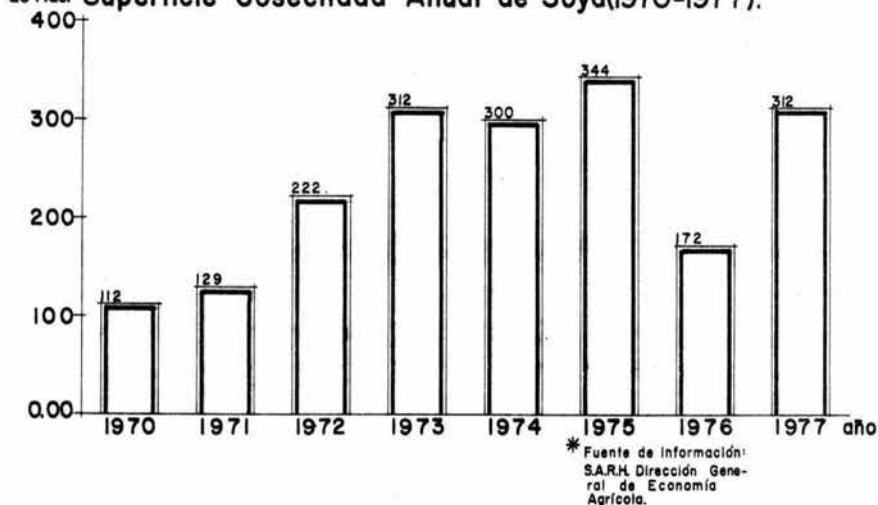
### Gráfica 2



Producción  
Importación

\*Fuente de información: S.A.R.H. Dirección General de Economía Agrícola y Dirección General de Estadística.

**Gráfica 3**  
**Miles de Has. Superficie Cosechada Anual de Soya(1970-1977)\***

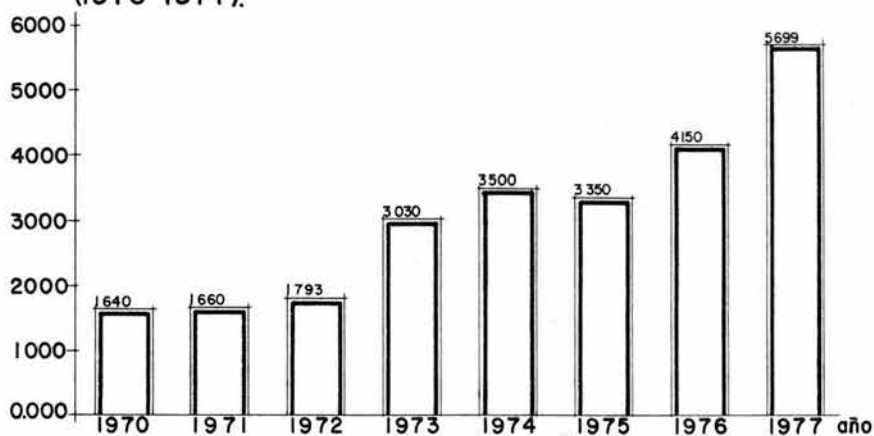


**Gráfica 4**  
**Kgs. Rendimiento Medio Anual por Ha. de Soya(1970-1977)\***



### Gráfica 5

Pesos Mexicanos Precio Medio Rural Anual por Tonelada de Soya (1970-1977)\*



\* Fuente de Información: SARH Dirección General de Economía Agrícola.

## II EFECTOS ECOLOGICOS Y CALIDAD DE INOCULANTES SOBRE LA NODULACION

La simbiosis es un mecanismo tan bien integrado que posee un alto grado de autorregulación, pero como todo sistema biológico es sensible a factores del medio ambiente como son: la temperatura intensidad de la luz, humedad, concentración de oxígeno, pH del suelo, concentración de nutrimentos en el suelo (en especial de aquellos que pueden afectar el comportamiento sibiótico), defoliación, número insuficiente de Rhizobia que infecten a la leguminosa en un tiempo corto y den lugar a una nodulación rápida y adecuada, y compatibilidad incompleta entre los simbioses.

Temperatura.- Las alteraciones debidas a los cambios en temperatura pueden llegar a la planta nodulada a través de las rafces o de los tallos y hojas y su efecto puede ser de corta o larga duración (28). Se han encontrado evidencias de que las plantas responden a bajos niveles de temperatura produciendo un gran volumen de tejido nodular (26), lo que ha sido considerado como una forma de compensación contra la baja actividad en la fijación de nitrógeno por unidad de tejido. [Similarmente se ha encontrado que las altas concentraciones de leghemoglobina en los nódulos de plantas que han sufrido una baja en la temperatura,

responden a un efecto de compensación, que ocurre ya sea a través de la producción de niveles altos de leghemoglobina en nódulos individuales o manteniendo tejido activo para reemplazar al que pudo degenerar a una temperatura superior (19). Se ha observado que las plantas de soya noduladas respondieron de 2 formas a los cambios en temperatura: (1) el peso total de tejido nodular excedió al de plantas crecidas a la temperatura óptima; (2) las raíces de soya noduladas incubadas entre 10 y 40 grados centígrados, mostraron un marcado efecto de la temperatura sobre la actividad de fijación de nitrógeno, la temperatura óptima para la máxima actividad cayó en el rango de 27 a 22 grados centígrados por ser una leguminosa que da sus mejores rendimientos en climas calurosos. Por encima de este rango de temperatura disminuyó la actividad en la fijación de nitrógeno por el efecto degenerativo que sobre el tejido nodular tienen las temperaturas superiores a la óptima (28).

Luz.- Se han observado marcados efectos de la intensidad de la luz (duración del día) sobre la nodulación en el frijol de soya (20). Los efectos de la luz sobre las raíces noduladas dependen de la cepa de Rhizobium que esté formando los nódulos (27), de tal manera que un sistema fotorreactivo de alta energía puede resultar adverso o benéfico para la nodulación. Los efectos diurnos sobre la actividad específica de la fijación de nitrógeno en la soya fueron observados, obteniéndose el máximo efecto,



cercano al período de máxima intensidad de la luz (65). El 50% de sombra impuesto en el período de la floración, disminuyó la fijación de nitrógeno (de 125 a 91 Kg/Ha.), por estación, mientras que un aumento en la intensidad de la luz incrementó la fijación de nitrógeno (a 165 Kg/Ha.), por estación (31). La actividad de fijación de nitrógeno, específica de cada nódulo, se vió afectada de manera similar (7). Estas observaciones demuestran una relación directa entre la intensidad de la luz y la fijación de nitrógeno y se interpretan como una expresión de la cantidad de compuestos orgánicos (carbohidratos) aportados por la fotosíntesis (31).

Humedad.- La escasez de agua en las zonas donde se han sembrado las leguminosas inoculadas, ocasiona el que no exista la humedad requerida para una buena nodulación, lo cual se refleja en los siguientes aspectos: reducción de la actividad de los nódulos ya existentes, retroceso en el crecimiento de nódulos jóvenes y la no formación de más nódulos (66). Tales efectos sobre la nodulación ocurren vía la escasez de humedad, en las cercanías del sistema radical (suelo seco), ocasionando que este último no pueda proporcionar la cantidad suficiente de agua para llevar a la savia del tejido leñoso los productos de la fijación y tampoco compensar la deshidratación en la superficie nodular (66). Los efectos de la deshidratación son reversibles, si la pérdida de agua por parte de los nódulos no excede de un 20% de su peso

fresco máximo (67). Si la sequía es severa el daño es irreversible, pues las células se colapsan en la corteza nodular (68). El daño por falta de humedad puede detectarse si se observan las hojas situadas en la parte baja del tallo, ya que estas aparecen marchitas si no existe la suficiente humedad (69). En ocasiones las condiciones de sequía traen como consecuencia la acumulación de sales, tales condiciones salinas disminuyen la fijación de nitrógeno (8), pero una vez modificadas las condiciones los nódulos recobran su pigmentación y la fijación de nitrógeno se inicia de nuevo.

Concentración de oxígeno.- En habitats naturales se ha observado muy frecuentemente que las leguminosas no toleran los suelos pobremente aireados, y que los nódulos formados en sus raíces ocupan los sitios de mejor areación del suelo (51a). Estudios tanto sobre la respiración como de la fijación de nitrógeno en nódulos expuestos a diferentes tensiones de oxígeno, mostraron que la efectividad en el aprovechamiento de carbohidratos durante la fijación de nitrógeno es máxima a niveles de oxígeno cercanos al atmosférico, y que aquella disminuyó cuando los niveles de oxígeno estuvieron por debajo de éstos. (51b).

PH del suelo.- Los suelos con PH ácido presentan condiciones adversas para la multiplicación y supervivencia de Rhizobium el que se desarrolla bajo condiciones que van de neutras a ligeramente ácidas (pH de 6.5 a 7.0) y que son consideradas como óptimas

para la mayoría de los Rhizobia. Muchos suelos en donde se siembra la planta inoculada son más ácidos que el valor límite dado anteriormente para la formación de nódulos, siendo ésta frecuentemente la causa de que se alargue el período entre la fecha de siembra y la germinación de la semilla. En suelos en donde el pH es inferior a 4.5, los Rhizobia no sobreviven en la mayoría de los casos, aún cuando la germinación de la semilla haya tenido lugar (18). El pH de los suelos ácidos puede modificarse neutralizando con cal.

Concentración de nutrimentos en el suelo. - Las deficiencias nutricionales pueden dividirse en dos grupos (4), aquellas responsables de síntomas severos de deficiencia de nitrógeno, tales como la acidez del suelo, calcio, molibdeno, y aquellas que tienen una influencia indirecta sobre la fijación de nitrógeno, tales como fósforo, potasio, magnesio, manganeso, azufre, boro, cobalto, cobre y zinc. Altos niveles de fierro y aluminio en combinación con niveles de pH inferiores a 5.5 tienen como resultado la fijación de fósforo con la consecuente inutilización del mismo. A pH inferiores a 6.0 reducen la utilización del molibdeno, e inducen la toxicidad por aluminio y manganeso. Las deficiencias en fósforo son muy importantes debido al papel que desempeña este elemento en la síntesis de proteínas. Una planta que haya desarrollado una nodulación efectiva bajo condiciones de deficiencias de fósforo no tendrá un mejor crecimiento que una

planta deficiente en nitrógeno. El calcio se requiere para la formación de nódulos, teniendo un papel muy importante en el desarrollo de la pared celular, de las células que forman el tejido nodular, también ayuda a contrarrestar la acidez del suelo. El molibdeno tiene un papel muy importante en la nutrición de Rhizobium y en el proceso de fijación de nitrógeno, los nódulos ricos en molibdeno fijan 2 ó 3 veces más nitrógeno que los nódulos deficientes en él. ✓

Defoliación.- Los efectos de la defoliación sobre la nodulación pueden ser severos<sup>(8)</sup>, moderados<sup>(76)</sup>, o tener poco o ningún efecto<sup>(19)</sup>, parecen variar con las especies<sup>(76)</sup> y con la intensidad y frecuencia de la defoliación<sup>(76, 19)</sup>. Se ha reportado que los nódulos que han perdido leghemoglobina y tejido bacteroide, recobraron su actividad por medio de la regeneración de tejido bacteroide<sup>(40)</sup>, aunque esto no se ha confirmado. También se ha encontrado que la actividad de la nitrogenasa disminuye por efecto de la defoliación<sup>(48)</sup>, pero se recupera bastante bien dentro de un período de 7 a 10 días después de ocurrido el descenso en la actividad.

Número insuficiente de Rhizobia para efectuar una pronta y adecuada nodulación.- Para la mayoría de las siembras con leguminosas se ha reportado que 100 Rhizobia por semilla en el momento de la siembra dan una pronta y efectiva formación de nódulos bajo condiciones favorables, mientras que más de

100,000 Rhizobia por semilla son necesarias cuando las condiciones son adversas para la supervivencia y multiplicación o cuando existe competencia por parte de cepas nativas de Rhizobium para la formación de los nódulos. La población de Rhizobium en la rizosfera deberá desarrollarse rápidamente a partir del inóculo aplicado, si se requiere una pronta nodulación. Un número bajo de Rhizobia en el inóculo, puede retardar excesivamente la iniciación de la nodulación, con una consecuente disminución y aún fracaso en el crecimiento de la planta. De tal manera que grandes cantidades de inóculo sobre la semilla pueden dar como resultado una pronta nodulación, debido a una mayor probabilidad de que la población de la rizosfera alcance el número requerido de Rhizobia, para que éstos ocupen los primeros sitios de infección o para que se desplacen por medio del crecimiento de la raíz a nuevos sitios de infección.

Compatibilidad incompleta entre los simbioses.- La inoculación de la leguminosa huésped con una cepa de Rhizobium no específica para ella, trae como consecuencia que no se establezca la simbiosis y por lo tanto no existe fijación de nitrógeno que permita el crecimiento de la planta, o cuando éste se lleva a cabo se debe a niveles de nitrógeno existente en el suelo.

#### Calidad de los inoculantes

La calidad de los inoculantes depende principalmente del número de Rhizobia efectivos que contienen. Un inoculante de

alta calidad es el resultado final de un riguroso programa que incluye la selección de cepas de Rhizobium, crecimiento de Rhizobium en un medio de cultivo apropiado y su impregnación en un material de soporte, tal como turba (procedente del suelo) finamente dividida, realizando pruebas de campo con el objeto de encontrar el mínimo de Rhizobia que desarrollen una nodulación efectiva, además de efectuar pruebas que verifiquen la no contaminación por otros microorganismos.

El primer y más importante paso en el control de inoculantes, es la selección, almacenamiento y distribución de cepas efectivas de Rhizobium. Las cepas se seleccionan en primer lugar de acuerdo a su habilidad para fijar nitrógeno en asociación con la planta huésped. Otro tipo de criterios para la selección de cepas incluye, además del anterior, la habilidad de la cepa para sobrevivir en el suelo en ausencia de la planta huésped, para nodular bajo condiciones de campo y para competir con otras cepas de Rhizobium por la formación de nódulos. Otro aspecto, aunque de menor importancia, es la facilidad que presente la cepa para su cultivo en un medio artificial, con el objeto de preparar cultivos de inoculación. Las cepas seleccionadas deben probarse anualmente bajo condiciones controladas (invernadero) y en experimentos de campo para asegurarse de que aún mantengan un alto nivel de fijación de nitrógeno. Las pruebas de campo deben conducirse en diferentes localidades (medio ambiente) con el objeto

de prevenir daños como la pérdida de la competitividad o habilidad de supervivencia. (18)

Pasos en la producción de inoculantes y su relación con la calidad.

Caldo de inóculo.- Todas las cepas se mantienen en la forma liofilizada a 5 grados centígrados. Cuando no se puede liofilizar, el almacenamiento en un medio amortiguado de extracto de gelosa-levadura-manitol bajo parafina líquida ha dado muy buenos resultados. Estos cultivos deberán renovarse cada 12 a 18 meses para mantener la viabilidad. Tales cultivos mantienen un mínimo de riesgos de variación y contaminación por extensos períodos. Cada temporada de preparación de inoculantes **se abre una ampula o cultivo** en parafina de cada cepa y se preparan de doce a quince cultivos nuevos en parafina. 12 de éstos sirven como cultivo madre para la preparación de cultivos con los cuales se fabricarán los inoculantes. La pureza y autenticidad del tipo de Rhizobium usado para inocular el caldo es de mucha importancia tanto para la especificidad del inoculante, como para tener la seguridad de que no existen microorganismos contaminantes. El número de Rhizobia variables por mililitro también es muy importante, aunque cuando el soporte se ha esterilizado lo es menos.

Materiales Soporte.- Las turbas y suelos con alto contenido de materia orgánica son los que más comunmente se usan como

soporte. El éxito de tales materiales para prevenir el deterioro y aún para promover el crecimiento de Rhizobia, puede variar grandemente dentro del depósito. Estos materiales también se ven afectados en algunas ocasiones por el tratamiento anterior a la inoculación. El material soporte se seca, se muele y se esteriliza ya sea por vapor bajo presión o irradiación gama. Existen grandes diferencias entre los diversos materiales soportes con respecto a su poder para absorber la humedad, lo que determina la cantidad de caldo que deberá agregarse en la inoculación. El potencial de agua óptimo para la mayoría de las cepas de Rhizobium está entre 3.9 y 4.0.

Material de empaque.- Deberá permitir un mínimo de intercambio de oxígeno y restringir el paso de agua. La literatura a este respecto es confusa, probablemente debido a que Rhizobium tiene poca, pero si muy definida demanda, por el intercambio de gas a través del material de empaque. Se recomienda la incubación a 28 grados centígrados durante dos semanas antes del uso del inoculante, el almacenamiento después de la incubación deberá ser lo más cercano que se pueda a los 4 grados centígrados. Las temperaturas altas tienen efectos adversos sobre la supervivencia de Rhizobium en el inoculante. Lo cual implica un gran riesgo durante el transporte, a menos que se utilice refrigeración.



Entre los problemas en la producción de inoculantes se encuentran los siguientes:

- 1.- Producción de toxinas en la turba, provocadas por el sobrecalentamiento.
- 2.- Variabilidad de la turba disponible en el depósito.
- 3.- Acumulación de sal en el depósito de turba, ya que tiene un efecto adverso sobre la supervivencia de Rhizobium, lo que indica la necesidad de analizar constantemente el material de soporte, particularmente si está expuesto a cambios de clima.
- 4.- Variabilidad de la cepa en infectividad, el tipo de colonia puede no variar, pero si la invasividad y efectividad, aún cuando se haya observado un buen almacenamiento (57).

## III. IMPORTANCIA DEL USO DE INOCULANTES

Se ha reportado desde hace mucho tiempo que la inoculación del frijol de soya (Glycine max.L.) con el cultivo efectivo de Rhizobium japonicum da incrementos excelentes en la producción de la semilla y en general de la planta (2), y se cita que en el suroeste de Estados Unidos la inoculación de las semillas de soya con cultivos de Rhizobium japonicum da como resultado el aumento de la producción (10), porcentaje de proteína en la semilla, nodulación de la raíz y peso fresco por planta, sin embargo, también se reporta una disminución del porcentaje de aceite en la semilla (38). En Tailandia (71) se obtuvieron resultados similares cuando se probaron 14 cepas de Rhizobium japonicum (5 de Tailandia provenientes de áreas cultivadas con soya, 2 de Taiwan, 5 de Estados Unidos y 2 de Japon). Se encontró que las cepas 8-T, 110, 76, 15-7, 18-8 y 62 fueron relativamente más efectivas; y entre estas, la cepa 110, procedente de Estados Unidos, resultó ser la de mayor efectividad para aumentar la producción. En general en diversos países y regiones se han obtenido buenos rendimientos en la producción de soya mediante la inoculación con Rhizobium japonicum. (5)

La cantidad de nitrógeno fijado por las leguminosas es completamente variable y depende de factores tales como especificidad de la cepa de Rhizobium por la leguminosa, infectividad,

TABLA 1.- EFECTO DE LA INOCULACION EN EL RENDIMIENTO DE LA SOYA

Pafs	Tipo de suelo y/o caracterfsticas	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Producción g/maceta
71. Tailandia (Bandit Tan- siri, Jenjai Vasuwat, Somsak Vang- nai 1974) *	Suelo ácido PH = 4.9 cec = 3.4 Me/100 gm.	Tailandia 8-T	no se especifica	Var. Jupiter 15.27
		" S6-Pc <sub>2</sub>		12.45
		" S6 k586		8.97
		" S6-60		7.29
		" E <sub>27</sub>		11.12
		EE. UU. 110		18.44
		" 76		14.83
		" 15.7		12.90
		" 18.8		15.79
		" 62		12.88
		Taiwan C <sub>p</sub> 20-B <sub>4</sub>		12.37
		" Cy9-B <sub>5</sub>		10.75
		Japón sb-jp'		9.66
		" Jap 506		9.20
Control		10.67		

TABLA 1. EFECTO DE LA INOCULACION EN EL RENDIMIENTO DE LA SOYA

(continuación)

PAIS	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Producción Kg/Ha
5.- Rumania (Balan, N., Vinca, D., Galbenu, E., Munteanu, D., & Tabaranu T. 1966-69) ** Suelos irrigados Braila Marculesti	Chernozem carbonado	control		1710
		cepa S069	no se especifica	2110
		cepa S075	"	2322
		cepa S078	"	2344
		cepa S085	"	2190
Caracal	Chernozem color marron	control		1460
		cepa S069	no se especifica	2311
		cepa S075	"	2011
		cepa S078	"	2190
		cepa S085	"	2077
Simnic	Suelo forestal café rojizo	control		2144
		cepa S069	no se especifica	2522
		cepa S075	"	2480
		cepa S078	"	2566
		cepa S085	"	2470
Albota	Podzolico exogleico	control		2355
		cepa S069	"	2380
		cepa S075	"	2770
		cepa S078	"	2770
		cepa S085	"	2606
		control		2380
		cepa S069	"	2560
		cepa S075	"	2780
		cepa S078	"	2322
		cepa S085	"	2510

TABLA 1.- EFECTO DE LA INOCULACION EN EL RENDIMIENTO DE LA SOYA (continuación)

PAIS	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentracion de inóculo	Producción Kg/Ha.
Suelos no irrigados: Tg. Mures	Suelo de foresta café.	control	no se especifica	1677
		cepa S069		1940
		cepa S075		1810
		cepa S078		1810
		cepa S085		1880
Livada	Suelo podzólico media foresta café	control	no se especifica	2180
		cepa S069		2511
		cepa S075		2390
		cepa S078		2333
		cepa S085		2280

\* Experimento a nivel de invernadero.

\*\* Experimento a nivel de campo.

grado de efectividad en la fijación de nitrógeno, cantidad de nitrógeno disponible en el suelo, especie de leguminosa y condiciones generales de crecimiento. Tales factores y su interacción con el incremento en la producción de soya por el uso de inoculantes serán analizados en el presente capítulo en base a investigaciones realizadas en el extranjero y en México.

Efecto de la variedad de soya sobre el éxito de la inoculación en el incremento de la producción.

Se ha encontrado que cepas pertenecientes a las mismas especies de Rhizobium difieren en su habilidad para fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con la leguminosa huésped (1), algunas cepas de Rhizobium japonicum son más efectivas y específicas a ciertas variedades de soya (9); si esta propiedad puede ser atribuida a los Rhizobia o a la planta huésped o a ambos simbiosiontes, no se sabe aún con certeza.

En la India (39) se obtuvieron los siguientes resultados al inocular con dos cepas de Rhizobium japonicum 6 variedades de soya (experimento de invernadero) con el objeto de observar el efecto por variedad sobre el incremento de la producción: variedad Bragg 3 veces más que el tratamiento control; variedad Punjab-1,2 veces más; variedad Clark-63 más de 4 veces aproximadamente; variedad Master-piece más de 10 veces y variedad Lee aproximadamente de 4 a 5 veces. Lo cual demuestra que además de la variación por cepa, la especificidad por variedad de soya

TABLA 2.- EFECTO DE LA VARIEDAD DE SOYA SOBRE EL RENDIMIENTO DE SOYA INOCULADA CON RHIZOBIUM JAPONICUM Y AZOTOBACTER Y CON AZOTOBACTER UNICAMENTE

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en la producción por variedad de soya g/maceta					
				Bragg	Pelican mejorada	Punjab-1	Clark-63	Master P.	Lee
39.India Jain M. K., Rewa ri R. B. 1975 *)	Se ajustó a un pH de 6.7-70 y tamaño de partículas uniforme	control		11.255	4.542	5.500	3.106	1,260	2,798
		"A" Azotobacter cepa 41	$1 \times 10^8$ cel/se milla aproxi madamente	12.810	6.783	5.795	3.195	1.462	2.917
		"B" Rj cepa Nanking	"	32.581	17.697	11.766	14.060	12.864	12.605
		"C" Rj USDA b-136	"	19.186	19.001	7,398	8.648	3.094	11.774
		A + B	"	16,220	15.282	15.004	11.784	10.861	12.382
		A + C	"	14.214	17.654	12.844	9.028	2.033	10.381
		B + C	"	20,370	15.625	10.839	10.368	9.023	14.678
		A + B + C	"	20,501	15.191	22.185	11.288	8.122	12.541

\* EXPERIMENTO DE INVERNADERO

también controla la eficiencia de Rhizobium. Las cepas de Rhizobium japonicum utilizadas fueron: Nanking y USDA-b-136, ambas obtenidas en el Centro de Colección de Cultivos de la División de Microbiología I.A.R.I. de Nueva Delhi. En general la cepa Nanking dió una mejor producción de grano que la cepa USDA-b-136, con excepción de la variedad Pelican mejorada.

En general, además de considerar la especificidad de cepa de Rhizobium por variedad de soya, debe tomarse en cuenta para cada región por sus características agroclimáticas la variedad mejor adaptada (12).

Efecto de la acción combinada de Inoculante y Fertilizante, sobre el incremento en la producción de soya.

El principal problema en el uso de fertilizantes, especialmente los nitrogenados, es determinar los niveles adecuados y económicos de aplicación. Se cree que la aplicación excesiva de fertilizante no es necesaria en plantas que han sido inoculadas y que han desarrollado una buena nodulación, aunque actualmente existen evidencias de que es benéfica si la fertilización se efectúa al sembrar. Tal beneficio se cree es debido a que el crecimiento temprano de la planta ocurre sin interrupción, evitándose el agotamiento de nitrógeno y estimulando el inicio de la simbiosis. Se ha demostrado que la fijación de nitrógeno ocurre bajo la influencia de factores físicos, químicos y biológicos, y que estos afectan el desarrollo de la simbiosis (49).



Los suelos que no reciben una precipitación pluvial suficiente para el desarrollo normal de los procesos simbióticos bacterianos, responden a la aplicación de pequeñas dosis de fertilizantes nitrogenados. Se sabe que la presencia de nitratos y amoníaco en el suelo en grandes cantidades, reduce progresivamente la efectividad de la simbiosis (32). Serán analizados a continuación, experimentos de campo realizados en diferentes países y regiones de características agroclimáticas diferentes, dando una perspectiva más amplia del efecto que tiene la fertilización, en combinación con la inoculación, sobre el aumento de la producción.

a) Casos en que no es necesario fertilizar.- La siembra de frijol de soya es relativamente reciente en países de tipo tropical como Guyana (15), (país muy cercano al Ecuador) por lo cual se han realizado experimentos de campo que implican inoculación y fertilización combinada; pero esta última en ningún tratamiento inoculado tuvo efecto significativo, y aún más en algunos casos resultó perjudicial, ya que inhibió la acción de Rhizobium. Estos resultados se cree que se deben a que no se tomó en cuenta que el área de experimentación está situada en una zona de alta precipitación pluvial (2375 mm. por año) y que por lo mismo contiene altas concentraciones de nitrógeno (0.1 y 0.2%) por lo que no era necesario agregarlo, ya que existía una fuente adecuada de nitrógeno al sembrar la soya inoculada. Resultados similares se obtuvieron en la región de Tarai, India (63), donde un experimento de campo reveló que bajo las condiciones de dicha región no es

TABLA 3.- EFECTOS DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE

a) CASOS EN QUE NO ES NECESARIO FERTILIZAR

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	N	P	K	Mo,Fe,Co	Incremento en producción
15.- Guyana (Chesney, H.A.D., Khan, M.A. and Bises- sar, S. 1973) **	Acido pH=6	Nitragin	0	0 Kg/Ha	88Kg/Ha	88Kg/Ha	12.1 Me/ 100g de m. e. en el suelo.	4058 Kg/Ha.
			"	16 "	"	"	"	4355 "
			"	32 "	"	"	"	4197 "
			"	48 "	"	"	"	4245 "
			224/Kg de semilla	0 "	"	"	"	4105 "
			"	16 "	"	"	"	4135 "
			"	32 "	"	"	"	4043 "
			"	48 "	"	"	"	3723 "
			448/Kg de semilla	0 "	"	"	"	4043 "
			"	16 "	"	"	"	4307 "
			"	32 "	"	"	"	4058 "
			"	48 "	"	"	"	4095 "
			63.- India (Singh, J.N. Negi P.S.,Tri- pathi,S. x. 1971)	Acido pH 6.5 a 7.3	Nitragin	no se espec.	0 "	-
	20 "	-				-	-	3605 "
	40 "	-				-	-	3615 "

TABLA 3.- EFECTO DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE

a) CASOS EN QUE NO ES NECESARIO FERTILIZAR (continuación)

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	N		P	K	Mo, Fe, Co	Incremento en producción
					0Kg/Ha				
				-	-	-	-	-	3672
				-	40	"	-	-	3590
				-	80	"	-	-	3571
				-	160	"	-	-	3578
Rumania	Podsolico-exogleico	Control	no se especifica	0	-	-	-	-	1530 Kg/Ha
(Balan, N Galbenu, E L. Balan, N. Isfan D. Armeanu, M. Encui, M. Enescu, P. Pascu A.M. Picu, I., & Tianu A.) **		Cepa S069	"	0	-	-	-	-	1800 "
		control	"	30	-	-	-	-	1970 "
		cepa S069	"	30	-	-	-	-	2250 "
		control	"	60	-	-	-	-	1780 "
		cepa S069	"	60	-	-	-	-	2190 "
		control	"	90	-	-	-	-	1960 "
		cepa S069	"	90	-	-	-	-	1940 "
	Medio chernozem poroso	control	"	0	-	-	-	-	2360 "
		cepa S069	"	0	-	-	-	-	2740 "
		control	"	30	-	-	-	-	2550 "
		cepa S069	"	30	-	-	-	-	2680 "
		control	"	60	-	-	-	-	2610 "
		cepa S069	"	60	-	-	-	-	2730 "
		control	"	90	-	-	-	-	2440 "
		cepa S069	"	90	-	-	-	-	2500 "
Regiones Albota (1970-1972) Fundulea (1970-1971)									

TABLA 3

## EFECTO DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE

a) CASOS EN QUE NO ES NECESARIO FERTILIZAR (continuación)

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	N	P	K	Mo, Fe, Co	Incremento en producción
Mareșele (1970-1971)	Chernozem color marrón	Control	no se especifica	0	-	-	-	1350 Kg/Ha.
		cepa S069	"	0	-	-	-	2400 "
		control	"	30	-	-	-	1640 "
		cepa S069	"	30	-	-	-	2290 "
		Control	"	60	-	-	-	1810 "
		cepa S069	"	60	-	-	-	2310 "
		control	"	90	-	-	-	2090 "
		cepa S069	"	90	-	-	-	2220 "
		control	"	0	-	-	-	2090 "
		cepa S069	"	0	-	-	-	2600 "
Valul Traian (1970-1971)	Chernozem carbonatado color marrón	control	"	0	-	-	-	2200 "
		cepa S069	"	30	-	-	-	2560 "
		control	"	30	-	-	-	2550 "
		cepa S069	"	60	-	-	-	2660 "
		control	"	60	-	-	-	2720 "
		cepa S069	"	90	-	-	-	2760 "
		control	"	90	-	-	-	2760 "

\*\* Experimento de campo

necesario agregar nitrógeno como fertilizante a plantas de soya inoculadas, ni tampoco fósforo, ya que el suelo contiene altas concentraciones de fosfato, por lo que la producción no aumentó significativamente en respuesta a las diferentes dosis de fósforo, aunque el contenido protéico de la semilla si aumentó.

En Rumania <sup>(6)</sup>, desde 1970 se han venido realizando experimentos que examinen con mayor detalle y bajo varias condiciones de suelo la interacción con la cepa S0-69 (cepa simbióticamente muy activa e introducida recientemente) y la aplicación de fertilizante nitrogenado. Los resultados en cuanto a porcentaje de aumento en la producción en un período de 2 a 3 años, en 4 diferentes tipos de suelo, son los siguientes: las más altas producciones se obtuvieron en los tratamientos inoculados, la inoculación por si sola aumentó la producción desde un 16% hasta un 78%. En suelos fértiles como lo son los de las regiones de Fundulea y Marculesti, los requerimientos de nitrógeno de las plantas fueron proporcionados sólo por inoculación, sin hacer falta la fertilización; mientras que en suelos menos fértiles como los de la región de Albota, la inoculación no eliminó la necesidad de fertilizar.

b) Casos en que es necesario fertilizar. - En México, debido a que existen muy pocas áreas de riego, y éstas tienen un mal sistema <sup>(36)</sup> se tiene que recurrir a las temporadas de lluvia

y a la fertilización conjuntamente con la inoculación para obtener buenos rendimientos en la producción de soya. El problema referente a los sistemas de riego es de mayor importancia en las regiones del norte del país, en donde en general los suelos no son muy fértiles y la precipitación pluvial es escasa durante la mayor parte del año, de ahí la necesidad de efectuar inoculaciones efectivas y de encontrar los niveles de fertilización adecuados a las mismas. Actualmente se trata de extender el cultivo de soya a las regiones del sureste del país, por presentar éstas una alta precipitación pluvial durante la mayor parte del año y en donde se reportan necesidades bajas de fertilización, y que además constituyen áreas susceptibles a efectuar investigaciones sobre el efecto de inoculantes debido a que se puede asumir la ausencia de Rhizobium en este tipo de suelos. En estudios realizados en 1963 en la región del Bajío (25) sobre el efecto combinado de inoculante y fertilización en soya se encontró que los rendimientos de las parcelas sin fertilizar aumentaron de 993 a 2735 Kg/Ha., con el empleo de inoculantes. El tipo de respuestas tanto a N como a P, fue similar en las parcelas inoculadas; sin embargo, el nivel de productividad fué superior en los tratamientos inoculados. En la región de Delicias, Chihuahua(24) se realizaron una serie de experimentos de campo en un período de 3 años que comprendió 1965, 1967 y 1968, con el objeto de estudiar también la interacción inoculación-fertilización, y se encontró

que la práctica de inoculación de la semilla aumentó considerablemente el rendimiento de grano, y también hubo respuestas positivas a la aplicación de fertilizantes químicos nitrogenados y fosfatados en las dos series de suelos probadas y se considera por lo tanto necesaria la práctica combinada de inoculación-fertilización.

En Rumania existen dos zonas ecológicas específicas que pueden considerarse apropiadas para el cultivo de soya: en primer lugar las regiones de Moldavia, Transilvania y Banat, donde los suelos son fértiles y el clima es bueno (especialmente durante el período de floración y maduración de las vainas), en estas zonas las producciones normalmente exceden los 2000 Kg/Ha. Las fuentes de agua en estas regiones son buenas y provienen de agua subterránea, precipitación pluvial e irrigación. La segunda zona ocupa una gran parte de la tierra alta de Moldavia, la llanura Rumana y la tierra alta de Crisana, en estas regiones la aprovechabilidad del agua y la baja fertilidad son factores limitantes. En experimentos realizados en estas zonas se ha encontrado que cuando la soya se cultiva sin inocular o cuando por alguna razón la inoculación no es exitosa, es necesario aplicar grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados, en especial cuando por razones de escasa precipitación pluvial se utiliza irrigación. Se observó que en 8 regiones diferentes durante un período de 4 años, el nivel de nitrógeno necesario, para obtener un máximo en

el aumento de la producción, varió entre 127 y 147 Kg/Ha.. En estos tratamientos la fertilización fosfórica no tuvo efecto positivo sobre el nivel de producción. En la región de Lovrin, (34, 35), en tierras sin irrigación, se requirió de una fertilización con nitrógeno que varió de 90 a 120 Kg/Ha., para obtener un máximo en la producción. La fertilización con fósforo que varió desde 30 a 60 Kg/Ha., también obtuvo una respuesta satisfactoria, porque en esta región la movilidad del fósforo es reducida. La cepa S0-69 ya mencionada, dió un promedio de aumento en producción de 470 Kg/Ha., sobre el control no inoculado, en el intervalo de 4 años en 5 tipos diferentes de suelo, bajo condiciones de irrigación y usando una aplicación de fertilizante de 64 Kg. de N por hectárea y 64 Kg. de  $P_2O_5$  por hectárea en todos los tratamientos. (5)

En Cuba (64), al igual que en Rumania, se obtuvieron altos porcentajes en los aumentos de producción, como respuesta a aplicaciones excesivas de fertilizante a plantas de soya sin inocular. Sin embargo, la inoculación con la cepa australiana CB-1809, resultó efectiva y dió aumentos de producción equivalentes a aquellos obtenidos con la fertilización con nitrógeno por arriba de 50 Kg/Ha. La inoculación en combinación con fertilización (aplicación excesiva de fertilizante 75 Kg/Ha.) dió como resultado un aumento en la producción de grano del 69%, sobre los tratamientos inoculados sin fertilizar, lo que dicen los investigadores



TABLA 3.- EFECTO DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE

b) CASOS EN QUE ES NECESARIO FERTILIZAR

Pafs	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	concentración de inóculo	N	P	K	Mo, Fe, Co	Incremento en producción
25.- Méxi-co. (García B. Antonio y Moncada de la F. Jesús 1969)** (Región de Delicias, Chih) 1965	Migajones arenosos	Control	-	0	40	0	-	1758 Kg/Ha.
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	1914 "
		Control	-	30	40	0	-	1929 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2700 "
		Control	-	60	40	0	-	2031 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2776 "
		Control	-	90	40	0	-	2221 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2513 "
		Control	-	120	40	0	-	2067 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2312 "
		Control	-	60	80	0	-	2135 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2668 "
		Control	-	60	0	0	-	1883 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2165 "
		Control	-	60	40	40	-	2037 "
1967	Aranosos	Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2197 "
		Control	-	0	0	0	-	645 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	1270 "
		Control	-	0	40	0	-	619 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2658 "
		Control	-	30	40	0	-	1256 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2951 "

TABLA 3.- EFECTO DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE

b) CASOS EN QUE ES NECESARIO FERTILIZAR (continuación)

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	N	P	K	Mo, Fe, Co	Incremento de producción	
México (cont.)		Control	-	60	40	0	-	1822 Kg/Ha-	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2885 "	
		Control	-	90	40	0	-	1973 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	3004 "	
		-	-	-	-	-	-	-	-
		Control	-	150	40	0	-	1243 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	3109 "	
		Control	-	60	0	0	-	1235 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2307 "	
		Control	-	60	80	0	-	1481 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2859 "	
		Control	-	60	120	0	-	1309 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2629 "	
		Control	-	60	40	40	-	1094 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	3036 "	
		Control	-	60	40	80	-	1514 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2356 "	
1968	Migajones arenosos	Control	-	0	0	0	-	1211 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	1914 "	
		Control	-	0	40	0	-	1172 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2372 "	
		Control	-	30	40	0	-	1680 "	
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2617 "	
		-	-	-	-	-	-	-	-

TABLA 3.- EFECTO DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE

b) CASOS EN QUE ES NECESARIO FERTILIZAR

(continuación)

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	N	P	K	Mo,Fe,Co	Incremento en producción
México (cont).		Control	-	60	40	0	-	1992 Kg/Ha.
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2764 "
		Control	-	90	40	0	-	2354 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2823 "
		Control	-	120	40	0	-	2031 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2969 "
		Control	-	150	40	0	-	2451 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	3154 "
		Control	-	60	0	0	-	1602 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	1983 "
		Control	-	60	80	0	-	2158 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2735 "
		Control	-	60	120	0	-	2217 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2363 "
		Control	-	60	40	40	-	2168 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2441 "
		Control	-	60	40	80	-	2236 "
		Pagador	no se espec.	"	"	"	-	2490 "
64.-	Acido pH=5.5	Control	-	0	30	30	-	515.36 "
Cuba		Cepa CB1809	no se espec.	"	"	"	-	863.62 "
(Sistachs		Control	-	25	"	"	-	944.03 "
E.1976)**		Cepa CB1809	no se espec.	"	"	"	-	1068.73 "
(a) al		Control	-	50	"	"	-	993.48 "
sembrar.		Cepa CB1809	no se espec.	"	"	"	-	1033.57 "

TABLA 3.- EFECTO DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE

b) CASOS EN QUE ES NECESARIO FERTILIZAR (continuación)

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Fertilizante				Incremento de producción
				N	P	K	Mo, Fe. Co	
(b) Después del agotamiento del cotiledon		Control	-	75Kg/Ha	30Kg/Ha	30kg/l	-	1450.56 Kg/Ha.
		CB-1809	no se espec.	"	"	" Ha	-	1307.60 "
		Control	-	0 "	"	"	-	515.36 "
		CB-1809	no se espec.	"	"	"	-	863.62 "
		Control	-	25 "	"	"	-	1098.01 "
		CB-1809	no se espec.	"	"	"	-	960.01 "
		Control	-	50 "	"	"	-	1134.85 "
		CB-1809	no se espec.	"	"	"	-	777.96 "
		Control	-	75 "	"	"	-	1094.74 "
	CB-1809	no se espec.	"	"	"	-	1427.96 "	

\* El análisis de equivalencia inoc - fert. indica 60-40-0 para suelos migajosos, arenosos y 30-40-0 para suelos arenosos.

\*\* Experimento de campo.

viene a reafirmar el punto de vista de que el frijol de soya no puede alcanzar máximas producciones, cuando depende enteramente de la fijación simbiótica de nitrógeno<sup>(50)</sup>; esta insuficiencia aparente del mecanismo simbiótico se conforma por el concepto de que apoximadamente sólo de la mitad a las tres cuartas partes del total de nitrógeno para la obtención de producciones máximas es aportado por los procesos de fijación<sup>(3)</sup>. De cualquier manera en estudios recientes, con selecciones de soya noduladoras y no noduladoras, no se obtuvieron mejores producciones de las plantas no noduladoras fertilizadas con nitrógeno que de las plantas noduladoras no fertilizadas. La variedad con buena nodulación no tuvo una respuesta significativa a la fertilización con nitrógeno. Resultados similares han sido reportados por otros autores<sup>(73, 74, 75)</sup>. En base a lo anterior en Cuba se sugiere que un aumento potencialmente aceptable de producción puede obtenerse, con el uso de variedades de soya y cepas de Rhizobium adecuadas, utilizando una pequeña dosis de fertilizante nitrogenado o ninguna, pero es de suma importancia el agregarlo en zonas donde el nitrógeno no es de fácil asimilación.

c) Efecto de la época de aplicación del fertilizante.

En experimentos de campo realizados en Rumania en la región de Fundulea<sup>(33)</sup>, se probaron diferentes dosis de fertilizantes, tiempo de aplicación, técnicas de fertilización e inoculación, obteniéndose una producción del rango de 3020 a 3360 Kg/Ha., y

no se registró respuesta a la inoculación. Experimentos realizados en la misma región mostraron diferencias en la absorción cuando se aumentó la dosis de fertilizante (aplicado al sembrar) de 30 a 90 Kg/Ha.; aumentando el porcentaje de utilización del fertilizante de 32% a 44%. Aunque este alto porcentaje de utilización ocurrió a expensas del consumo de nitrógeno del suelo y de nitrógeno proveniente de la fijación simbiótica.

La utilización del fertilizante disminuyó cuando se aplicó en el período de crecimiento, debido a que la mayor cantidad de nitrógeno utilizado por la planta provino del nitrógeno del suelo y de la fijación simbiótica (siempre que esta fué igual a la obtenida sin fertilización). De tales resultados se ha concluido que la fertilización durante el período de crecimiento es más conveniente, cuando ésta se va a efectuar conjuntamente con inoculación, ya que permite la utilización en mayor proporción del nitrógeno atmosférico fijado simbióticamente. La fertilización en ambos períodos disminuyó la utilización del nitrógeno del suelo y provocó un descenso en la actividad simbiótica, debido a una mayor utilización de fertilizante.

Resultados similares a los obtenidos para el grano se obtuvieron para el aumento en la producción y contenido de nitrógeno en el tallo <sup>(33)</sup>, el fertilizante nitrogenado aplicado en el período de crecimiento tuvo un bajo porcentaje de utilización

para la misma cantidad de nitrógeno absorbido. Para el total de la planta (grano mas tallo), la cantidad total de nitrógeno absorbida (proveniente tanto de N del suelo, simbiosis y fertilizante) fue mayor cuando el fertilizante se aplicó durante el período de crecimiento (220-230 Kg/Ha.), que cuando se aplicó al momento de sembrar (190-210 Kg/Ha.). La proporción de utilización de fertilizante nitrogenado disminuyó en el siguiente orden: fertilización al momento de sembrar; fertilización al momento de sembrar más aplicación de la misma durante el período de crecimiento; fertilización durante el período de crecimiento. La cantidad de nitrógeno proveniente del suelo y la actividad simbiótica aumentan en el mismo orden. Estos resultados, como puede apreciarse, muestran un aspecto muy importante de la interacción fertilizante-inoculación, puesto que la aplicación de fertilizante al sembrar tuvo un efecto depresivo sobre la simbiosis, mientras que la aplicación de fertilizante durante el período de crecimiento fue aceptada y adaptada por el mecanismo de control biológico (de las plantas de soya) que determina el consumo y proporción de fijación de nitrógeno, ayudando de esta forma la fertilización nitrogenada a aumentar la asimilación de nitrógeno proveniente del suelo y de la actividad simbiótica.

En un experimento de campo realizado en Estados Unidos (43), con objeto de establecer los efectos que sobre la producción, actividad de la nitrogenasa y peso fresco de nódulos, tiene la

aplicación de fertilizantes nitrogenados al final de la floración, cuando la actividad nodular desciende notablemente, se encontró que la actividad de la nitrogenasa bajó en ambas variedades (Chippewa-64 y Clay), más que la declinación normal que se presenta durante el período de llenado de la vaina. También se observó un declinamiento prematuro de los nódulos y consecuentemente la reducción en el peso fresco de nódulos por planta. El efecto de la fertilización nitrogenada sobre la producción (43), de las variedades noduladas estudiadas es el siguiente: la variedad Clay aumentó la producción de grano y el contenido protéico, en contraste la variedad Chippewa-64, no presentó un aumento significativo en la producción de grano; sin embargo, el contenido protéico del grano sí aumentó en respuesta a la adición de 448 Kg/Ha., de nitrógeno. Las razones de la diferencia en respuestas por variedad son desconocidas, pero de cualquier forma la ausencia de una respuesta significativa en el aumento de producción por parte de la variedad Chippewa-64, indica una limitación a la producción impuesta por factores ajenos al consumo de nitrógeno durante el llenado de la vaina, uno de ellos puede ser la baja capacidad de esta variedad para mantener la fijación de nitrógeno (Chippewa-64, respondió a la fertilización nitrogenada efectuada al momento de sembrar, produciendo más grano por hectárea).

En Cuba (64) también se han realizado experimento con el objeto de observar los efectos del tiempo de aplicación de



TABLA 4 EFECTO DE LA ACCION COMBINADA DE INOCULANTE Y FERTILIZANTE Y DE LAS EPOCAS DE APLICACION DE FERTILIZANTE

\*\* experimento de campo

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	N	P	K	Mo, Fe, Co.	Incremento en producción	
33. Rumania (Hera C., Suteu, G. Triboi, E. Mitralia, V., Bologa, M Burlacu G. & Stanciu, A. 1972) **	Chernozem	no se esp.	no se espec.	0 Kg/Ha	-	-	-	3110 Kg/Ha.	
		"	"	30 "	-	-	-	3020 "	
		"	"	60 "	-	-	-	3111 "	
		"	"	90 "	-	-	-	3022 "	
	"A" Aplicación de N al sembrar:	no se esp.	no se esp.	0 "	-	-	-	3110 "	
	"B" Aplicación de N durante el crecimiento			30 "	-	-	-	3360 "	
	Combinaciones A-B:			60 "	-	-	-	3290 "	
				Siembra	-	-	-	-	-
				Crecimiento	-	-	-	-	-
					30 -	-	-	-	3020 "
43.- EUA (Lawn & Brun 1974) **	No se esp.	no se esp.	no se esp.	30 30	-	-	-	3111 "	
				30 60	-	-	-	3260 "	
	"	"	"	60 -	-	-	-	3110 "	
				60 60	-	-	-	3030 "	
				224 Kg/Ha	-	-	-	3452 "	
				448 "	-	-	-	3376 "	
				0 "	-	-	-	3540 "	
				224 "	-	-	-	3848 "	
	448 "	-	-	-	4128 "				
	Var. Chipewa 64							4188 "	
Var. Clay							4188 "		

disminución significativa del contenido de nitrógeno en la semilla de soya, por efecto de la fertilización nitrogenada<sup>(42)</sup>. Se han reportado resultados similares pero para el tallo y hojas (21). Muy poco se sabe acerca de la forma en la cual las plantas leguminosas reparten su materia seca y nitrógeno entre el grano y las partes restantes.

En México, en la región del Valle del Yaqui, en 1965 (25) se estudiaron los efectos de 3 niveles de fertilización nitrogenada y épocas de aplicación del fertilizante, y corresponden a 30, 60 y 90 Kgs. de nitrógeno/Ha. que se aplicaron: a la siembra, a los 30 y a los 60 días después de la nacencia. Los resultados indican que el rendimiento aumentó, cuando el nitrógeno se aplicó a los 30 días después de la nacencia. En experimentos conducidos en la misma región con diferentes niveles de fósforo: 0,40 y 80 Kg/Ha., se observó un aumento en los rendimientos.

d) Efecto de diferentes fuentes de fertilizante nitrogenado sobre el aumento en la producción.- La determinación de las contribuciones relativas de la fijación simbiótica de nitrógeno, nitrógeno del suelo y de la fertilización con nitrógeno es difícil bajo experimentos de campo en Estados Unidos (30), debido a la presencia casi constante de Rhizobia en los suelos agrícolas y siguiendo estos objetivos, se establecieron experimentos de campo en la región de Waseca, en los que se observó el efecto de

diferentes tipos de fertilizante nitrogenado sobre la producción de soya inoculada, y en los que se analizaron los siguientes factores: variedad de soya y 5 tipos de fertilizantes nitrogenados, en cantidades de 224 Kg/Ha. Las variedades de soya empleadas corresponden a Chippewa-64 y variedades noduladoras y no noduladoras a Rhizobium "nativo" seleccionadas en experimentos anteriores; y de las fuentes de nitrógeno, 2 corresponden al tipo liberador lento de nitrógeno (úrea con una capa de sulfuro y úrea-formaldehído); y tres formas de nitrógeno de rápida asimilación (nitrato de amonio, úrea y úrea más sulfuro). El fertilizante se aplicó antes de sembrar y se mezcló con el suelo hasta el tope de 20 cms. de profundidad. Las variedades no noduladoras a Rhizobium "nativo" respondieron bien a todas las fuentes de fertilizante nitrogenado con producciones iguales o superiores a las del control de producción de la variedad nodulada. La variedad noduladora seleccionada de Chippewa-64, así como la variedad original Chippewa-64 mostraron respuestas pequeñas pero en algunos casos significativas a la fertilización, registrándose un aumento en la producción de semilla y contenido protéico; cuando las semillas se inocularon la respuesta a los fertilizantes de rápida asimilación se tradujo en una disminución notable del peso por nódulo y el número de los mismos por planta. Las formas de fertilizante de lenta asimilación tuvieron poco efecto sobre el número de nódulos y peso por nódulo, aunque

TABLA 5.- EFECTO DE DIFERENTES FUENTES DE FERTILIZANTE

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Fuentes de Nitrógeno				Producción por Variedad de soya			
				Nitrato de amonio	Urea	S-Urea	Urea+S	Urea Formaldehído	Var no nodula	Var no nodula	Chip-pewa 64
30.-	No se especifica	No se esp.	No se espec.								
E.U.A. (Waseca) (Ham, G. E. Lawn R.J. & Brun, WA 1969) **				Control X	control X	control X	control X		2157 Kg/Ha 2136 2140 2117 2135 2126	2668 Kg/Ha 2113 2111 2103 2104 2106	2292 Kg/Ha 2118 2120 2108 2123 2111

\*\* Experimento de campo

también tuvieron muy poco efecto sobre la producción de semilla y contenido protéico. Resultados similares se obtuvieron en dos localidades más.

Influencia de la inoculación con *Rhizobium* sobre la producción de soya en suelos donde ya ha sido cultivada, con una nodulación efectiva.

En Estados Unidos en los años 1967 y 1968 se realizaron experimentos de campo con tal propósito. En 1967 <sup>(29a)</sup>, se almacenaron 8 pares de muestras de diferentes lotes de semilla de soya, antes y después de preinoculación comercial, entre 5 y 7 grados centígrados, hasta el período de siembra. Además se aplicó un inoculante comercial, con base de humus, a las muestras de semilla en el momento de la siembra. Los controles nodularon adecuadamente debido a la población de *Rhizobium japonicum* ya presente en el suelo, proveniente de cultivos anteriores. No se observó ninguna diferencia en cuanto a altura de las plantas, número de nódulos o madurez en las muestras, y la producción de semilla no aumentó significativamente por efecto del tratamiento con inoculantes. En 1968 <sup>(29b)</sup>, en estudios más extensos y conducidos en 4 localidades en cooperación con diversas compañías de inoculantes, a las que se les enviaron semillas de un lote común, para su inoculación por cualquier método. De cada compañía se regresó un control y dos muestras con tratamiento, todas las muestras se enviaron dentro de las 24 horas después de la inoculación,

TABLA 6 EFECTO DE LA INOCULACION EN LA PRODUCCION DE SOYA EN SUELOS DONDE YA HA SIDO CULTIVADA; CON NODULACION EFECTIVA.

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en la producción		
				Chippewa 64	A- 100	Horo soy-63
29.a						
E.U.A.	No se especifica	Control	-	2735	Kg/Ha	
(Waseca Ham G.E. Cardwell V.B. & Johnson H.W. 1967)		Base Humus	3400	Rhizobium/semilla	2408	"
**		Control	-	2567	"	
		Base Humus	690	"	2392	"
		Control	-	2329	"	
		Líquido	5.8	-	2507	"
		Control	-	2614	"	
		Líquido	0	-	2439	"
		Control	-	2426	"	
		Líquido	0	-	2560	"
		Control	-			2500 Kg/Ha
		Humus	580	-		2433 "
		Control	-	2473	"	
		Humus	3100	-	2399	"
		Control	-			2513 Kg/Ha
		Humus	1600	-		2231 "
		Control	-	2513	"	
		Humus(1)	7000	-	2500	"
		Humus (2)	18000	-	2325	"

- 1.- Inoculación a la dosis recomendada por el fabricante.
- 2.- Inoculación con la máxima cantidad de inóculo que puede adherirse a la semilla.

TABLA 6.- EFECTO DE LA INOCULACION EN LA PRODUCCION DE SOYA EN SUELOS DONDE YA HA SIDO CULTIVADA, CON NODULACION EFECTIVA (continuación)

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en producción.	
				Chippewa-64 Var. no noduladora Obt. en Chippewa-64	Var. noduladora Obt. en Chippewa-64
29b.- EUA	No se especifica	Control	No se espec.	1673 Kg/Ha	
Ham GE		Cepa 110	"	1693 "	
Cardwell		Cepa 138	"	1761 "	
V.B. & Johnson		Cepa 126	"	1828 "	
H.W. 1968)		Cepa efec- tiva ais- lada del suelo	"		1189 Kg/Ha.
** Morrix		"	"		1895 Kh/Ha
Rose mount.		Control	"	1868 "	
		Cepa 110	"	1781 "	
		Cepa 138	"	1835 "	
		Cepa 126	"	1808 "	
	Cepa efec- tiva ais- lada del suelo	"		1250 "	
	"	"		2124 "	
Waseca	Control	"	2903 "		
	Cepa 110	"	2890 "		
	Cepa 138	"	2869 "		
	Cepa 126	"	2843 "		
	Cepa efec- tiva ais- lada del suelo	"		2251 "	
	"	"		3011 "	

TABLA 6.- EFECTO DE LA INOCULACION EN LA PRODUCCION DE SOYA EN SUELOS DONDE YA HA SIDO CULTIVADA, CON NODULACION EFECTIVA (continuación)

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Chippewa-64	Incremento en producción	
					Var.no noduladora Obt.en Chippewa64	Var. noduladora Obt.enChippewa64
EUA (cont). Lamberton		Control	No se espec.	2634 Kg/Ha.		
		Cepa 110	"	2654 "		
		Cepa 138	"	2540 "		
		Cepa 126	"	2554 "		
		Cepa efec- tiva ais- lada del suelo	"	"	1969 Kg/Ha	
		"	"	"		3486 Kg/Ha.

\*\* Experimento de campo



y se almacenaron entre 5 y 7 grados centígrados hasta el momento de la siembra. Además se sembraron parcelas con variedades (seleccionadas a partir de la variedad Chippewa) no noduladoras y noduladoras inoculadas con las tres cepas más efectivas, resultado de estudios sobre suelos libres de Rhizobium. El número de Rhizobium japonicum por gramo de suelo al sembrar era de 1000, 800, 2400 y 6200 en Lamberton, Morris, Rosemount y Waseca, respectivamente. Ni la producción de semilla ni el contenido protéico fueron afectados significativamente por la preinoculación o inoculación inmediata a la siembra. La comparación en la producción de semilla entre las variedades no noduladoras y noduladoras indica que del 20 al 41% de la producción es atribuible a la nodulación. La serotipificación de nódulos provenientes de inoculantes que contienen una sola cepa indica un porcentaje de recuperación entre 0 y 17%, dependiendo de la cepa y la localidad.

#### Influencia del tamaño del inóculo sobre el aumento de la producción y otros parámetros.

También en Estados Unidos, en 1969 y 1970 (41), se determinó la influencia de diferentes dosis de inóculo de una cepa de Rhizobium japonicum, sobre la recuperación de nódulos, producción biológica y de semilla, masa nodular, contenido de aceite en la semilla y contenido protéico. Las cepas empleadas fueron las 138 y 126 para 1969 y 1970 respectivamente, y para inocular la semilla

se utilizó una suspensión que contenía más de  $1.2 \times 10^{12}$  Rhizobia. La población inicial de Rhizobia en el suelo (antes de sembrar) fue de 30,000 por gramo de suelo. La cepa 138 tuvo un porcentaje de recuperación del 60% sobre el control no inoculado (18%) en 1969, en parcelas que recibieron 15 billones de Rhizobia por cm. de surco. Resultados similares se obtuvieron en 1970, tales resultados indican que se obtienen cambios con la utilización de al menos 2 serogrupos. Si se desarrollan cepas superiores en el futuro, esta técnica representa una forma de establecerlas en el suelo de una manera muy rápida. La inoculación con diferentes sobredosis de inóculo no incrementó la producción de grano, contenido de aceite y proteínas de la misma, ni tampoco la nodulación ni características de crecimiento. Estos resultados coinciden con otros estudios recientes, que indican el retroceso en respuesta a la inoculación, si la soya inoculada se siembra en suelos donde ya ha sido cultivada.

Influencia de los abonos con compuestos a base de calcio (óxido de calcio "cal") en suelos con PH ácido, sobre el aumento de la producción de soya inoculada.

En la Federación Malaya <sup>(53)</sup>, se realizó un experimento de invernadero para observar el efecto que el óxido de calcio tiene sobre la producción. Se utilizaron macetas de 22.5 cms. de diámetro, conteniendo 17.48 Kgs. de suelo con un PH ajustado a 4.3,

TABLA 7 INFLUENCIA DE LA DOSIS DE INOCULO SOBRE EL RENDIMIENTO DE SOYA

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en la producción Var. Wayne	
41.- E.U.A.	Suelo ácido (Kapusta pH=6.4 G, Rouwen hoorst, D.L.) ** "1969"	Control	0	3390 Kg/Ha	
		Cepa 138	$1.5 \times 10^3$ Rh/cm de hile-	3300 "	
		Cepa 138	$1.5 \times 10^5$ "	3380 "	
		Cepa 138	$1.5 \times 10^6$ "	3390 "	
		Cepa 138	$1.5 \times 10^7$ "	3580 "	
			$1.5 \times 10^8$ "	3510 "	
			$1.5 \times 10^9$ "	3430 "	
			$1.5 \times 10^{10}$ "	3420 "	
EUA		"	Control	0	3290 "
			Inoc comer- cial base Humus	Dosis standard	3380 "
		Cepa 126	$1.2 \times 10^{10}$ "	3160 "	
		Cepa 126	$1.2 \times 10^{11}$ "	3100 "	
		Cepa 126	$1.2 \times 10^{12}$ "	3111 "	

\*\* Experimento de campo

previamente inoculado con Pueraria sp. (leguminosa tropical), con el propósito de que generara una población determinada de Rhizobium. Las dosis de abono empleadas fueron 25 y 7.5 Kg/Ha. en presencia y ausencia de inoculante, y se observó que la adición de abonos en presencia de inoculantes aumentó la producción; y que la cantidad de abono de 1 ton/Ha., proporcionó alrededor de la raíz las condiciones necesarias para la proliferación de Rhizobium y una fijación efectiva de nitrógeno, lo que reafirma numerosos reportes en los que se dice que los suelos ácidos requieren de abonos para alcanzar un pH favorable a la simbiosis. La cepa de Rhizobium generada en el suelo por Pueraria sp. no resultó efectiva en la fijación de nitrógeno, como lo demuestran las plantas no inoculadas que presentaron nodulación.

Efecto de la inoculación con Rhizobium y Azotobacter sobre la producción de soya.

En la India (39), se realizaron estudios con el propósito de observar los efectos de la inoculación de soya con Azotobacter y Rhizobium comparativamente y su efecto asociado sobre la producción. En general Azotobacter no incrementó la producción significativamente. La mezcla de las dos cepas de Rhizobium utilizadas tampoco dió incrementos significativos aunque la inoculación individual de cada cepa de Rhizobium si aumentó la producción y este aumento fue superado cuando se inoculó con la mezcla de Azotobacter

y Rhizobium o mezcla de ambas cepas de Rhizobium y Azotobacter. En general la inoculación con esta última mezcla de Azotobacter y las cepas de Rhizobium Nanking y USDA, constituyó el mejor inóculante para la variedad Punjab-1, aumentando su producción 4 veces más en relación al control. La mezcla de Azotobacter y la cepa USDA, aumentó la producción en la variedad Clark-63, por arriba del aumento dado por USDA individualmente. Y se concluye que Azotobacter actúa en los estadios iniciales del crecimiento de la planta y al mismo tiempo acelera la actividad de Rhizobium a través de la síntesis de vitaminas y factores de crecimiento como la biotina, que efectúa Azotobacter. Pero de cualquier forma Azotobacter, individualmente, no aumentó la producción significativamente.

Efecto de la inoculación del suelo con Azotobacter, sobre la nodulación, crecimiento y producción de soya inoculada con Rhizobium japonicum.

En la India se condujo un experimento de campo (52), con el propósito de estudiar el efecto de la inoculación del suelo con Azotobacter sobre los parámetros anteriormente citados y para ello se utilizó un suelo de tipo "arcilloso arenoso rojo". La inoculación se efectuó con un cultivo de Rhizobium japonicum con un cultivo de Azotobacter chroococcum ( $15 \times 10^8$  células/gramo) a la dosis de 30 gramos por parcela. Se aplicó abono en forma de estiércol (20 ton. por hectárea) antes de sembrar, con el propósito

TABLA 8 INFLUENCIA DE LOS ABONOS DE CAL SOBRE EL RENIMIENTO DE SOYA INOCULADA EN SUELOS ACIDOS

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en producción
53.- Fed. Malaya (Rajaratnam, J. 1973)* Abono: 25 Kg/Ha  Abono: 7.5 Kg/Ha	Se utilizó suelo ácido pH 4.3	Control	-	13.3 g/maceta
		no se esp.	no se especifica	41.1 "
		Control	-	13.7 "
		no se esp.	no se especifica	35.9 "

\* Experimento de invernadero.

TABLA 9 EFECTO DE LA INOCULACION DEL SUELO CON AZOTOBACTER SOBRE LA NODULACION CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE SOYA.

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en producción
52.- India (Rao, J. V.D.K.K. Patil, R.B. 1976 **).	Arcilla arenosa roja	Control	-	637 Kg/Ha
		R.J. en base turba semilla, Azotobacter (suelo)	No se especifica	2022 "
		"	"	1214 "
		R.J. (semilla) + Azotobacter (suelo)	"	2111 "

\*\* Experimento de campo

de tener condiciones óptimas para el crecimiento de Azotobacter. La inoculación de las plantas con Rhizobium más Azotobacter, aumentó el rendimiento en 231.2% sobre el control, mientras que la inoculación con la cepa de Rhizobium, dió un rendimiento sobre el control de 217.4% lo que indica que la inoculación con un cultivo eficiente de Rhizobium es tan buena, como la inoculación con Rhizobium más Azotobacter, ya que la diferencia en producción no es significativa. La inoculación del suelo con Azotobacter tampoco contribuye a una mejor nodulación ni mejor fijación de nitrógeno por parte de Rhizobium, aunque de cualquier manera las plantas parecen obtener beneficios de la inoculación del suelo con Azotobacter, debido probablemente a la producción, por parte de Azotobacter de compuestos biológicamente activos como: ácido indolil-3-acético y giberelinas, las cuales estimulan la proliferación de las semillas de las plantas y aceleran su crecimiento.

Efecto de selecciones de nematicidas no volátiles y Benomyl sobre la nodulación, control de nematodos en la raíz y producción de soya.

Debido a que el frijol soya es una de las leguminosas que más daño sufren por los nemátodos de la raíz Meloidogine sp. <sup>(55,62)</sup> se han empleado numerosos fumigantes volátiles para su control, y se ha demostrado que éstos tienen efectos inhibitorios sobre la nodulación <sup>(23,45)</sup>, por lo que en la India se establecieron experimentos de campo <sup>(54)</sup> para evaluar el efecto de nematicidas no

TABLA 10.0 EFECTO DE NEMATICIDAS NO VOLATILES SOBRE EL RENDIMIENTO DE SOYA INOCULADA

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Nematicida no volátil	Incremento en producción
54.- India (Reddy D.D.R. Rao, J. V.D.K.K. 1975) **	Arcilla arenosa roja	Cultivo R.J. en base Turba	Dosis recomendada por fabricante	Fensulfothion	2345 Kg/Ha.
	"	"	"	Oxamyl	2241.6 "
	"	"	"	Methomyl	2225.0 "
	"	"	"	Carbofuran	2168.7 "
	"	"	"	Aldicarb	2114.5 "
	"	"	"	Benomyl	1743.7 "
	"	Control	-	Control	1495.8 "
	"			Control	1033.3 "

\*\* Experimento de campo



volátiles y del fungicida Benomyl, sobre el control de estos organismos y el efecto que tienen sobre la nodulación. Las especies de nemátodos en el suelo bajo estudio fueron identificadas como M. incognita y M. javanica. Los nematicidas no volátiles utilizados fueron: Fensulfothon, Aldicarb, Oxamyl, Methomyl, Carbofuran y el fungicida Benomyl. La variedad de frijol de soya utilizada fué Hardee y el inoculante una cepa eficiente Rhizobium japonicum en base de turba, y se observó un aumento notable en la producción en las parcelas tratadas con los nematicidas no volátiles, pues aunque los nemátodos no afectan la nodulación, su potencial destructivo sobre la raíz de la planta es muy grande, causando graves daños. La baja producción obtenida en los controles no inoculados puede deberse a un efecto combinado de alta infección de nemátodos en la raíz y escasa nodulación. En general todos los nematicidas aumentaron la producción de soya y el Benomyl reportado como un nematicida efectivo (14, 46,47) para la reducción de poblaciones de Heterodea avenae, H. tabacum y Pratylenchus penetrans, no tiene efecto contra los nemátodos que atacan a la raíz. El efecto de los nematicidas empleados sobre el aumento de la producción, se atribuye al control sobre Meloidogyne sp. y no sobre otras plagas. El uso de tales nematicidas parece prometedor en el control de nemátodos de la raíz de soya, que son efectivos cuando se aplican en la superficie

del suelo e incorporados al mismo. También son los más apropiados para su aplicación en mezclas con otros pesticidas tales como herbicidas y fungicidas.

Comparación del efecto de inoculantes comerciales.

El uso de inoculantes comerciales para umentar la producción de soya ha tenido los resultados más variados y contradictorios, debido principalmente a que la calidad de los inoculantes depende no solamente del número de Rhizobia que estos contengan sino además de la efectividad en la fijación de nitrógeno que presenten en las condiciones locales, este último aspecto es muy importante para la calidad de un inoculante (56). Otro aspecto que debe tomarse en cuenta es el de evaluar los peligros inherentes a la exportación de inoculantes preparados en un país o continente para su uso en otro, particularmente cuando tales inoculantes son para el desarrollo de un Programa de Leguminosas, dentro de una etapa evolucionista (57). Tomando en cuenta lo anterior, sería de interés primordial el seleccionar cepas de Rhizobium adecuadas a las condiciones locales, y si los inoculantes no pueden hacerse localmente, estas cepas enviarse a un fabricante, para su inclusión en los cultivos que el provee. Otro problema que existe con los inoculantes comerciales es el de que los fabricantes frecuentemente agrupan a las leguminosas para su inoculación y usan cepas que tienen un amplio espectro de infectividad, las que, como es lógico, resultan no ser las mejores para el grupo de leguminosas

que se intenta inocular (57). La desventaja de esta técnica de fabricación de inoculantes es particularmente notoria en áreas donde no hay población nativa de Rhizobia ya que en tales circunstancias, lo más apropiado es utilizar la cepa más adaptable a una leguminosa en particular, con el objeto de evitar problemas de competencia de cepas menos efectivas.

Debido a que los suelos de la India, contienen muy pocas cepas efectivas de Rhizobium japonicum, se buscó la manera de obtenerlas y uno de los métodos seguidos fué el de cultivar semillas de soya inoculadas con Nitragin (inoculante comercial con base de turba, procedente de Estados Unidos). Se seleccionaron los nódulos efectivos en la fijación de nitrógeno y de ellos se aislaron varias cepas de Rhizobium japonicum, las que probaron ser altamente efectivas en experimentos de invernadero y posteriormente en experimentos de campo en diferentes regiones del país. Estas cepas, derivadas de la inoculación con Nitragin, se utilizaron para la fabricación de inoculantes en fábricas e instituciones nacionales. Estos inoculantes generalmente son cultivos de multicepas, pero las cepas incluidas difieren de institución a institución, debido a que en general, las instituciones nacionales se dedican en primer lugar a la investigación y desarrollo de inoculantes y solamente se produce la cantidad suficiente para suplir las demandas de los departamentos de agricultura de los estados. Durante

el período que comprende 1969 a 1973, se probó la calidad de diversos inoculantes comerciales extranjeros e hindúes (Tabla 12). Se contó el número de Rhizobia viables y de contaminantes en todos los inoculantes por medio de cuantificación en placa durante un período que fluctuó entre 6 y 9 meses. Todos los inoculantes contenían gran cantidad de Rhizobia viables por gramo del soporte. Los inoculantes americanos no presentaron contaminación fúngica, pero contenían colonias atípicas de Rhizobium. Uno de los inoculantes hindúes presentó contaminación fúngica recurrente durante 3 años, desapareciendo después de este período. En general la supervivencia de Rhizobium fue buena para todos los inoculantes durante el período de almacenamiento, pero mediante las pruebas de campo, después de 9 de estar almacenados, se observaron diferencias muy grandes en cuanto a su efectividad. Noctin, Dormal y Urbana y la mayoría de los inoculantes hindúes presentaron un rendimiento muy bajo. Contrariamente a la calidad excelente que reportaron Nitragin, RP y Legume-Aid; los cuales dieron rendimientos en la producción de soya de más del 100%, y en algunos casos de 125%, dependiendo de la época de siembra (22).

En otro experimento de campo realizado en la India (61), también con el propósito de comprobar la efectividad de inoculantes comerciales extranjeros (Nitragin solamente) y nacionales se

## INOCULANTES COMERCIALES PARA LEGUMINOSAS

MARCA	MATERIAL SOPORTE	DIRECCION DEL FABRICANTE
Nitragin americano	Turba	The Nitragin Co. Inc. Milwaukee, Wisconsin 53209
Urbana	Humus	Urbana Laboratories, Urbana Illinois, 61801
Legume-Aid	Turba	Agricultural Laboratories Inc., 1145 Chesapeake Ave. Columbus, Ohio 43212
R P	Turba	The Ruddy-Patric Co. Inoculant Laboratories, Princeton, Ill. 61356
Brazil	Turba	Governo Do Estado, Co Rio Do Sul Secretaria da Agricultura Departamento da Producao Vegetal
Noctin	"	"
Dormal	"	"
Jeevankhad Hindú	Lignito	The Biofertilizers Co., Amar Hill, Saki Vihar Rd. Bombay 4000 74
Bactogin	"	The Bactogin Labs., Near Gour River, Mandla Rd., Jabalpur 482002
IARI (Rhizogin)	Turba	Indian Agricultural Research Institute New Delhi 110012
Kanpur	Turba	UP Institute of Agricultural Sciences, Xanpur-2
Calcutta	Lignito	Bose Institute, Calcutta-9
Hissar	Suelo composta	Haryana Agricultural University Hissar-1
T D C	Lignito	Govind Ballabh Pant University of Agriculture & Technology, Pantnagar, Nainital
Krishinagar (Jawahar)	"	Jawaharlal Nehru Agricultural University Krishinagar, Jabalpur-482004

obtuvieron los siguientes resultados: la inoculación con UPAU-2 (base lignito), Nitragin (base de turba) y Kanpur (base de estiércol), aumentó la producción en más del 50%; los otros inoculantes comerciales no mostraron ningún aumento de importancia sobre la producción. Los rendimientos más bajos los dieron los inoculantes: JNKVV (base lignito) y FRS (base de arena). Lo cual sugiere que las bases que los soportan no son apropiadas para el microsimbionte, aunque UPAU-2 tiene la misma base que JNKVV, con el que se obtuvo uno de los menores rendimientos, esto podría deberse a la presencia de Rhizobia mucho más efectivos en UPAU-2. De los resultados obtenidos en este estudio se concluye que las bases para cultivo hindúes (lignito, turba y estiércol) son tan efectivas como la base de turba que trae el inoculante comercial importado Nitragin (Estados Unidos). Lo que indica la posibilidad de producción en la India de inoculantes nativos para la soya tan efectivos como los importados de mayor prestigio mundial. Una prueba de ello es que mediante tales inoculantes, durante los años 1969 y 1970 se han obtenido incrementos altamente significativos en la producción de grano. Los datos reportados pertenecen al año 1971, obtenidos en 5 regiones diferentes de la India (70). Las diferencias en producción posiblemente se deban a las condiciones agroclimáticas características de cada una. Delhi y Junagadh son regiones de tipo semiárido mientras que Pantnagar región de Tarai, recibe una precipitación

pluvial alta y su suelo es rico en materia orgánica y fosfatos.

En otros países la bacterización con inoculantes comerciales no ha sido tan exitosa, tal es el caso de Guyana (15), en donde experimentos de campo realizados con el inoculante comercial Nitragin, no aumentó la producción, ésto se atribuyó a la inefectividad del inoculante, puesto que la soya es un cultivo relativamente nuevo en Guyana, y la posibilidad de que exista Rhizobium nativo es baja debido a las condiciones ácidas que ahí imperan, por lo que se piensa que los Rhizobia del inoculante comercial no tuvieron antagonistas. Un efecto similar a éste ocurrió en el suroeste de Estados Unidos, cuando se introdujo por primera vez la soya, el inoculante comercial resultó inefectivo, pero posteriormente, después de cuidadosos estudios se obtuvieron buenos resultados. Lo que indica que la aplicación de inoculantes en Guyana para aumentar la producción de soya no es sencilla y requiere de muchos y cuidadosos estudios para llegar a obtener buenos resultados.

En México, aunque se han registrado en particular buenos resultados (según informes sobre Sinaloa, Sonora, Chihuahua (13,25)) aparentemente debidos al uso de los inoculantes comerciales, estos resultados, sin embargo, no coinciden con los obtenidos en los experimentos de campo realizados en las regiones de Llera y Mante en el estado de Tamaulipas (24), en donde el uso de inoculante comercial, conjuntamente con fertilización, no aumentó significativamente la producción. La generalidad de los estudios de campo

TABLA 11.- EFECTO DE INOCULANTES COMERCIALES SOBRE EL RENDIMIENTO DE SOYA

País	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en producción			
22.- India (Dube,J. N)** Jabalpur 1972	Suelo ácido (tierra virgen)	Hissar, Kanpur, Jeevankhad, Calcutta IARI, Noctin Bactogin JN KVV(Base Agar)	Cantidad recomendada para cada inoculante	2097 Kg/Ha			
			"	2526 "			
			"	2939 "			
			"	3038 "			
			"	1651 "			
			1973	"	Control IARI 1973, Nitragin 72 R.P. JNKVV, TDC, Bactogin Brazil, Jeevankhad Urbana, Nitragin 73 Control	-	1651 "
						"	2029 "
						"	2389 "
						"	2561 "
						"	2763 "
			-	1439 "			



TABLA 11.- EFECTO DE INOCULANTES COMERCIALES SOBRE EL RENDIMIENTO DE SOYA (continuación)

Pafs	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento de producción
61.- India (Sharma, D.S. Ti- lak, K.V. B.R. 1974) **	Suelo arcilloso pH=6.3	Control	-	1260 Kg/Ha.
		FRS (base arena)	Dosis recomendada	1240 "
		APAU-2 (base lig- nito	"	2170 "
		Kanpur (estiér- col FYM)	"	1850 "
		IARI (Turba In- dó)	"	1690 "
		JNKVV (lignito)	"	920 "
		Hissar (FYM)	"	1520 "
		BRI (suelo)	"	1290 "
		APAU-1(Agar)	"	1500 "
		Nitragin (turba USA)	"	1900 "
70.- India (Subba Rao, N.S. Balasunda ram, V.R. 1970) **	Ligeramente básico	Control	-	936 "
		Inoc. comercial con cepa SB16	No se especifica	1583 "
Pantna= gar	Acido	Control	"	2307 "
		Inoc. comercial con cepa SB16	No se especifica	2637 "
Jabal- pur	Acido	Control	-	1639 "
		Inoc. comercial con cepa SB16	No se especifica	2920 "
Kalyani	Ligeramente ácido	Control	-	1997 "
		Inoc. comercial con cepa SB16	No se especifica	2561 "

TABLA 11.- EFECTO DE INOCULANTES COMERCIALES SOBRE EL RENDIMIENTO DE SOYA (continuación)

Pafs	Tipo de suelo y/o características	Tipo de inoculante	Concentración de inóculo	Incremento en producción
Junagadh	Acido	Control	-	573 Kg/Ha
		Inoc. comercial con cepa SB16	No se especifica	1924 "
24.- México-Tamaulipas, Municipios de Llera y Mante. (García D. Aguilar M. De la Garza, F. Ramírez, R.M. 1976) **	pH aprox.=8 Migajones arcillosos, limosos	Nitragin	0	1000 "
		"	Dosis recomendada	920 "

\*\* experimento de campo.

realizados en México están limitados a la aplicación de inoculantes comerciales y diferentes dosis de fertilizantes, sin efectuar pruebas de selección de cepas más apropiadas y adaptadas a cada región para con ellas fabricar el inoculante apropiado. Al igual que en Guyana y en otros países de características económicas similares, en México la inoculación de la soya no está perfectamente comprendida ni planificada, por lo cual, para obtener beneficios de la misma, es recomendable realizar estudios exhaustivos a nivel de invernadero y de campo, de tal forma que se puedan seleccionar y fabricar inoculantes comerciales de alta calidad para las condiciones climáticas específicas de México.

## IV PROCESOS DE INOCULACION

a) Forma del inoculante

Los cultivos crecidos sobre gelosa o en medio líquido, se pueden suspender simplemente en agua. Aunque la supervivencia de la bacteria mejora si se agrega al líquido de suspensión una solución al 10% de azúcar, leche descremada (18), o una solución al 40% de goma arábiga neutra.

Los cultivos en turba casi siempre se utilizan en la forma de una suspensión, ya sea en agua, agregando azúcar o goma arábiga. Por lo general se suspenden 25 gramos de turba en 100 ml. de líquido suspensor.

b) Dosis del inóculo aplicado

El número de Rhizobia recibidos por la semilla inoculada depende de su número en el inoculante, el tamaño de la semilla y el peso de la semilla tratada con un volumen dado del inoculante en suspensión.

Tomando por ejemplo 100 ml. de inóculo en suspensión que se aplican a una cantidad apropiada de semilla (de manera que todo el inóculo se incorpore y distribuya uniformemente sobre todas las semillas), el tamaño del inóculo aplicado estará dado por:

$$n = \frac{r \cdot s}{W} \quad (1)$$

Donde n=número de Rhizobia por semilla; r= Rhizobia

contenidos en 100 ml. de suspensión; s=peso promedio de semilla, W=peso de semillas tratadas con 100 ml. de inóculo en suspensión.

En el caso de la suspensión de 25 gramos de inoculante en turba en 100 ml. de líquido suspensor, a la relación anterior se incorpora el número de Rhizobia por gramo de turba.

$$n = \frac{2sR.s}{W} \quad (2)$$

Donde R=Rhizobia por gramo de turba. Recíprocamente el número de Rhizobia por mililitro de suspensión (r), o por gramo de turba (R), requeridos para encontrar un estándar específico sobre la semilla (N) estará dado por:

$$r = \frac{N.W}{S} \quad \text{de (1)}$$

$$R = \frac{N.W}{25s} \quad \text{de (2)}$$

La tabla 13 se ha preparado con el propósito de indicar las relaciones para un gran número de leguminosas, donde la cantidad de semilla tratada con una suspensión de 25 gramos de turba en 100 ml. de líquido de suspensión (agua) es variable dentro de límites prácticos.

Esto demuestra que aún ajustando la cantidad de semilla que se ha tratado con un volumen dado de inóculo, el número de Rhizobia requerido por gramo de turba, para dar el mismo número

por semilla, puede variar en más de 300 ( $0.2 \times 10^6$  para Stizolobium sp. y  $70 \times 10^6$  para Lotus uliginosus). Obviamente ciertas diferencias entre las leguminosas y el huésped deben tomarse en cuenta.

c) Recubrimiento de la semilla

El recubrimiento de la semilla con el objeto de proteger el inóculo de los efectos tóxicos de suelos ácidos o de fertilizantes, en un principio se efectuó por medio de recubrimientos de la semilla no inoculada con un adhesivo, y rolándola sobre abono de cal finamente dividido (44). Esta semilla ya recubierta se inocula al tiempo que siembra con turba húmeda, mas no mojada. Encontrándose que es mejor adicionar el inóculo como una suspensión del cultivo en turba, conteniendo adhesivo, para después recubrir la semilla húmeda inoculada, con el  $\text{CaCO}_3$  finamente dividido, o roca fosfórica o dolomita de un grado especial. Esto mejora considerablemente la supervivencia de Rhizobium y además aumenta las probabilidades de una efectiva y segura nodulación, bajo condiciones relativamente difíciles, tales como la siembra en suelos ácidos o con fertilizantes, o cuando se pospone la siembra una vez inoculada la semilla o cuando la germinación se retrasa por falta de humedad en el suelo.

TABLA 13 RELACION ENTRE EL TAMANO DE LA SEMILLA, CANTIDAD DE LA SEMILLA INOCULADA Y CUENTA DE RHIZOBIA EN EL CULTIVO CALCULADO PARA PROVEER 300/SEMILLA (N)

Leguminosa	S	W	R
	Peso de semilla por g. $\times 10^{-3}$	Peso de semilla tratada* g.	Equivalente aprox necesario por g <sup>m</sup> de cultivo de turba ** $\times 10^6$
Cajanus cajan	62.0	10,000	2
Centrosema pubescens	24.0	7,500	4
Desmodium uncinatum	3.3	5,000	20
Dolichos auxillaris	7.2	5,000	8
Dolichos bifloris	24.0	7,500	4
Dolichos lablab	210.0	10,000	1
Glycine javanica	5.0	5,000	10
Glycine max	93.0	10,000	1
Leucaena glauca	42.0	10,000	3
Lotononis bainesii	0.3	1,000	40
Lotus corniculatus	1.2	2,500	25
Lotus uliginosus	0.5	2,500	70
Lupinus (azul)	140.0	10,000	0.8
Lupinus (amarillo)	130.0	10,000	0.9
Medicago sativa	2.2	5,000	30.0
Phaseolus atropurpureus	20.0	5,000	6.0
Phaseolus aureus	42.0	10,000	3.0
Phaseolus lathyroides	7.9	5,000	8.0
Phaseolus vulgaris	252.0	10,000	1.0
Pisum sativum	300.0	10,000	0.4
Stizolobium Sp.	1000.0	10,000	0.2
Stylozantes gracilis	3.0	5,000	20
Trifolium repens	0.6	2,500	50
Trifolium subterraneum	6.5	5,000	9
Vicia angustifolia	17.0	7,500	5
Vicia atropurpurea	45.0	10,000	3
Vicia dasycarpa	40.0	10,000	3
Vicia sativa	53.0	10,000	2
Vigna sinensis	68.0	10,000	2

\* Con 25 g. de turba en 100 ml. de suspensión de cultivo (tomando en cuenta ciertos límites prácticos.

\*\* Estándar mínimo para proveer 300 Rhizobias/semilla.

El procedimiento usual de recubrimiento o "peleteado" incluye un sólo paso de inoculación con el cultivo de turba en suspensión con un agente adherente, el cual puede ser goma arábiga (aproximadamente al 40%) o en algunos casos, derivados de las celulosas (60).

#### Materiales

Adhesivo.- La goma arábiga (goma de acacia) o los derivados de celulosas, constituyen buenos adhesivos. Se utilizan como soluciones al 40%, preferentemente libres de preservativos y con partículas de tamaño semejante al del azúcar no refinada (que corresponde a 8 mallas) para facilitar el humedecimiento, La goma de color café oscuro generalmente contiene sustancias ácidas perjudiciales, por lo que es recomendable medir el pH de este tipo de muestras antes de usarlas. Entre las soluciones (al 5%) de derivados de celulosas, la metil etil celulosa (Celo-fas A) y la metil hidroxipropil celulosa (Metofas) o carboxil metil celulosa son las más apropiadas.

Material para el recubrimiento o peleteado.- Carbonato de calcio procedente del suelo (fino, pasado por tres mallas de tamizado). El recubrimiento con cal ordinaria no es de utilidad debido al tamaño muy grande de sus partículas, pero pueden utilizarse yesos blancos, cal de un tamaño de partícula microfino y yeso Thurwit, los cuales también han dado buenos resultados. De



no contarse con los materiales citados, puede usarse calhidra o cal de construcción.

Inoculante.- Se recomienda usar un inoculante de base de turba, de muy buena calidad.

Equipo.- Si se trata de cantidades pequeñas de semilla (poco más de 2.5 Kg.), se recubren manualmente en un plato. Si se trata de cantidades mayores se requiere de un mezclador de centeno limpio o un recipiente similar, o puede mezclarse continuamente con una pala sobre un piso de cemento limpio. Cuando se carece de estas condiciones, se han reportado buenos recubrimientos mezclando el material de recubrimiento y la semilla tratada con el adhesivo en sábanas de lona, levantando alternativamente un lado de la sábana contra el otro lado.

Cualesquiera que sea el método usado, el éxito de éste, dependerá de la mezcla completa del inóculo, la goma y la semilla.

Procedimiento.-

Preparación del adhesivo.- a) con goma arábiga: disolver completamente 100 gramos de goma arábiga en 230 ml. de agua natural. Esto dará aproximadamente 280 ml. de solución de goma. La agitación vigorosa y calentamiento facilitan la disolución de la goma, la que debe enfriarse antes de agregar el inóculo. b).- con derivados de celulosas: agregar 14 gramos de adhesivo a 280 ml.

de agua natural y dejar espesar durante la noche en el refrigerador o en un cuarto frfo.

Mezcla del adhesivo con el inoculante.- Mezclar el inóculo (70 gramos de turba) con el adhesivo y cubrir la semilla tan pronto como sea posible.

Inoculación y recubrimiento de la semilla.- Verter la solución adhesiva sobre la cantidad adecuada de semilla y mezclar durante 5 minutos. Las dosis de semilla (para 70 gramos de turba) pueden ser: pequeña 7 Kgs; mediana 14 Kgs y grande 28 Kgs; dependiendo de la leguminosa.

Formación del recubrimiento.- Agregar de una sola vez, 3.4 Kgs. de carbonato de calcio fino y mezclar inmediata y uniformemente durante 1 a 2 minutos, hasta que todas las semillas estén completamente cubiertas y separadas. Poco tiempo de mezcla dejará carbonato de calcio libre y semillas mal cubiertas; tiempos muy grandes de mezcla dan como resultado el apelmazamiento del carbonato de calcio, y esto dá como resultado el agrietamiento y descascaramiento en el secado.

Si se agrega mucho adhesivo a poca cantidad de semilla se puede provocar la formación de conglomerados de semillas, los cuales no podrán deshacerse una vez agregado el material recubriente. Generalmente bastan pocas horas para obtener un endurecimiento aceptable, tampoco es necesario esparcir las semillas

para secarlas, a menos que el recubrimiento se note pastoso y se tenga apariencia de humedad.

d) Características del recubrimiento.-

Aspecto de un buen recubrimiento.- La semilla debe estar completamente cubierta, la superficie de la semilla no debe ser visible. Se debe tener una apariencia de secado sin pérdida de abono sobre la superficie o en el mezclador. El recubrimiento ya seco deberá ser lo suficientemente firme para resistir una presión moderada, como un ligero rotamiento entre los dedos, o fracturas tales como la provocada por el lanzamiento no muy brusco de la semilla contra el suelo.

Posibles causas de un mal recubrimiento.- Los recubrimientos blandos, de apariencia velluda, se deben al exceso de material de recubrimiento y/o un mal mezclado. Los recubrimientos con apariencia pastosa y que dejan ver la superficie de la semilla, resultan del uso excesivo de adhesivo. Esto puede solucionarse agregando más carbonato de calcio. Por el contrario, recubrimientos de apariencia dura, lustrosa y lisa, indican poco carbonato de calcio o también exceso de mezcla una vez agregado el carbonato de calcio (especialmente cuando se usan mezcladores de rotor de tambor). Tales recubrimientos tienen apariencia oscura, con tendencia a agrietarse y descascararse durante el secado, especialmente con el manejo manual.

### Siembra de la semilla recubierta.

Debido a que el recubrimiento aumenta el tamaño de la semilla, la dosis de siembra tiene que aumentarse. El ajuste depende de la cantidad de carbonato de calcio incorporada. La mayoría de la maquinaria usada para la siembra puede arreglarse de acuerdo a la siembra de semilla recubierta, pero si se va a usar poca semilla, se debe asegurar una dosis uniforme de siembra.

La semilla recubierta generalmente se mezcla con el fertilizante y se siembra por medio del aparato que efectúa la fertilización. Los resultados obtenidos varían mucho y dependen probablemente de la clase y forma del fertilizante (los fertilizantes granulados son los mejores) y el tiempo de contacto entre la semilla y fertilizante, el cual debe reducirse al máximo.

#### e) Precauciones con el uso de la semilla recubierta

Al igual que con la semilla normalmente inoculada, la semilla recubierta debe sembrarse inmediatamente, si se quiere asegurar una ventaja completa. Cuando el retraso es inevitable, la semilla recubierta puede almacenarse con un margen aceptable de seguridad, de 2 a 3 semanas, con un inoculante de calidad estándar, si la temperatura no excede a los 18 grados centígrados.

El recubrimiento da muy buenos resultados cuando se usa un agente de mayor seguridad y mejor nodulación, bajo condiciones relativamente desfavorables para los primeros estadios de la

germinación y para la multiplicación y supervivencia de Rhizobium. Esto da algo de flexibilidad al intervalo entre la inoculación y la siembra, pero el utilizar el recubrimiento como un medio para prolongar el tiempo entre inoculación y siembra de la semilla, lleva consigo riesgos que suprimen las ventajas ya mencionadas.

Se ha demostrado (72) que el tiempo de almacenamiento que reporta seguridad para la semilla inoculada fluctúa entre 1 y 13 semanas, dependiendo de la calidad del inóculo, la temperatura y la naturaleza del adhesivo utilizado para el recubrimiento.

Aunque el recubrimiento tiene la ventaja de permitir una mejor supervivencia de Rhizobium, la siembra de la semilla recubierta en parcelas secas deberá evitarse, debido a que la germinación se retrasa y este hecho lleva siempre el riesgo de que la mayoría de los Rhizobia mueran.

f) Supervivencia en la semilla recubierta.

Como ya se dijo anteriormente, la técnica de recubrimiento con carbonato de calcio y otro material para recubrimiento de características semejantes, se usa con bastante éxito para atenuar los efectos tóxicos de los suelos y fertilizantes ácidos, además de ayudar a la supervivencia de Rhizobium en períodos razonables de almacenamiento, previniendo la desecación y el contacto directo con la semilla inoculada.

En términos de supervivencia de Rhizobium en el período de almacenamiento de la semilla inoculada, el adhesivo "goma arábiga" dió mejores resultados que los derivados de celulosas, especialmente en períodos largos de almacenamiento y a una temperatura de 25 grados centígrados.

El material usado como recubriente tiene muy poco efecto sobre la supervivencia de la bacteria. Es interesante hacer notar, en el caso de trébol subterráneo, que la supervivencia de Rhizobium fue igual tanto si se usó material recubriente como si no se usó. Esto viene a contradecir el hecho de que se creía que el carbonato de calcio neutralizaba la acidez de la goma arábiga. Una solución al 40% usada para el recubrimiento con carbonato de calcio tiene aproximadamente un pH de 4.3 (59).

g) Supervivencia con fertilizantes.

Algunos de los fertilizantes utilizados en la siembra de leguminosas son perjudiciales para la supervivencia de Rhizobia, y también para una rápida y adecuada nodulación de la leguminosa, debido a los efectos tóxicos de sus niveles de pH. En los primeros estudios realizados con este objeto, se demostró el efecto tóxico del superfosfato sobre la nodulación en leguminosas para forraje (11). El uso de fertilizantes neutralizados evita este problema en la mayoría de los casos, y como ya se dijo anteriormente, el uso de la técnica de recubrimiento permite la siembra de la semilla inoculada conjuntamente con fertilizantes

ácidos<sup>(59)</sup>, el carbonato de calcio actúa como una especie de regulador o amortiguador físico entre el fertilizante ácido y el inóculo, y también neutraliza el medio ambiente inmediato a la semilla en germinación.

En un estudio (17), con el objeto de comparar los efectos de los fertilizantes trifosfatados en comparación con controles sin fertilizar y otros tratados con carbonato de calcio, sobre la supervivencia de Rhizobium (cuantitativa) en la semilla y sobre la nodulación de plantas ya desarrolladas, se observó que el superfosfato ácido tiene un efecto muy tóxico. El residuo alcalino de la fundición y separación de metales también resultó tóxico, pero menos que el superfosfato ácido. El fosfato de roca del norte de Africa (finamente dividido) y el carbonato de calcio no tuvieron efecto alguno sobre la supervivencia de Rhizobium. El máximo en la nodulación se obtuvo solamente cuando el número de bacterias al sembrar fue de 300 Rhizobia por semilla.



## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El empleo de inoculantes es altamente benéfico en la producción de soya, sin embargo es interesante hacer notar que para obtener los máximos beneficios deberán efectuarse estudios por áreas con objeto de seleccionar cepas de Rhizobium japonicum eficientes y con capacidad para adaptarse a suelos y condiciones climáticas de regiones determinadas, por otra parte, seleccionar cepas específicas para aquellas variedades de soya que presentan a su vez buena adaptación y rendimiento, así como resistencia a enfermedades, este tipo de variedades cambian de una área a otra. Uno de los aspectos más importantes desde el punto de vista de aplicación, es el de establecer las dosis adecuadas de fertilizantes para obtener el máximo beneficio de la interacción "rendimiento de soya-inoculación-fertilización", ya que en base a los experimentos analizados, aún cuando con la bacterización se aumenta el rendimiento de este grano, estos resultados son optimizados con la adición de fertilizante y las necesidades de los mismos, al igual que el tipo de cepas de Rhizobium japonicum y las variedades de soya cambian de una localidad a otra, por lo que se considera que en México (debido a que la generalidad de los estudios de campo están limitados a la aplicación de inoculantes comerciales y diferentes dosis de fertilizantes) es



Siguiendo estos objetivos en la presente recopilación, se exponen los estudios referentes al efecto de inoculantes sobre la producción de soya y se analizan los factores que influyen en el establecimiento de la simbiosis y una fijación efectiva de nitrógeno atmosférico.

## VI RESUMEN

La soya ha recibido especial atención a nivel mundial debido al alto contenido protéico que presenta, motivo por el que puede incluirse en programas nacionales con el objeto de combatir deficiencias nutricionales, sobre todo en países subdesarrollados en donde se necesitan mayores y mejores fuentes de proteínas y a menor costo. Tales características puede proporcionarlas la soya, siempre y cuando se ponga especial cuidado en los parámetros que afectan su producción.

Se ha comprobado que la fertilización con productos nitrogenados aumenta considerablemente la producción de soya y que iguales efectos pueden obtenerse con inoculación, y con inoculación combinada con fertilización, dependiendo de las condiciones del suelo (contenido de elementos nutricionales, tanto para Rhizobium como para la planta) donde vaya a sembrarse.

En base a lo anteriormente dicho y tomando en cuenta las necesidades de fertilizantes nitrogenados por otros cultivos, es importante realizar estudios en los que se optimice el aprovechamiento de la asociación entre leguminosa y Rhizobium, en donde se fije la cantidad de nitrógeno atmosférico que permita disminuir al máximo la necesidad del empleo de fertilizantes nitrogenados, con el objeto de que éstos sean empleados en otro tipo de cultivos.

necesario efectuar experimentos que conjuntamente con la aplicación de fertilizantes establezca además las cepas de Rhizobium japonicum específicas para las variedades de soya adaptadas a las regiones en donde se va a sembrar, y también a aquellas en donde no se ha sembrado y que son potencialmente importantes en el cultivo de este grano.

## VIII BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abel, G. H., Erdman, L.W. (1964). Response of Lee Soybeans to different strains of Rhizobium japonicum Agronomy Journal 56:423-4
- 2.- Agati, J. A., Garcia, E. H., Phillip, J. (1940). Agric. 54:672-4
- 3.- Allos, H. F., Bartholomew, W. V. (1959). Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. Soil Science, 87:61-6
- 4.- Andrew, C. s. (1962). Influence of nutrition on nitrogen fixation and growth of legumes. Commonwealth Agr. Bull. 46:130-146
- 5.- Balan, N. (1970). Importanta bacterizarii la culturile de plante leguminoase. Revista Agricultura, No. 13.
- 6.- Balan, N., Galbenu, E. L. Isfan, D., Armenu, M., Ecuni, M. Enescu, P., Pascu, A. M., Picu, I., Tianu, A. (1973). Cercetari asupra relatiei dintre bacterizare cu azot la soia. Analele ICCPT, Fundulea, ser B. 40
- 7.- Brun, W. A. (1972). Nodule activity of soybeans as influenced by photosynthetic source-sink manipulations. Agronomy Abstracts, p. 31
- 8.- Butler, G. W., Greenwood, R. M., Soper, K. (1959). Effects of shading and defoliation on the turnover of root nodule tissue of plantas of Trifolium repens, Trifolium pratense, and Lotus uliginosus. New Zeland Journal

- 8.- (cont.) Journal of Agricultural Research, 2:415-426.
- 9.- Caldwell, B. E.(1966). Inheritance of a strain specific in effective nodulation in soybean. Crop. Sci. 6:427-8
- 10.- ✓ Caldwell, B. E., Vest, G. (1970) Effect of Rhizobium japonicum strains on soybean yields. Crop. Sci. 10:19-21
- 11.- Cau-Smith, W. P., Pittman, H. A. J. (1939). The influence of methods of planting in the effective inoculation and stablishment of subterranean clover. J. Agr. Wester Australia, 16:61-73
- 12.- ✱ Circular CIAT No. 14, junio de 1977. SARH, Campo Agrícola Experimental Rio Bravo (norte de Tamaulipas). El cultivo de la soya en el norte de Tamaulipas.
- 13.- ✱ CIANO. Hoja de divulgación No. 7, abril de 1973. Tetabiate nueva variedad para el noroeste de México: Valle del Yaqui, Valle del Mayo y Costa de Hermosillo en el estado de Sonora y Culiacián, Sin.
- 14.- Cook, R., York, P. A. (1972). The effects of Benomyl on Heterodera avenae on barley. Plant Dis. Repr. 56:261-4
- 15.- Chesney, H.A.D., Khan, M.A., Bisessar, S. (1973). Performance of soybeans in Guyana as affected by inoculum (Rhizobium japonicum) and nitrogen. Central Agricultural Station, Ministry of Agriculture, Mon Repos, Guyana, Turrialba, 23, 1:91-6

- 16.- Dart, P. J., Merecer, F. V. (1965 b). The effect of growth temperature, level of ammonium nitrate, and light intensity on the growth and nodulation of Cowpea (Vigna sinensis, Endl. ex Hassk'..). Australian Journal of Agricultural Research, 16:321-345
- 17.- Date, R. A., Batthyany, C., Jaureche, C. (1965). Survival of Rhizobia on inoculated and pelleted seed. Proc. 9th. Intern. Grasslands Congr. 1(2), 263-269.
- 18.- Date, R. A. (1970). Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. Plant and Soil 32:703-725
- 19.- Davidson, J.L., Gibson, A.H., Birch, J W., (1970). Effects of temperature and defoliation on growth and nitrogen fixation, in subterranean clover. Proceedings of the IX International Grassland Congress (Surfer's Paradise Australia) pp. 542-45 University of Queensland Press.
- 20.- Day, J.M. (1972). Studies on the role of light in legume symbiosis. Ph D. Thesis, University of London.
- 21.- Dobereiner, J., Arruda, N.B. (1967). Interrelacoes entre variedades e nutricao na nodulacao e simbiose da soja (Glycine max. (L) merril). Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 2:475-487
- 22.- Dube, J.N. (1976). Yield response of soybeans, chickpea pea, and lentil to inoculation with legume inoculants. Symbiotic Nitrogen Fixation in plants, edited by P.S. Nutman. International Biological Programme 7, Cambridge

- 22.- (cont.) University Press pp 203-207
- 23.- Ebbles, D. L. (1967). Effect of soil fumigants on Fusarium wilt and nodulation of peas. Ann. Appl. Biol. 60:391
- 24.-\* Garcfa, S.D., Garza, A.M., De la Garza, F.R., Ramirez, R.M. (1977). Influencia de la fertilización con N, P, K, e inoculación sobre el rendimiento de soya. II Reunión de información, Gobierno del Estado de Tamaulipas: Ciudad Dfaz Ordás. SARH. México
- 25.-\* Garcfa, B.A., Moncada, F.J. (1969). La Fertilización e inoculación como factores determinantes en el rendimiento de la soya, en la región de Delicias, Chihuahua (1965-1968). Memoria del IV Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo Tomo I. México
- 26.- Gibson, A.H. (1969). Physical environment and symbiotic nitrogen fixation. VI Nitrogen retention within the nodules of Trifolium subterraneum L. Australian Journal of Biological Sciences, 22:829-838
- 27.- Gibson, A.H. (1968). Nodulation failure in Trifolium subterraneum L. cv. Woogenellup (syn. Marrar). Australian Journal of Agricultural Research, 19:907-918
- 28.- Gibson, A.H. (1976). Recovery and compensation by nodulated legumes to environmental stress. Symbiotic Nitrogen fixation in plants, edited by P.S. Nutman. International Biological Programme 7. Cambridge University Press pp 385-403

- 29 a.- Ham, G.E., Cardwell, V.B., Johnson, H.W. (1971).  
Evaluation of Rhizobium japonicum inoculants in soils  
containing naturalized populations of Rhizobia. *Agronomy  
Journal*, 63:301-303
- 29 b.- Ham, G.E., Frederick, L.R., Anderson, I.C. (1971).  
Serogroups of Rhizobium japonicum in soybean nodules  
sampled in Iowa. *Agronomy Journal* 63:69-72
- 30.- Ham, G.E., Lawn, R.J., Brun, W.A. (1976). Influence of  
inoculation nitrogen fertilizers and photosynthetic  
source-sink manipulations on field grown soybeans.  
*Symbiotic Nitrogen fixation in plants*, edited by P.S.  
Nutman, International Biological Programme 7, Cambridge  
University Press, pp-239-253
- 31.- Hrdy, R.W.F., Havelka, V.D. (1976). Photosynthate as a  
major factor limiting nitrogen fixation by field-grown  
legumes with emphasis on soybeans. *Symbiotic nitrogen  
fixation in plants*, edited by P.S. Nutman, International  
Biological Programme 7, Cambridge University Press, pp  
421-439
- 32.- Harper, J.E., Cooper, R.L. (1971). Nodulation response of  
soybean to application rate and placement of combined  
nitrogen. *Crop. Science*, 11:438-440
- 33.- Hera, C. Suteu, G., Triboi, E., Mibraila, V., Bologa, M.  
Burlacu, G. Stanciu, A. (1972). Cercetari cu ajutorul  
izotopilor  $N^{15}$  si  $P^{32}$  privind sistemul de fertilizare



- 33.- (cont.) la soia. Analele ICCPT, Fundulea, Ser. B, 39: 309-314
- 34.- Hera, C. (1976), Effect of inoculation and fertilizer application on the growth of soybeans in Rumania. Symbiotic nitrogen fixation in plants, edited by P.S. Nutman, International Biological Programme 7, Cambridge University Press pp 269-279.
- 35.- Hulpoi, N., Picu, I., Tianu, A. (1971). Cercetari privind aplicarea in grasamintelor la culturile de cimp irigate. Probleme Agricole, 8:48-50
- 36.- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas: Información obtenida en el Departamento de leguminosas (Departamento de soya). Comunicación personal SARH, México
- 37.- Ireland, J.A., Vincent, J.M (1968). A quantitative study of competition for nodule formation. IXth. International Congress of soil Science Transactions, 2:85-93
- 38.- Jacob, A., Vexkull, Von. H (1963). Nutrition and manuring of tropical Crops. Fertilizer use. pp 191-194 3rd. Edition Verla Sgeselle-Chaft filt Aceaban, Hanover.
- 39.- Jain, M.K., Rewari, R.B. (1975). Studies of Azotobacter and Rhizobium Inoculation on soybean. (1) Div. Microbiol. Indian Agric. Res. Inst., New Delhi, India (2) Agricultura Belgium, 23,1:37-46
- 40.- Kamata, E. (1963). Morphological and Physiological Studies on nodule formation in Ladino clover. (Trifolium repens L.) Proceedings of the Crop Science Society of Japan, 31:245-248

- 41.- Kapusta, G., Rouwenhorst, D.L. (1973). Influence of inoculum size on Rhizobium japonicum serogroup distribution frequency in soybean nodules. Agronomy Journal 65,6:916-919
- 42.- ✓ Kushizaki, M., Ishizuka, J., Akamatzu, F. (1964). Physiological Studies on the nutrition of soybean plants. I, Effects on growth yield and nitrogen content of soybean plants Journal of the Science of soil manure, Tokyo, 35:323-327
- 43.- Lawn, R.J., Brun, W.A. (1974). Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. III, Effect of supplemental nitrogen and intervarietal grafting. Crop Science, 14:22-25
- 44.- ✓ Loneragan, J.F., Meyer, D., Fawcett, R.G., Anderson, A.J. (1955). Lime pelleted clover seeds for nodulation on acid soils. J. Austral. Inst. Agric. Sci. 21:264-265
45. Miller, L.I. (1951). A report on the effect of ethylene dibromide soil treatment on root-knot control, nodulation and yield of peanuts. VA. J. Aci. 109-112
- 46.- Miller, P.M. (1969). Suppression by Benomyl and Thiabendazole of root invasion by *Heterodera tabacum*. Plant Dis. Repr. 53:963-966
- 47.- Miller, P.M., Taylor, G.S. (1970). Effects of several nematicides and Benomyl on incidence of weather fleck of tobacco. Plant Disease Reporter, 54:672,674

- 48.- Moustafa, E., Ball, R., Field, T.R.O.(1969). The use of acetylene reduction to study the effect of nitrogen fertilizer and defoliation on nitrogen fixation by field-grown white clover. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 12:691-696
- 49.- Nutman, P.S. (1963). Factor influencing the balance of mutual advantage in legume symbiosis. In *symbiotic associations*, pp 51-71. Cambridge University Press, London
- 50.0 Ohlrogge, A, J., Kamprathe, E.J. (1968) Fertilizer use on soybeans in changing patterns in fertilizer use, ed. L.B. Nelson. Soil Science Society of America, Madison Wisconsin, 273-295
- 51 a.- Pate J.S., (1976). Physiology of the reaction of nodulated legumes to environment. *Symbiotic nitrogen fixation in plants*, edited by P.S. Nutman. International Biological Programme 7, Cambridge University Press pp 335-360
- 51 b.- Bergerson, F.J. (1971). The Biochemistry of Symbiotic nitrogen fixation in legumes. *Annual Review of Plant Physiology*, 22:121-140
- 52.- Rao, J.V.D.K.K., Patil, R.B. (1976). Effect of inoculation with *Rhizobium* and *Azotobacter* on nodulation, growth and yield of soybean. *Current Science*, 45, 14:523-524
- 53.- Rajaratnam, J. (1973). A short note on the effect of rhizobial inoculation on the yield of soybean on a lateritic latosol, *Mardi Res Bull (Malays Agric. Res Dev. Inst;)* 1,1:51-54

- 54.- Reddy, D.D.R., Rao, J.V.D.K.K. (1975). Effect of selected nonvolatile nematocides and Benomyl on modulation Root-knot nematode control and yield of soybeans. Plant Disease Reporter, 59, 7:592-595
- 55.- Ross, J.P. (1959). Interaction of Meloidogyne incognita and Heterodera glycines on soybeans. (abstr) Phytopathology 49:549
- 56.- Chatel, D.L., Greenwood, R.M. (1976). Dato obtenido por comunicación por personal y publicado por R. J. Roughley en Symbiotic nitrogen fixation in plants, edited by P. S. Nutman. International Biological Programme 7, Cambridge University Press pp 126.
- 57.- ✓ Roughley, R.J. (1976). The production of high quality inoculation and their contribution to legume yield. Symbiotic nitrogen fixation in plants, edited by P. S. Nutman. International Biological Programme 7, Cambridge University Press pp 125-150
- 58.- ✓ Roughley, R. J. (1970). The influence of root temperature Rhizobium stains and host selection on the structure and nitrogen-fixing efficiency of the root nodules of Trifolium subterraneum. Annals of Botany, 34:631-646.
- 59.- Roughley, R.J., Date, R.A., Walker, M.H. (1966). Inoculating and lime-pelleting legume seed. Agr. Gaz. New South Wales vol. 77: 142-146

- 60.- Roughley, R.J., Date, R.A., Walker, M.H. Inoculating and lime-pelleting clover seed. Agric. Gaz. N.S.W. 77:142-146
- 61.- ✓ Sharma, D.S., Tilak, K.V.B.R. (1974). Comparative efficiency of different commercial inoculants of Rhizobium japonicum on field grown soybeans. Indian Journal of Agricultural Research 8,4:223-226
- 62.- Sikora, R.A. (1972). Plant parasitic nematodes Ass. with sugarbeet and soybean in India. Indian Journal Nematol, 2:200-201
- 63.- ✓ Singh, J.N., Gegi, P.V.S., Tripathi, S.K. (1971). Response of inoculated soybeans varieties to levels of nitrogen and phosphorus in Tarai region of U.P., Indian Journal of Agronomy, 16, 3:305-308
- 64.- ✓ Sistachs, E. (1976). Inoculation and nitrogen fertilizer experiments on soybeans in Cuba. Symbiotic nitrogen fixation in plants, edited by P.S. Nutman. International Biological Programme 7, Cambridge University Press, pp 281-288
- 65.- ✓ Sloger, C., Bezdicek, D., Milberg, R., Boonkerd, N. (1975). Seasonal and diurnal variations in  $N_2$  ( $C_2H_2$ )-fixing activity in field soybeans. In: Nitrogen fixation in free living micro-organisms (ed. W.D.P. Steward), pp 271-284. Cambridge University Press, London.

- 66.- Sprent, J.I. (1976). Nitrogen fixation by legumes subjected to water and light stresses. Symbiotic nitrogen fixation in plants, edited by P.S. Nutman. International Biological Programme 7, Cambridge University Press. pp 405-420
- 67.- Sprent, J.I. (1971). The effects of water stress on nitrogen fixing root nodules. I, effects on the Physiology of detached soybean nodules. New Phytologist 70:9-17
- 68.- Sprent, J.I. (1972). The effects of water stress on nitrogen fixing root nodules. II effects on the fine structure of detached soybean nodules. New Phytologist, 71:443-450
- 69.- Sprent, J.I. (1972). The effects of water stress on nitrogen fixing root nodules III effects of osmotically applied stress New Phytologist, 71:451-460
- 70.- Subba Rao, N.S., Balasundaram, V.R. (1971). Rhizobium inoculants for soybean. Indian farming, 21:22-23
- 71.- Transiri, B, Vasuwat, Y., Vangnai, S. (1974). Rhizobium japonicum strains effective on nitrogen fixation with soybean S.J.2 in Korat soil series. Kasetsart Journal 8,1:19-22.
- 72.- Vincent, J.M (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. International Biological Programme, Handbook. 15:125-131.

- 73.- Wagner, G.H. (1962) Nitrogen fertilization of soybeans  
Missouri Agricultural experiment station Bulletin No. 797
- 74.- Weber, C. R. (1966). Nodulating and non nodulating  
soybean isolines. 1, Agronomic and chemical attributes.  
Agronomy Journal, 58:43-46
- 75.- Weber, C.R. (1966). Nodulating and non nodulating  
soybean isolines. 2, Response to applied nitrogen and  
modified soil conditions. Agronomy Journal, 58:46-49
- 76.- Whiteman, P. C. (1970). Seasonal changes in growth and  
nodulation of perennial tropical pasture legumes in the  
field. II, effects of controlled defoliation levels on  
nodulation of Desmodium intortum and Phaseolus antropur-  
pureus. Australian Journal of Agricultural Research,  
21:207-214