

# CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE ESPORAS DE MICORRIZAS DEL GENERO *Glomus sp.* A NIVEL DE INVERNADERO Y DE CAMPO EN EL CULTIVO DE SOYA *Glycine max L.*

*Morphological characterization of spores of mycorrhizal Glomus sp Gender. level of greenhouse and field crop soybean Glycine max L.*

Susana Espinoza Antor <sup>1</sup>

Recibido el 20 de septiembre de 2013; recibido en forma revisada 14 de noviembre 2013, aceptado 9 de diciembre 2013

## Resumen

La presente investigación referente “**Caracterizar morfológicamente esporas de micorrizas del género *Glomus sp.* a nivel de invernadero y de campo en el cultivo de soya *Glycine max L.***” se llevó a cabo durante los meses de Noviembre del 2012 hasta Febrero del 2013 en la Granja de Limoncito, Provincia de Santa Elena.

Los objetivos del trabajo fueron: Aislar e Identificar morfológicamente esporas de micorrizas más eficientes, Multiplicar las esporas aisladas, en cultivo de *Brachiaria decumbens.*, Realizar pruebas de efectividad de micorrizas identificadas sobre el cultivo de soya y comparar los rendimientos de esporas nativas de micorrizas con micorrizas extranjeras que se venden en el mercado local.

Se empleó el diseño experimental de bloques completamente al azar, con cuatro repeticiones y cinco tratamientos. Las comparaciones de las medias de los tratamientos, se efectuaron mediante la prueba de rangos múltiples de DUNCAN al 5 % de probabilidad.

El manejo del experimento se realizó mediante preparación del terreno con un pase de arado y dos pases de rastra.

Las variables evaluadas fueron: altura de planta a los 15, 30, 45 días y cosecha, altura de inserción del primer fruto, número de nódulos a los 30 y 60 días de la siembra, número de esporas a los 30, 60 días del cultivo, número de vainas por planta, número de semillas por planta, peso de 100 semillas, rendimiento expresado en kg/ha.

Análisis económico, el **T4** (micorrizas extranjeras + *Bradyrhizobium*) y **T3** (micorrizas nativas + *Bradyrhizobium*) fueron los de mayor ingreso con respecto al testigo.

**Palabras claves:** Hongos micorrízicos arbusculares, diversidad

## Abstract

The present benchmark research "Morphologically characterized spores of mycorrhizal fungi of the genus *Glomus sp.* at the level of greenhouse and field in the cultivation of soybean *Glycine max L.* " it was conducted during the months of November to February 2013 2012 on the farm of Limoncito, province of Santa Elena.

The objectives of the study were: isolate and identify more efficient mycorrhizal spores morphologically, multiply the isolated spores in culture of *Brachiaria decumbens.*, testing effectiveness of mycorrhizal fungi identified on the cultivation of soy and compare the performance of native spores of arbuscular mycorrhizal foreign selling in the local market.

The experimental design of blocks completely at random, five treatments with four replications was employed. Comparisons of treatment means, were made using DUNCAN multiple range test at 5% probability.

Management of the experiment was done by preparing the ground with a pass of plough and two passes of dredge. The variables evaluated were: 15, 30, 45 days and harvest plant height, height of insertion of the first fruit, number of nodules at 30 and 60 days after planting, number of spores to the 30, 60 days of growing, number of pods per plant, number of seeds per plant, weight of 100 seeds, performance expressed in kg / has. Economic analysis, (foreign Mycorrhizae *Bradyrhizobium*) T4 and T3 (native *Bradyrhizobium Mycorrhizae*) were those of higher income with respect to the witness.

**Keywords:** Arbuscular mycorrhizal fungi, diversity

<sup>1</sup> Egresado de la Carrera de Biología, Tesis de grado – Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales – sede Mapasingue.

## 1. Introducción

La soya es un cultivo con efectos beneficiosos para el suelo, es una oleaginosa de alto valor nutritivo y de múltiples usos en el procesamiento de aceites y margarinas, en la formulación de balanceados para la avicultura y otros rubros pecuarios, así como para la elaboración de alimentos como leche y carne de soya, o en el consumo humano directo como grano. (Http: www.sica.gov.ec).

En condiciones naturales la mayoría de las plantas tropicales adaptadas a diversos nichos ecológicos se encuentran asociadas con microorganismos del suelo, como micorrizas, estableciendo relaciones benéficas (simbióticas). Esta estrategia de la evolución ha sido muy exitosa, y a pesar de que su conocimiento se reporta desde hace más de un siglo, solo durante las últimas décadas el hombre ha empezado a utilizarla en las producciones hortícolas y frutícolas, donde existen evidencias de su potencial y éxito para el desarrollo competitivo y sostenible de estas especies. Adicionalmente, las nuevas tendencias del mercado tanto mundial como regional, buscan ser más cautelosas en lo referente a la aplicación de agroquímicos y pesticidas en la agricultura, por los problemas que ocasionan sobre la salud humana. (Corredor, 2002)

Los hongos MVA poseen tres componentes, que son: La raíz de la planta hospedera, las estructuras formadas en el cortex radicular (arbúsculos o vesículas), y el micelio o esporas extra radicales (Siqueira, 2002 [www.cib.org.br](http://www.cib.org.br)).

Las vesículas son estructuras de forma globosa, usualmente llenas de grasas, que sirven como órganos de almacenamiento de energía y como estructuras reproductivas, se localizan inter e intracelularmente. Los arbúsculos son estructuras intracelulares que mediante ramificaciones dicotómicas sucesivas forman una extensa cantidad de ramas con diámetro menor de 0.0001 mm, son de corta vida y sirven como sitios de intercambio de nutrimentos entre el hongo y la planta.

La importancia de estos bioproductos radica en su capacidad para suplementar o movilizar nutrientes

con un mínimo uso de recursos no renovables; además tiene la ventaja de que los procesos microbianos son rápidos y los biopreparados pueden aplicarse en pequeñas unidades para solucionar problemas locales específicos (Martínez, R. 1999).

La clasificación taxonómica de los hongos micorrízicos arbusculares está basada en el conjunto de sus características morfológicas y moleculares.

Cuadro 1. Clasificación de los HMA de acuerdo con Morton & Benny (1990) y Morton & Redecker (2001).

Orden	Suborden	Familia	Géneros
Glomales	Glomineae	Glomaceae	<i>Glomus</i> <i>Sclerocystis</i>
		Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i> <i>Entrophospora</i>
		Gigasporineae	Gigasporaceae
	¿?	Paraglomaceae	<i>Paraglomus</i>
	¿?	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>

Los hongos micorrízico-vesículo arbusculares (MVA) poseen tres componentes, que son: La raíz de la planta hospedera, las estructuras formadas en el cortex radicular (arbúsculos o vesículas), y el micelio o esporas extraradicales (Fig. 1.)

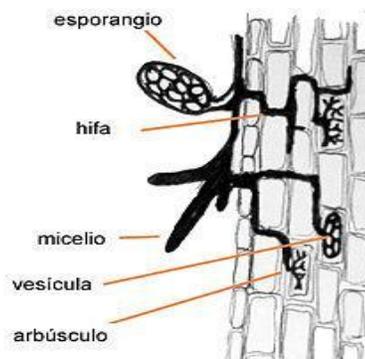


Fig. 1. Partes de una micorriza arbuscular (Siqueira, 2002 [http://www.cib.org.br/apresentacao/biotec\\_meio\\_amb\\_galdino.pdf](http://www.cib.org.br/apresentacao/biotec_meio_amb_galdino.pdf))

### Hipótesis

La multiplicación del género *Glomus* como biofertilizante ayudaría a una mayor producción de micorrizas para mejorar el manejo de las cosechas en soya.

## 2. Materiales y Métodos

### Área de Estudio

El estudio se realizó en los invernaderos de la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo y el trabajo de campo en la granja experimental de Limoncito de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, ubicada en el Km. 49 vía Chongón provincia de Santa Elena.

Longitud Oeste	79°	53'00"	Precipitación media anual	807,87mm
Latitud Sur	02 <sup>a</sup>	09' 12"	Temperatura media anual	25°C
Altitud	40	msnm	Humedad relativa media anual	75%
Suelo	Arcilloso		pH	6.

### Materiales de Campo

1. Fundas ziploc
2. Machete
3. Guantes
4. GPS
5. Pala
6. Materiales de oficina

### Materiales de laboratorio

1. Tamices de 500 µm y 45µm
2. Nevera
3. Anaqueles
4. Bandejas
5. Frascos contenedores
6. Placas porta y cubre objetos
7. Vaso de precipitación
8. Pinzas
9. Aguja enmangada
10. Matraz de Erlenmeyer
11. Autoclave
12. Estufa
13. Microscopio
14. Estereoscopio
15. Cajas de Petri
16. Tubos de ensayo
17. Jeringuillas
18. Tijera
19. Tubos para centrífuga
20. Centrífuga

21. Vidrio reloj
22. Micropipeta
23. Pipeta
24. Semillas de *Pueraria phaseoloides*
25. Papel aluminio
26. Papel filtro
27. Computadora
28. Calculadora
29. Varilla de vidrio
30. Vasos de plástico
31. Turba
32. Arena
33. Cámara fotográfica
34. Balanza analítica
35. Embudo

### Reactivos

36. Hidróxido de potasio (KOH) al 10%
37. Peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 10%
38. Ácido clorhídrico (HCl) al 10%
39. Anilina azul y Azul tripano 0.05%
40. Ácido Láctico
41. Hidrato de cloral
42. Glicerol
43. Agua destilada
44. Sacarosa al 60%

### Metodologías

#### A nivel de campo

El trabajo consistió en la aplicación de esporas nativas de micorrizas identificadas y caracterizadas morfológicamente pertenecientes al género *Glomus mosseae* de acuerdo a su coloración café hialina, su forma globosa y su pared gruesa, y el tamaño de 200µm. Estas esporas fueron seleccionadas como las más eficientes de acuerdo a estudios previos realizados a nivel de invernadero en el laboratorio de fisiología vegetal. El uso de estas esporas seleccionadas compitió en igualdad de condiciones con las micorrizas extranjeras en las semillas de soya INIAP 308, aisladas en cultivos de *Pueraria phaseoloides*. Frente a un testigo convencional, donde se aplicó, micorrizas extranjeras que se venden comercialmente en el país.

### **Método de laboratorio**

El método que se empleó en el presente ensayo tuvo dos fases experimentales una en invernadero y otra a nivel de campo. En el invernadero se utilizaron 20 macetas donde se inoculó esporas de micorrizas nativas y comerciales, las cuales se separaron y se clasificó en base a sus características morfológicas.

### **Justificación de la elección del método**

La obtención de inoculo de micorrizas arbusculares que contribuya al crecimiento de especies vegetales se basa en la adecuada selección de esporas nativas que efectúen una buena colonización y posterior multiplicación en el hospedero. Esto implica separar, identificar y multiplicar el material nativo.

Durante la esterilización se agregaron 6 ½ litros de agua en la autoclave a una temperatura de 121°C a 15 psi por una hora, se usaron 2 fundas de tela una con 17 libras de arena y otra con 11 libras de arena con un total de 28 libras.

Se usaron macetas plásticas y se las relleno con arena esterilizada en autoclave durante 2 horas a 121°C y 15 psi. Con la finalidad de asegurar que el crecimiento de las plantas estarán influenciados exclusivamente por la presencia de las micorrizas nativas y comerciales y su interacción con

*Bradyrhizobium japonicum*, se ayudó en el crecimiento de las plantas con la aplicación de una solución hidropónica ya que la arena esterilizada no aporta ningún nutriente a la planta.

Se colocaron 4 macetas por cada tratamiento, con 2 plantas por maceta y se inocularon un promedio de 5 esporas iguales por maceta. Estas plantas se dejaron en el vivero y se realizó la aplicación de una solución de macro y micronutrientes cada 21 días. Se regaron periódicamente hasta capacidad de campo.

### **Separación de esporas.**

Una vez realizado el tamizado de cada muestra, se procedió al aislamiento de esporas mediante la técnica propuesta por Sieverding (1984). De cada muestra se tomaron 100 gr. de suelo, se

depositaron en un beaker al cual se agregó entre 200 a 300 ml de agua, se agitó por 30 minutos, posteriormente se pasó por un juego de tamices de 500 µm y 45µm, para secar la muestra se utilizó una bomba al vacío las mismas que se colocaron en papel filtro hasta que se hayan secado totalmente. La muestra obtenida fue equilibrada con la ayuda de una balanza, luego se agregó con una jeringa hasta el fondo del tubo 25 ml de solución azucarada al 60%. y se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos. Los contenidos de los tubos de la centrifuga se pasaron por los tamices de 500 µm y 45µm respectivamente para cada muestra obtenida del tamizado anterior, se lavaron las esporas varias veces con agua corriente y se pasaron a cajas de Petri, las cuales se rotularon con un número que identifica la muestra, la fecha de procesamiento y finalmente se guardaron en la nevera para su posterior utilización.

### **Conteo de esporas**

De cada muestra procesada por la técnica anterior y teniendo en cuenta lo indicado por Schenck y Pérez, (1990), se tomaron 2 ml de cada una de ellas, se depositaron en una caja de Petri rayada en cuadrículas 1cm<sup>2</sup> para realizar y facilitar el conteo respectivo. Cada conteo se realizó tres veces para obtener un estimativo del número total de esporas en 100 gr. de suelo por muestra. En este caso los resultados han sido expresados en número de esporas/100 g de suelo de esta manera pudimos obtener la densidad promedio de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares.

Se observaron las esporas al estereomicroscopio y por inspección visual se determinó los diferentes grupos presentes en cuanto a forma y color. Se aislaron estas esporas y se montaron en placas con medio PVLG (polivinilactoglicerol). Se evaluó el crecimiento y desarrollo de las plantas de soya de acuerdo a los diferentes tratamientos con esporas nativas, extranjeras y la interacción con *Bradyrhizobium*.

### **Identificación de géneros y/o especies.**

Cada uno de los morfotipos aislados se depositó en vidrios de reloj, se observaron al estereoscopio para verificar sus características y eliminar otras

esporas y partículas contaminantes, las cuales se retiraron con ayuda de una aguja de disección. Una vez limpias las esporas se procedió a la preparación de láminas, que consiste en colocar en una gota de PVLG entre 10 y 15 esporas por muestras, las cuales fueron cubiertas con laminillas de vidrio; se procedió a la observación microscópica para su identificación a nivel de género y/o especie. Además se hizo una separación por grupo de los diferentes géneros y/o especies determinadas, para su inoculación en el ensayo posterior.

### Evaluación morfológica de las poblaciones de micorrizas.

Las esporas fueron evaluadas y agrupadas por morfotipos para cada muestreo, para su posterior clasificación a partir de características morfológicas a nivel de género y/o especie, usando la clave taxonómica de Shenk y Pérez (1990) y la tabla de colores publicada por el INVAM (International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular Mycorrhizal Fungi). Para esto se hicieron placas de cada uno de los morfotipos, usando como medio de montaje PVLG y reactivo de Melzer. La observación microscópica se realizó con los objetivos de 40X y 100X (de inmersión). Para las medidas se empleó una regla micrométrica con 100 divisiones adaptada al ocular.

### Diseño Estadístico

El diseño estadístico que se utilizó es de bloques completamente al azar con 5 tratamientos que corresponden al uso de la interacción de micorrizas nativas y extranjeras con la bacteria fijadora de nitrógeno “*Bradyrhizobium japonicum*”. El ensayo fue de 4 repeticiones con un Andeva propuesto de la siguiente manera. Se utilizó el diseño completamente al azar con 5 tratamientos y 4 repeticiones, el modelo del análisis de variancia es el siguiente:

### Modelo matemático

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \Sigma_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Es la observación j-ésima correspondiente al tratamiento i-ésimo

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto i-ésimo de los tratamientos

$\Sigma_{ij}$  = Efecto aleatorio (Error experimental)

ANDEVA		
Fuente de variación	Grados de libertad	
Repeticiones	(r - 1)	3
Tratamientos	(t - 1)	4
Error	(r - 1)(t - 1)	12
Total	t*r-1	19

Para lograr este propósito se analizarán las siguientes variables:

- Conteo de esporas a los 45 y 60 días después de la siembra.
- Altura de planta a los 15, 30, 45,
- Numero de vainas por planta.
- Peso de 100 semillas.

## 3. Resultados

El porcentaje de germinación entre los tratamientos fue del 98% ya que se contó con una semilla certificada de la variedad INIAP 308 del de buena calidad obtenida en la estación experimental del INIAP, Pichilingue. El porcentaje de humedad del suelo tuvo un promedio de un 40% durante todo el ensayo fueron testados cada 15 días. En lo que respecta a la identificación y caracterización morfológica, se determinó que las esporas nativas aisladas pertenecen al género *Glomus mosseae* de acuerdo a su coloración café hialina, su forma globosa, su pared gruesa, y el tamaño de 200µm. Estas esporas fueron seleccionadas como las más eficientes de acuerdo a estudios previos realizados a nivel de invernadero en el laboratorio de fisiología vegetal. El uso de estas esporas seleccionadas compitió en igualdad de condiciones con las micorrizas extranjeras.

El conteo de esporas se realizó a los 45 y 60 días después de la siembra se realizó esta labor tanto a nivel de invernadero como a nivel de campo. A nivel de campo se hizo el conteo a los 45 y 60 días después de la siembra con los resultados que se detallan a continuación:

**Tabla 1.-** Numero de esporas a nivel de campo.

Tratamientos	A los 45 días		A los 60 días	
	45 µm	150 µm	45 µm	150 µm
T1	65	16	19	141
T2	81	15	21	164
T3	124	25	36	176
T4	141	20	37	180
T5	24	12	16	36

A nivel de invernadero se hizo el conteo a los 45 y 60 días después de la siembra con los resultados que se detallan a continuación:

**Tabla 2.-** Numero de esporas a nivel de campo.

Tratamientos	A los 45 días		A los 60 días	
	45 µm	150 µm	45 µm	150 µm
T1	9	5	12	7
T2	195	24	108	42
T3	100	31	63	39
T4	181	40	191	57
T5	18	13	22	12

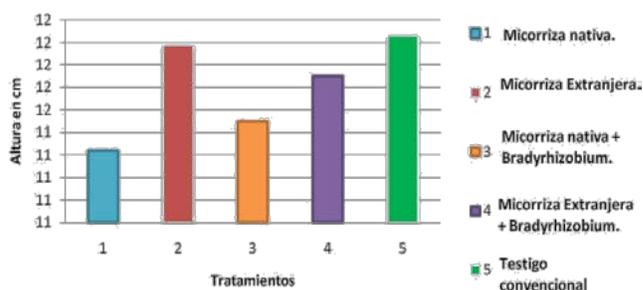
### Altura de planta (cm) 15 dds.

Los resultados obtenidos en los análisis de varianza correspondientes no presentan diferencias significativas. Los coeficientes de variación registrados a los 15, 30, 45 días y cosecha del cultivo fueron de 5.63 %; 14.74 % y 7.95 % respectivamente.

El promedio general de altura de la planta a los; 15 días fue 12 cm, 24 cm a los 30 días, 54 cm a los 45 días. No presentan diferencia estadística, lo que demuestra que la acción de las micorrizas extranjeras como las nativas y *Bradyrhizobium* no influyó en la altura de la planta.

### Análisis de la varianza altura de planta 15 días

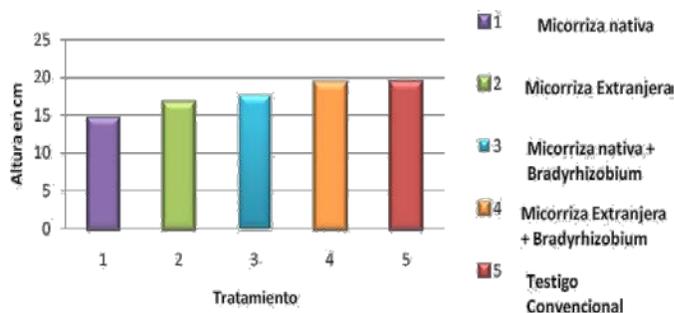
F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	FT		N.S.
					5%	1%	
Repeticiones	3	4,34	1,44	1,65	3,49	5,95	N.S.
Tratamientos	4	3,07	0,76	0,87	3,26	5,41	N.S.
Error Experimental	12	10,50	0,87				
Total	20	17,93					
X	11,82						
C.V. (%)	7,92						



**Fig. 2.** Altura de planta a los 15 dds (cm) zona de Limoncito

### Análisis de la varianza altura de inserción

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	FT		N.S.
					5%	1%	
Repeticiones	3	62,4	20,8	19,59	3,49	5,95	N.S.
Tratamientos	4	62,66	15,66	14,76	3,26	5,41	N.S.
Error Experimental	12	12,73	1,06				
Total	20	137,8					
X	17,40						
C.V. (%)	5,92						



**Fig. 3.** Altura de inserción en la zona de Limoncito.

### Nódulos por planta

En el Ensayo de Invernadero los datos de nódulos por planta a los 75 días demostraron que el tratamiento T2 tuvo el mayor número de nódulos con una cantidad de 121 nódulos en promedio, seguido del T1 con 120 nódulos, siendo muy importante que un tratamiento T3 se utilizó micorriza nativa y *Bradyrhizobium* por su captación de Nitrógeno de estos tratamientos; el tratamiento T4 presentó el menor número de nódulos en el cultivo con un promedio de 104.

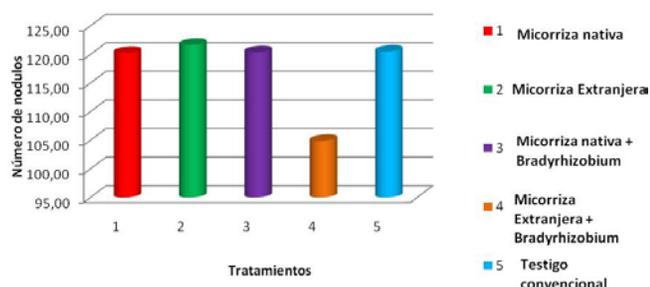


Fig. 4. Numero de nódulos por planta en invernadero.

### Numero de Vainas por planta

Los resultados indican que, no hay significancia estadística entre los tratamientos sin embargo, el mayor número de vainas/planta se observa para el tratamiento T3 con 70 vainas. Mientras que el T5 presentó el menor número de vainas/planta correspondiente a 62. El C.V. Fue 25.99 % en el presente ensayo.

#### Análisis de la varianza número de vainas

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	FT		N.S
					5%	1%	
Repeticiones	3	527,53	175,84	0,58	3,49	5,95	N.S
Tratamientos	4	137,56	34,39	0,11	3,26	5,41	N.S
Error Experimental	12	3594,14	299,51				
Total	20	4259,24					
X	66,60						
C.V. (%)	25,99						

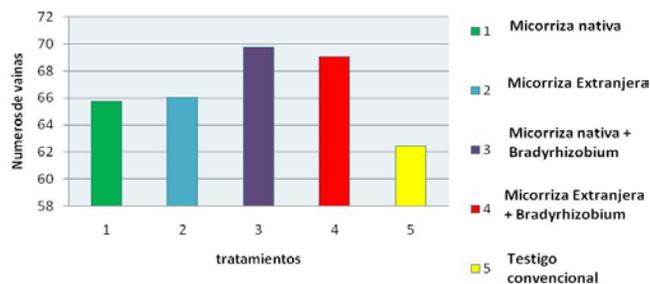


Fig. 5. Numero de vainas por planta.

### Peso de 100 semillas (g)

Realizado el análisis de varianza no existe diferencia estadística entre los tratamientos sobre el peso de 100 semillas, teniendo un comportamiento muy parecido los tratamientos en estudio alrededor de 16 g. Con un C. V. de 8.12 %.

#### Análisis de varianza del número de 100 semillas

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	FT		N.S
					5%	1%	
Repeticiones	3	4,64	1,54	0,89	3,49	5,95	N.S
Tratamientos	4	1,32	0,33	0,19	3,26	5,41	N.S
Error Experimental	12	20,63	1,71				
Total	20	4,64	1,54	0,89	3,49	5,95	
X	16,16						
C.V. (%)	8,12						

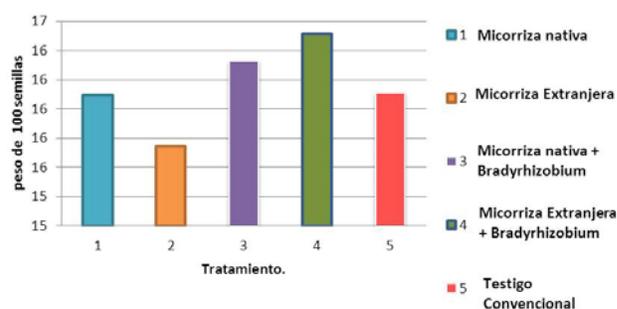


Fig. 6. Peso de 100 semillas.

## 4. Discusión

Luego de analizar los resultados obtenidos en este trabajo experimental referente a: **Caracterizar morfológicamente esporas de micorrizas del género *Glomus sp.* a nivel de invernadero y de**

**campo en el cultivo de soya *Glycine max L.*** podemos discutir la importancia que tiene el uso de las micorrizas extranjeras así como también las nativas, las cuales al interactuar con las bacterias fijadoras de nitrógeno *Bradyrhizobium japonicum* han logrado incrementar los rendimientos con respecto al testigo, así podemos observar que el tratamiento T4 presentó el mayor rendimiento con 2.813 kg/ha y el tratamiento T3 como 2673 Kg./Ha, donde se utilizaron micorrizas nativas, las cuales fueron identificadas y caracterizadas morfológicamente perteneciente al género *Glomus mosseae* de acuerdo a su coloración café hialina, su forma globosa y su pared gruesa, y el tamaño de 200µm. Estas esporas fueron seleccionadas como las más eficientes de acuerdo a estudios previos realizados a nivel de invernadero en el laboratorio de fisiología vegetal. El uso de estas esporas seleccionadas compitió en igualdad de condiciones con las micorrizas extranjeras. El tratamiento con menor rendimiento correspondió al testigo convencional T5 con un rendimiento de 2361 Kg./Ha. lo cual pone de manifiesto la importancia del uso de las micorrizas interaccionadas con *Bradyrhizobium*.

También es importante mencionar que en los tratamientos T1 y T2, donde se utilizaron las micorrizas nativas y extranjeras solas, los rendimientos fueron menores que en aquellos tratamientos donde se utilizó asociado con *Bradyrhizobium*, lo cual pone de manifiesto los resultados obtenidos por otros investigadores (Barea, 2001) los cuales concuerdan con los resultados del presente trabajo.

La actividad microbiana de la simbiosis permite que las plantas micorrizadas se desarrollen mejor y respondan a los estreses ambientales de forma diferente que las plantas no micorrizadas. Efectivamente, la micorrización incrementa la tolerancia de las plantas a la salinidad y a la sequía, y las hace más resistentes a los ataques de patógenos que infectan a la planta por sus raíces, razón por la cual la incidencia de plagas en el presente trabajo fue baja.

Es importante mencionar que no hubo diferencias estadísticas en las variables de altura de planta a los 15, 30 y 45 días y cosecha.

## 5. Conclusiones

De los resultados obtenidos en el estudio; **“Caracterizar morfológicamente esporas de micorrizas del género *Glomus sp.* a nivel de invernadero y de campo en el cultivo de soya *Glycine max L.* ”**, se llegó a las siguientes conclusiones.

1. Al evaluar el rendimiento del cultivo, el tratamiento que mejor comportamiento tuvo fue el T4 que corresponde a (Micorrizas extranjeras + *Bradyrhizobium*) y el Tratamiento T3 que corresponde a Micorriza nativas + *Bradyrhizobium* lo nos permite concluir que la interacción del hongo micorrítico con la bacteria *Bradyrhizobium* se potencializan a través de los exudados radicales de las plantas de soya.
2. Es importante mencionar que para el uso de las micorrizas nativas se hizo una selección y una caracterización morfológica de las esporas de micorrizas más eficientes en estudios previos realizados al inicio del ensayo. Con lo cual podemos concluir que el incremento en el rendimiento del cultivo de soya se debió principalmente a la interacción de la micorriza tanto nativa como extranjeras con *Bradyrhizobium japonicum*
3. Las plantas de soya al tener una mayor disponibilidad de nutrientes crecieron vigorosas, razón por la cual no existió ataques de plagas y enfermedades.
4. Al realizar el conteo de esporas de micorrizas a nivel de campo se concluyó que en los tratamientos donde se utilizó las micorrizas extranjeras encontramos el mayor número de esporas por gramo de suelo, correspondiendo a T4 con 141 esporas a nivel de campo en tamiz de 45 µm y el menor número de esporas al T5 con 24 esporas. En el caso de las micorrizas nativas también fue importante el número de esporas

encontradas lo cual manifiesta la efectividad de las micorrizas nativas para reproducirse en el medio edafoclimático de la zona.

## 6. Recomendaciones

1. Se recomienda la utilización del tratamiento tres (T3) y el tratamiento cuatro (T4) para el cultivo de soya lo cual brinda un buen resultado en la producción con micorrizas nativas y extranjeras + *Bradyrhizobium*.
2. En el análisis económico de los tratamientos cabe destacar que hay un ingreso neto positivo en cualquiera de los tratamientos en estudio.

## Referencias

- [1] Allen, E.B. 1995. La restauración de zonas aridas perturbadas con especial referencia a los hongos micorrizicos. Pp. 167 – 177. In R. Orellana, J. A. Escamila y A. Larque Saavedra (Eds.) Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos. CICY, Yucatan, Mexico.
- [2] Allen, E.B. 1995. La restauración de zonas aridas perturbadas con especial referencia a los hongos micorrizicos. Pp. 167 – 177. In R. Orellana, J. A. Escamila y A. Larque Saavedra (Eds.) Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos. CICY, Yucatan, Mexico.
- [3] Appleton, B., J. Koci, S. francés, et al. 2003. Micorrízica inoculación de hongos de árboles en las calles establece. *Journal of Arboricultura* 29:107-110.
- [4] Azcon R. 2000. Papel de la simbiosis micorrizica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. In Alarcón A, Ferrera-Serrano R. Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Ed. Mundi-Prensa México.
- [5] Barea J, Andrade G, Bianciotto V, Dowling D, Lohrke S, Bonfante P, O’Gara F, Azcon-Aguilar C. 1998 Impact on arbuscular mycorrhiza formation of pseudomonas strains used as inoculants for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. *Appl Environ Microbiol.* 64:2304-2307.
- [6] Barea, J.M., Escudero, J.L. & Azcon-Aguilar, C. 1980. Effects of introduced and indigenous VA mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of *Medicago sativa* in phosphate-fixing soils as affected by P Fertilizers. *Plant and Soil* 54(2) 283-296.
- [7] Blanco F, Salas E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. In: Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales, Congreso Nacional de Fitopatología, Congreso Nacional de suelos (2, , San José, C. R) ¿Puede la agricultura sostenible ser competitiva?: Memoria. Eds. J. Bertseh; W. Badilla; E. Bornemiza. San José, EUNED/EUNA. 1996;3:69-79.
- [8] Blanco F, Salas E. 1996. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. X Congreso nacional agronómico/II Congreso de suelos. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. Costa Rica. p. 69.
- [9] Corredor G. 2002. Manejo sostenible de los agroecosistemas. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Regional 2, editores. Florencia.
- [10] Coyné, M. 2000. Microbiología del Suelo: un enfoque exploratorio. Ed. Paraninfo, España.
- [11] González M., 1995. La Endomicorriza Vesículoarbuscular. Asociación simbiótica entre hongos para la producción de frutales. Agroproductividad.
- [12] Haselwandter, K. 1987. Mycorrhizal infection and its possible ecological significance in climatically and nutritionally stressed alpine plant communities. *Angew Bot* 67:107-114.
- [13] INVAM. 2006. Micorriza Information Exchange Web Site clearinghouse for information on research, teaching, business of mycorrhizal symbiosis.
- [14] Martínez, R. 1999. Introducción al conocimiento sobre los biofertilizantes bacterianos. Instituto de Investigaciones fundamentales en Agricultura tropical (INIFAT).
- [15] Molina M, Machecha L, Medina M. 2004, Importancia del manejo de hongos micorrizogenos en el establecimiento de arboles en sistemas silvopastoriles. *Revista colombiana de ciencias Pecuarias*, Vol.18:2,2005.
- [16] Molina M, Machecha L, Medina M. 2005, Importancia del manejo de hongos micorrizogenos en el establecimiento de arboles en sistemas silvopastoriles. *Revista colombiana de ciencias Pecuarias*, Vol.18:2, 162-175.
- [17] Novo Sordo René. 2004. Charla sobre el uso de los biofertilizantes en la agricultura moderna y su aplicación práctica. Curso de pregrado previa a la obtención del título de ingeniero agrónomo del 28 de Octubre al 28 de Diciembre. UNAH. La Habana.
- [18] Read, D.J. Mycorrhiza. 1999. The state of the art. En: *Mycorrhiza* 2nd. (A. Varma y B. Hock, eds.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. p. 3-34.
- [19] Reyes, 2007 las asociaciones biológicas en el suelo: La micorriza arbuscular.

- [20] Rivera E. Ramón, Fernández M. Félix. Et al, 2003. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible.
- [21] Rodríguez M. María, González ch. María, Ferrera C. Ronald. Manual de agromicrobiología.1993. Editorial trillas. México. Df.
- [22] Sánchez, I. 2009. Análisis de la estructura y diversidad de las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a plantas de especial interés ecológicos en ambientes mediterráneos. Granada.
- [23] Sánchez, P.A., Salinas, J.G. 1999. Low input technology for managing Oxisols and Ultisols in tropical America. *Advances in Agronomy*.34:279.
- [24] Sempere, F. Santamarina, p. Abril 2001. La aplicación de las micorrizas. Revista "agrícola vergel" n° 232 de abril 2001. Pág 198-201.
- [25] Torres C. (2002) Biblioteca del Campo, Manual Agropecuario; "Tecnologías Orgánicas de la Granja Integral Autosuficiente" Edit limerin1.993.
- [26] Schenck, N. C., Perez, Y. 1990. Manual for identification of MVA mycorrhizal fungi. 3<sup>rd</sup> Edition. Florida: Sinergistic publication.
- [27] Sieverding, E. 1984. Curso Nacional sobre Micorrizas; Aspectos básicos de la investigación en micorrizas vesículo arbusculares. Universidad Nacional de Palmira.
- [28] Smith, S. E. & D. J. Read. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, San Diego, London, New York, Boston, Sydney, Tokio, Toronto.
- [29] Varma RV. 1996. Interaction of VA-mycorrhizal fungi with rhizosphere and rhizoplane mycoflora of forest tree species in arid and semi-arid regions. Pp. 222-231. In: Mohan V, Neelam-Verma; N Verma, KSS Nair y J.K. Sharma (Eds). Impact of diseases and insect pests in tropical forests. Proceedings of the IUFRO Symposium, Peechi, India, 23-26 November 1993. 1996.
- [30] Varela, L. González, M. 2007. Taxonomía de hongos formadores de micorriza arbuscular. Instituto de Recursos naturales, Colegio de posgraduados en Ciencias agrícolas. Montecillo, México. 153p.
- [31] Villegas Ríos, M; Cifuentes J. 2004. Las micorrizas en la evolución de las plantas. Ciencias, enero-marzo, numero 073. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México pp.30-36, en <http://redalyc.uaemex.mx>
- [32] Willey Joanne, 2009. Microbiología. McGraw Hill Interamericana. Madrid-España