

**EVALUACION DE GENOTIPOS DE SOYA (Glycine max (L.) Merr.)
Y CEPAS DE Bradyrhizobium japonicum POR EFICIENCIA
EN NODULACION Y FIJACION DE NITROGENO**

P O R

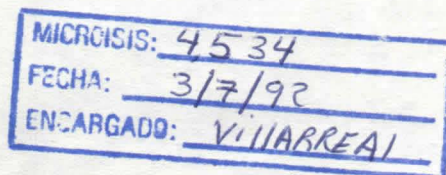
Esteban Santiago Becerra Mejia

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PREVIO A LA

OBTENCION DEL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO



ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA

Abril, 1992

EVALUACION DE GENOTIPOS DE SOYA (*Glycine max* (L.) Merr.) Y
CEPAS DE *Bradyrhizobium japonicum* POR EFICIENCIA EN
NODULACION Y FIJACION DE NITROGENO

Por

Esteban Santiago Becerra Mejía

El autor concede a la Escuela Agrícola Panamericana
permiso para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para los usos que considere necesarios.
Para otras personas y otros fines, se reservan
los derechos de autor.



Esteban Santiago Becerra Mejía

Abril - 1992

BIBLIOTECA WILSON POPENOE
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 03
TEGUIGALPA HONDURAS

DEDICATORIA

La culminación de esta etapa en mi vida solo ha sido posible gracias al esfuerzo, sacrificio y abnegación de mis padres, a quienes dedico este trabajo.

A mi madre, Mariana E. Mejía de Becerra

A mi padre, Héctor O. Becerra Obando

A mis hermanos: Dorys, Héctor Vinicio, Xavier y Diego

AGRADECIMIENTO

Agradezco con mucho afecto a las siguientes personas que de una u otra forma han contribuido en mi formación y elaboración de este proyecto; por tanto mi reconocimiento:

A Margarita Colindres por su amor, apoyo, cariño y comprensión en todo momento.

A mis asesores, Dr. S. E. Viteri, Dr. J. C. Rosas e Ing. O. E. Cosenza, por su tiempo, orientación, y ayuda en la elaboración de este trabajo.

A la Familia Colindres Gallo por haberme brindado su hogar.

De manera muy especial y encarecida al Dr. G. Pilz por su confianza, amistad y ayuda incondicional en todo momento. Sin su apoyo nada hubiera sido posible.

A mi amigo Fabio Gallo agradezco su sincera amistad.

A Ken Wiegand, mas que mi tío es mi amigo y buen consejero.

Al Dr. J. J. Alán, por su amistad, enseñanzas, ayuda preocupación, y valiosos consejos. Le agradezco en nombre de todos quienes encontramos en él, un segundo Papá.

Al Dr. A. Moreno por brindarme la oportunidad de presentar este trabajo en la XXVIII Reunión Anual del PCCMCA, realizada en Managua, Nicaragua, Marzo, 1992. A su familia por su amabilidad y cordialidad.

A mi compañero David Rodríguez por su compañerismo, amistad y ayuda durante éste período.

Al Dr. Corral por su colaboración y disposición a ofrecer siempre sus conocimientos.

A Pablo y los trabajadores que me ayudaron con la parte de trabajo físico.

A la Escuela Agrícola Panamericana por ofrecerme esta oportunidad.

A Diego Vizacino, Reynieri Vargas, mis compañeros de "La Quince" y todas aquellas personas que me han ayudado en la elaboración de este proyecto.

INDICE

	PAG.
Título.....	i
Derechos de autor.....	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Indice	v
Indice de cuadros	vii
Indice de figuras.....	viii
Indice de anexos.....	ix
Indice de abreviaturas.....	x
Compendio.....	xi
I. INTRODUCCION.....	1
A. OBJETIVOS.....	4
1. General.....	4
2. Específicos.....	5
I. REVISION DE LITERATURA.....	6
A. Generalidades del cultivo	
1. Origen.....	6
2. Taxonomía.....	6
B. Importancia económica.....	8
C. Factores ambientales que afectan el cultivo	
1. Agua	11
2. Luz.....	12
3. Temperaturas.....	12
4. Suelo y pH.....	13
D. Nutrición mineral	
1. Nitrógeno.....	15
2. Fósforo y Potasio.....	16
3. Micronutrientes.....	17
E. Fijación de nitrógeno	
1. Descripción del <i>B. japonicum</i>	18
2. Proceso de nodulación	21
3. Selección y evaluación de cepas.....	23
4. Variación genética de cepas y genotipos.	27
5. Mecanismo de la hidrogenasa.....	29
6. Potencial de fijación de nitrógeno.....	30
F. Factores físicos que afectan a la población de bacterias.....	34
III. MATERIALES Y METODOS.....	35
A. Experimento 1 (Ensayo de invernadero).....	36
1. Esterilización de potes y arena.....	36
2. Desinfección de semilla.....	36

3. Pregerminación.....	37
4. Inóculo.....	37
5. Preparación del inóculo.....	37
6. Llenado de potes y siembra.....	39
7. Inoculación.....	39
8. Riego.....	40
9. Diseño experimental.....	41
B. Experimento 2 (Ensayo de campo).....	42
1. Selección del terreno y condiciones climáticas.....	42
2. Cepas.....	43
3. Genotipos.....	43
4. Establecimiento del experimento	
a. Preparación del terreno.....	45
b. Fertilización y Siembra.....	45
c. Inoculación.....	46
d. Control de malezas.....	47
e. Control fitosanitario.....	47
5. Diseño experimental.....	50
a. Determinaciones.....	49
b. Análisis estadístico.....	50
C. Experimento 3 (Ensayo de campo).....	54
1. Selección del terreno y condiciones climáticas.....	51
2. Cepas.....	52
3. Genotipos.....	52
4. Manejo del experimento.....	53
a. Preparación del terreno.....	53
b. Fertilización, siembra.....	54
c. Inoculación.....	54
d. Control de malezas.....	55
e. Control fitosanitario.....	55
5. Diseño experimental.....	56
a. Determinaciones.....	57
b. Análisis estadístico	58
IV. RESULTADOS y DISCUSION.....	59
A. Experimento 1.....	59
B. Experimento 2.....	63
C. Experimento 3.....	73
VI. CONCLUSIONES.....	83
VII. RECOMENDACIONES.....	84
VIII. LITERATURA CITADA.....	86
Datos Biográficos del Autor.....	105
Aprobación.....	106

INDICE DE CUADROS

	PAG.
CUADRO 1 Descripción de las etapas vegetativas de la soya	9
CUADRO 2 Descripción de las etapas reproductivas de la soya.....	9
CUADRO 3 Algunas características de las cepas utilizadas como inóculo en este estudio. El Zamorano, Honduras, 1990.....	38
CUADRO 4 Resultado del análisis de una muestra de suelo del área de "Zorrales", Experimento 2. El Zamorano, Honduras, 1990...	44
CUADRO 5 Resultado del análisis de una muestra de suelo del área de "Zorrales". Experimento 2. El Zamorano, Honduras 1991.....	53
CUADRO 6 Resultados del ANDEVA para las variables determinadas en el ensayo de invernadero. El Zamorano, Honduras, 1990.....	60
CUADRO 7 Evaluación de cuatro cepas de <i>B. japonicum</i> en simbiosis con la variedad Siatsa 194 en invernadero. El Zamorano, Honduras, 1990.	60
CUADRO 8 Resultados del ANDEVA para las variables determinadas bajo condiciones de campo. El Zamorano, Honduras, 1990.....	64
CUADRO 9 Evaluación de la interacción simbiótica de cuatro cepas de <i>B. japonicum</i> con nueve genotipos de soya, bajo condiciones de campo, El Zamorano, Honduras, 1990.....	65
CUADRO 10 Resultados del ANDEVA para las variables determinadas bajo condiciones de campo. El Zamorano, Honduras, 1991.....	75
CUADRO 11 Evaluación de dos cepas de <i>B. japonicum</i> en simbiosis con cinco genotipos de soya. El Zamorano, Honduras, 1991.....	76
CUADRO 12 Resultados del análisis de covarianza para la variable rendimiento por planta. El Zamorano, Honduras, 1991.....	78

INDICE DE FIGURAS

	PAG.
FIGURA 1 Respuesta de la variedad Siatsa 194 a la inoculación con diferentes cepas de <i>B. japonicum</i> , bajo condiciones de invernadero. El Zamorano, Honduras, 1990.....	61
FIGURA 2 Nodulación de cinco genotipos inoculados individualmente con cuatro cepas de <i>B. japonicum</i> . El Zamorano, Honduras, 1990.....	66
FIGURA 3 Rendimiento de los genotipos bajo los efectos de la inoculación y la aplicación de N.	69
FIGURA 4 Resultado de la diferencia entre cepas sobre el contenido de nitrógeno en la parte aérea (CNPA %) de los genotipos. El Zamorano, Honduras, 1990.....	71
FIGURA 5 Efecto de la inoculación y aplicación de nitrógeno sobre el contenido de nitrógeno en la parte aérea (CNPA %) en los genotipos. El Zamorano, Honduras, 1990.....	72
FIGURA 6 Efecto de las cepas y la aplicación de N sobre el rendimiento de cinco genotipos de soya.....	78
FIGURA 7 Rendimiento de los genotipos bajo el efecto de la inoculación y la aplicación de N. (Barras con distinta letra difieren significativamente).....	79
FIGURA 8 Ejemplos de la producción de materia seca por los genotipos bajo los efectos de la inoculación y la aplicación de N.....	81

INDICE DE ANEXOS

	PAG.
ANEXO 1 Composición de aminoácidos de aceite y productos de soya comunmente usados en alimentación animal (%).....	93
ANEXO 2 Composición mineral promedio de productos de soya usados comunmente en alimentación animal.	93
ANEXO 3 Composición promedio de productos de soya comunmente usados en alimentación animal.....	94
ANEXO 4 Composición química de la solución nutritiva utilizada en este ensayo.....	95
ANEXO 5 Condiciones climáticas registradas durante el período de julio a noviembre de 1990.....	96
ANEXO 6 Cálculos de fertilización.....	97
ANEXO 7 Distribución de los tratamientos en el área experimental. El Zamorano, Honduras, 1990.....	98
ANEXO 8 Condiciones climáticas registradas durante el período de julio a noviembre de 1991.....	99
ANEXO 9 Distribución de los tratamientos en el área experimental. El Zamorano, Honduras, 1991.....	100
ANEXO 10 Datos de campo, Experimento 2. El Zamorano, 1991.....	101

LISTA DE ABREVIATURAS

Ve,1,..n Etapas vegetativas de la soya (Cuadro 1)
R1,2,..8 Etapas reproductivas de la soya (Cuadro 2)

Determinaciones

NN Numero de nódulos

PSN Peso seco de nódulos

PNE Porcentaje de nódulos efectivos

CNPA Contenido de nitrógeno en la parte aerea

RMP Rendimiento por planta

PCS Peso de cien semillas

COMPENDIO

Tres experimentos fueron conducidos en El Zamorano, Honduras, para determinar si existen interacciones simbióticas entre genotipos de soya y cepas de *B. japonicum* favorables para las condiciones de Honduras. En el primer experimento plantas de la variedad 'Siatsa 194' inoculadas con las cepas USDA 110, USDA 138, USDA 136_b, y EAP 1004, y crecidas con solución nutritiva libre de N en potes en el invernadero, fueron evaluadas por número de nódulos (NN), porcentaje de nódulos efectivos (PNE) y peso seco nódulos (PSN) y parte aérea (PSPA), cinco semanas después de la siembra.

En el segundo experimento los genotipos TG81430D, Cristalina, IAC-8-15, Júpiter II, Siatsa 194, Tropical, Regional 4, G08321609 y Paranagoiana se inocularon con las mismas cepas utilizadas en el primer experimento y se evaluaron en el campo por NN, PNE, PSN, PSPA, rendimiento (RMP), peso de 100 semillas (PCS) y contenido de nitrógeno total (CNPA).

En el tercer experimento los genotipos TG81430D, Cristalina, Júpiter II, Siatsa 194, y Regional 4, se inocularon con las cepas USDA 110 y EAP 1004 y se evaluaron en el campo por NN, PNE, PSN, PSPA, RMP, PCS y CNPA.

Bajo condiciones de invernadero las cepas difirieron signi-

ficativamente por PSN y PSPA. La cepa EAP 1004 fue superior en cuanto a PSN y PSPA, la cepa USDA 110 fue similar a la EAP 1004 en PSPA.

Los resultados del segundo experimento indicaron que la interacción genotipo X cepa fue significativa para NN, PSN y PCS. Adicionalmente, se observaron diferencias entre genotipos en PNE, PSPA y RMP y entre cepas para RPM. Los rendimientos mas altos se obtuvieron con los genotipos TG81430D, Cristalina, Júpiter II. Las cepas USDA 110, USDA138 y EAP 1004 fueron las mejores en RPM y no difirieron del testigo +N (229 Kg N.ha⁻¹).

En el tercer experimento la interacción genotipo x cepa fue significativa únicamente para PSPA. Se observaron diferencias significativas entre cepas en cuanto a NN, PSN y RMP. Los genotipos diferieron en cuanto a RMP y PCS. El mayor rendimiento fue producido nuevamente por Cristalina, seguida de TG81430D y Júpiter II. La cepa USDA 110 fue la mejor en NN, PSN y RMP. En RMP, esta cepa no diferió significativamente del tratamiento con N. Adicionalmente la variedad Cristalina además fue la menos susceptible a enfermedades.

Se concluyó que entre las cepas evaluadas USDA 110 continúa siendo la mejor alternativa. Pese a la sequía durante el segundo experimento el comportamiento de los genotipos fue similar al observado anteriormente. Por tanto, entre el germoplasma evaluado se recomienda de a Cristalina en primer lugar, y TG81430D y Jupiter II en segundo, inoculados con la cepa USDA 110, preferiblemente. El uso de estos genotipos y

cepas con mayor afinidad simbiótica va a ayudar a que la producción de soya en Honduras sea mas rentable. Sin embargo, es necesario además considerar el resto de factores que influyen en el crecimiento y rendimiento de este cultivo.

I. INTRODUCCION

La soya es un cultivo de gran interés comercial a nivel mundial y particularmente en Honduras donde existe un déficit de este grano, el cual obliga al país a hacer importaciones por un valor que fluctúa entre 16 y 20 millones de dólares por año. Se estima que para suplir éste déficit se deben incorporar al área de producción entre 30 y 50 mil hectáreas; sin embargo, en 1990 se sembraron únicamente dos mil hectáreas y el plan para 1991 solo contempló cuatro mil. Esto indica que el gobierno de Honduras tendrá que seguir importando soya para satisfacer la demanda (Romero, 1990).

Variedades de soya con adaptación específica a las condiciones de Honduras han sido desarrolladas y promovidas últimamente por la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA) y la Secretaría de Recursos Naturales. Estas variedades han alcanzado rendimientos de hasta $2900 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ en las principales zonas de producción, las cuales incluyen los departamentos de Olancho, Choluteca, Comayagua y la Costa Norte. En estas zonas la rentabilidad de la soya ha alcanzado un nivel de hasta 58 por ciento.

Sin embargo, los rendimientos obtenidos en Honduras son todavía menores a los obtenidos en otros países, incluyendo los de las zonas templadas. Los factores que determinan este menor rendimiento son varios. Entre éstos, los mas limitantes son la poca disponibilidad de semilla de variedades que se

adapten bien a las zonas de producción bajo el sistema de agricultura mecanizada y la falta de maquinaria adecuada para la cosecha a nivel comercial. Entre otros problemas para la producción de soya en esta región se cuentan: 1) La ocurrencia de plagas y enfermedades ampliamente diseminadas, 2) pobre germinación de la semilla, 3) sensibilidad al fotoperíodo y 4) fallas en la nodulación debido especialmente a condiciones variables de suelo (Rosas y Young, 1991).

La importancia económica de este cultivo se basa en los siguientes aspectos: 1) Es una fuente primaria de aceite vegetal para consumo humano y de proteína para alimentación animal; 2) recientemente, en los países en vía de desarrollo representa una fuente de proteína para consumo humano a nivel del pequeño agricultor y 3) tiene buena capacidad para fijar el nitrógeno atmosférico, lo cual significa un ahorro de fertilizante para el productor, ya que mediante este proceso el cultivo puede autoabastecerse en gran parte sus requerimientos de nitrógeno. Teniendo en cuenta que los fertilizantes en Honduras son escasos y además su costo se incrementa constantemente con el tiempo, la fijación biológica de nitrógeno representa una alternativa de gran importancia económica para la producción de este grano.

Para mejorar el rendimiento por unidad de área y en consecuencia la rentabilidad de éste cultivo, es necesario tener un conocimiento claro de los factores que influyen en su desarrollo y rendimiento, sin olvidar el costo de los insumos

para el agricultor. Uno de estos factores, es la capacidad que tiene la soya para asociarse en forma simbiótica con bacterias del suelo conocidas con el nombre de *B. japonicum* y fijar el nitrógeno atmosférico en forma biológica. Si la simbiosis es efectiva, además de suministrar a la planta gran parte de sus requerimientos de nitrógeno podría contribuir al balance del nitrógeno del suelo y de ésta manera beneficiar al cultivo que le siga en rotación.

Con base en experiencias obtenidas en otros países, en Honduras se está recomendando la práctica de la inoculación de la soya. Hasta el momento los resultados han sido bastante halagadores y los productores han aceptado esta recomendación. Para el efecto, se están utilizando inoculantes que en su gran mayoría son importados por las empresas distribuidoras de insumos. Sin embargo, la falta de investigación sobre aspectos específicos de la fijación biológica de nitrógeno en soya, bajo las condiciones ambientales de Honduras, no ha permitido explorar la posibilidad de incrementar la producción de soya mediante la práctica de la inoculación con cepas de *B. japonicum* más efectivas en su habilidad para nodular la planta y fijar el nitrógeno atmosférico.

Este estudio reporta los resultados de tres ensayos, uno de invernadero y dos de campo, realizados en la Escuela Agrícola Panamericana. En el ensayo de invernadero se evaluó la efectividad de cuatro cepas de *B. japonicum* con la variedad de soya Siatsa 194. El primer ensayo de campo se realizó con

el fin de evaluar la compatibilidad simbiótica entre nueve genotipos de soya y cuatro cepas de *B. japonicum*. Con base en los resultados obtenidos en el primer ensayo de campo, se seleccionaron y probaron nuevamente cinco genotipos con las dos mejores cepas. La finalidad del segundo ensayo de campo fue verificar los resultados que se obtuvieron en el ensayo de campo anterior.

Esta información sobre aspectos específicos del microbio, la planta y la efectividad de su asociación es básica para determinar si existe la posibilidad de incrementar la producción de soya en Honduras mediante la práctica de la inoculación.

Los objetivos de esta investigación fueron:

1. General

Mejorar la producción y rentabilidad del cultivo de soya en Honduras mediante la inoculación de la soya con cepas de *B. japonicum* que sean eficientes en nodulación y efectivas en fijación de nitrógeno.

2. Específicos

- a. Evaluar cuatro cepas de *B. japonicum* por su habilidad para nodular y fijar nitrógeno con su hospedero específico.
- b. Evaluar nueve genotipos de soya por su compatibilidad simbiótica con las cuatro cepas de *B. japonicum*.
- c. Identificar las asociaciones genotipo x

Bradyrhizobium que demuestren la mejor afinidad simbiótica en lo relacionado con nodulación y fijación de nitrógeno.

- d. Investigar si existen otras cepas que podrían representar una mejor alternativa para la producción de inoculantes.

II. REVISION DE LITERATURA

A. Generalidades del cultivo

1. Origen

Lackey, 1981 (citado por Hymowitz y Singh, 1987) informa que el genero *Glycine* es de origen asiático y australiano. Se cree que la soya (*Glycine max* L. Merr.), tuvo su origen en el sureste asiático y fue domesticada al este de la China del Norte cerca del año 1100 A.C.

La soya se dispersó desde la China hacia Korea y Japón entre los años 200 A.C. y 200 D.C., luego a Europa en el siglo XVIII y en América del Norte se reportó su cultivo por primera vez en el siglo XIX (Burton, 1979).

2. Taxonomía

El género *Glycine* Willd. es un miembro de la familia Leguminosae, subfamilia Papilionoideae, y tribu Phaseoleae; esta es la tribu de Leguminosae de mayor importancia económica. Dentro de la tribu Phaseoleae, *Glycine* es un miembro de la sub-tribu Glycininae junto con *Eminia* Taub., *Pseudeminia* Verdc., *Pseudovigna* (Harms) Verdc., *Nogra* Merrill, *Sinodolichus* Verdc y *Pueraria* DC. *Glycine* es el único género de Phaseoleae en el cual las especies tienen 40 y 80 cromosomas diploides (Hymowitz y Singh, 1987).

Las especies *G. max* y *G. soja* pertenecen al subgénero

Soja. Este subgénero, aparte de dichas especies, contiene una forma semicultivada conocida como *G. gracilis* (Hymowitz y Singh, 1987).

La soya no se ha encontrado en su forma silvestre. La forma domesticada de la soya es extremadamente variable debido al desarrollo de razas en el este de Asia. En la actualidad, estas razas proveen la mayor fuente de diversidad genética.

Hymowitz y Singh (1987) describen la soya como planta anual, de 75 a 125 cm de altura, generalmente erecta y de hábito de crecimiento arbustivo con hojas pinadas trifoliadas. Las flores que generalmente son de color púrpura o blanco, nacen en racimos de las axilas de las hojas. Las vainas son erectas o ligeramente curvas y contienen de una a tres semillas. Las semillas son de forma ovoide o subesférica y el peso de cien semillas fluctúa entre 10 a 20 g.

El sistema radical es difuso, consiste de una raíz pivotante profunda y numerosas raíces secundarias. El período vegetativo de crecimiento depende del cultivar y las condiciones ambientales tales como sensibilidad al fotoperíodo y temperatura. A continuación de éste período, la planta entra en una etapa reproductiva, durante la cual los botones axilares se desarrollan para convertirse en grupos florales de 2 a 35 flores cada uno (Carlson y Lersten, 1987).

Existen dos tipos de hábito de crecimiento: el determinado y el indeterminado. En el primero, los botones terminales continúan una actividad vegetativa durante la mayor

parte del período de crecimiento y las inflorescencias son racimos axilares. En el segundo, la actividad vegetativa de los botones terminales cesa cuando se convierte en inflorescencia; éste tipo tiene racimos axilares y terminales (Carlson y Lersten, 1987). Las etapas vegetativa y reproductiva de la soya se describen en los Cuadros 1 y 2.

B. Importancia económica

La soya, desde tiempo atrás, ha sido altamente apreciada por su alta productividad, habilidad para crecer en diferentes climas y suelos y por su calidad como forraje. Freire (1976) opina que la producción de soya esta expandiéndose rápidamente a través del mundo como resultado de una alta demanda por el grano como fuente de aceite y proteínas. Según Parkman (1975), la soya puede producir rendimientos mas altos de proteína por unidad de área que cualquier otra fuente vegetal o animal.

La creciente demanda de alimentos está ligada a la expansión mundial de la población y a la necesidad de mejorar la calidad de la dieta, especialmente en los países en vía de desarrollo. Datos demográficos de 1975 indican que la tasa de incremento anual de la población mundial es de 70 millones, esto indica que la población mundial podría doblarse para el año 2000. Estas proyecciones se asocian directamente con el problema de la escasez mundial de alimentos (Bentley, 1975).

Cuadro 1. Descripción de las etapas vegetativas de la soya.

Etapa	Nombre	Descripción (duración)
Ve	Emergencia	Cotiledones aparecen sobre el suelo, (5-15 días).
Vc	Cotiledonar	Bordes de las hojas primarias dejan de tocarse, (3-10 días).
V1	Primer nudo	Hojas primarias desarrolladas. Bordes del primer trifolio dejan de tocarse, (3-10 días).
V2	Segundo nudo	Primera hoja trifoliada desarrollada. Bordes del segundo trifolio dejan de tocarse, (3-8 días).
Vn	Enésimo nudo	La enésima hoja trifoliada completamente desarrollada, (2-5 días).

Cuadro 2. Descripción de las etapas reproductivas de la soya.

Etapa	Nombre	Descripción (duración)
R1	Inicio de floración	Una flor en cualquier nudo, (1-7 días).
R2	Floración completa	Una flor en uno de los dos últimos nudos del tallo principal, (5-15 días).
R3	Inicio form. de vainas	Vaina de 5 mm en uno de los nudos superiores, (4-26 días).
R4	Vaina formada	Vaina de 2 cm en uno de los nudos superiores, (4-26 días).
R5	Llenado de vainas	Semilla 3 mm en uno de los nudos superiores, (11-20 días).
R6	Semilla formada	Semillas llenan la cavidad de la vaina en uno de los 4 nudos superiores, (3-9 días).
R7	Madurez fisiológica	Una vaina en el tallo principal alcanza color de vaina madura, 50% hojas amarillas, (7-18 días).
R8	Madurez completa	95% de vainas con color típico de madurez

Fuente: MONTERO, R.A.; MATA, E.J. 1988. La soya: Guía para su cultivo y consumo en Costa Rica. Edit. Univ. C.R., San José, Costa Rica.

La producción de soya ocupa un 10% del área mundial de leguminosas alimenticias (Litzenberger, 1976), esto significa que ha dominado el mercado para la producción mundial de aceite de semilla. Desde 1970, la producción de soya ha doblado la de cualquier otra oleaginosa. Relativamente pocos países producen soya, esto se debe al poderío económico en el comercio mundial de oleaginosas de los principales productores EE.UU., Brasil, China y Argentina. Juntos abarcan el 90 a 95% de la producción mundial.

Se estima que para el año 2000 la demanda de soya será de 190.5 ton. Esta demanda se deriva principalmente de la necesidad de materia prima para la elaboración de productos derivados de aceite y harina.

La harina de soya es un componente principal de proteína en la alimentación de ganado. El contenido de proteína en la soya es generalmente de 40% (Fehr, 1987). El contenido de aceite es de aproximadamente 20% y representa 20 a 25% del total mundial de grasas y aceites y 30 a 35% del total de la producción de aceite vegetal (Smith y Huyser, 1987). La composición química y mineral de algunos productos derivados de la soya usados en alimentación animal se muestran en los Anexos 1, 2 y 3.

Según Litzenberger (1976), entre los cultivos productores de proteína, los cereales y la soya son los de menor costo. La soya, también es uno de los cultivos mas eficientes en producción de grano entre todos los cultivos de leguminosas de

la zona templada.

C. Factores ambientales que afectan el cultivo

El desarrollo y crecimiento de la soya es influenciado por una serie de factores que pueden acelerar o retardar su crecimiento y productividad. Algunos de estos factores son viento, lluvia, heladas y sequía, entre otros. La respuesta al factor que condiciona su crecimiento depende de la etapa de desarrollo en que se encuentre (Rosas y Young, 1991). Según Carlson y Lersten (1987), la duración del período vegetativo de crecimiento puede variar dependiendo del cultivar y factores ambientales, principalmente fotoperíodo corto y temperatura. Rosas y Young (1991) sugieren que los programas de mejoramiento de soya en los trópicos deben orientarse al desarrollo de variedades de alto rendimiento, resistencia a enfermedades, buena germinación y amplia adaptación bajo estas condiciones.

1. Agua

Entre los factores ambientales que afectan el cultivo de la soya el agua es frecuentemente el factor limitante primario. La cantidad de lluvia requerida por el cultivo puede oscilar entre 330 a 766 mm de agua (Rosas y Young, 1991).

El uso de agua no es uniforme durante el período de

crecimiento (Van Doren y Reicosky, 1987). La distribución adecuada de lluvias es esencial para la producción de soya. El primer período crítico de humedad para la soya es el de emergencia, el cual determina la uniformidad en la densidad poblacional del cultivo. El segundo período crítico es durante la formación de vainas y el llenado de grano (Rosas y Young, 1991).

2. Luz

Otro factor importante a considerar es el fotoperíodo. La soya es una planta sensible al fotoperíodo. El fotoperíodo se ha considerado como el principal factor en la determinación del área de adaptación y el tiempo de maduración de las variedades. La soya aunque es una planta de días cortos, presenta una considerable variación genética en cuanto a sensibilidad al fotoperíodo. En Estados Unidos y Canadá se han establecido grupos de maduración, según las regiones de adaptación. Las variedades de los grupos VIII, IX y X son las que tienen mayor posibilidad de desarrollarse bajo condiciones tropicales ya que son las que floréan mas tarde y por lo tanto se adaptan mejor hacia el sur de los EE.UU. (Rosas y Young, 1991).

3. Temperaturas

Temperaturas promedias entre 22 a 30 °C durante el período vegetativo son adecuadas para la soya (Rosas y Young,

1991).

El crecimiento de la soya envuelve numerosos procesos con diferentes temperaturas óptimas. Por ejemplo, la fotosíntesis se incrementa a temperaturas entre 35 a 40 °C y luego declina. Por otro lado la respiración sigue incrementándose por debajo de los requerimientos óptimos para la fotosíntesis. La acumulación de materia seca declina cuando la temperatura ambiental sube por encima de los 28 a 30 °C (Raper y Kramer, 1987) y cuando la temperatura es superior a los 38 °C hay un aumento en aborto y caída de flores. Temperaturas menores a 18 °C no permiten la formación de vainas. Para la maduración de las semillas las temperaturas deben oscilar alrededor de 25 °C durante el día y 15 °C durante la noche (Rosas y Young, 1991).

4. Suelo

La soya se adapta a casi todos los tipos de suelo; sin embargo, las condiciones mas propicias de crecimiento se consiguen en suelos con buena capacidad de retención de agua y nutrimentos, aireación satisfactoria y baja erosión (Rosas y Young, 1991).

Munns y Franco (1982) hacen una estimación de las proporciones de la producción de leguminosas que pueden ser afectadas por los factores del suelo. Según dicha estimación 75% de la producción es afectada por la erosión en tierras tropicales, 45% por sequía especialmente en suelos arenosos y tropicales, 25-30% por mala estructura del suelo, 7% por

salinidad y alcalinidad, 35% por acidez o deficiencia de Mo, 80% por deficiencia de fosfato y 5-10% por otras deficiencias, principalmente S, K y Zn.

Según Rosas y Young (1991), se han observado fallas en la nodulación de soya cuando los suelos son muy bajos en materia orgánica y donde la acidez o alcalinidad son altas.

El encalamiento para controlar la acidez del suelo tiene además beneficios adicionales tales como reducción en la concentración de elementos tóxicos como Al y Mn, incremento en la disponibilidad de Ca, Mg y Mo y mejoramiento de la nodulación y fijación de N₂ (Mengel et al., 1987). El encalamiento depende del pH inicial; propiedades del suelo tales como calidad y tipo de arcilla, contenido de materia orgánica y la tolerancia a este factor de genotipos de soya y cepas de *B. japonicum*. Johnson (1987) considera que un pH entre 6.0 y 6.5 es un requisito importante para obtener una producción de soya rentable.

D. Nutrición mineral

Investigaciones en muchas áreas muestran que la soya crece bien en suelos fértiles y responde a la fertilización. Sin embargo, en las principales áreas de producción de América del Norte no se fertiliza la soya ya que se siembra después del maíz el cual es muy bien fertilizado y además es capaz de

autoabastecerse en gran parte sus requerimientos de nitrógeno. La respuesta de la soya a la aplicación de fertilizantes es influenciada por varios factores, entre ellos suelo y clima (Mengel et al., 1987).

1. Nitrógeno

La soya, cuando está bien nodulada, es capaz de abastecer gran parte de sus requerimientos de nitrógeno (Johnson, 1987). Harper (1974) encontró que la fijación simbiótica de N_2 y la utilización de N mineral son esenciales para obtener una máxima productividad; sin embargo, encontró que niveles excesivos de N en el suelo, especialmente nitratos, inhiben completamente la fijación simbiótica de nitrógeno. Según Keyser y Weber (1982), bajo condiciones óptimas, la soya en simbiosis con *B. japonicum* tiene el potencial de fijar todo o la mayoría de sus requerimientos de nitrógeno; sin embargo, en el campo este potencial es seriamente reducido por la especificidad de la interacción hospedero - *Bradyrhizobium*, presencia de *Bradyrhizobium* nativo en el suelo y la influencia de los factores del suelo y del ambiente.

Se ha intentado usar fertilizantes nitrogenados en asociación con inoculación; Hamdi y Alaa (1982) reportan sobre un proyecto realizado en dos localidades en Egipto en el que el rendimiento obtenido aun con $100 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ fue menor al tratamiento inoculado sin nitrógeno. La inoculación mas $37 \text{ Kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ fue mejor que el tratamiento solo inoculado. Tasas mas

altas de fertilización nitrogenada generalmente inhibieron la nodulación y fijación de N_2 .

Brevedan *et al.*, (1978) demostraron que durante la floración fueron necesarios altos niveles de N. La tasa mas alta de fijación de nitrógeno fue observada durante el final de floración y durante el llenado de vainas (Imsande, 1988; citado por Burias y Planchon, 1990).

Según Hardarson y Zapata (1984), la aplicación de una pequeña dosis de N de "arranque" es estimulante no solo para el crecimiento de la leguminosa, sino también para la fijación de nitrógeno. Indican también que existe gran variabilidad entre el germoplasma con respecto a su habilidad para fijar nitrógeno a diferentes niveles de nitrógeno inorgánico.

2. Fósforo y Potasio

Cultivares altamente productivos de soya requieren adecuados niveles de P y K. Los niveles de aplicación de estos elementos se deben basar en análisis de suelo y recomendaciones locales (Johnson, 1987).

La fertilización fosfatada mejora la nodulación y fijación de N_2 en leguminosas. En suelos tropicales el fosfato disponible es un factor muy limitante para el crecimiento y la nodulación (Gibson *et al.*, 1982). De Mooy y Pesek (1966) al observar máxima nodulación en potes usando 400 a 500 $mg.kg^{-1}$, reportaron que el P juega un papel primordial en el desarrollo de nódulos. Por otro lado, Rosas y Young (1991) indican que el

exceso de P es perjudicial e induce deficiencias de Zn. Una producción de 2000 kg.ha⁻¹ de grano puede requerir entre 30 a 50 kg P.ha⁻¹. En cuanto al K la soya utiliza grandes cantidades de este elemento. La tasa de absorción de K aumenta durante el período de crecimiento vegetativo y remueve gran cantidad de K del suelo al momento de la cosecha, por esta razón se espera que el cultivo responda a la aplicación de este elemento. De Mooy y Pesek (1966) reportaron máxima nodulación en potes con aplicaciones de 600 a 800 mg.kg⁻¹.

3. Micronutrientes

Entre los micronutrientes que requiere la soya para un buen crecimiento y desarrollo se menciona al Mo como un elemento esencial en el metabolismo de N₂. La semilla tratada con Mo ha respondido usando niveles tan bajos como 17 g.ha⁻¹. La aplicación en el suelo puede ser mayor de 800 g.ha⁻¹. El encalamiento del suelo para mantener el pH superior a 6.2 puede ser adecuado para corregir o prevenir deficiencias de Mo (Johnson, 1987).

En cuanto a otros nutrimentos, se ha encontrado deficiencias de Mn comúnmente en suelos arenosos alcalinos. En suelos calcáreos la clorosis por Fe es un problema común; Johnson (1987) recomienda la aspersion de quelatos de Fe o el uso de cultivares resistentes para prevenir la clorosis.

Touhton y Bosell (1975) reportaron incrementos en rendimiento con aplicaciones de 0.28 a 1.2 kg.ha⁻¹ de B. Sin

embargo observaron reducciones en el rendimiento al aplicar 2.24 kg.ha⁻¹.

E. Fijación de nitrógeno

1. Descripción del *B. japonicum*

En las raíces de la soya se encuentran los nódulos, estos son estructuras esferoidales donde se alberga un tipo de bacteria del suelo gram negativa, el cual es específico para cada hospedero. Esta bacteria es capaz de penetrar las raíces y establecer una relación simbiótica con la planta (Lersten y Carlson, 1987).

La fijación de N₂ es un proceso de reducción de N₂ a NH₃. Esta es una propiedad que poseen solamente unos pocos géneros de organismos procarióticos que contienen la información genética para sintetizar la enzima nitrogenasa (Havelka et al., 1982). Gracias a esta enzima la bacteria *B. japonicum* puede catalizar la conversión de N₂ a NH₃ utilizando para esto energía generada por la planta, mediante la fotosíntesis (Drevon, 1983).

Pueden haber cientos de nódulos en una planta madura, distribuidos hasta casi un metro por debajo de la superficie (Grubinger et al., 1982).

El origen de la bacteria *B. japonicum* es aún mas desconocido que el del hospedero; sin embargo, se puede

concluir que esta bacteria fue dispersada al mismo tiempo con la semilla o planta, ya que sin la bacteria este cultivo nunca hubiera podido llegar a ser mundialmente tan importante. Hellriegel y Wilfarth (1888) (citados por Burton, 1979) explicaron por primera vez el papel que juega la bacteria en el proceso de fijación biológica de nitrógeno en las leguminosas.

Las bacterias que forman los nódulos en las raíces de soya estaban clasificadas dentro del género *Rhizobium* y se conocían con el nombre de *Rhizobium japonicum*. Recientemente, teniendo en cuenta que entre los miembros del género *Rhizobium* unos eran de crecimiento rápido y otros de crecimiento lento, se decidió ubicar a éstos últimos dentro del nuevo género *Bradyrhizobium*, así que actualmente su nombre científico correcto es *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982). Sadowsky (1983) informa que *Rhizobium*, de crecimiento rápido, tiene un promedio de generación de 2 a 4 h y bajo condiciones normales de laboratorio produce un descenso del pH del medio de cultivo. En cambio *Bradyrhizobium* tiene una generación promedio de más de 6 h y no acidifica el medio. A diferencia del género *Rhizobium* los miembros del género *Bradyrhizobium* no han mostrado tener plásmidos simbióticos; por lo tanto, Hennecke et al., (1985) concluyen que los genes *fix*, *nif*, y *nod* se encuentran localizados en el cromosoma principal.

Amarger y Lagacherie (1983) indican que las bacterias noduladoras de leguminosas son aeróbicas, utilizan diferentes

tipos de azúcar como fuente de carbono y nitratos o amonio como fuente de nitrógeno. En estado de vida libre estas bacterias tienen forma de bastones, su longitud aproximada es de 2 μm y 0,5 a 1 μm de ancho y además son móviles y gram negativos.

El potencial en fijación de nitrógeno de una leguminosa se define como la máxima actividad de dicha leguminosa cuando ha sido nodulada por una cepa de *Rhizobium* / *Bradyrhizobium* efectiva y cultivado bajo las condiciones ambientales mas favorables (Gibson et al., 1982).

La simbiosis entre leguminosa y la bacteria muestra diferentes grados de especificidad. Puede ser altamente específica, cuando las cepas de una especie determinada pueden formar asociación simbiótica únicamente con una especie de leguminosa; leguminosas tropicales como *Glycine max* son altamente específicas. En oposición a esto se encuentran las asociaciones promiscuas, en las cuales una diversidad de leguminosas pueden ser noduladas por una o mas especies de *Rhizobium* / *Bradyrhizobium*.

Según Devine (1984), leguminosas tales como soya, caupí [*Vigna unguiculata* (L.) Walp. subsp. *unguiculata*], y siratro [*Macroptilum atropurpureum* (DC.) Urb] forman simbiosis con los miembros del género *Bradyrhizobium*. En suelos tropicales la mayoría de variedades de soya necesitan ser inoculadas con cepas de *B. japonicum* efectivas.

Burton (1979) indica que el microsimbionte del caupí y

soya son similares en muchas formas. En algunos casos el caupí puede ser nodulado por *B. japonicum* y la soya por el *Bradyrhizobium* de caupí. Debido a que la bacteria para el caupí prevalece en muchos suelos de Asia y Africa se han dedicado esfuerzos a desarrollar germoplasma de soya que puede ser nodulada efectivamente por esta bacteria y así evitar la necesidad de inocular la semilla. Además, se ha reportado que el *Bradyrhizobium spp* es más eficiente en uso de energía debido a que el hidrógeno es reciclado por medio del mecanismo de la hidrogenasa. *Glycine ussuriensis* o *Glycine soja* es efectivamente nodulado por cepas de *B. japonicum* que sean efectivas con *Glycine max*.

2. Proceso de nodulación

Los pasos que ocurren para la formación de nódulos se resumen de la siguiente manera: Cuando en un suelo no existen bacterias nativas o específicas para una leguminosa es necesario introducir la bacteria específica. Esta operación se conoce con el nombre de "inoculación". El inoculante está constituido por un cultivo líquido de la bacteria y un soporte inerte, por lo general turba (Obaton, 1983). Después de la inoculación la bacteria se adhiere a las células epidermales en una zona angosta anular, entonces ocurre una reacción de reconocimiento en menos de un minuto (Lersten y Carlson, 1987). Vest et al., 1973 (citados por Freire, 1976) opinan que los exudados de las raíces del hospedero juegan un papel

importante en la estimulación de *B. japonicum*. Este estímulo es importante debido a que el número de nódulos está posiblemente relacionado a la densidad bacteriana alrededor de las raíces. Los sitios de penetración son usualmente las células epidermales inmaduras y pelos radicales en formación. Un nódulo usualmente se origina de una célula de una sola cepa de *B. japonicum*; sin embargo, se ha reportado que hasta dos o tres cepas pueden penetrar y contribuir a la formación de un mismo nódulo. La ocurrencia de la doble o triple infección depende de la densidad relativa de las poblaciones; con raras excepciones un nódulo contiene una sola cepa (Freire, 1976). La infección consiste en que las bacterias penetran a través de los pelos absorbentes, se localizan en las células corticales e inducen la formación de nódulos. Durante la infección, los pelos radicales se encorvan al final y luego se forma una depresión que se invagina profundamente formando un tubo llamado hilo de infección. En algunos casos los pelos radicales tienen un solo hilo de infección pero lo más común es que hayan dos, aunque pueden haber más de dos (Rao y Keister, 1978; citados por Lersten y Carlson, 1987).

Las células de la corteza adyacentes a los pelos radicales se tornan meristemáticas y el hilo de infección penetra una célula mediante una invaginación de la pared y membrana citoplasmática de la célula cortical. Una segunda fase de mitosis incrementa el número de células en la capa cortical exterior, la que se convierte en la principal área de

células infectadas. El área periférica no infectada se convierte en la corteza del nódulo (Lersten y Carlson, 1987).

Las bacterias dentro del nódulo sufren varias transformaciones. Por ejemplo, se vuelven mas grandes, pierden su forma inicial, y son capaces de sintetizar la enzima nitrogenasa para reducir el nitrógeno molecular. En este estado las bacterias toman el nombre de bacteroides (Amarger y Lagacherie, 1983).

Los bacteroides se dividen hasta llenar la célula hospedera (Lersten y Carlson, 1987). Las vesículas que contienen los bacteroides ocupa un 80% del volumen de la célula, el 20% restante corresponde al citoplasma, núcleos, amiloplastos y mitocondrias orientados alrededor de la periferia de la célula (Bergersen y Goodchild, 1973; citados por Harper, 1987).

3. Selección y evaluación de cepas

Abel (1964) probó 21 cepas puras de *B. japonicum* diferentes y reportó que las cepas mas efectivas casi doblaron la producción de semillas, mientras que el resto de cepas no superaron en producción al control no inoculado.

Según Halliday (1980), el objetivo de la selección de cepas es para asegurar que el inoculante para leguminosas, contenga una cepa o una mezcla de cepas capaces de formar nódulos efectivos y que estos fijen N_2 en la especie de leguminosa para la cual ha sido recomendada y bajo las

condiciones de clima y suelo en que esta sea cultivada.

Hanous (1980) informa que para que la fijación de N_2 en leguminosas sea eficiente se requiere de una efectiva simbiosis entre el cultivar hospedero y la cepa usada en el inoculante. Cuando el inoculante apropiado es aplicado a una leguminosa que es cultivada en suelos deficientes en nitrógeno y con baja población de *Rhizobium* nativo, se observa usualmente un incremento en productividad.

El criterio principal usado en la selección de cepas para inoculante de una leguminosa es la habilidad para formar simbiosis efectiva con dicho hospedero. El valor potencial de estas cepas se expresará plenamente solo cuando sean inoculadas en un suelo libre de *Rhizobium* (Amarger, 1981).

Brockwell et al. (1982) afirman que los microsimbiontes deben ser seleccionados por su habilidad para: 1) competir con cepas naturalizadas por los sitios de infección en las raíces de la leguminosa hospedera, 2) nodular temprano el hospedero y a un nivel alto de efectividad bajo un rango de medios y 3) persistir en el suelo por lo menos algunos años después de su introducción.

Halliday (1980) clasifica las características esenciales y deseables que deberían tener dichas bacterias. Entre las características esenciales figuran: 1) La habilidad para nodular una leguminosa de interés bajo condiciones de campo, 2) la capacidad de la cepa para fijar suficiente N_2 y para alcanzar una producción como la que se obtendría si se usaran

fertilizantes nitrogenados, 3) la capacidad de establecerse satisfactoriamente cuando es sometida a procesos de producción de inoculante en escala comercial y 4) la supervivencia durante la distribución y uso por el agricultor. Entre las características deseables se encuentran la persistencia a largo plazo y tolerancia a insecticidas y fungicidas.

Freire (1976) indica que las características deseables para la selección de cepas, bajo condiciones de invernadero son: 1) precocidad y posición de los nódulos a temperaturas altas y normales, 2) cepas tempranas o tardías en fijar nitrógeno y 3) tolerancia a pH y a toxicidad de Al y Mn sobre todo para áreas con agricultura de subsistencia.

Somasegaran y Hoben (1985) recomiendan que una vez que las cepas han sido aisladas de los nódulos, estas deberán ser evaluadas preliminarmente en invernadero y de ellas, las que produzcan hojas verdes en un medio libre de nitrógeno, podrán luego ser evaluadas en el campo. Freire (1976) opina que estas evaluaciones de campo son usualmente costosas y difíciles de conducir debido a contaminación entre parcelas y también debido a la dificultad de encontrar áreas libres del microsimbionte. Según este mismo autor, es aconsejable comparar cultivos de bacteria importados con aislamientos de regiones donde la bacteria es nativa o ha sido naturalizada por un largo período de tiempo.

La mayoría de poblaciones nativas son inefectivas, pero entre éstas algunos aislamientos adaptados a las condiciones

ambientales locales, han mostrado buena eficiencia en fijación de N_2 , mayor habilidad competitiva, y mayor tolerancia a condiciones críticas de suelo. Debido a estas propiedades estas cepas podrían representar una alternativa a la práctica de la inoculación. Además opina que la evaluación preliminar de cepas se basa en la determinación de materia seca y el peso seco de nódulos. Ensayos posteriores podrían usar nitrógeno total en el tejido o reducción de acetileno. Por otro lado Vest *et al.* (1973) (citados por Freire, 1976) opinan que para evaluar interacciones específicas por medio de una correlación entre características de nodulación y fijación con propiedades de plantas se deben incluir determinaciones sobre número, tamaño, peso y color de nódulos y contenido de nitrógeno de partes de las plantas.

Los términos efectiva e inefectiva son inadecuados para describir las respuestas fenotípicas de nodulación. Vest *et al.*, (1973) (citados por Freire, 1976) han propuesto una clasificación mas precisa basada en una distinción entre los términos efectivo y eficiente. Las cepas de *B. japonicum* difieren en su efectividad o habilidad para producir nódulos y en eficiencia o en la habilidad para fijar N_2 atmosférico. Otra clasificación para determinar adecuada nodulación es la que divide el patrón de nodulación en dos categorías: a) aquellos que producen grupo de nódulos en las raíces primarias; b) aquellos que producen nódulos dispersos en las raíces laterales. Se ha reportado que el tipo (a) fija

significativamente mas N_2 que el tipo (b). También se ha reportado que la nodulación en la raíz principal es una característica cualitativa de valor para determinar adecuada nodulación, población de *Rhizobium* y suficiencia en nodulación (Freire, 1976).

4. Variación genética de cepas y genotipos

El mejoramiento de leguminosas a través de selección y cruzamiento se ha enfocado hacia el incremento de la fijación de N_2 con el fin de minimizar el uso de fertilizantes nitrogenados. Existe una considerable variación genética en la habilidad para formar nódulos bajo diferentes condiciones de suelo, tanto en variedades de soya como en cepas de *B. japonicum*, esto sugiere que se podría identificar líneas con nodulación deseable en suelos con problemas de respuesta a la inoculación. Wynne et al. (1982) indican que la variación en nodulación y fijación de N_2 es suficiente en la mayoría de leguminosas que justifica intentar incrementar fijación de N_2 a través de cruzamiento y selección; sin embargo, para lograr este fin es necesario no restringirse únicamente a la selección de factores genéticos que afectan la nodulación o a incrementar la actividad de la nitrogenasa o generar grandes cantidades de nitrógeno acumulado. Estudios mas recientes sugieren que el suplemento de carbohidratos a los nódulos, puede ser otro factor importante que limita la fijación de N_2 y por lo tanto puede tenerse en cuenta en el proceso de

selección.

Burton (1979) indica que los rhizobiólogos deben enfocar la búsqueda de nuevas cepas eficientes de *B. japonicum* tanto para variedades comerciales como para nuevos genotipos de soya. Esto se puede lograr por el aislamiento y evaluación de cepas nativas o por manipulación genética. En los experimentos realizados por Maier y Brill (1978), se trató la cepa 61A76 con un mutagénico químico derivándose las cepas SM31 y SM35, bajo condiciones de campo estos mutantes han producido incremento en producción tanto en Nigeria como en Israel.

Devine (1984) reporta que el cultivar de soya Peking nodula y fija nitrógeno con algunos nuevos aislamientos de cepas de *Rhizobium* de rápido crecimiento; por lo que un locus genético fue caracterizado por segregación mendeliana con un principal efecto fenotípico en nodulación de las variedades Kent y Peking. De éstas, Peking posee el alelo recesivo condicionando la capacidad de nodulación en cambio Kent posee el alelo dominante resultando nodulación inefectiva .

Williams y Phillips (1983) estudiaron un mutante de la cepa USDA 110 con aproximadamente 100% mayor capacidad de reducción de C_2H_2 que el tipo nativo en el cultivar Clark bajo condiciones controladas y de campo. La cepa mutante C33 incrementó la media de la producción de grano.

5. Mecanismo de la hidrogenasa

Drevon (1983) piensa que "la eficiencia de un sistema

biológico en un proceso determinado se mide por la eficiencia con que este utiliza la energía necesaria para llevar a cabo el proceso". Informa además que los nódulos de muchas leguminosas liberan H_2 al mismo tiempo que fijan N_2 , este proceso constituye una pérdida de energía. Esta liberación de H_2 representa un factor limitante para la eficiencia en la fijación de N_2 . Ciertas asociaciones simbióticas no liberan mucho H_2 debido a la actividad de la hidrogenasa localizada en la membrana del bacteroide, la cual recicla parte del H_2 liberado por la nitrogenasa. Las cepas que poseen un sistema de hidrogenasa se denominan Hup⁺ (Hanous et al., 1980). En experimentos conducidos para comparar el rendimiento y el contenido de N de la soya inoculada con cepas Hup⁺ USDA (143, 6, 122, 110, 136) y Hup⁻ USDA (117, 135, 120, 16), bajo condiciones de campo, se observó que las plantas inoculadas con cepas Hup⁺ tenían un color verde intenso, maduraban mas tarde, y producían semilla con mas alto porcentaje de N que las inoculadas con cepas Hup⁻ (Hanous et al., 1980). Keyser y Weber (1982) recomiendan las cepas USDA (6, 110, 122, 138, 142, 143 y 144) para la inoculación de cultivares de soya excepto para el cultivar 'Hardee', esta recomendación se basa en el incremento en productividad de algunos cultivares de soya en varias localidades de Estados Unidos.

Lim y otros (1978) (citados por Drevon, 1983) indican que 25% de las cepas aisladas en suelos americanos han sido reconocidas como Hup⁺. La capacidad para sintetizar el sistema

de la hidrogenasa esta asociada con las cepas de *B. japonicum* y pareció ser independiente de la influencia del cultivar usado como hospedero (Carter et al., 1978; citados por Hanous et al., 1980).

6. Potencial de fijación de nitrógeno

Burton (1979) informa que para demostrar un alto potencial de fijación de nitrógeno bajo condiciones de campo, la bacteria debe ser competitiva y además debe tener habilidades para una buena fijación de nitrógeno. Debe ser capaz de nodular su hospedero en presencia de poblaciones nativas. Los resultados de un experimento en el cual se probó la competitividad de 12 cepas de *Bradyrhizobium*, muestran que ciertas cepas como A124 y A134, fijaron mas nitrógeno que otras; en cambio los efectos del *Bradyrhizobium* inefectivo no difirieron del control (Burton, 1979). Este mismo autor opina que la investigación se ha estado enfocando al desarrollo de genotipos resistentes a la infección de *Rhizobium* nativo del suelo, pero susceptibles a la nodulación por cepas específicas seleccionadas, introducidas como inoculantes. Reporta además que las cepas de *Rhizobium* efectivas y eficientes han sido identificadas con un genotipo hospedero (rj1), lo que excluye a la mayoría de cepas nativas.

Una limitante para el uso agrícola de inoculante de cepas manipuladas genéticamente es su competencia con la población

de cepas nativas. Cunninham et al. (1991) identificaron inhibidores efectivos (7-hidroxi-5-metilflavona) para el control de competencia entre cepas. La adición del inhibidor limitó significativamente la nodulación de cepas mas sensitivas.

Según Materon (1980), la compatibilidad es tanto una función de la constitución genética de los dos elementos componentes, como del relativo éxito nodulador de las cepas en competencia. En una evaluación de la compatibilidad de líneas F_7 estables y agronómicamente promisorias, se encontró que el comportamiento con las cepas estudiadas de líneas o híbridos concordaba con el comportamiento de uno u otro padre; inefectivo, como se esperaba para el cultivar Hardee el cual contiene el gene R_{j2} con la cepa CB1809 usada en Australia para la producción comercial de inoculante. Esto apoya el uso de la cepa CB1809 para líneas de soya que no sean R_{j2} que son generalmente las cultivadas en Australia.

Graham (1982) indica que en cuanto a los factores de la planta que afectan la fijación de nitrógeno en leguminosas, las variables que determina el hospedero influncian la iniciación, desarrollo y funcionamiento de los nódulos, y pueden ser de gran importancia para un buen funcionamiento de la simbiosis bajo condiciones de campo.

Gibson, et al. (1982) opinan que el grado de fijación de nitrógeno en leguminosas varía en un amplio rango, estas variaciones son atribuibles al impacto de los factores

limitantes que ocurren en el campo.

Según Graham (1982), la fijación de N_2 en leguminosas es el resultado de la culminación de una interacción compleja entre el hospedero, la bacteria y el medio ambiente; sin embargo, el hospedero juega el papel mas importante en el control de la simbiosis.

La fijación de N_2 total es dependiente de dos variables, peso de nódulos y la actividad específica de los nódulos (N_2 fijado por gramo de nódulo). Durante el período de crecimiento el peso de nódulos presenta un incremento general, pero pueden haber fluctuaciones importantes que pueden deberse a factores ambientales o efectos en el desarrollo fisiológico de las plantas (Gibson et al., 1982).

Un aspecto importante en el patrón de nodulación es el período que tomen los nódulos en aparecer y fijar N_2 . Esto depende de varios factores, uno de ellos es la cepa de *Rhizobium* (Gibson, et al., 1982). Las cepas que nodulen primero son competidores activos contra las cepas que nodulen mas tarde. El tamaño de la población, la disponibilidad de humedad del suelo, la temperatura del suelo y el nivel de nitrógeno del suelo son otras determinantes que afectan la nodulación. El patrón de nodulación usualmente exhibe un máximo durante la segunda mitad del ciclo de crecimiento, seguido por un descenso generalmente drástico.

Según Freire (1976), el éxito de obtener una alta fijación de N_2 a través de la simbiosis soya x *B. japonicum*

depende de una serie de factores los cuales algunas veces interactúan incrementando la complejidad del sistema, entre estos factores menciona la efectividad y eficiencia de cepas de *B. japonicum* presentes en el inóculo o suelo en relación a las variedades y al medio ambiente; el número de células en el inóculo en relación a la población nativa o naturalizada de *B. japonicum* y técnicas de inoculación para proveer adecuada supervivencia y multiplicación de *Bradyrhizobium* a través de las raíces; factores ambientales, principalmente los limitantes de suelo, inicio de nodulación y la fisiología de las plantas. Debido a estos factores mencionados los efectos son directos sobre la bacteria e indirectos a través del hospedero.

Sinclair et al. (1991) reportan que el proceso de nodulación en soya es influenciado por el medio ambiente y la genética del cultivo. Además opinan que los fitomejoradores deben identificar las características morfológicas asociadas con el proceso de fijación de nitrógeno. De 100 genotipos clasificados por número y peso seco de nódulos, entre otras variables, seleccionaron 17 y de estos "Hardee", "Centennial" y F81-7313 fueron los de mayor nodulación en cuanto a número y peso de nódulos.

F. Factores físicos que afectan a la población de bacterias.

Altas temperaturas del suelo, bajo condiciones de humedad promueven la muerte del inoculante mas rápido que bajo condiciones secas; un inoculante líquido es mas susceptible a altas temperaturas que un inoculante seco (Bowen y Kennedy; citados por Gibson *et al.*, 1982). En muchos países tropicales y subtropicales la falta de facilidades para refrigeración puede constituirse en una limitante seria para mantener la viabilidad de los inoculantes.

III. MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se desarrolló en tres etapas.

La primera etapa consistió de un experimento que se realizó en el invernadero de el Departamento de Agronomía. La segunda y tercera etapas fueron experimentos de campo realizados en el área de "Zorrales" predios de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP).

La EAP está situada en el valle de El Zamorano, 30 Km al este de Tegucigalpa, en el Departamento de Francisco Morazán, Honduras, 14° 00' latitud norte y 87° 02' longitud oeste.

A. Etapa 1. Experimento preliminar de invernadero

Esta etapa comprendió un estudio para evaluar la habilidad de cuatro cepas de *B. japonicum* para nodular y fijar nitrógeno en simbiosis con la variedad de soya Siatsa 194.

Entre estas cepas, tres fueron procedentes del Proyecto Niftal (Universidad de Hawaii) y la cuarta fue un aislamiento de un suelo de la zona de Araulí (Honduras).

Los materiales utilizados fueron los siguientes:

- 1) 20 potes de plástico.
- 2) Arena, perlita, vermiculita y gravilla.
- 3) 20 pajillas de plástico.
- 4) Semilla de la variedad Siatsa 194.

5) Solución nutritiva (Broughton y Dillworth, 1970).

6) Inoculante líquido.

1. Esterilización de potes y arena

Los potes fueron bien lavados y luego sumergidos durante 24 horas en un tanque que contenía 50 galones de solución de hipoclorito de sodio al 5 %.

La arena fue recolectada a orillas del río Yeguaré, en los terrenos de "La Vega" ubicados en la EAP. Para lavar la arena se dejó correr agua hasta que ésta adquirió un color claro. Luego se secó al sol y se tamizó, en una zaranda. Una vez seca y tamizada se la colocó en bandejas metálicas. Las bandejas debidamente cubiertas con papel aluminio fueron esterilizadas en el horno a 120 °C durante 6 horas.

2. Desinfección de la semilla

La semilla fue desinfectada y pregerminada tres días antes de la siembra. La desinfección de la semilla se realizó de la siguiente forma: 1) Se colocaron las semillas en un frasco Erlenmeyer previamente autoclavado y se sumergieron en alcohol al 95% durante 10 segundos, 2) Utilizando un tapón de hule estéril en la boca del frasco se drenó el alcohol, 3) Se añadió HgCl_2 al 0.2% hasta cubrir completamente la semilla y se agitó el frasco por un período de cinco minutos y 4) Se

lavaron las semillas por seis veces, utilizando agua destilada estéril, para eliminar el exceso de HgCl₂.

3. Pregerminación

Luego las semillas se depositaron en platos petri, ocho por plato, con papel filtro estéril en la base. Los platos se colocaron en un incubador a 30 °C. Se agregó agua a como fue necesario para mantener la debida humedad en el interior de los platos.

4. Inóculo

Algunas de las características de las cepas de *B. japonicum* utilizadas en este estudio aparecen en el Cuadro 3.

Las cepas se encontraban en el Laboratorio de Microbiología de Suelos del Departamento de Agronomía de la EAP, almacenadas en tubos inclinados con medio agar - levadura - manitol y cubiertas con aceite mineral, de acuerdo a las recomendaciones de Vincent (1982).

5. Preparación del inóculo

El inóculo fue preparado en el mismo Laboratorio. Se preparó medio líquido a base de levadura y manitol. Ocho ml

Cuadro 3. Algunas características de las cepas utilizadas como inóculo en este estudio. El Zamorano, Honduras, 1990.

CEPA	OTROS CODIGOS	PROCEDENCIA	CRECIMIENTO (días)	EFFECTIVIDAD	ALCALINIDAD
EAP 1001	TAL 102 USDA 110 IITA 18	Florida, EE.UU.	5-6	+	+
EAP 1002	TAL 377 USDA 138	Mississippi EE.UU.	3-6	+	+
EAP 1003	TAL 379 USDA 136 _b CB 1809	Maryland, EE.UU.	5-7	+	+
EAP 1004	GTZ1	Arauli, Honduras	3-6	+	+

de este medio se colocaron en cada uno de cuatro tubos estériles. Luego utilizando un asa se trasladó la bacteria de los tubos inclinados a los tubos que contenían los 8 ml de medio. La dispersión de las células en el medio se realizó por medio de un agitador Vortex, obteniéndose una suspensión de color opaco. Se procuró que la turbidez de la suspensión fuera similar para cada cepa; es decir, que tuviera aproximadamente igual número de células.

6. Llenado de potes y siembra

Los potes, debidamente marcados, se llenaron con un medio de soporte que consistió en una mezcla de arena, perlita y vermiculita en una proporción de 3:1:1, respectivamente. Después de llenados los potes se regaron con agua destilada estéril hasta saturación. Una vez drenados se procedió a la siembra. Esta se efectuó el 15 de agosto de 1990. Para la siembra se seleccionaron las semillas que tenían una radícula entre uno y dos centímetros de largo. Utilizando pinzas estériles, se depositaron cuatro de estas semillas por pote, aproximadamente a dos centímetros de profundidad.

7. Inoculación

La inoculación se realizó el mismo día de la siembra. Se aplicaron 2 ml de inóculo por semilla, usando una pipeta

estéril para cada cepa. Cuatro potes no inoculados fueron utilizados como control. Después de la inoculación los potes se taparon con papel estéril, el cual fue sujeto al pote con una banda de hule. Cuatro días después, cuando las plantas ya estaban germinadas, se quitaron los papeles y se colocó gravilla estéril sobre la superficie de los potes, con el fin de proteger la plántula de bacterias contaminantes.

Dos semanas después de la siembra se colocaron estacas de bambú en los potes para que sirvan de tutores para el crecimiento de las plantas. Las plantas se sujetaron a los tutores usando hilo.

8. Riego

Las plantas se regaron diariamente con agua destilada estéril durante la primera semana y después con solución nutritiva estéril libre de nitrógeno (Broughton y Dillworth, 1970; citados por Somasegaran y Hoben, 1985). El riego se realizó con una jeringa a través de una pajilla de plástico estéril que fue introducida después de la siembra en cada pote. La composición química de la solución nutritiva aparece en el Anexo 4.

9. Diseño experimental y determinaciones.

El ensayo consistió de cinco tratamientos (4 cepas y 1 control) distribuidos de acuerdo a un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones.

Las variables se determinaron en la etapa de floración (R2) y entre ellas se incluyeron número de nódulos (NN), porcentaje de nódulos efectivos (PNE), peso seco de nódulos (PSN) y peso seco de la parte aérea de la planta (PSPA). Para el conteo de nódulos se removi6 cuidadosamente el medio de soporte de las raíces y luego se desprendieron los nódulos de cada planta.

El PNE se determin6 mediante observaci6n visual seg6n el tama1o y color de los n6dulos. Los n6dulos de buen tama1o y de un color rojo intenso en su interior fueron clasificados como efectivos. Para la determinaci6n del PSN los n6dulos fueron secados en un horno a 80 °C durante 24 horas.

La parte a6rea de cada planta fue separada de la ra6z a la altura del cuello de la ra6z, colocada en bolsas de papel y secada en un horno a 70 °C durante 24 horas. Luego se tom6 su peso.

B. Etapa 2. Primer ensayo de campo.

Esta segunda etapa comprendi6 una evaluaci6n en el campo

de las cepas utilizadas en el primer ensayo y nueve genotipos de soya. Siete de los nueve genotipos fueron suministrados por la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA).

1. Selección del terreno y condiciones climáticas

El lote seleccionado estuvo ubicado en el área de Zorrales en el valle de El Zamorano, el cual esta a 800 msnm. El terreno había sido destinado solamente a la producción de pastos. Dado que en este suelo no se había sembrado soya anteriormente, se esperaba que no haya *B. japonicum* o que en su defecto la población fuera muy baja. Para determinar si el suelo tenía *B. japonicum* se utilizó la técnica del número mas probable (NMP). El resultado indicó que dicho suelo no tenía *Bradyrhizobium* nativo.

La precipitación promedio durante el período de desarrollo del cultivo fue de 156.4 mm por mes. Las temperaturas máxima y mínima promedio correspondientes a los meses de julio a noviembre, fluctuaron entre 32.6 °C y 11.3 °C. El comportamiento de las curvas de temperatura y precipitación durante el período se ilustra en las gráficas del Anexo 5.

Para el análisis de suelo se tomó una muestra representativa. Para esto, de varias partes del lote, se tomaron 40 submuestras a 20 cm de profundidad y se mezclaron bien antes de separar la muestra. La muestra se analizó en el

Laboratorio de Análisis de Suelos de la EAP. Los resultados del análisis se muestran en el Cuadro 4.

2. Cepas

Las cepas usadas en este primer experimento de campo fueron las mismas a las usadas en el ensayo de invernadero (Cuadro 3).

La EAP 1004 ha sido mencionada en otros informes (Becerra, *et al*, 1991;1992) como GTZ1. Sin embargo, es preciso aclarar que aunque se ha reportado como cepa se trata de un aislamiento que aun no se ha caracterizado.

3. Genotipos

Los genotipos usados en el Experimento 2 fueron:

- a. Cristalina
- b. FHIA 15 (IAC 8-15)
- c. FHIA 11 (Júpiter II)
- d. Siatsa 194
- e. Tropical (Postrera)
- f. Regional 4
- g. Paranagoiana
- h. GO8321609
- i. TG81430D

Cuadro 4. Resultado del análisis de una muestra de suelo del área de "Zorrales", Experimento 2. El Zamorano, Honduras, 1990.

	Franco	
Textura		
pH (H ₂ O)	5.55	
Materia orgánica	3.26	%
Nitrógeno total	0.16	%
Fósforo	1.21	ppm
Potasio	546	ppm
Calcio	2519	ppm
Magnesio	208	ppm
Hierro	19.9	ppm
Manganeso	21.7	ppm
Zinc	0.32	ppm
Cobre	0.33	ppm
Boro	1.12	ppm

Los primeros siete genotipos son variedades que se están usando comercialmente en Honduras. Los dos últimos son líneas experimentales que están siendo promocionadas por la FHIA.

La variedad "Cristalina" es una variedad procedente de Guatemala y generalmente es bien aceptada en la zona. FHIA 11, FHIA 15 y "Tropical" son variedades que están siendo promovidas por la FHIA. La variedad Tropical es recomendada para siembras tardías ya que no es sensible al fotoperíodo (Romero, 1990). La variedad "Siatsa 194" ha sido cultivada por la EAP y la "Regional 4" recomendada por la Secretaria de Recursos Naturales (RR NN).

4. Establecimiento del experimento

a. Preparación del terreno

El suelo fue preparado mediante un pase de arado a 20 cm de profundidad y dos de rastra. Antes de la siembra el suelo fue surcado a una distancia de 0.64 m.

b. Fertilización y siembra

La fertilización, la siembra y la inoculación de la semilla fueron efectuadas el mismo día. Se ha recomendado que bajo condiciones de Honduras la soya debe sembrarse entre el 15 de junio y 15 de julio. Este experimento se sembró el 2 de julio de 1990 lo cual corresponde a la época de "primera". Para la fertilización se abrió un surco al lado del camellón, para evitar el contacto de la semilla con el fertilizante.

Los surcos de cada subparcela, a ser muestreados, fueron fertilizados con 80 kg. ha^{-1} de 0-46-0 y los bordes con 57 g de 18-46-0 equivalentes a 20 kg. ha^{-1} . Todo el fósforo fue aplicado al momento de la siembra. Los cálculos de fertilización se muestran en el Anexo 6.

Para incorporar el fertilizante al suelo, se abrieron los surcos para la siembra por el centro del camellón. La siembra se efectuó con la ayuda de reglas graduadas a 0.05 m. La distancia de siembra fue de 0.05 m entre plantas y 0.64 entre surcos. La población fue aproximadamente de 300,000 plantas por hectárea.

La aplicación de urea en el tratamiento con nitrógeno, se hizo en dosis iguales de 34 g.parcela⁻¹, a los 15, 30, 45 y 60 días después de la siembra. Esta dosis es equivalente a 229 kg de N.ha⁻¹.

c. Inoculación

El inoculante fue preparado en el Laboratorio de Microbiología de Suelos del Departamento de Agronomía de la EAP, utilizando las cepas de *B. japonicum* antes mencionadas y en base a turba pulverizada. El inóculo fue aplicado en forma de suspensión acuosa inmediatamente después de la siembra. La dosis usada fue de 2 g.2.7 L⁻¹ de agua. El número de células viables en el inóculo fue de 10⁹ células.g⁻¹. La suspensión se preparó en un recipiente de plástico de un galón de capacidad. La tapa del galón tenía en el centro un hueco de aproximadamente 0.5 cm de diámetro. Con la tapa hacia abajo se recorrió por los surcos depositando el inóculo al fondo de éstos. Inmediatamente después se tapó la semilla con azadón a una profundidad de aproximadamente 0.05 m. Con el objeto de evitar contaminación entre cepas, se utilizó un azadón para cada parcela principal, la cual fue inoculada con la misma cepa.

Las parcelas que fueron designadas como control no se inocularon y solo recibieron 0-46-0 a la dosis de 80 kg P₂O₅.ha⁻¹.

d. Control de malezas

Ocho días antes de la siembra, se aplicó herbicida Prowl 50 PM (pendimethalin) para el control de gramíneas. La dosis aplicada fue de 1.5 kg i.a. ha⁻¹. No se presentaron problemas mayores con malezas después de esta aplicación, además el rápido y vigoroso crecimiento del cultivo no permitió un mayor afloramiento de malezas. Cuatro semanas después de la siembra se realizó un nuevo control de malezas pero solo en forma manual.

e. Control fitosanitario

Aunque se presentaron problemas de hongos en la etapa de emergencia (Ve), esto no limitó la uniformidad de la población desde el inicio del ensayo.

Durante las primeras etapas del cultivo Vo y V1 (Cuadro 1) y especialmente en los bordes se tuvieron problemas con el ataque de sompopos, por lo que se aplicó Mirex tanto al rededor tanto de las cuevas de los sompopos como de las parcelas. Además, se realizó una aplicación preventiva de benomilo contra *Cercospora* en la etapa R1, usando una dosis de 0.5 kg.ha⁻¹.

Para el control de insectos, especialmente de crisomélidos y gusano peludo se hizo una aplicación de metamidofos tres semanas después de la siembra. La dosis usada fue de 1.2 L.ha⁻¹.

Las plantas que presentaron síntomas viróticos fueron

inmediatamente removidas del campo.

5. Diseño experimental

Se usó un diseño experimental de parcelas divididas con cuatro repeticiones. Las parcelas principales estuvieron representadas por las cepas, un tratamiento con N y un control sin N.

Parcela principal:

- a. EAP 1001 (USDA 110)
- b. EAP 1002 (USDA 138)
- c. EAP 1003 (USDA 136_b)
- d. EAP 1004 (GTZ1)
- e. +Nitrógeno (229 kg N.ha⁻¹)
- f. -Nitrógeno (Control)

Las subparcelas estuvieron representadas por los genotipos descritos anteriormente.

El área ocupada por el experimento fue de 2420 m². En total fueron 216 unidades experimentales (9 genotipos x 6 tratamientos x 4 repeticiones). Cada unidad experimental consistió de tres surcos. La parcela útil ocupó una área de 3.2 m². En el Anexo 7 se muestra la distribución de los tratamientos en el campo.

a. Determinaciones

Las variables determinadas en este experimento fueron numero de nódulos (NN), peso seco de nódulos (PSN), porcentaje de nódulos efectivos (PNE), contenido de nitrógeno total en la parte aérea (CNPA), peso seco de la parte aérea (PSPA), rendimiento por planta (RMP) y peso de cien semillas (PCS). Las variables NN, PNE, PSN, PSPA y CNPA fueron determinadas en base a 10 plantas en la etapa de plena floración (R2). Los datos sobre componentes de rendimiento, fueron tomados conforme cada genotipo entraba en la etapa de madurez completa (R8).

Para la toma de datos se extrajeron las plantas de la parcela útil, utilizando una pala a cada lado de la planta. El suelo adherido a las raíces se removió cuidadosamente para no desprender los nódulos, luego se llevaron las muestras en bolsas de papel al laboratorio. Utilizando tijeras de podar, se hizo un corte a la altura del cuello de la raíz para separar la parte aérea, la cual se colocó en bolsas de papel para posteriormente secarla en el horno a 70 °C durante 24 horas, y finalmente pesarlas. Las raíces se lavaron sobre un tamiz, para evitar la pérdida de nódulos que se pudieron desprender durante la operación. Después de colocar la raíz sobre un papel toalla se procedió a desprender y a contar los nódulos. Para las determinaciones de PNE y PSN se siguió el mismo procedimiento como en el experimento de invernadero. Las muestras foliares, una vez secas, fueron molidas finamente

y analizadas por su contenido de nitrógeno por medio del método microkjeldahl en el Laboratorio de Suelos de la EAP.

Los datos sobre rendimiento fueron tomados conforme cada genotipo llegaba a madurez completa. Los genotipos IAC-8-15, Siatsa 194, Cristalina y Regional 4 se cosecharon durante la última semana de octubre. El resto de genotipos fueron cosechados durante la primera y segunda semana de noviembre, 1990.

b. Análisis estadístico

Los datos correspondientes a cada variable, fueron analizados por medio de análisis de varianza (ANDEVA), usando el paquete estadístico MSTAT-C.

Debido a que el coeficiente de variación para las variables NN, PNE, PSN y PSPA fue alto, los datos de cada una fueron transformados para estabilizar la varianza.

La variable número de nódulos fue transformada usando la raíz cuadrada de la variable mas un medio, que es la mas recomendada para este tipo de datos (Steel y Torrie, 1985).

Los valores porcentuales de la variable PNE fueron transformados restándolos de 100 y usando la raíz cuadrada de la variable.

La variable PSN fue transformada usando $\log(Y + 1)$ y arco seno, aplicable a datos binomiales expresados como fracciones decimales o porcentajes (Steel y Torrie, 1985).

La variable PSPA fue transformada mediante raíz cuadrada.

La diferencia de medias se determinó mediante la prueba estadística de separación de medias de Duncan.

C. Etapa 3. Segundo ensayo de campo

Esta tercera etapa comprendió un segundo ensayo complementario de campo cuyo objetivo fue el de verificar el comportamiento simbiótico de los genotipos de soya y cepas de *B. japonicum* previamente seleccionados. En esta etapa se evaluaron nuevamente cinco de los nueve genotipos, en simbiosis con las dos cepas que en la misma etapa mostraron características superiores en los dos primeros ensayos.

1. Selección del terreno y condiciones climáticas

El experimento estuvo localizado en el área "Zorrales" adyacente al área donde estuvo el experimento de campo anterior. Como en el experimento anterior, el terreno había sido destinado a la producción de pastos por lo cual se esperaba una población muy baja de *B. japonicum*. La precipitación promedio durante el período de desarrollo del cultivo fue de 88.5 mm por mes. Las temperaturas máxima y mínima promedio durante el período de desarrollo del ensayo fluctuaron entre 33 °C y 12 °C respectivamente. El comportamiento de las curvas de temperatura y precipitación

correspondientes, se ilustran en las gráficas del Anexo 8.

Al igual que en el ensayo anterior, para el análisis del contenido de elementos del suelo se sacaron varias submuestras en el área del lote, se mezclaron muy bien y luego se tomó una muestra representativa. Los resultados del análisis de ésta muestra se presentan en el Cuadro 5.

2. Cepas

Las cepas seleccionadas para este segundo experimento de campo fueron las cepas USDA 110 y EAP 1004 debido a que sobresalieron significativamente por su capacidad de nodulación y fijación de nitrógeno en el primer experimento de campo.

3. Genotipos

Los genotipos seleccionados para este estudio fueron:

- a. Cristalina
- b. TG81430D
- c. FHIA 11 (Júpiter II)
- d. Siatsa 194
- e. Regional 4

Se seleccionaron estos genotipos en base a los resultados de rendimiento obtenidos en la primera etapa, 'Cristalina', 'TG81430D' y 'Júpiter II' fueron los mas altos, 'Siatsa 194'

Cuadro 5. Resultado del análisis de una muestra de suelo del área de "Zorrales". Experimento 3. El Zamorano, Honduras 1991.

Textura	Franca	
pH (H ₂ O)	5.67	
Nitrógeno total	0.16	%
Fósforo	2.9	ppm
Potasio	466	ppm
Calcio	2042	ppm
Magnesio	187	ppm
Hierro	6.37	ppm
Manganeso	9.37	ppm
Zinc	0.63	ppm
Cobre	0.6	ppm
Boro	1.12	ppm

intermedio y 'Regional 4' bajo. La variedad Siatsa 194 fue escogida nuevamente por ser la utilizada en la Escuela Agrícola Panamericana (EAP) y la variedad Regional 4 porque aunque en la etapa anterior fue una de las mas bajas en cuanto a rendimiento, en ensayos anteriores ha demostrado ser una de las mejores (Corral y Nehring, 1989).

4. Establecimiento del experimento

a. Preparación del terreno

El suelo fue preparado mecánicamente, mediante un pase de arado y dos de rastra. Una semana antes de la siembra el terreno fue surcado a una distancia de 0.60 m.

b. Fertilización y siembra

La fertilización, siembra e inoculación de las semillas se efectuaron el 4 de julio de 1991, según las recomendaciones locales.

La fertilización se realizó en banda en surcos abiertos a un lado del camellón. En el tratamiento no inoculado el nitrógeno fue aplicado en dosis iguales a los 15, 30, 45 y 60 días después de la siembra. La dosis usada fue de 34 g.parcela⁻¹, equivalente a 229 kg de N.ha⁻¹. El nitrógeno se aplicó utilizando un recipiente plástico marcado a 34 g. Todas las parcelas fueron fertilizadas con 80 kg.ha⁻¹ de 0-46-0 al momento de la siembra. El fertilizante fue incorporado al abrir los surcos por el centro del camellón, para efectuar la siembra.

c. Inoculación

La inoculación se realizó con inoculante preparado en base a turba pulverizada. La dosis empleada fue de 4.2 g de inoculante por kg de semilla, equivalente a la recomendación comercial de 250 g de inoculante por 60 kg de semilla. El número de células viables en el inóculo de 10⁹ células.g⁻¹. La semilla fue primero humedecida y luego revestida con el inoculante.

Para evitar la pérdida de viabilidad del inóculo durante la siembra, la semilla se sembró lo mas rápido posible, a "chorro corrido" y luego se tapó, usando un azadón para cada

parcela principal. Después de dos semanas de la germinación se hizo un raleó para asegurar una población de 300,000 plantas por hectárea.

d. Control de malezas

Para el control de gramíneas, se realizó una aplicación preventiva usando el herbicida Prowl 50 PM (pendimethalin) cinco días antes de la siembra . La dosis aplicada fue de 1,2 kg i.a. ha⁻¹. Cuatro semanas después de la siembra se realizó un control de malezas, con azadón.

e. Control fitosanitario

Debido a la experiencia que se obtuvo con los problemas de pudrición radical durante la etapa de emergencia en el primer experimento de campo, se aplicó Brassicol (PCNB), dos días antes de la siembra. Se tuvieron problemas de sompopos durante las primeras etapas del desarrollo del cultivo por lo que también se aplicó Mirex en las cuevas y bordes de la parcela.

Durante las primeras semanas del cultivo se tomaron precauciones contra el ataque de pájaros en el estado de plántula. Para esto fue necesario el empleo de un trabajador a tiempo completo.

En la etapa R1 se realizó una aplicación preventiva de benomilo contra Cercospora, usando una dosis de 0.5 kg.ha⁻¹.

Para el control de coleópteros de la familia

Chrysomelidae se hizo una aplicación de metamidofos (1.2 L.ha⁻¹), tres semanas después de la siembra.

5. Diseño experimental

Se usó un diseño experimental de parcelas divididas con cuatro repeticiones. El área que ocupó el experimento fue de 1530 m². El experimento consistió de 80 unidades experimentales (4 tratamientos x 5 genotipos x 4 repeticiones). Las parcelas principales estuvieron representadas por las cepas, mas un control nitrogenado (229 kg N.ha⁻¹) y un control sin nitrógeno.

Parcela principal:

- a. EAP 1001 (USDA 110)
- b. EAP 1004 (GTZ1)
- c. + Nitrogeno (229 kg N.ha⁻¹)
- d. - Nitrogeno (Control)

Las subparcelas estuvieron representadas por los genotipos antes descritos. Las subparcelas incluyeron cuatro surcos de 5 m de largo separada 0,65 m. Para las determinaciones se utilizaron los tres surcos centrales de cada subparcela. En el Anexo 9 se muestra la distribución de los tratamientos en el campo.

a. Determinaciones

Las variables determinadas en este experimento fueron número de nódulos (NN), peso seco de nódulos (PSN), contenido de nitrógeno total en la parte aérea (CNPA), peso seco de la parte aérea (PSPA), rendimiento (RMP) y peso de cien semillas (PCS). Se tomaron además datos sobre susceptibilidad de los genotipos a enfermedades. Las variables NN, PNE, PSN, PSPA y CNPA fueron determinadas en base a 10 plantas en plena floración (R2). El procedimiento para obtener los datos sobre estas variables fue el mismo que se siguió en la primera etapa de este estudio y además se describe en los experimentos 1 y 2. Para tener una idea de la curva de absorción de nitrógeno durante el desarrollo del cultivo, se tomaron las determinaciones sobre el contenido de nitrógeno en la parte aérea en las etapas de R2 y R7. Para el análisis del contenido de nitrógeno en la parte aérea, las muestras foliares fueron analizadas por su contenido de nitrógeno por medio del método microkjeldahl en el Laboratorio de Suelos de la EAP al igual que en el experimento anterior.

Los datos sobre de rendimiento por palnta (RMP) y peso seco de 100 semillas fueron tomados conforme cada genotipo entraba en la etapa de madurez completa (R8). La variable RMP fue tomada del número de plantas en un área de 1.3 m²; las vainas de cada planta se desgranaron y se pesó el total dividiéndolo por el número de plantas.

b. Análisis estadístico

Los datos correspondientes a cada variable fueron analizados usando el programa estadístico MSTAT-C.

Debido al alto coeficiente de variación en las variables NN, PSN y PSPA, éstas fueron transformadas para estabilizar la varianza al igual que en el ensayo anterior.

Para controlar el error, aumentar precisión y ayudar a la interpretación de los datos, especialmente en lo concerniente a la naturaleza de los efectos de los tratamientos, se usó un análisis de covarianza en la variable RMP utilizando el número de plantas en 1.3 m^2 como covariable.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

A. Experimento 1

Los resultados del análisis de varianza (ANDEVA) de las variables medidas en el ensayo de invernadero se presentan en el Cuadro 6. Los resultados de la comparación de medias de estas variables se presentan en el Cuadro 7.

Los resultados revelaron diferencias significativas entre cepas en cuanto a PSN y PSPA pero no en NN ni PNE. A pesar de que las diferencias en NN no fueron significativas, éstas resultaron altamente significativas entre el peso seco de estos mismos nódulos. En la Figura 1 se ilustra gráficamente estas diferencias en nodulación; en esta gráfica se observa que el efecto de las cepas no fue muy marcado sobre el NN, pero si lo fue con respecto al PSN. Se observa una relación directa entre el NN y PSN. Esto sugiere que las diferencias altamente significativas observadas se debieron al tamaño de los mismos. El mayor tamaño de nódulos correspondió a la cepa EAP 1004. La cepa USDA 110 aunque inferior con respecto a la EAP 1004 produjo nódulos de mayor tamaño que las cepas USDA 138 y USDA 136b.

Cuadro 6. Resultados del ANDEVA para las variables determinadas en el ensayo de invernadero. El Zamorano, Honduras, 1990.

Variable	Fuente de variación	g.l.	C.M.	F	Probab.	Signif
NN:	Tratam.	3	48.2	2.3	0.137	ns
	Error	12	21.6			
PNE:	Tratam.	3	1.14	0.75		ns
	Error	12	1.52			
PSN:	Tratam.	3	0.004	13.39	0.004	**
	Error	12	0.000			
PSPA:	Tratam	3	0.075	4.226	0.029	*
	Error	12	0.018			

** , * , ns Significativo al nivel $P < 0.01$, $P < 0.05$, y no significativo, respectivamente.

Cuadro 7. Evaluación de cuatro cepas de *Bradyrhizobium japonicum* en simbiosis con la variedad Siatsa 194 en invernadero. El Zamorano, Honduras, 1990.

CEPAS	Número nódulos	Nódulos efectivos (%)	Peso seco	
			Nódulos (mg)	Parte aérea (g)
USDA 110	30.8	99.5	160	1.58
USDA 138	26.8	100.0	120	1.37
USDA 136 _b	32.5	100.0	130	1.26
EAP 1004	35.0	98.9	190	1.47
CONTROL	0.0	0.0	0.0	0.98
Signif	ns	ns	**	**
DMS (0.05)	-	-	30	0.19

** , * , ns Significativo al nivel $P < 0.01$, $P < 0.05$, y no significativo, respectivamente.

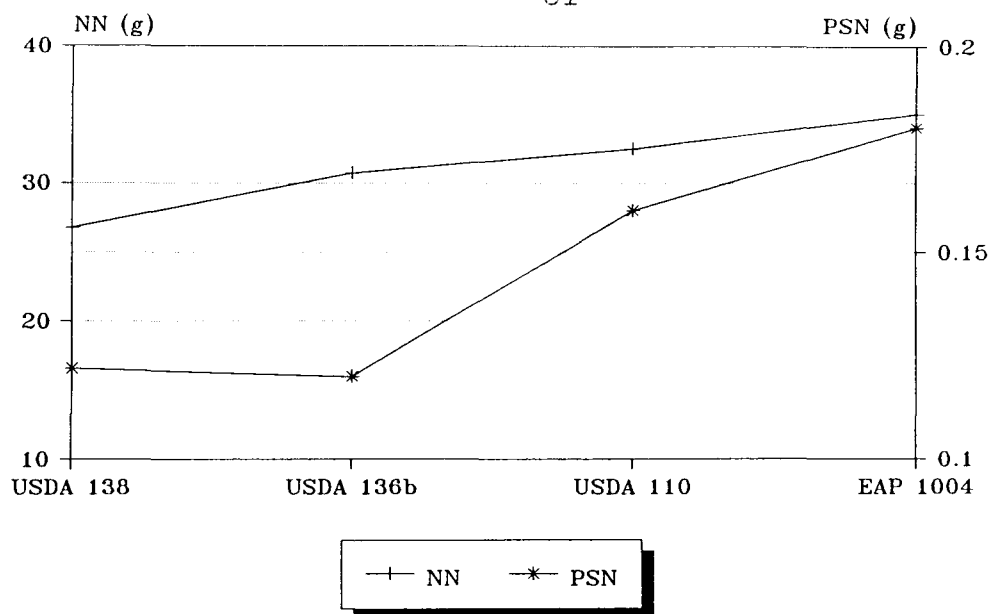


Fig. 1 Respuesta de la variedad Siatsa 194 a la inoculación con diferentes cepas de *B. japonicum* bajo condiciones de invernadero. El Zamorano, Honduras, 1990.

La distribución de nódulos en las raíces fue similar para cada cepa, aunque en el caso de la EAP 1004 se observó una mayor concentración de nódulos en la raíz principal.

En general, bajo éstas condiciones, las cepas EAP 1004 y USDA 110 fueron las mejores en PSN y PSPA. La cepa USDA 138 fue inferior a las cepas USDA 110 y EAP 1004 en cuanto a PSN, pero igual a estas dos cepas en PSPA. La cepa USDA 136_p fue inferior a la EAP 1004 y a la USDA 110 en cuanto a PSN y PSPA, pero igual a estas dos cepas en NN.

Todas las cepas mostraron ser iguales en cuanto a la producción de nódulos efectivos en la variedad Siatsa 194. Las cepas presentaron un promedio de efectividad mayor a 96% en todos los casos.

La morfología de los nódulos fue diversa, en general tuvieron forma esférica y su tamaño varió entre 3 a 10 mm de diámetro. Se observó una coloración rosada intensa en el interior de los nódulos efectivos, debido a la leghemoglobina, responsable de controlar el transporte de oxígeno al bacterioide.

Las raíces de las plantas crecidas en los potes no inoculados que sirvieron de control no tuvieron nodulos, indicando que no se presentaron problemas de contaminación.

De acuerdo con los valores obtenidos en PSPA, las plantas tuvieron un pobre crecimiento. En efecto las plantas presentaron amarillamiento en los bordes de las hojas y tallos delgados; se presume que se presentó algún problema en las

soluciones stock, ya sea una alta concentración de sales o deficiencia de algún microelemento; sin embargo, todas las cepas produjeron mayor PSPA que el control no nitrogenado.

B. Experimento 2

Los resultados del ANDEVA de las variables determinadas en el primer ensayo de campo, se resumen en el Cuadro 8. Las medias de estas variables se presentan en el Cuadro 9.

Estos resultados muestran que en este experimento de campo se encontraron diferencias significativas entre cepas en cuanto a RMP y CNPA, y entre genotipos en las variables PNE, PSPA, RPM y CNPA (Cuadro 8).

Los genotipos Siatsa 194, Tropical, G0832169 y Cristalina se destacaron en NN. Entre las cepas, la EAP 1004 fue una de las que produjeron mayor nodulación, sin embargo, no todos los genotipos tuvieron buena nodulación con esta cepa debido a que la interacción genotipo x cepa fue significativa para esta variable. Esta interacción se ilustra en la Figura 2, en la cual se observa que en general los mejores genotipos nodularon mejor con las mejores cepas. La cepa que en promedio produjo mejor nodulación fue la EAP 1004; sin embargo no todos los genotipos nodularon mejor con esta cepa, como es el caso de Regional 4 la cual noduló mejor con la cepa USDA 110.

Cuadro 8. Resultados del ANDEVA para las variables determinadas bajo condiciones de campo. El Zamorano, Honduras, 1990.

Variable F.V.	g.l.	C.M.	F	Probab.	Signif.	
NN:	Repetición	3	756.7	3.36	0.07	ns
	Cepas	3	4078.3	18.14	0.0004	**
	Error	9				
	Genotipos	8	2588.2	5.68	0.0000	**
	C x G	24	969.6	2.11	0.0058	**
	Error	96	455.5			
	Total	143				
PSN:	Repetición	3	0.28	4.07	0.04	*
	Cepas	3	1.96	28.07	0.0001	**
	Error	9	0.07			
	Genotipos	8	1.22	6.89	0.0000	**
	C x G	24	0.46	2.59	0.0006	**
	Error	96	0.18			
	Total	143				
PNE:	Repetición	3	122.57	2.95	0.09	ns
	Cepas	3	20.63	0.49		ns
	Error	9	41.50			
	Genotipos	8	75.04	2.38	0.02	*
	C x G	24	20.55	0.65		ns
	Error	96	31.49			
	Total	143				
PSPA:	Repetición	3	4833.2	1.67	0.24	ns
	Cepas	3	968.6	0.34		
	Error	9	2884.1			
	Genotipos	8	4597.2	3.85	0.000	**
	C x G	24	1155.2	0.97		ns
	Error	96	1195.0			
	Total	143				
RMP:	Repetición	3	15.41	1.04	0.40	ns
	Cepas	5	148.48	10.01	0.0002	**
	Error	15	14.83			
	Genotipos	8	48.60	2.58	0.011	**
	C x G	40	26.20	1.39	0.083	ns
	Error	132	18.79			
	Total	206				
CNPA:	Repetición	3	0.15	0.24		ns
	Cepas	5	5.37	9.16	0.0004	**
	Error	15	0.59			
	Genotipos	8	0.82	2.14	0.036	*
	C x G	40	0.41	1.08	0.363	ns
	Error	132	0.38			
	Total	206				

** , * , ns , Significativo al nivel $P < 0.01$, $P < 0.05$, y no significativo respectivamente

Cuadro 9. Evaluación de la interacción simbiótica de cuatro cepas de *B. japonicum* con nueve genotipos de soya, bajo condiciones de campo, El Zamorano, Honduras, 1990.

	Número nódulos	Nódulos efectivos (%)	Peso seco nódulos (mg)	P.aérea (g)	Rdto./ planta (g)	Peso 100 sem. (g)
<u>Tratamiento (C)</u>						
USDA 110	29.0	95.28	598	172.6	19.1	18.8
USDA 138	19.4	92.58	296	164.5	18.	18.7
USDA 136 _b	28.1	96.89	431	164.5	16.7	17.8
EAP 1004	37.9	95.12	838	174.2	19.6	18.6
Cont.+ N	0.02	0.00	0	190.5	19.1	15.0
Cont.- N	0.03	0.00	0	162.3	14.3	18.0
Signif.	**	ns	**	ns	**	**
DMS (0.05)	0.71	-	44	-	0.6	0.8
<u>Genotipos (G)</u>						
Cristalina	28.3	96.4	623	162	20.0	15.9
IAC-8-15	17.7	94.9	377	158	16.5	22.1
Júpiter II	12.2	94.4	273	163	17.8	18.5
Siatsa 194	41.8	95.4	916	159	17.3	23.2
Tropical	38.8	96.8	839	204	17.2	17.3
Regional 4	24.7	96.3	550	151	16.7	18.0
Paranagoiqana	6.0	90.7	133	166	17.0	16.2
GO8321609	37.1	98.1	805	191	18.1	15.5
TG81430D	15.8	93.5	351	166	20.4	14.3
Signif	**	*	**	**	*	**
DMS (.05)	11.4	3.9	105	24	2.5	1.0
<u>C x G</u>						
Signif	**	ns	**	ns	ns	**
DMS (.05)		-		-	-	

** , * , ns , Significativo al nivel $P < 0.01$ y $P < 0.05$, y no significativo, respectivamente.

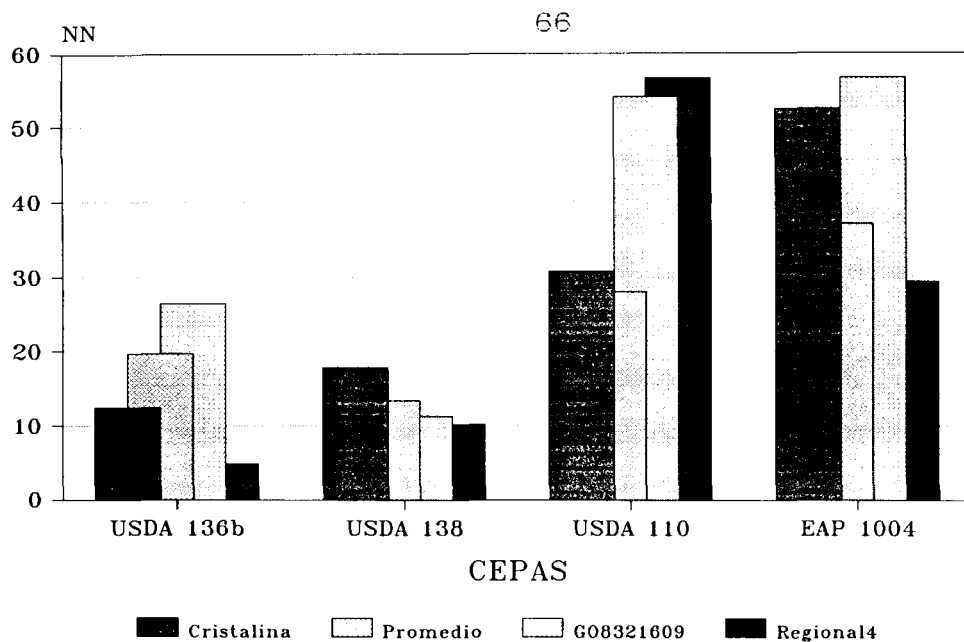


Fig. 2. Nodulación de tres genotipos y el promedio de los cinco genotipos inoculados individualmente con cuatro cepas de *B. japonicum*. El Zamorano, Honduras, 1990.

Los nódulos presentaron formas variadas, a menudo esféricas, distribuidas en las raíces principal y secundarias, sin embargo, se observó que los nódulos de la cepa EAP 1004 en ciertas muestras se encontraban agrupados y bien adheridos a la raíz principal formando una masa amorfa de unos 10 mm de diámetro. Esto como indica Freire (1976) es una característica cualitativa de valor para determinar adecuada nodulación, población de *Bradyrhizobium* y suficiencia en nodulación.

Los genotipos Siatsa 194, Cristalina, Tropical y G08321609 produjeron mayor PSN, sin embargo, no todos estos genotipos tuvieron mejor peso con la cepa EAP 1004 debido a que la interacción genotipo x cepa fue significativa. Las variables PNE y PSPA no fueron afectadas por las cepas pero si por los genotipos. Aunque se encontró diferencias significativas en PNE, el porcentaje de efectividad en los nódulos fue mayor a 90% en todos los casos. Los nódulos efectivos como se explicó en el experimento de invernadero presentaron en su interior una coloración rosada a roja intensa.

El follaje fue mas abundante en ciertos genotipos como Tropical, G08321609 y TG81430D especialmente en las parcelas del control nitrogenado, donde los tallos de las plantas presentaban una consistencia mas leñosa y el follaje de una coloración verde obscuro. Los genotipos Tropical y G08321609 fueron superiores al resto de genotipos en cuanto a PSPA.

El rendimiento por planta obtenido con las cepas USDA

110, USDA 138, EAP 1004 fue el mas alto y similar al obtenido con el control nitrogenado. Los genotipos sobresalientes con respecto a este parámetro fueron TG81430D, Cristalina, G081430D y Júpiter II. Sin embargo, debido a que para esta variable se presentó cierto grado de interacción cepa x genotipo ($P < 0.08$) se pudieron detectar variaciones que no correspondieron a la tendencia generalmente observada en rendimiento, como en el caso de la variedad Cristalina con la cepa EAP 1004 (Figura 3). Pese a esta ligera interacción, en general, los mejores genotipos rindieron mejor con las mejores cepas. Los genotipos Cristalina y Júpiter II mostraron resultados similares en un estudio anterior (Corral y Nehring, 1989).

No se encontró interacción en PNE, PSPA y RMP. El genotipo G08321609 mostró ser superior en PNE, PSPA y RMP. El genotipo Tropical que mostró ser igual a G08321609 en PNE y PSPA no fue similar a ésta, en cuanto a RMP.

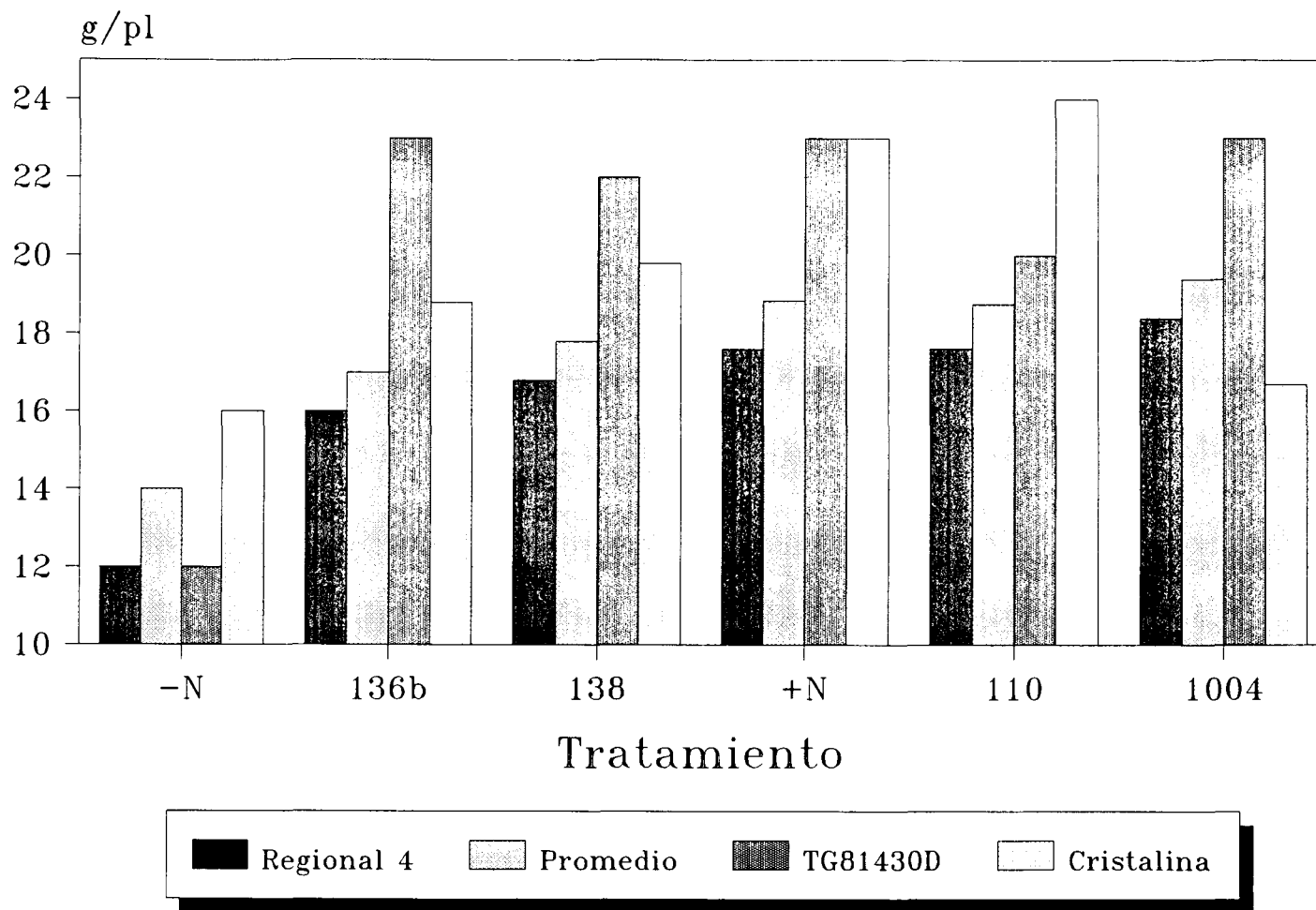


Fig. 3 Rendimiento de los genotipos bajo los efectos de la inoculación y la aplicación de N.

La línea experimental TG81430D que no fue la mejor en cuanto a PSPA, fue una de las mejores en cuanto a PNE y RMP. La variedad Tropical que produjo mayor PSPA y figuró entre las mejores en NN y PSN, fue intermedia en RMP. La variedad Siatsa 194, que fue superior en cuanto a NN y PSN también fue intermedia en cuanto a RMP.

Los resultados sobre el contenido de nitrógeno total acumulado por los genotipos se ilustran en las figuras 4 y 5.

La Figura 4 indica que no se encontraron diferencias entre cepas y el tratamiento +N. Este dato es aún interesante si consideramos que la cantidad de N aplicado en el tratamiento +N fue de 229 Kg.ha⁻¹. Tanto las cepas como el tratamiento +N fueron significativamente superiores al control sin N. En la Figura 5 se puede observar que el mayor CNPA se encontró en la variedad Cristalina, Regional 4 y G08321609. La concentración de nitrógeno en el genotipo IAC-8-15 fue significativamente menor comparada con la de los tres mejores genotipos, Cristalina, Regional 4 y G08321609.

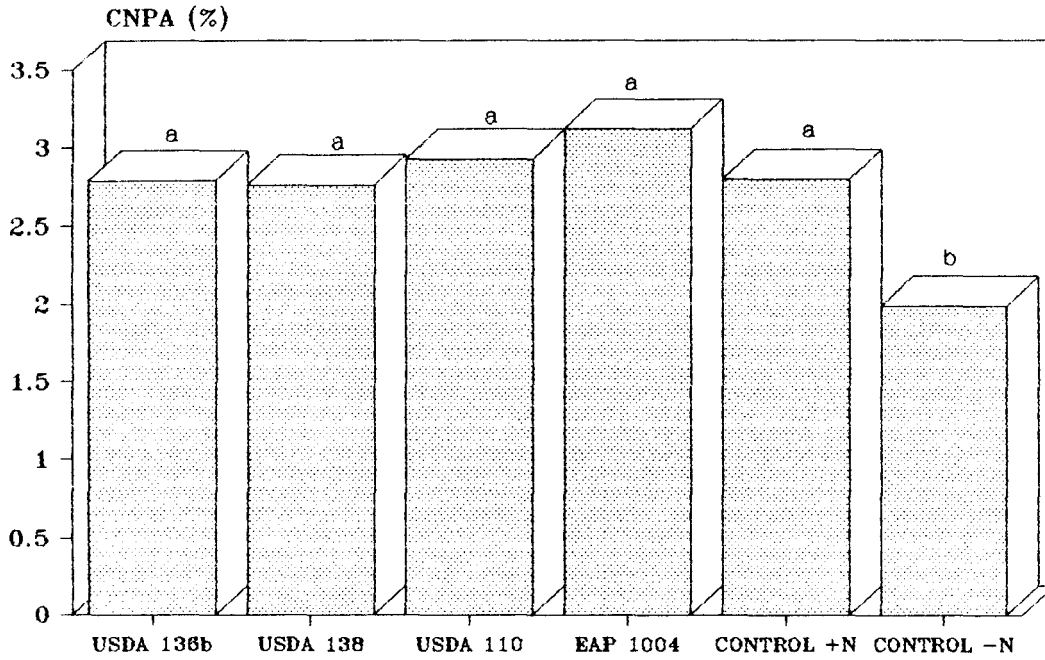


Fig. 4. Resultado de la diferencia entre cepas sobre el contenido de nitrógeno en la parte aérea (CNPA %) de los genotipos. El Zamorano, Honduras, 1990.

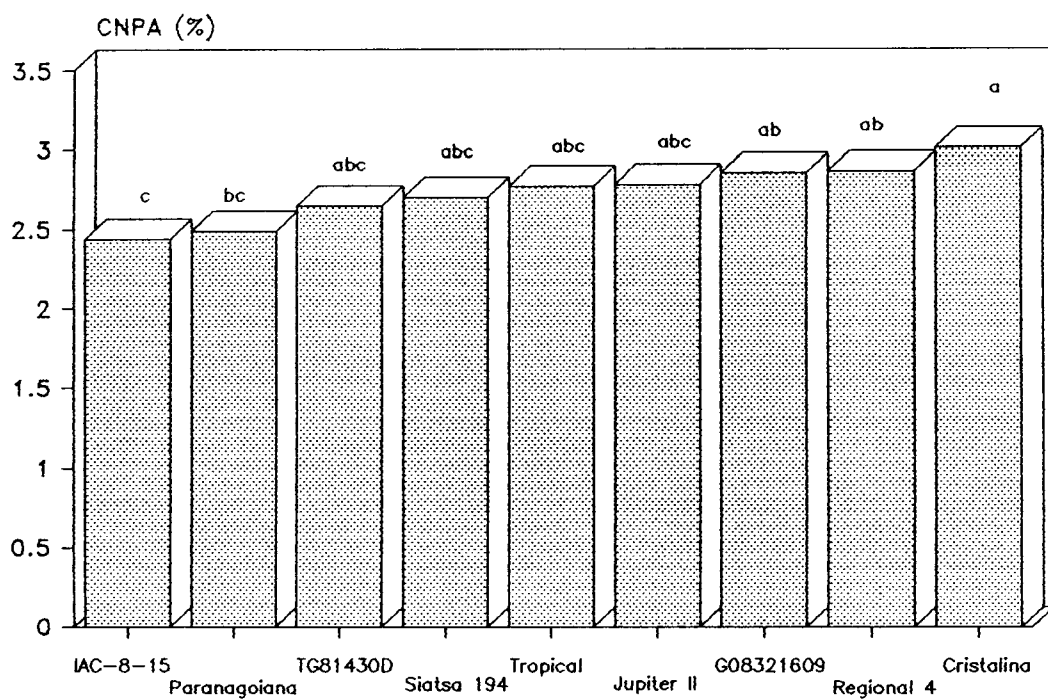


Fig. 5. Efecto de la inoculación y aplicación de nitrógeno sobre el contenido de nitrógeno en la parte aérea (CNPA %) en los genotipos. El Zamorano, Honduras, 1990.

Entre otras observaciones sobre los genotipos se puede observar que las variedades mas precoces fueron Cristalina y Siatsa 194, estas tardaron seis semanas para entrar en la etapa R2. Los genotipos Tropical y G08321609 fueron los mas tardíos, estos entraron en la etapa R2 entre la séptima y octava semana. Aunque no se evaluó estadísticamente el acame de los genotipos, se observó acame en las variedades Tropical y Regional 4.

A pesar de haberse realizado un control preventivo contra Cercospora y de haber removido las plantas con síntomas de virosis se presentaron síntomas aparentes de estas enfermedades en las semillas. Una de las variedades menos susceptible a enfermedades fue la Cristalina, que además fue también una de las mejores en RMP.

La variedad Siatsa 194 resultó ser la mas susceptible a Cercospora y mosaico. Otros genotipos en los que se observó susceptibilidad a enfermedades fueron Regional 4, IAC-8-15, Paranagoiana y TG81430D.

C. Experimento 3

Los resultados del ANDEVA de las variables determinadas en el segundo ensayo de campo, se resumen en el Cuadro 10. Las medias de 6 de las 8 variables evaluadas se presentan en el Cuadro 11.

Comparando la precipitación promedio obtenida durante el período de crecimiento del cultivo de 88,5 mm con la de 330 mm a 766 mm que es lo recomendado por Rosas y Young (1991), se puede deducir que los valores de cada variable que resultaron considerablemente menores a los obtenidos en la primera etapa fueron debidos indudablemente a la fuerte sequía.

Los resultados presentados en el Cuadro 10 indican que se encontraron diferencias significativas entre cepas en cuanto a NN, PSN y RMP. Según el Cuadro 11, la cepa USDA 110 produjo significativamente el mayor NN y PSN. La cepa EAP 1004 fue similar a la USDA 110 en PSN. Las diferencias entre cepas con respecto a la variable CNPA fueron significativas solo al 10% (Cuadro 11), siendo mayor para el control nitrogenado, intermedio en las cepas EAP 1004 y USDA 110, y menor para el control sin nitrógeno.

Esencialmente, la mayor parte de la variabilidad en los efectos de la simbiosis sobre las variables incluídas en este ensayo fué asociada con las cepas.

Se encontró un efecto varietal significativo en la media de PCS. Las diferencias se debieron al efecto genotípico y no al efecto de la inoculación y aplicación de N. Los genotipos Siatsa 194 y Júpiter II mostraron el mayor tamaño de semilla. Las variedades Cristalina y Regional 4 fueron intermedias pero mejores que TG81430D, cuyo tamaño de semilla fue el mas pequeño. La tendencia al mejoramiento de soya en

Cuadro 10. Resultados del ANDEVA para las variables determinadas bajo condiciones de campo. El Zamorano, Honduras, 1991.

Variable	F.V.	g.l.	C.M.	F	Probab.	Signif.
NN:	Repetición	3	13.25	2.32	0.144	ns
	Cepas	3	345.34	60.42	0.000	**
	Error	9	51.44	5.72		
	Genotipos	4	21.43	1.36	0.2606	ns
	C x G	12	14.01	0.89		ns
	Error	48	15.71			
	Total	79				
PSN:	Repetición	3	8640	2.98	0.088	ns
	Cepas	3	46416	16.02	0.0006	**
	Error	9	2896			
	Genotipos	4	4703	1.28	0.29	ns
	C x G	12	3784	1.03	0.43	ns
	Error	48	3665			
	Total	79				
PSPA:	Repetición	3	1358	3.15	0.08	ns
	Cepas	3	5222	12.1	0.0016	**
	Error	9	430			
	Genotipos	4	1182	5.27	0.001	**
	C x G	12	585	2.61	0.009	**
	Error	48	224			
	Total	79				
RMP:	Repetición	3	8.5	0.75		ns
	Cepas	3	41.5	3.69	0.056	*
	Error	9	11.3			
	Genotipos	4	93.4	38.37	0.000	**
	C x G	12	3.8	1.55	0.14	ns
	Error	48	2.4			
	Total	79				
CNPA: (R2)	Repetición	3	0.57	1.72	0.2324	ns
	Cepas	3	0.94	2.82	0.099	ns
	Error	9	0.33			
	Genotipos	4	0.37	1.52	0.21	ns
	C x G	12	0.28	1.53	0.343	ns
	Error	48	0.24			
	Total	79				
CNPA: (R8)	Repetición	3	0.96	2.74	0.105	ns
	Cepas	3	0.06	0.18		ns
	Error	9	0.35			
	Genotipos	4	0.41	1.63	0.182	ns
	C x G	12	0.35	1.38	0.209	ns
	Error	48	0.25			
	Total	79				

** , * , ns Significativo al nivel $P < 0.01$, $P < 0.05$, y no significativo, respectivamente

Cuadro 11. Evaluación de dos cepas de *B. japonicum* en simbiosis con cinco genotipos de soya. El Zamorano, Honduras, 1991.

	Número nódulos R2	Peso seco		Nitrógeno		Peso 100 semillas R8 (g)
		Nódulos R2 (mg)	Parte aérea R2 (g)	Parte aérea		
				R2 (%)	R7 (%)	
<u>Tratamiento (C)</u>						
USDA 110	8.50	9.3	102.5	2.6	2.0	19.7
EAP 1004	5.38	5.7	80.7	2.9	1.9	19.6
+ N (229 kg/ha)	0.02	0.01	105.2	2.9	2.0	19.2
- N (Control)	0.17	0.04	72.4	2.5	1.9	17.8
Signif.	**	**	**	ns	*	ns
DMS (.05)	1.7	3.85	14.9			
<u>Genotipos (G)</u>						
Cristalina	5.23	6.6	100.4	2.9	2.0	18.7
TG81430D	3.86	4.0	94.2	2.9	2.1	14.6
Jupiter II	2.36	2.2	92.4	2.5	1.7	21.7
Siatsa 194	2.54	2.6	77.8	2.7	1.9	22.2
Regional 4	3.58	4.3	86.2	2.7	1.9	18.0
Signif.	ns	ns	**	ns	ns	**
DMS (.05)			10.6			1.9
<u>C x G</u>						
Signif	ns	ns	**	ns	ns	ns
DMS (.05)						

** , * , ns Significativo al nivel $P < 0.01$ y $P < 0.1$ y no significativo, respectivamente.

cuanto a tamaño de semilla es para menor tamaño. El menor tamaño de semilla esta asociado con una menor quebradura del grano y mejor germinación. Por lo tanto, los genotipos TG81430D, Cristalina y Regional 4 tienen un tamaño de semilla deseable.

Los resultados sobre rendimiento se ilustran en las Figuras 6 y 7. Tanto las cepas como los genotipos difirieron significativamente con respecto a esta variable. Los rendimientos mas altos se obtuvieron con la cepa USDA 110, esta fue similar a la cepa EAP 1004 y al tratamiento con nitrógeno y significativamente superior al control sin N. La EAP 1004 no difirió de la USDA 110 y el control con N, pero tampoco del control sin N. Entre los genotipos, Cristalina fue significativamente la que produjo mayor RMP. Los genotipos TG81430D y Júpiter II ocuparon el segundo lugar y Siatsa 194 y Regional 4 fueron las de menor rendimiento. Estos resultados verifican las observaciones del ensayo anterior.

Las diferencias entre cepas que resultaron ser significativas (Cuadro 6), después del análisis de covarianza tomando al número de plantas como covariable, no fueron significativas. Esto sugiere que el efecto de las cepas fue significativo debido al número de plantas. Puede ser que los tratamientos afectaron la supervivencia de las plantas. Los resultados del análisis de covarianza se muestran en el Cuadro 12.

La interacción genotipo x cepa fue significativa

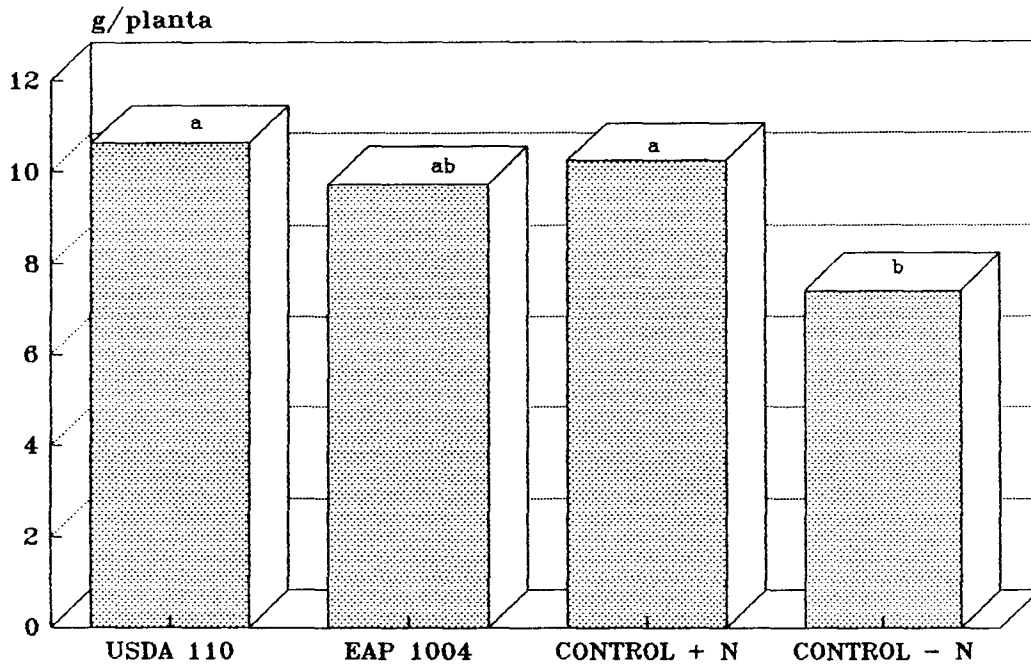


Fig. 6. Efecto de las cepas y la aplicación de N sobre el rendimiento de cinco genotipos de soya.

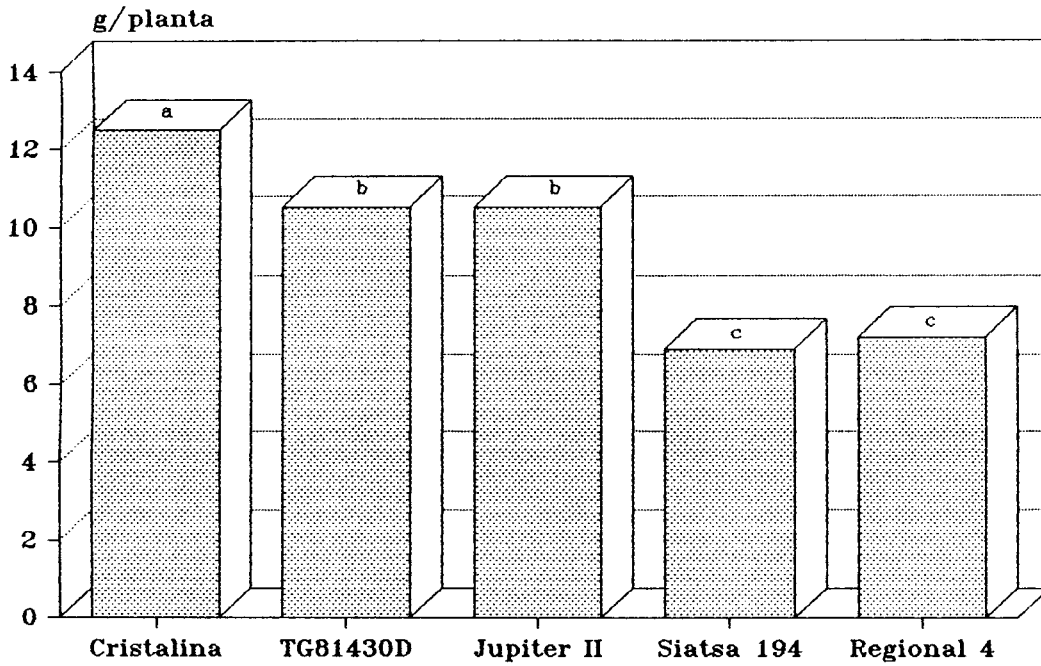


Fig. 7. Rendimiento de los genotipos bajo el efecto de la inoculación y la aplicación de N. (Barras con distinta letra difieren significativamente).

Cuadro 12. Resultados del análisis de covarianza para la variable rendimiento por planta. El Zamorano, Honduras, 1991.

Variable	F.V.	g.l.	C.M.	F	Probab.	Signif.
RMP:	Repetición	3	8.5	0.92		ns
	Cepas	3	24.3	2.62	0.115	ns
	Error	9	9.3			
	Genotipos	4	99.4	44.55	0.000	**
	C x G	12	1.9	0.84		ns
	Covariable	1	30.7	16.73		
	Error	47	1.8			
	Total	78				

** , * , ns , Significativo al nivel $P < 0.01$ y $P < 0.1$ y no significativo, respectivamente.

Únicamente en cuanto a PSPA (Cuadro 11). Pese a esta interacción, en general, los PSPA mas altos fueron producidos por los genotipos Cristalina, TG81430D y Júpiter II en combinación con la cepa USDA 110 y el Control +N (Figura 8).

A diferencia de los resultados de los dos primeros experimentos, los cuales mostraron que la cepa USDA 110 y EAP 1004 eran las mejores, en este ensayo se destacó solamente la cepa USDA 110. Esta cepa fue la mejor en NN, PSN y RMP.

Las variedades Regional 4 y Siatsa produjeron menor RMP. Adicionalmente fueron también las mas susceptibles a enfermedades causadas por Cercospora y mosaico. Los demás genotipos fueron menos afectados. Esto verifica los resultados obtenidos en la primera etapa.

Pese a la sequía, el comportamiento de los genotipos en cuanto a rendimiento fue similar al observado en la primera etapa. La variedad Cristalina que fue superior al resto de

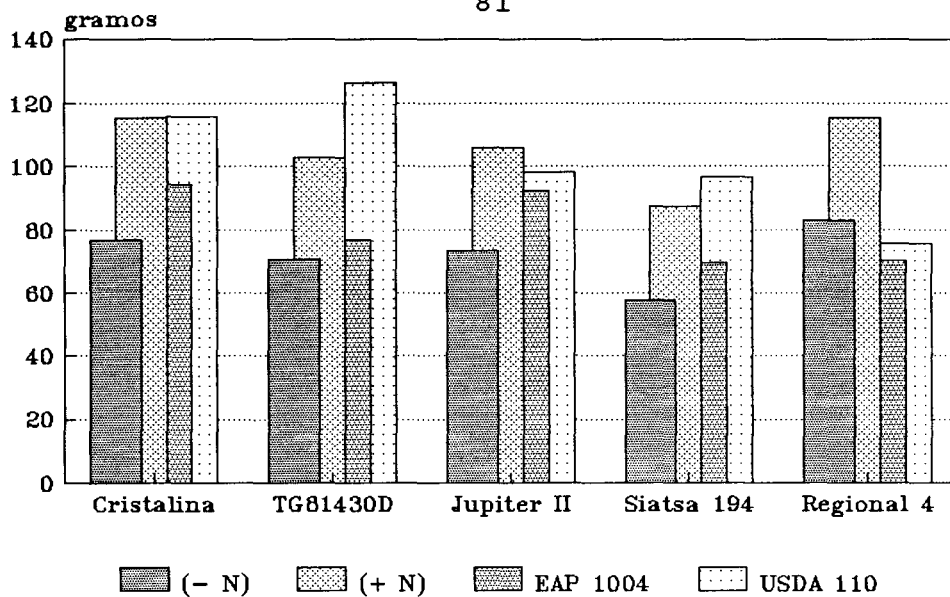


Fig. 8 Ejemplos de la producción de materia seca por los genotipos bajo los efectos de la Inoculación y la aplicación de N.

genotipos en RMP y una de las mejores en cuanto a PSPA, también se destacó en la primera etapa de este estudio.

Se esperaba que la EAP 1004 por ser un aislamiento nativo mostrara mejor adaptación a las condiciones ambientales locales; sin embargo, la cepa USDA 110 no solo mostró mejor eficiencia en fijación de N_2 , mayor habilidad en producción de nódulos, y mayor tolerancia a condiciones críticas de precipitación. Comparando las condiciones de humedad que predominaron durante el desarrollo del cultivo tanto en la primera como en la segunda etapa de este estudio, se puede deducir que la cepa USDA 110 es mas tolerante a sequía que la EAP 1004. Esta característica es realmente importante, si se tienen en cuenta la irregularidad de las lluvias que se está presentando últimamente en esta región. Debido a estas propiedades la cepa USDA 110 representa la mejor alternativa entre las cepas que se encuentran disponibles en el Laboratorio de Microbiología de Suelos para la preparación de inoculantes para soya.

El uso de estos materiales, cuya afinidad simbiótica ha sido verificada, puede ayudar a que la producción de soya en Honduras sea mas rentable. Sin embargo, para lograr los beneficios de la efectividad de estas simbiosis, es necesario además considerar el resto de factores que influyen en el crecimiento y rendimiento de este cultivo.

V. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en los tres experimentos se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Bajo condiciones de invernadero las cepas EAP 1004 y USDA 110 mostraron mayor afinidad simbiótica con la variedad Siatsa 194.
2. Tanto en invernadero como en el campo, todas las cepas han demostrado ser eficientes en cuanto a su habilidad para la producción de nódulos efectivos.
3. La evaluación de las interacciones existentes en el patrón de nodulación bajo condiciones de campo, permitieron identificar a las cepas USDA 110 y EAP 1004 como las de características superiores y mayor afinidad simbiótica con los genotipos Cristalina, TG81430D y Jupiter II. La superioridad de la cepa USDA 110 fue verificada.
4. La cepa USDA 110 continúa siendo la mejor alternativa para la producción de inoculantes, especialmente bajo sequía. La cepa EAP 1004 representa la segunda alternativa.
5. Entre el germoplasma estudiado, los genotipos Cristalina en primer lugar, y TG81430D y Jupiter II, en segundo lugar mostraronb tener el mayor potencial para incrementar la producción de soya en Honduras. Estos genotipos además de poseer características superiores de rendimiento, presentan otras propiedades deseables como menor tamaño de semilla y menor susceptibilidad a enfermedades.

VI. RECOMENDACIONES

1. Para la producción de soya, bajo las condiciones locales, entre el germoplasma incluido en este estudio se recomienda a Cristalina, en primer lugar, y TG81430D y Júpiter II, en segundo lugar, inoculados con la cepa USDA 110, preferiblemente. El uso de estos simbioses, cuya afinidad simbiótica es superior y ha sido verificada, puede ayudar a que la producción de soya en Honduras sea mas rentable.
2. Realizar un estudio complementario sobre los factores de producción que influyen en el crecimiento y rendimiento de este cultivo.
3. Evaluar los mejores genotipos por características agronómicas tales como días a floración, altura de la primera vaina, número de vainas por planta, número de semillas por vaina, dehiscencia, que no fueron evaluadas en este proyecto.
4. Realizar la caracterización de la cepa EAP 1004, ya que por el momento no se sabe si se trata de una nueva cepa o de una replica de las cepas existentes.
5. Comparar las cepas seleccionadas como superiores en este estudio con las de inoculantes importados por las empresas distribuidoras de insumos.
6. Dentro de las estrategias para la inoculación de soya en Honduras, además de la selección de cepas y genotipos, se

deberá considerar la implementación de una tecnología adecuada orientada hacia la adopción de la misma por parte del productor.

VII. LITERATURA CITADA

- ABEL, G. H. 1964. Response of soybeans to dates of planting in the Imperial Valley of California. *Agronomy Journal* 53:95-98.
- AMARGER, N. 1981. Selection of *Rhizobium* strains on their competitive ability for nodulation. *Soil Biol. Biochem.* 13:481-486.
- _____.; LAGACHERIE, B. 1983. Características y ecología del *Rhizobium*. In *Manual técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno*. Roma, FAO. p. c.1.3-c.3.3
- BENTLEY, O.G. 1975. Soybean research: more food for more people. In *Soybean production, protection and utilization*. Ed. by D.K. Whigham. *Intsoy Series No.6* p. 2-5.
- BERGERSEN, F.J.; GOODCHILD, D.J. 1973. Aeration pathways in soybean nodules. *Aust. J. Biol. Science* 26:729-740.
- Citados por: HARPER, J.E. 1987. Nitrogen metabolism. In *Soybeans: Improvement, production and uses*. Ed. by J.R. Wilcox, 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16,. Agronomy, Madison, Wisconsin (EE.UU.) pp 497-523.
- BREVEDAN, R.E.; EGLI, D.B.; LEGGETT, J.E. 1978. Influence of N nutrition on flower and pod abortion and yield of soybeans. *Agronomy Journal* 70:81-84.
- BROCKWELL, J.; DIATLOFF, A.; ROUGHLEY, R.J.; DATE, R.A. 1982. Selection of Rhizobia for inoculants. In *Nitrogen Fixation in Legumes* Ed. by J. M. Vincent. New York, Academic Press. pp 173-193.
- BROMFIELD, E.S.; AYANABA, A. 1980. The efficacy of soybean inoculation on acid soil in tropical Africa. *Plant and Soil* 54:47-60.
- BURIAS, N.; PLANCHON, C. 1990. Increasing soybean productivity through selection for nitrogen fixation. *Agronomy Journal* 82(6):1031-1034.
- BURTON, J.C. 1979. *Rhizobium* inoculation and soybean production. In *Proceedings of the World Soybean Research Conference II*. Ed. by F.T. Corbin. Boulder, Colorado. Westview Press, pp 89-98.

- CARLSON, J.B.; LERSTEN, N.R. 1987. Reproductive morphology. In Soybeans: Improvement, production and uses Ed. by J.R. Wilcox. 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16. Madison, Wisconsin. pp 95-134.
- CORRAL, L.R.; NEHRING, R.G. 1989. Resultado del ensayo regional 111 de variedades de soya, 1989. In Informe Anual de Investigación. Ed. by J.C. Rosas. Vol 2, El Zamorano, Honduras. p. 102
- CUNNINGHAM, S; KOLLMEYER, W.D.; STACEY, G. 1991. Chemical control of interstrain competition for soybean nodulation by *B. japonicum*. American Society of Microbiology 57(7):1886-1892.
- DE MOOY, C.J.; PESEK, J. 1966. Nodulation responses of soybeans to added phosphorous, potassium and calcium salts Agronomy Journal 58:275-280.
- DART, P.J. 1975. Legume root nodule initiation and development. In The development and function of roots. Ed. by J.C. Torrey, D.T. Clarkson. Third Cabot Symposium. New York, Academic Press. pp 497-499.
- DEVINE, T. 1984. Inheritance of soybean nodulation response with a fast-growing strain of *Rhizobium*. The Journal of Heredity 75:359-361
- _____. 1987. A comparison of rhizobial strain compatibilities of Glycine max and its progenitor species *Glycine soja*. Crop Science 27(4):635-639
- DOREN, D.M. VAN; REICOSKY, D.C. 1987. Tillage and irrigation. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J.R. Wilcox. 2 ed. Agronomy Monograph American Society of Agronomy., No. 16, Madison, Wisconsin pp 391-428.
- DREVON, J.J. 1983. Liberación de hidrógeno por los nódulos de leguminosas: Factor limitante en la eficiencia de la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico. In Manual técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno. Roma, FAO. p. c.1.4-c.2.4
- EAGLESHAM, A.R.J.; HASSOUNA, S.; SEEGER, R. 1983. Fertilizer-N effects on N₂ fixation by cowpea and Soybean. Agronomy Journal 75:61-66.

- FEHR, W.R. 1987. Breeding methods for cultivar development. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J.R. Wilcox. 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16, Madison, Wisconsin pp 249-290.
- FREIRE, J.R.J. 1976. Inoculation of soybeans. In Exploiting the legume - *Rhizobium* symbiosis in tropical agriculture. Hawaii, University of Hawaii. pp 335-375.
- _____. 1976. Important limiting factors in soil for the *Rhizobium*-legume symbiosis. In Biological nitrogen fixation. Ed. by M. Alexander. New York, Plenum Press. pp 51-74.
- GIBSON, A.H.; DREYFUS, B.L.; DOMMERGUES, Y.R. 1982. Nitrogen fixation by legumes in the tropics. In Microbiology of tropical soils and plant productivity. Ed. by D.R. Dommergues, H.G. Diem. Nijhoff, The Hague, pp 38-73.
- GRAHAM, P.H. 1982. Plant factors affecting symbiotic nitrogen fixation in legumes. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed by. P.H. Graham, S.C. Harris, Cali (Col.), CIAT. pp 27-45.
- GRUBINGER, V.; ZOBEL, R.; VENDERLAND, J.; CORTES, P. 1982. Nodule distribution on roots of field grown soybeans in subsurface soil horizons. Crop Science 22: 153-155.
- HALLIDAY, J. 1980. Principles of *Rhizobium* strain selection. In Biological nitrogen fixation. Ed. by M. Alexander. New York, Plenum Press. pp 155-171.
- HAMDI, Y.A.; ALAA EL DIN, M.N. 1982. Research on the inoculation of Glycine max and Vicia faba in Egipt. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed. by P.H. Graham, S.C. Harris. CIAT. Cali (Col.) pp 287-290.
- HANOUS, F.J.; ALBRETCH, S.L.; ZABLOTOWICZ, R.M.; EMERICH, D.W.; RUSELL, S.A.; EVANS, H.J. 1980. Yield and N content of soybean seed as influenced by *Rhizobium japonicum* inoculants possessing the hydrogenase characteristic. Oregon Agricultural Experiment station No. 5484. pp 368-372.
- HARDARSON, G.; ZAPATA, F. 1984. Effect of plant genotype and nitrogen fertilizer on symbiotic nitrogen fixation by soybean cultivars. Plant and Soil 82:397-405.

- HARPER, J.E. 1974. Soil symbiotic nitrogen requirements for optimum soybean production. *Crop Science* (EE.UU.) 14:225-260.
- _____. 1987. Nitrogen metabolism. *In Soybeans: Improvement, production and uses*. Ed. by J.R. Wilcox, 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16., Agronomy, Madison, Wisconsin (EE.UU.). p. 497-523.
- HAVELKA, U.D.; BOYLE, M.G.; HARDY, R.W. 1982. Biological nitrogen fixation. *In Nitrogen in agricultural soils*. Ed by F.J. Stevenson. Madison, Wisconsin (EE.UU.) Agronomy Monograph No. 22. p. 365-419.
- HENNECKE, H.; ALVAREZ, A.; BETANCOURT, M.; EBELING, S.; FILSER, M.; GUBLER, M; HAHN, M.; KALUZA, K.; LAMB, J.W.; MEYER, L.; REGENSBURGER, D.; STUDER, D. WEBER, J. 1985. Organization and regulation of symbiotic nitrogen fixation genes from *Bradyrhizobium japonicum*. *In Nitrogen fixation research progress*. Ed. by H.J. Evans; P.J. Bottomley y W.E. Newton. The Netherlands, Martinus Nijhoff. p. 157-163
- HYMOWITZ, T.; SINGH, R.J. 1987. Taxonomy and Speciation. *In Soybeans: Improvement, production and uses*. Ed. by J. R. Wilcox 2 ed.- American Society of Agronomy., No. 16, Madison, Wisconsin (EE.UU.) pp 23-48.
- IMSANDE, J. 1988. Interrelationship between plant developmental stage, plant growth rate, nitrate utilization and nitrogen fixation in hidroponically grown soybeans. *J. Exp. Bot.* 39:775-785
- Citado por: BURIAS, N.; PLANCHON, C. 1990. Increasing soybean productivity through selection for nitrogen fixation. *Agronomy Journal* 82(6):1031-1034.
- JOHNSON, R.R. 1987. Crop management. *In Soybeans: Improvement, production and uses*. Ed. by J.R. Wilcox. 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16, Agronomy, Madison, Wisconsin pp 357-385.
- JORDAN, D.C. 1982. Biochemical characterization of fast- and slow-growing Rhizobia that nodulate soybeans. *Int. Journal of Syst. Bacteriology.* 33:716-722
- KEYSER, H.H.; WEBER, D.F. 1982. The characterization of new *Rhizobium japonicum* germoplasm. *In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture*. Ed. by P.H. Graham, S.C. Harris. CIAT. Cali (Col.). pp 275-278.

- LACKEY, J.A. 1981. Phaseoleae D.C. In Advances in legume systematics. Ed by R.M. Pohill, R.H. Raven, Royal Botanic Gardens, Kew, U.K. pp 301-307.
- Citado por: HYMOWITZ, T.; SINGH, R.J. 1987. Taxonomy and Speciation. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J. R. Wilcox 2 ed.- American Society of Agronomy., No. 16, Madison, Wisconsin. pp 23-48.
- LERSTEN, N.R., CARLSON, J.B. 1987. Vegetative Morphology. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J.R. Wilcox. 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16. Agronomy, Madison, Wisconsin. pp 51-91.
- LITZENBERGER, S.C. 1976. El mejoramiento de las plantas leguminosas de grano comestible como contribución a una mejor nutrición humana. In El potencial del frijol y de otras leguminosas de grano comestible en América Latina, Cali, CIAT. pp 3-29.
- MAIER, R.J.; CAMPBELL, N.E.R.; HANOUS, F.J.; SIMPSON, F.B.-RUSELL, S.A.; EVANS, H.J. 1978. Expression of hydrogenase activity in free - living *Rhizobium japonicum*. Proc. Natl Acad. Sci. (EE.UU.) 75(7):3258-3262.
- MATERON, L.A.; VINCENT, J.M. 1980. Host specificity and interstrain competition with soybean rhizobia. Field Crops Res. 3: 215-224.
- MENGEL, D.B.; SEGARS, W.; REHM, G.W. 1987. Soil fertility and liming. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J.R. Wilcox. 2 ed. Agronomy Monograph No.16 pp 461-496.
- MUNNS, D.N.; FRANCO, A.A. 1982. Soil constraints to legume production. In Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Ed. by P.H. Graham, S.C. Harris. Cali (Col.), CIAT. pp 133-152.
- OBATON, M. 1983. Información general sobre inoculantes. In Manual técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno. FAO, Roma. pp c.1.3-c.3.3
- PARMAN, G.K. 1975. Soybean research: more food for more people. In Soybean production, protection and utilization. Ed. by D.K. Whigham. Intsoy Series No.6 pp 1-2.

- RAO, R.V.; KEISTER, D.L. 1978. Infection threads in the root hairs of soybean (*Glycine max*) plants inoculated with *Rhizobium japonicum*. *Protoplasma* 97: 311-316.
- Citados por: LERSTEN, N.R., CARLSON, J.B. 1987. Vegetative Morphology. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J.R. Wilcox. 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16. Madison, Wisconsin. pp 51-91.
- RAPER, C.D.; KRAMER, P.J. 1987. Stress Physiology. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J.R. Wilcox 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16, Agronomy, Madison, Wisconsin (EE.UU.). pp 589-641.
- ROMERO, J. 1990. La soya en Honduras: zonas central y pacífica. La Lima, (Hond.) FHIA. [6] pp
- ROSAS, J.C.; YOUNG, R. 1991. El cultivo de la soya. 3ra ed. El Zamorano, Escuela Agrícola Panamericana. 62 p.
- SADOWSKY, M.; KEYSER, H.; BOHLOOL, B. 1982. Biochemical characterization of fast and slow growing Rhizobia that nodulate soybeans. *Int. J. of Syst. Bacteriol.* 33:716-722
- SHUBERT, K.R.; EVANS, H.J. 1976. Hydrogen evolution: A major factor affecting the efficiency of nitrogen fixation in nodulated symbionts. *Proceedings of the National Academy of Science (EE.UU.)* 73:1207-1211.
- SINCLAIR, T.R.; SOFFES, A.R.; HINSON, K.; ALBRECHT, S.L.; PFAHLER, P.L. 1991. Genotypic variation in soybean nodule number and weight. *Crop Science (EE.UU.)* 31(2):301-304
- SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H.J. 1985. Methods in Legume - *Rhizobium* Technology. Hawaii, University of Hawaii. 367 p.
- SMITH, K.J.; HUYSER, W. 1987. World distribution and significance of soybean. In Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by J. R. Wilcox. 2 ed. American Society of Agronomy., No. 16, Agronomy, Madison, Wisconsin (EE.UU.). pp 1-22.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. 1985. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2 ed. Bogotá, McGraw Hill (Col.). pp 226-230.

- TOUCHTON, J.T.; BOSWELL, F.C. 1975. Effect of B application on soybean yield, chemical composition and related characteristics. *Agronomy Journal* (EE.UU.) 67:417-420.
- VINCENT, J.M. 1982. Nitrogen fixation in legumes. New York, Academic press. 288 p.
- WILLIAMS, L.E.; PHILLIPS, D.A. 1983. Increased soybean productivity with a *Rhizobium japonicum* mutant. *Crop Science*. 33:246-250
- WYNNE, J.C.; BALL, S.T.; ELKAN, G.H.; ISLEIB, T.G.; SCHNEEWEIS, T.G. 1982. Host-plant factors affecting nitrogen fixation of the peanut. In *Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture*. Ed. by P.H. Graham; S.C. Harris. Cali (Col), CIAT. pp 67-74.
- VEST, G.; WEBER, D.F.; SLOGER, C. 1973. Soybeans: Improvement, production and uses. Ed. by B.E. Cadwell. *American Society of Agronomy*, No. 16. Madison, Wisconsin. p. 353
- Citados por: FREIRE, J.R.J. 1976. Inoculation of soybeans. In *Exploiting the legume - Rhizobium symbiosis in tropical agriculture*. Hawaii, University of Hawaii. pp 335-375.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Composición de aminoácidos de aceite y productos de soya comunmente usados en alimentación animal (%)

	Soya integral cocida	Harina de soya, diluída solvente	Aceite de (g/100 g N)
Proteína cruda	37.0	48.5	
Arginina	2.8	3.7	42.2
Histidina	0.9	1.3	17.0
Isoleucina	2.0	2.6	29.6
Leucina	2.8	3.8	44.0
Lysina	2.4	3.18	38.3
Metionina	0.5	0.7	8.1
Cystina	0.6	0.7	12.9
Fenilalanina	1.8	2.1	28.8
Triosina Tre-	1.2	2.0	19.0
nonina	1.5	1.91	22.1
Triptofano	0.55	0.67	11.1
Valina	1.8	2.7	33.3
Glycina	2.0	2.3	26.3
Serina		2.9	29.0

Fuente: National research council, nutrient requirements of domestic animals, National Academy of Sciences, Washington, D.C.

Anexo 2. Composición mineral promedio de productos de soya usados comunmente en alimentación animal.

	Soya inte- gral cocida	Harina de soya diluída solvente	Vainas de soya
Ca (%)	0.25	0.27	0.54
P (%)	0.58	0.62	0.16
K (%)	1.61	2.02	--
Cl (%)	0.03	0.05	--
Mg (%)	0.21	0.27	--
Na (%)	0.28	0.34	--
S (%)	0.22	0.43	--
Cu mg.kg ⁻¹	15.80	36.30	--
Fe mg.kg ⁻¹	80.00	120.00	--
Mn mg.kg ⁻¹	29.80	27.50	12.7
Se mg.kg ⁻¹	0.11	0.10	--
Zn mg.kg ⁻¹	16.00	45.00	--

Fuente: National research council, nutrient requirements of domestic animals, National Academy of Sciences, Washington, D.C.

Anexo 3. Composición promedio de productos de soya

Anexo 3. Composición promedio de productos de soya
comunmente usados en alimentación animal.

	Soya integral cocida	Harina de soya diluída solvente	Vainas de soya
Materia seca (%)	90.0	90.0	91.0
Proteína cruda (%)	37.0	48.5	12.5
Estracto etereo (%)	18.0	1.0	
Fibra cruda (%)	5.5	3.9	35.5
Energía, ^a Kcal/kg			
<u>Cerdos</u>			
DE	4056	3860	
ME	3540	3485	
<u>Aves</u>			
ME _n	3300	2440	
ME _{pro}	2170	1730	
<u>Ganado de engorde</u>			
ME	3060		2550
NE _m	2170		1560
NE _g	1380		990
TDN (%)	84.6		70.5

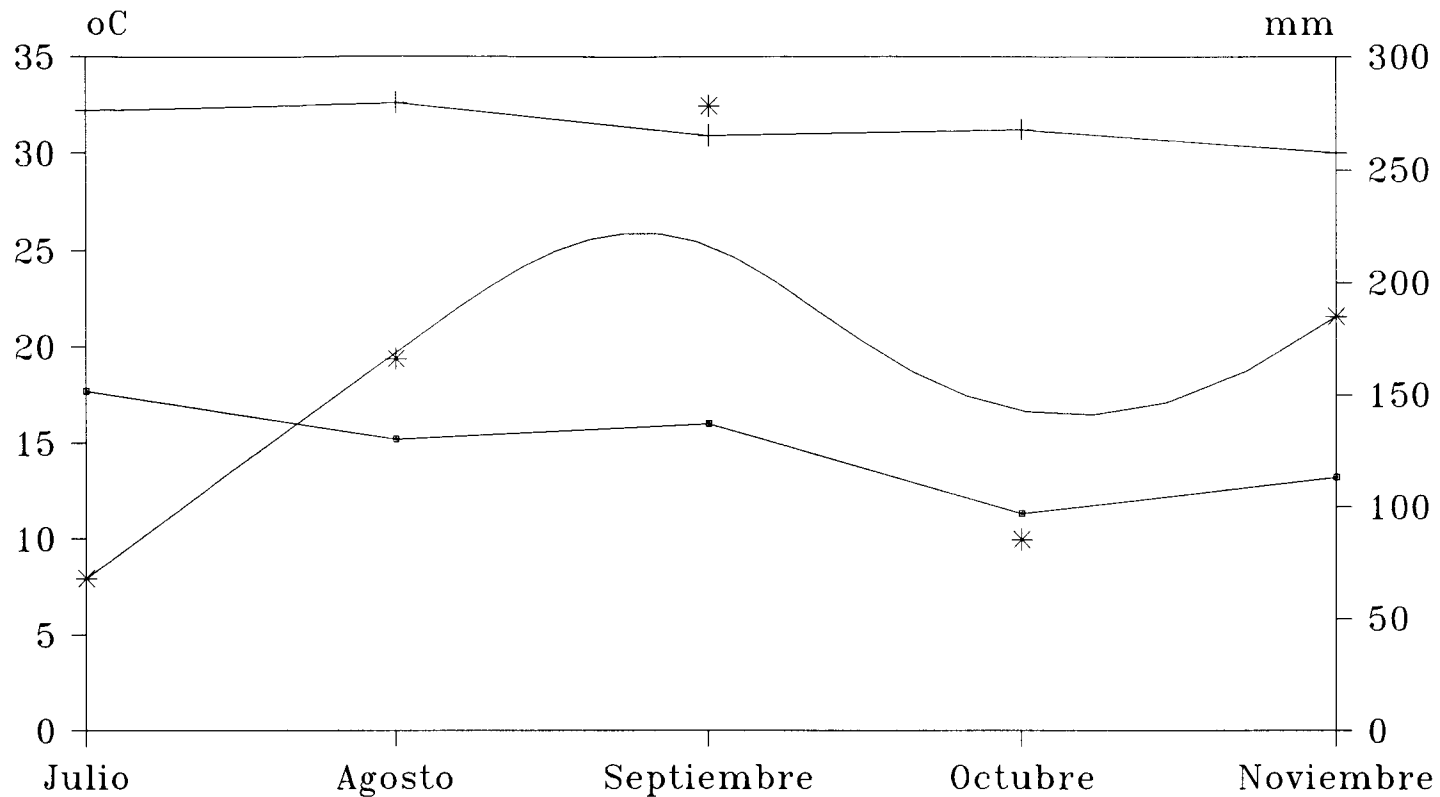
a DE=Energía digerible; ME=energía metabolizable; NE_m, energía neta de mantenimiento; NE_g=energía neta; TDN=nutrientes digeribles totales

Fuente: National research council, nutrient requirements of domestic animals, National Academy of Sciences, Washington, D.C.

Anexo 4. Composición química de la solución nutritiva libre de nitrógeno utilizada en el ensayo de invernadero.

Soluci. Stock	Elemento	M	Fórmula	g/l	M
1	Ca	1000	CaCl ₂ .2H ₂ O	294.1	2.0
2	P	500	KH ₂ PO ₄	136.1	1.0
3	Fe	10	Fe-citrato	6.7	0.02
	Mg	250	MgSO ₄ .7H ₂ O	123.3	0.5
	K	250	K ₂ SO ₄	87.0	0.5
	Mn	1	MnSO ₄ .H ₂ O	169.02	0.02
4	B	2	H ₃ BO ₃	61.84	0.04
	Zn	0.5	ZnSO ₄ .7H ₂ O	287.56	0.001
	Cu	0.2	CuSO ₄ .5H ₂ O	249.69	0.0004
	Co	0.1	CoSO ₄ .7H ₂ O	281.12	0.0002
	Mo	0.1	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	241.98	0.0002

Fuente: SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H.J. 1985. Methods in Legume - *Rhizobium* Technology. Hawaii, University of Hawaii. p. 278



—●— Temp. mínima —+— Temp. máxima —*— Precipitación

Anexo 5. Condiciones climáticas registradas durante el período de julio a noviembre de 1990.

Anexo 6 . Cálculos de fertilización nitrogenada aplicada en los experimento 2 y 3.

1. Cantidad de nitrógeno en el suelo.

$$\frac{0.158 (0.02) 2,240000}{100}$$

$$0.158 (10,000) (2,24) (0.02) = 70.78 \text{ kg.ha}^{-1}$$

2. Cantidad de urea necesaria para complementar la dosis.

300.00 kg N.ha ⁻¹	recomendación básica
- 70.78	tiene el suelo (0.158%)
229 kg N.ha ⁻¹	a aplicar

$$\frac{100}{X} = \frac{46}{229.22} \quad X = 498 \text{ kg Urea.ha}^{-1}$$

3. Cantidad de nitrógeno en 18-46-0

$$\frac{100}{0.057} = \frac{18}{X} \quad X = 10.26 \text{ g de N en 18-46-0}$$

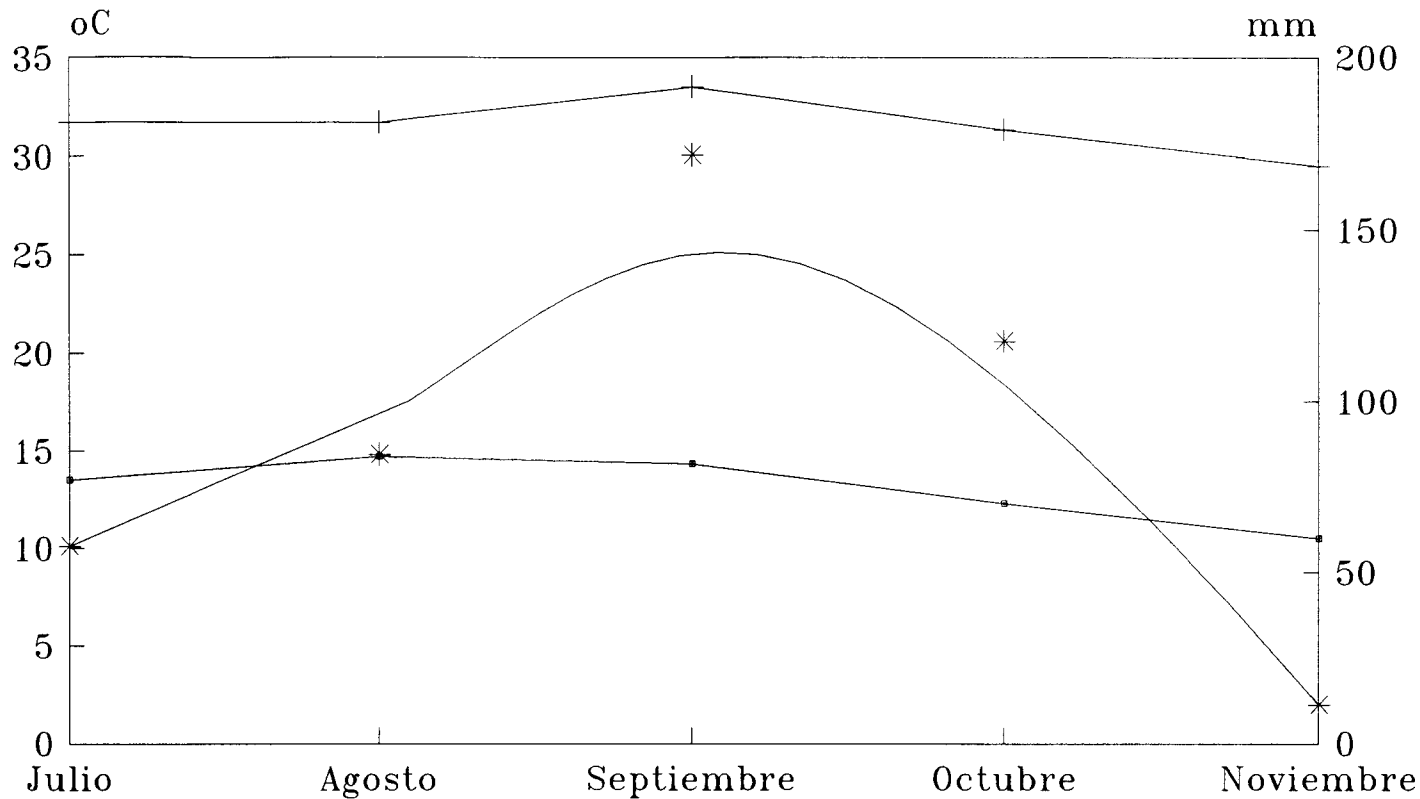
$$\frac{100}{X} = \frac{46}{10.2} \quad X = 22.30 \text{ kg Urea}$$

$$\frac{498}{X} = \frac{10.000 \text{ m}^2}{3.2 \text{ m}^2/\text{surco de 5 m}} \quad X = 159.36 \text{ g de urea/surco}$$

4. Cantidad de urea aplicada en un surco.

$$\begin{array}{r} 159.36 \\ -22.30 \\ \hline 137.06 \text{ g de urea/surco} \end{array}$$

$$137.06/4 = 34.26 \text{ g urea/surco/aplicación}$$



Temp. mínima
 Temp. máxima
 Precipitación

Anexo 8. Condiciones climáticas registradas durante el período de julio a noviembre de 1991.

Anexo 9. Distribución de los tratamientos en el área experimental. Experimento 3. El Zamorano, Honduras, 1991.

R 1 101 A= 1 B= 1	R 1 102 A= 1 B= 5	R 1 103 A= 1 B= 2	R 1 104 A= 1 B= 3	R 1 105 A= 1 B= 4	R 1 106 A= 3 B= 4	R 1 107 A= 3 B= 5	R 1 108 A= 3 B= 2	R 1 109 A= 3 B= 1	R 1 110 A= 3 B= 3
R 1 111 A= 2 B= 4	R 1 112 A= 2 B= 3	R 1 113 A= 2 B= 2	R 1 114 A= 2 B= 1	R 1 115 A= 2 B= 5	R 1 116 A= 4 B= 3	R 1 117 A= 4 B= 1	R 1 118 A= 4 B= 4	R 1 119 A= 4 B= 2	R 1 120 A= 4 B= 5
R 2 201 A= 3 B= 1	R 2 202 A= 3 B= 3	R 2 203 A= 3 B= 2	R 2 204 A= 3 B= 4	R 2 205 A= 3 B= 5	R 2 206 A= 1 B= 2	R 2 207 A= 1 B= 3	R 2 208 A= 1 B= 5	R 2 209 A= 1 B= 1	R 2 210 A= 1 B= 4
R 2 211 A= 4 B= 5	R 2 212 A= 4 B= 3	R 2 213 A= 4 B= 2	R 2 214 A= 4 B= 4	R 2 215 A= 4 B= 1	R 2 216 A= 2 B= 2	R 2 217 A= 2 B= 1	R 2 218 A= 2 B= 5	R 2 219 A= 2 B= 3	R 2 220 A= 2 B= 4
R 3 301 A= 4 B= 4	R 3 302 A= 4 B= 5	R 3 303 A= 4 B= 1	R 3 304 A= 4 B= 2	R 3 305 A= 4 B= 3	R 3 306 A= 3 B= 1	R 3 307 A= 3 B= 5	R 3 308 A= 3 B= 2	R 3 309 A= 3 B= 4	R 3 310 A= 3 B= 3
R 3 311 A= 1 B= 2	R 3 312 A= 1 B= 5	R 3 313 A= 1 B= 1	R 3 314 A= 1 B= 3	R 3 315 A= 1 B= 4	R 3 316 A= 2 B= 5	R 3 317 A= 2 B= 4	R 3 318 A= 2 B= 2	R 3 319 A= 2 B= 1	R 3 320 A= 2 B= 3
R 4 401 A= 2 B= 3	R 4 402 A= 2 B= 1	R 4 403 A= 2 B= 2	R 4 404 A= 2 B= 5	R 4 405 A= 2 B= 4	R 4 406 A= 4 B= 4	R 4 407 A= 4 B= 3	R 4 408 A= 4 B= 1	R 4 409 A= 4 B= 5	R 4 410 A= 4 B= 2
R 4 411 A= 3 B= 2	R 4 412 A= 3 B= 3	R 4 413 A= 3 B= 5	R 4 414 A= 3 B= 1	R 4 415 A= 3 B= 4	R 4 416 A= 1 B= 1	R 4 417 A= 1 B= 2	R 4 418 A= 1 B= 3	R 4 419 A= 1 B= 4	R 4 420 A= 1 B= 5

R= REPETICION; A= TRATAMIENTOS; B= GENOTIPO

Anexo 10. Datos de campo. Experimento 3. El Zamorano, 1991.

Lista de Variables

Var	Tipo	Descripción
1	NUMERIC	REPLICATION
2	NUMERIC	CEPAS
3	NUMERIC	GENOTIPOS
4	NUMERIC	NUMERO DE PARCELA
5	NUMERIC	NUMERO DE NODULOS POR PLANTA
6	NUMERIC	PESO SECO DE NODULOS PSN (mg)
7	NUMERIC	PESO SECO DE LA PARTE AEREA
8	NUMERIC	PESO INICIAL DE MUESTRA R2
9	NUMERIC	PESO FINAL MUESRA R2
10	NUMERIC	ml de H2SO4 R2
11	NUMERIC	NITROGENO TOTAL R2 (NPA)
12	NUMERIC	PESO INICIAL MUESTRA R7
13	NUMERIC	PESO FINAL MUESTRA R7
14	NUMERIC	ml de H2SO4 R7
15	NUMERIC	NITROGENO TOTAL R7 (NPA)
16	NUMERIC	NUMERO DE PLANTAS EN 2 m
17	NUMERIC	RENDIMIENTO (gr)
18	NUMERIC	HUMEDAD
19	NUMERIC	RENDIMIENTO (gr/planta)
20	NUMERIC	PESO (gr) 100 SEMILLAS
21	NUMERIC	ENFERMEDADES

CASO

CASO NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	1	1	1	101	0.00	0	64.3	0.1906	0.0017	3.55	2.63	0.1930	0.0016	2.60	1.886	33	302.20	10.5	9.16	19.00	1
2	1	1	5	102	0.10	4	59.9	0.1830	0.0010	3.15	2.42	0.1832	0.0018	3.35	2.560	29	163.50	10.9	5.64	19.20	5
3	1	1	2	103	0.00	0	64.4	0.2022	0.0121	3.00	2.21	0.1748	0.0013	2.65	2.122	32	251.20	10.5	7.85	13.10	0
4	1	1	3	104	0.00	0	88.1	0.2106	0.0019	3.40	2.28	0.1292	0.0012	2.50	2.709	35	230.60	10.4	6.59	21.10	0
5	1	1	4	105	0.00	0	52.5	0.1596	0.0003	3.11	2.73	0.2447	0.0050	4.20	2.403	34	128.80	10.2	3.79	20.30	4
6	1	3	4	106	2.60	27	64.5	0.2146	0.0015	5.10	3.35	0.1860	0.0015	2.50	1.882	31	259.60	10.8	8.37	23.50	10
7	1	3	5	107	2.60	26	83.3	0.2580	0.0026	5.20	2.85	0.2256	0.0006	2.60	1.613	37	224.00	10.2	6.05	15.40	6
8	1	3	2	108	3.40	34	83.6	0.2021	0.0021	4.05	2.84	0.2410	0.0010	4.50	2.614	31	288.60	14.6	9.31	14.30	1
9	1	3	1	109	30.50	505	96.6	0.1868	0.0026	3.65	2.77	0.1374	0.0005	2.50	2.547	31	384.90	12.1	12.42	16.30	0
10	1	3	3	110	2.20	19	97.4	0.1999	0.0037	3.80	2.71	0.2387	0.0003	2.20	1.290	22	240.90	10.2	10.95	19.20	2
11	1	2	4	111	0.00	0	89.5	0.1845	0.0099	4.70	3.77	0.2180	0.0018	3.90	2.505	31	199.30	10.5	6.43	21.00	4
12	1	2	3	112	0.10	1	99.9	0.1954	0.0042	3.55	2.60	0.1836	0.0019	3.00	2.288	31	386.20	11.5	12.46	19.64	1
13	1	2	2	113	0.20	2	85.9	0.2037	0.0748	4.40	4.78	0.1713	0.0038	2.75	2.248	34	384.60	10.6	11.31	13.30	1
14	1	2	1	114	0.00	0	129.3	0.2071	0.0035	4.40	3.03	0.1323	0.0031	2.15	2.275	30	399.00	11.3	13.30	17.33	0
15	1	2	5	115	0.00	0	148.7	0.2172	0.0021	5.10	3.32	0.1076	0.0029	1.80	2.342	26	229.40	10.6	8.02	17.21	3
16	1	4	3	116	5.20	56	121.3	0.2123	0.0029	3.80	2.54	0.1512	0.0018	2.00	1.852	31	366.30	10.5	11.82	23.10	4
17	1	4	1	117	11.30	156	142.5	0.2418	0.0218	4.05	2.58	0.1486	0.0131	1.65	1.554	25	440.00	10.8	17.60	17.00	0
18	1	4	4	118	4.50	75	104.7	0.2616	0.0141	5.30	3.00	0.1942	0.0024	3.20	2.307	20	260.90	12.5	13.05	22.60	2
19	1	4	2	119	7.90	172	108.9	0.1485	0.0012	2.40	2.28	0.1227	0.0002	2.25	2.567	33	418.20	10.7	12.67	12.50	0
20	1	4	5	120	20.30	319	78.6	0.2986	0.0049	5.10	2.43	0.1999	0.0016	4.00	2.801	22	265.30	10.4	12.06	19.10	4
21	2	3	1	201	4.90	49	92.4	0.1647	0.0040	2.70	2.35	0.1455	0.0006	0.90	0.866	30	357.10	11.3	11.90	16.70	0
22	2	3	3	202	3.80	32	87.9	0.2008	0.0015	3.30	2.32	0.2201	0.0018	1.95	1.240	26	293.40	10.6	11.28	15.20	0
23	2	3	2	203	7.40	48	78.5	0.1960	0.0017	3.25	2.34	0.1183	0.0040	0.90	1.065	31	342.00	10.5	11.03	14.00	0
24	2	3	4	204	2.90	27	81.8	0.2357	0.0043	5.20	3.15	0.1416	0.0012	0.95	0.939	31	199.00	10.2	6.42	19.70	3
25	2	3	5	205	6.80	47	76.7	0.1673	0.0041	3.20	2.75	0.1693	0.0010	2.85	2.357	40	199.80	10.3	4.99	16.70	7
26	2	1	2	206	0.00	0	105.5	0.2328	0.0015	3.25	1.97	0.1130	0.0015	0.75	0.929	40	311.40	10.5	7.78	12.90	0
27	2	1	3	207	0.00	0	94.0	0.1500	0.0025	2.95	2.80	0.1704	0.0087	2.25	1.849	29	258.30	11.3	8.91	19.80	0
28	2	1	5	208	0.00	0	126.6	0.1812	0.0012	3.30	2.57	0.1992	0.0020	3.35	2.354	29	173.80	10.3	5.99	17.20	6
29	2	1	1	209	0.00	0	101.6	0.1838	0.0013	2.65	2.03	0.1138	0.0007	1.67	2.054	28	312.00	10.5	11.14	17.40	1
30	2	1	4	210	3.00	3	58.4	0.1818	0.0032	3.00	2.35	0.1482	0.0030	2.10	1.984	36	232.90	10.3	6.47	21.30	1

31	2	4	5	211	6.70	88	79.5	0.2511	0.0046	4.57	2.60	0.1934	0.0006	2.00	1.448	26	230.00	10.5	8.85	19.10	4
32	2	4	3	212	2.80	38	121.2	0.1727	0.0022	2.90	2.38	0.2590	0.0552	2.90	1.567	33	376.60	10.5	11.41	21.90	9
33	2	4	2	213	7.60	94	116.3	0.1485	0.0012	2.50	2.38	0.1014	0.0028	1.80	2.485	30	454.80	10.7	15.16	16.10	2
34	2	4	4	214	8.20	95	94.6	0.1712	0.0065	3.10	2.64	0.1340	0.0027	2.00	2.090	33	197.90	11.5	6.00	20.40	9
35	2	4	1	215	17.00	161	117.4	0.2410	0.0210	4.00	2.55	0.2159	0.0050	2.25	1.459	26	337.40	10.5	12.98	20.90	0
36	2	2	2	216	0.00	0	113.4	0.1774	0.0061	3.10	2.53	0.1135	0.0009	1.55	1.912	34	277.80	10.2	8.17	14.50	1
37	2	2	1	217	0.00	0	125.5	0.1866	0.0022	5.50	4.18	0.1486	0.0131	1.65	1.554	33	460.40	10.5	13.95	18.50	0
38	2	2	5	218	0.00	0	118.4	0.1891	0.0045	2.60	1.97	0.1076	0.0029	1.80	2.342	23	190.20	10.5	8.27	17.30	5
39	2	2	3	219	0.00	0	118.9	0.1836	0.0019	3.65	2.81	0.1400	0.0020	1.90	1.900	30	262.20	11.2	8.74	22.10	0
40	2	2	4	220	0.00	0	97.8	0.1779	0.0014	2.50	1.98	0.1488	0.0009	2.15	2.023	33	193.90	10.2	5.88	21.40	2
41	3	4	4	301	5.60	57	98.9	0.1293	0.0008	3.00	3.26	0.1410	0.0008	2.80	2.780	26	189.90	10.9	7.30	21.25	1
42	3	4	5	302	8.70	88	80.7	0.1241	0.0008	2.80	3.18	0.1506	0.0005	2.20	2.045	24	139.60	10.2	5.82	17.20	1
43	3	4	1	303	7.90	80	98.2	0.1527	0.0027	2.60	2.43	0.1013	0.0021	1.80	2.488	29	347.50	10.5	11.98	18.00	1
44	3	4	2	304	12.10	88	154.4	0.2447	0.0012	4.30	2.47	0.1656	0.0023	2.75	2.325	29	294.70	10.5	10.16	14.23	3
45	3	4	3	305	11.20	99	68.9	0.1317	0.0007	1.20	1.28	0.1009	0.0000	0.80	1.028	26	221.50	10.4	8.52	20.10	0
46	3	3	1	306	3.80	23	113.2	0.1484	0.0009	3.30	3.13	0.1219	0.0024	2.00	2.297	33	297.20	10.3	9.01	21.50	0
47	3	3	5	307	3.50	28	59.9	0.1299	0.0016	2.45	2.67	0.1744	0.0008	2.60	2.007	29	193.30	10.9	6.67	16.60	4
48	3	3	2	308	5.80	53	70.0	0.1382	0.0029	3.35	3.47	0.1103	0.0021	1.60	2.031	31	320.10	10.5	10.33	15.10	2
49	3	3	4	309	5.40	50	66.0	0.1140	0.0021	2.10	2.63	0.1220	0.0015	1.60	1.836	26	150.00	10.6	5.80	21.30	3
50	3	3	3	310	3.80	21	98.1	0.1922	0.0020	2.75	2.02	0.1577	0.0014	1.75	1.554	23	239.00	10.2	10.39	38.80	0
51	3	1	2	311	0.00	0	54.0	0.1243	0.0008	2.50	2.83	0.2022	0.0067	3.00	2.077	33	243.90	10.3	7.39	12.30	4
52	3	1	5	312	0.00	0	81.9	0.1522	0.0019	3.05	2.84	0.1301	0.0011	1.30	1.318	24	173.60	10.8	7.23	15.10	5
53	3	1	1	313	0.00	0	80.5	0.1337	0.0032	2.95	3.16	0.1500	0.0008	2.30	2.038	32	274.20	10.5	8.57	10.60	1
54	3	1	3	314	0.00	0	64.2	0.1533	0.0024	2.35	2.18	0.1419	0.0040	0.80	0.789	31	280.40	10.6	9.05	16.90	1
55	3	1	4	315	0.20	2	71.9	0.1812	0.0017	3.10	2.42	0.1312	0.0000	1.30	1.387	36	158.90	7.8	4.41	18.50	2
56	3	2	5	316	0.00	0	93.8	0.1455	0.0031	2.20	2.16	0.2301	0.0671	2.50	1.470	22	153.20	10.9	6.96	17.30	2
57	3	2	4	317	0.00	0	89.9	0.1307	0.0023	2.30	2.51	0.2330	0.0009	3.25	1.953	26	186.10	11.1	7.16	21.30	2
58	3	2	2	318	0.00	0	84.8	0.1230	0.0030	2.85	3.32	0.1235	0.0028	1.80	2.040	30	280.10	10.5	9.34	15.80	2
59	3	2	1	319	0.00	0	86.9	0.2084	0.0025	3.95	2.69	0.1118	0.0008	1.40	1.753	32	379.00	10.4	11.84	19.70	1
60	3	2	3	320	0.00	0	89.9	0.1313	0.0130	3.00	3.57	0.1029	0.0053	1.40	1.905	23	232.30	10.2	10.10	20.90	1

61	4	2	3	401	0.00	0	113.4	0.1669	0.0027	2.85	2.43	0.1544	0.0043	1.50	1.360	29	395.80	10.4	13.65	19.50	0
62	4	2	1	402	0.00	0	118.9	0.1180	0.0019	2.85	3.44	0.1199	0.0020	1.00	1.168	30	415.80	10.7	13.86	16.00	0
63	4	2	2	403	0.00	0	126.1	0.1412	0.0009	3.20	3.19	0.1277	0.0000	2.40	2.631	29	375.90	10.5	12.96	15.60	0
64	4	2	5	404	0.00	0	100.2	0.1505	0.0055	2.60	2.51	0.1210	0.0016	1.75	2.025	23	179.30	10.4	7.80	17.30	4
65	4	2	4	405	0.00	0	72.4	0.1406	0.0022	2.30	2.33	0.1409	0.0011	2.25	2.236	34	181.90	10.0	5.35	23.50	7
66	4	4	4	406	5.40	55	87.0	0.1266	0.0032	2.30	2.61	0.1772	0.0005	3.20	2.528	29	168.80	0.9	5.82	21.25	2
67	4	4	3	407	5.60	61	81.4	0.1386	0.0026	2.50	2.57	0.1729	0.0004	2.30	1.862	29	257.20	10.4	8.87	19.80	0
68	4	4	1	408	3.20	33	103.9	0.1200	0.0016	2.80	3.31	0.1145	0.0000	1.80	2.201	20	292.60	10.3	14.63	19.60	3
69	4	4	5	409	5.70	60	65.0	0.1658	0.0009	3.60	3.06	0.1593	0.0012	0.65	0.571	34	149.90	10.0	4.41	19.80	3
70	4	4	2	410	13.10	111	126.6	0.1425	0.0012	3.30	3.27	0.1664	0.0020	3.00	2.524	32	190.10	11.4	5.94	13.40	2
71	4	3	2	411	4.30	31	75.4	0.1156	0.0004	2.70	3.28	0.1001	0.0025	2.00	2.590	31	433.80	11.0	13.99	15.50	4
72	4	3	3	412	3.00	28	85.6	0.1775	0.0031	4.05	3.25	0.1664	0.0020	3.05	2.566	23	299.90	10.1	13.04	21.80	0
73	4	3	5	413	2.90	30	61.9	0.1130	0.0022	3.30	4.17	0.1437	0.0020	2.60	2.533	25	169.20	12.0	6.77	16.60	4
74	4	3	1	414	5.10	42	74.6	0.1460	0.0022	3.45	3.36	0.1521	0.0016	2.70	2.405	29	359.80	10.5	12.41	19.10	1
75	4	3	4	415	2.90	24	65.7	0.1546	0.0039	3.00	2.79	0.1312	0.0001	1.50	1.601	29	199.13	10.5	6.87	20.73	5
76	4	1	1	416	0.00	0	60.9	0.1367	0.0030	2.60	2.72	0.1501	0.0000	2.80	2.612	30	236.60	10.4	7.89	19.80	2
77	4	1	2	417	0.00	0	59.3	0.1414	0.0016	2.85	2.85	0.1024	0.0020	1.60	2.187	21	188.30	10.2	8.97	12.90	0
78	4	1	3	418	0.00	0	47.8	0.1374	0.0017	2.45	2.53	0.1109	0.0005	1.35	1.704	38	210.90	10.4	5.55	14.10	0
79	4	1	4	419	0.00	0	48.8	0.1700	0.0024	2.55	2.13	0.1148	0.0023	0.65	0.793	29	158.90	10.4	5.48	21.00	4
80	4	1	5	420	0.00	0	63.6	0.1220	0.0021	2.05	2.39	0.1014	0.0053	2.20	3.037	22	105.50	10.9	4.80	16.80	5

END

DATOS BIOGRAFICOS DEL AUTOR

Nombre: ESTEBAN SANTIAGO BECERRA MAJIA

Lugar y fecha de nacimiento:

Quito, Ecuador. 19 de septiembre de 1967

Educación primaria:

Escuela Eugenio Espejo. Quito, Ecuador.

Glendover Elementary School. Lexington, EE.UU.

Educación Secundaria:

Colegio Sebastián de Benalcazar. Quito, Ecuador.

Título obtenido:

Bachiller en Ciencias Básicas.

Educación Superior:

Escuela Agrícola Panamericana (1987-1989). El Zamorano,
Honduras.

Título obtenido: Agrónomo.

Escuela Agrícola Panamericana (1990-1992). El Zamorano,
Honduras.

Título obtenido: Ingeniero Agrónomo.