

COMITÉ ACADÉMICO: Agroalimentario

**BIOFERTILIZANTES Y SU EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE LA SOJA (*GLYCINE MAX* (L.) MERRILL).**

AUTOR: BETTINA ROSMARY AGUILERA PANIAGUA<sup>1</sup>

ORIENTADOR :JULIO CÉSAR KARAJALLO<sup>2</sup>

Universidad Nacional del Este – (UNE)

Facultad de Ingeniería Agronómica Sede Itakyry– (FIA)

Itakyry, Paraguay

[betty\\_aguilera@hotmail.com](mailto:betty_aguilera@hotmail.com)<sup>1</sup>, [krajallojc@hotmail.com](mailto:krajallojc@hotmail.com)<sup>2</sup>

**RESUMEN**

La soja es el principal rubro agrícola en Paraguay, ocupa más de 3.100.000 ha<sup>-1</sup> con rendimiento medio de 2500 kg ha<sup>-1</sup>. Debido a la tendencia de la producción agrícola actual incompatible con la sustentabilidad de los agroecosistemas y la necesidad maximizar la producción, se buscan nuevas técnicas de producción más limpias y menos costosas para suministrar nutrientes a las plantas e incrementar su rendimiento. La investigación fue realizada en el distrito de Itakyry, Alto Paraná, Paraguay sobre un ultisol franco arcilloso en sistema de siembra directa. El objetivo fue verificar el efecto de fertilizantes alternativos (biofertilizantes) sobre el crecimiento y rendimiento de soja. El diseño experimental empleado fue de bloques completos al azar con ocho tratamientos y 4 repeticiones totalizando 32 unidades experimentales de 5 x 4 m siendo los tratamientos, T1: Testigo (sin inocular), T2: *Bradyrhizobium japonicum*, T3: PGPR(*Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + *Pseudomonas*) + *Bradyrhizobium japonicum*, T4: *Trichoderma viride* + *Bradyrhizobium japonicum*, T5: *Mycorrhiza* (*Glomus intraradices*) + *Bradyrhizobium japonicum*, T6: *Penicillium Janthinellum* + *Bradyrhizobium japonicum*, T7: Microgeo + *Bradyrhizobium japonicum*, T8: PGPR + *Trichoderma viride* + *Mycorrhiza* (*Glomus intraradices*) + *Penicillium Janthinellum* + Microgeo + *Bradyrhizobium japonicum*. Se determinó la altura de planta a los 60 y 110 días después de la siembra (DDS) estadio R8, número de nódulos por planta, materia seca de los nódulos y rendimiento en kilogramos por hectárea. La aplicación de biofertilizantes no afectó la altura de las plantas. En cuanto al número de nódulos por planta la aplicación de biofertilizantes produjo diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos variando de 20.20 a 26.40 nódulos/planta, la materia seca de los nódulos por planta, se vio influenciada por la aplicación de biofertilizantes produciéndose diferencia estadística altamente significativa entre las medias variando 975 y 1985 mg. En cuanto a rendimiento, la aplicación de biofertilizantes produjo diferencia estadística altamente significativa entre las medias resultando el T4 con el mayor rendimiento con una media de 4129 kg ha<sup>-1</sup> y el T1 con el menor rendimiento con 2297.25 kg ha<sup>-1</sup>. Lograr que las prácticas agrícolas mejoren sus productividades, disminuyendo la utilización de fertilizantes químicos, sin deteriorar los suelos, es posible gracias al uso de los biofertilizantes.

Palabras claves: Biofertilizantes, soja, sustentabilidad, rendimiento.

**1.INTRODUCCIÓN**

La soja (*Glycine max* (L.)Merrill) constituye el principal cultivo en el Paraguay con una tradición de más de 30 años, las zonas de mayor producción responsables de producir casi el 90% del total de producción son los departamentos de Alto Paraná, Canindeyú, Itapúa, Caaguazú y San Pedro. Principal rubro de exportación, el Paraguay es el 4° exportador mundial de soja y 6° mayor productor mundial de este cultivo, abarcando un área de más de 3.200.000 hectáreas y una productividad media de 2.450 kg ha<sup>-1</sup> en la zafra 2014/2015 (CAPECO, 2015).

Actualmente, la problemática de la fertilidad de suelos adquiere relevancia en la producción agrícola en general y en el cultivo de soja en particular. En Paraguay, en los principales cultivos, incluyendo la soja, el aporte de nutrientes a través de la fertilización muchas veces es insuficiente para compensar los extraídos del suelo. En este sentido, la tendencia de la producción agrícola actual es incompatible con la sustentabilidad de los agroecosistemas debido fundamentalmente a la potencial degradación del recurso suelo, la pérdida de fertilidad y la aplicación indiscriminada de fertilizantes químicos, con el consiguiente deterioro progresivo del ambiente y su contaminación; como consecuencia de lo mencionado y en virtud de la creciente necesidad mundial por productos derivados de la soja y la necesidad de incrementar la producción en un mismo área, creció notablemente el interés por parte de investigadores en buscar alternativas más limpias y menos costosas para suministrar nutrientes a las plantas e incrementar el rendimiento de los cultivos. Una de estas alternativas constituye el uso de los llamados fertilizantes biológicos o biofertilizantes.

Los biofertilizantes son productos agrobiotecnológicos que contienen en su composición microorganismos vivos o latentes que son utilizados principalmente como estrategia para incrementar la producción de los cultivos. En agricultura extensiva el uso de estos productos se emplea principalmente para promover un equilibrio en la actividad microbiana, aumentar la fertilidad del suelo, mejorar los rendimientos e inclusive disminuir la incidencia de algunas plagas y enfermedades a través de la incorporación de diversas especies de bacterias benéficas.

Dentro de los fertilizantes biológicos se diferencian principalmente aquellos producidos con microorganismos que fijan nitrógeno atmosférico siendo el más utilizado especialmente para el cultivo de soja el *Bradyrhizobium* y los conocidos en forma genérica como promotores de crecimiento o PGPR, por su significado en inglés (Plant growth promotion rhizobacteria), dentro de estos promotores se encuentran diversos microorganismos, tales como el *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Micorrizas* entre otros, los cuales cumplen diferentes funciones benéficas y por lo general logran, cuando se combinan en una misma aplicación, efectos sinérgicos favoreciendo la nutrición vegetal.

La utilización de microorganismos es una práctica agronómica necesaria para el cultivo de soja, que puede proporcionar varias ventajas con respecto a la aplicación de fertilizantes químicos, como lo son especialmente menores costos de producción que conllevan a una mayor productividad, ofrecen facilidades para su aplicación, menor dependencia por fertilizantes químicos y menor impacto ambiental que logra mayor sostenibilidad de los sistemas agrícolas ofreciendo beneficios desde las perspectivas económica, social y ambiental.

Como los resultados encontrados hasta el momento no son muy claros en relación a la eficiencia de la aplicación de los fertilizantes biológicos, adquiere importancia la necesidad de realizar investigaciones que sustenten la utilización de esta tecnología, estableciendo las ventajas, alcances y limitaciones del empleo de microorganismos en la agricultura. Sólo con base a investigaciones científicas, los técnicos,

extensionistas, productores y cualquier persona ligada a la actividad agropecuaria podrán sustentar adecuadamente sus decisiones con relación a la conveniencia de utilizar los biofertilizantes.

## **2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Verificar el efecto de fertilizantes alternativos (biofertilizantes) sobre el crecimiento y rendimiento de soja (*Glycine max (L.) Merrill*).

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a. Determinar altura de planta a los 60 días después de la siembra y en el estadio R8, en los diferentes tratamientos.
- b. Cuantificar el número de nódulos por planta en los diferentes tratamientos.
- c. Pesar la materia seca de los nódulos por planta en los diferentes tratamientos.
- d. Evaluar el rendimiento de granos de soja por efecto de la aplicación de biofertilizantes.

## **3. JUSTIFICACIÓN**

La problemática de la fertilidad de suelos adquiere relevancia en la producción agrícola en general y en el cultivo de soja en particular, la tendencia de la producción agrícola actual parece incompatible con la sustentabilidad de los agroecosistemas debido fundamentalmente a la potencial degradación del recurso suelo, la pérdida de fertilidad y la aplicación indiscriminada de fertilizantes químicos, con el consiguiente deterioro progresivo del ambiente y su contaminación, el uso de los biofertilizantes constituye una alternativa más limpia y menos costosa para suministrar nutrientes a las plantas e incrementar el rendimiento de los cultivos. La utilización de microorganismos es una práctica agronómica necesaria para el cultivo de soja, puede proporcionar varias ventajas con respecto a la aplicación de fertilizantes químicos, como lo son especialmente menores costos de producción que conllevan una mayor productividad; ofrecen facilidades para su aplicación, menor dependencia por fertilizantes químicos y menor impacto ambiental que logra mayor sostenibilidad de los sistemas agrícolas a nivel local y global. Sólo con base a investigaciones científicas, los técnicos, extensionistas, productores y cualquier persona ligada a la actividad agropecuaria podrán sustentar adecuadamente sus decisiones con relación a la conveniencia de utilizar los biofertilizantes. En este sentido, la aplicación de fertilizantes biológicos trae consigo beneficios desde las perspectivas económica, social y ambiental.

## **4. HIPÓTESIS**

Lograr que las prácticas agrícolas mejoren sus productividades, disminuyendo la utilización de fertilizantes químicos, sin deteriorar los suelos, es posible gracias al uso de los biofertilizantes.

## **5. MARCO TEÓRICO**

## 5.1 BIOFERTILIZANTES UTILIZADOS EN LA AGRICULTURA

Según Santacruz (2012), los biofertilizantes, también conocidos como bioinoculantes, inoculantes microbianos o inoculantes del suelo, son productos agrobiotecnológicos que contienen microorganismos vivos o latentes (bacterias u hongos, solos o combinados) que son agregados a los cultivos agrícolas para estimular su crecimiento y productividad.

Moreno et al.(2007), sostienen que los fertilizantes biológicos pueden actuar como sustitutos de fertilizantes químicos tradicionales, brindan buenos rendimientos en las cosechas, favorecen el crecimiento de frutos sanos, resistentes al ataque de plagas y ofrecen facilidades para su aplicación.

Santacruz (2012), afirma que los microorganismos poseen una gran diversidad de mecanismos a través de los cuales promueven el crecimiento de las plantas, se reconocen cuatro grandes grupos de microorganismos promotores del crecimiento vegetal. El primer grupo conformado por microorganismos que incorporan nitrógeno al sistema planta-suelo mediante la fijación biológica de nitrógeno, entre ellos el más conocido son los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*.(Bloemberg & Lugtenberg, 2001). El segundo grupo corresponde a los microorganismos que incrementan la captación de nutrientes y agua, en esta categoría se pueden mencionar a las micorrizas que juegan un importante papel en absorción de agua, fósforo, zinc, azufre y cobre, y bacterias como *Azospirillum* spp., que incrementan la capacidad de absorción de agua y nutrientes por las plantas mediante la estimulación de su crecimiento radical a través de la producción de hormonas. El tercer grupo componen los microorganismos que aumentan la disponibilidad de nutrientes que se encuentran en el suelo en formas no asimilables, en esta categoría se incluyen microorganismos que solubilizan fósforo mediante la producción de fosfatasas o ácidos orgánicos; *Bacillus* o *Pseudomonas fluorescens* y por último el grupo de los microorganismos que poseen actividades antagónicas contra agentes fitopatógenos, en este grupo se reconocen las propiedades de biocontrol de diferentes especies de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavomonas*, , *Trichoderma*, entre otros.

### 5.1.1 FERTILIZANTES BIOLÓGICOS EN BASE A MICROORGANISMOS FIJADORES DE NITRÓGENO ATMOSFÉRICO

Los inoculantes son especies de bacterias fijadoras de  $N_2$  atmosférico a través de la acción simbiótica con diversas especies de plantas, convirtiendo así el  $N_2$  atmosféricos en amoníaco ( $NH_4^+$ ) asimilable por las plantas (Hungria et al., 2001). La inoculación es ampliamente recomendada para la producción de soja, para obtener mejores rendimientos debido a su alto requerimiento en nitrógeno (Paredes, 2013).

Ventimiglia & Baudrix (2012) sostienen que la inoculación en soja con bacterias fijadoras de nitrógeno (*Bradyrhizobium japonicum*), es una práctica difundida que se realiza desde hace muchos años y que la simbiosis que se establece entre esta bacteria y la planta de soja es muy beneficiosa, no solo para las bacterias y las plantas, sino también para el productor, dado que es factible esperar un incremento de rendimiento de la soja con un costo muy bajo. En un trabajo de investigación realizado por Veronesi (2014),

en la localidad de Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina, cuyo objetivo de éste fue evaluar la respuesta en rendimiento de grano, número de nódulos, biomasa aérea y peso de 1000 granos ante la inoculación(*Bradyrhizobium japonicum*) y co-inoculación(*Bradyrhizobium japonicum*+ *Pseudomonas fluorescens*)de la soja, se pudo observar que la co-inoculación produjo aumentos del 39,8%, 22,1% y 15,8% en número de nódulos, biomasa aérea y rendimiento, respectivamente.

## **5.2 FERTILIZANTES BIOLÓGICOS EN BASE A MICROORGANISMOS PGPR (PLANT GROWTH PROMOTION RHIZOBACTERIA).**

Ventimiglia & Baudrix (2012), expresan que más recientemente se comenzaron a utilizar los promotores de crecimiento en forma conjunta con el *Bradyrhizobium japonicum* en el cultivo de soja, a cuya técnica se la ha denominado como coinoculación.

Fiqueni et al.(2011), sostienen que la aplicación de bacterias al cultivo, en forma conjunta, coinoculación, presenta efectos benéficos que incluyen mejoras en el establecimiento del sistema nodular y aumento de rendimiento. A estos microorganismos, se los ha designado en forma genérica como promotores de crecimiento, o PGPR, por su significado en inglés (Plant growth promotion rhizobacteria). Dentro de estos promotores hay diversos microorganismos, tales como: *Azospirillum* spp, *Pseudomonas* spp, *Trichoderma* spp, etc, los cuales cumplen diferentes funciones benéficas y por lo general logran, cuando se combinan en una misma aplicación, efectos sinérgicos (Ventimiglia & Baudrix , 2012).

Según Medina et al (2003), los biofertilizantes elaborados con hongos micorriza son productos benéficos que se asocian a las raíces de las plantas y favorecen su nutrición. Están presentes en todos los suelos agrícolas y su asociación con las plantas es benéfica tanto para la planta como para la micorriza debido al intercambio de sustancias nutritivas. La Micorriza permite a la planta incrementar la exploración de la raíz con un aumento en la absorción y transporte de nutrientes como fósforo, nitrógeno, cobre, zinc y agua del suelo, proporcionándole mayores ventajas para su desarrollo y productividad.

Entre los efectos positivos de la inoculación de plantas con *Trichoderma*, se incluyen; control biológico de enfermedades causadas por patógenos en la raíz y en algunos foliares, mejora la absorción de nutrientes, incluyendo al nitrógeno, mejora de la solubilidad de los nutrientes del suelo, mayor desarrollo de las raíces, aumento de la formación de pelos radiculares, más profundo enraizamiento. (Harman et al. 2004).

Las investigaciones que se han realizado en el área de microbiología agrícola en el mundo reportan que algunos microorganismos de la rizósfera de las plantas pueden facilitar la absorción del P por la planta, ya que por medio de sus procesos metabólicos son capaces de solubilizar el P que se encuentra fijado o inmovilizado en el suelo y dejarlo en formas químicas que pueden ser absorbidas por las plantas. A estos microorganismos se les ha denominado microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF) (Rashid et al., 2004). Se ha comprobado que el uso combinado de bacterias fijadoras de nitrógeno y promotoras del

crecimiento, junto con hongos solubilizadores de fosfato (*Penicillium janthinellum*) en tratamientos aplicados a la semilla, permite obtener un incremento superior al 5% en producción respecto al testigo.

MICROGEO® es un componente balanceado que alimenta a los microorganismos del contenido ruminal bovino en Compostaje Líquido continuo (CLC®) , produciendo un fertilizante biológico, promoviendo la recuperación de los suelos, la optimización de los insumos agrícolas y otros factores de producción. Presenta en su concentración sustancias recalcitrantes, preparados biodinámicos, pentosas, minerales y salvados. La composición del fermentado biológico presenta 89 % de bacterias y 11 % de hongos y levaduras en su concentración (MICROGEO®,2015).

## **6.MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 UBICACIÓN DEL ENSAYO**

El experimento fue conducido en el Campo Experimental de la Facultad de Ingeniería Agronómica sede Cruce Itakyry de la Universidad Nacional del Este, ubicado en el distrito de Ytakyry, departamento del Alto Paraná, República del Paraguay. A 500 m de la Supercarretera Itaipú. Con posicionamiento georeferencial de 25 °4'59.69" S ,54 °57'33.12" W, 303 metros de altitud.

### **6.2 DESCRIPCIÓN DEL LUGAR**

El suelo predominante del local donde la parcela fue asentada es clasificado como *Rhodic Paleudult*, clase textural Franco arcilloso y coloración marrón rojizo muy oscuro, la topografía del suelo corresponde a un relieve plano intermedio entre las clases I – III (López et al.,1995). El clima de la localidad se clasifica como subtropical, con una temperatura media anual de 22 °C, una precipitación media anual de 1700mm (Estación Meteorológica de Itaipú,2015).

### **6.3 DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO**

El diseño estadístico empleado fue el de Bloques completos al azar, con 8 tratamientos y 4 repeticiones, totalizando 32 unidades experimentales. La superficie total del experimento fue de 23 m por 39 m, totalizando un área de 897 m<sup>2</sup>.

El tamaño de cada una de las unidades experimentales fue de 4 m de ancho por 5 m de largo, que equivale a 20 m<sup>2</sup>, con un espacio de 1 m entre bloques y 1 m entre cada unidad experimental dentro de cada bloque. La parcela útil estará representada por 3,2 m de ancho y 4 m de largo, que equivale a 12,8 m<sup>2</sup>.

Antes de implantar el experimento fueron extraídas muestras de suelo para la realización de un análisis de suelo a fin de conocer las condiciones químicas del terreno, conforme al resultado del análisis se estableció la utilización de fertilizantes al momento de la siembra.

Se realizó desecación del cultivo antecesor y eliminación de restos de malezas treinta días antes de la siembra, utilizando Glifosato a una dosis de 2,5 L ha<sup>-1</sup>. Una semana antes de la siembra se procedió a la marcación del terreno utilizando una sembradora de siembra directa, para cortar la paja, marcar los espaciamientos entre hileras y facilitar la apertura de surcos en el momento de la siembra.

El material genético utilizado fue INTACTA M 6210 IPRO que presenta características como; hábito de crecimiento indeterminado, excelente ramificación, coloración de flor lila y pertenece al grupo de maduración 6.2. Esta variedad fue desarrollada por MONSANTO y ofrece tres soluciones, selección e inserción de genes en regiones de ADN con el potencial de aumento de la productividad; protección de las principales orugas que atacan a la soja y la tolerancia al herbicida glifosato (Monsanto,2016).

Se realizó fertilización química en surco en forma manual al momento de la siembra, el mismo fue abierto y tapado con la ayuda de escardillo. La dosis de los fertilizantes fueron determinados conforme al resultado del análisis de suelo realizado.

La siembra se realizó en la primera quincena del mes de octubre del año 2015, en sistema de siembra directa sobre rastrojos de maíz, la misma fue realizada con ayuda de una sembradora marca Knapik de una línea de siembra, movida a tracción manual. La densidad de siembra fue de 350.000 plantas ha<sup>-1</sup>, con espaciamiento de 0,40 m entre hilera y 14 semillas por metros lineal. Se tuvo 10 hileras de soja por cada unidad experimental.

El control químico de las malezas fue realizado según la aparición e incidencia de las mismas, fue utilizado un herbicida total a base de Glifosato. El control de plagas y enfermedades fue realizado con los productos recomendados para el efecto, conforme a la aparición e incidencia de los mismos. La aplicación de los diferentes productos fue efectuado a través de un pulverizador costal tipo mochila de 20L de capacidad, con presión constante y con un caudal de 200 L ha<sup>-1</sup>.

La cosecha se realizó cuando las plantas alcanzaron su madurez fisiológica, con una humedad entre el 12 -14 %. Fue utilizada como parcela útil 12,8 m<sup>2</sup>.

#### **6.4 TRATAMIENTOS EVALUADOS**

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

T1: Testigo (sin inocular)

T2: *Bradyrhizobium japonicum*

T3: PGPR(*Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + *Pseudomonas*) + *Bradyrhizobium japonicum*

T4: *Trichoderma viride* + *Bradyrhizobium japonicum*

T5. *Mycorrhiza* (*Glomus intraradices*)+ *Bradyrhizobium japonicum*

T6: *Penicillium Janthinellum* + *Bradyrhizobium japonicum*

T7: Microgeo + *Bradyrhizobium japonicum*

T8: PGPR + *Trichoderma viride* + *Mycorrhiza* (*Glomus intraradices*) + *Penicillium Janthinellum* + Microgeo + *Bradyrhizobium japonicum*.

## 6.5 PRODUCTOS UTILIZADOS DURANTE LA CONDUCCIÓN DEL EXPERIMENTO

Los productos utilizados fueron *Bradyrhizobium japonicum* un inoculante líquido concentrado para soja que contiene bacterias fijadoras de nitrógeno (*Bradyrhizobium japonicum*) genéticamente seleccionadas, con una concentración bacteriana a la fecha de elaboración de  $1 \times 10^{10}$  por ml de producto, equivalentes a más de 1.100.000 bacterias por semilla de soja y al vencimiento más de 200.000 bacterias por semilla (Green Quality, 2015). **PGPR** (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + *Pseudomonas*) un biofertilizante tribacteriano que a la fecha de elaboración contiene en cada mililitro  $3 \times 10^8$  colonias de *Bradyrhizobium japonicum*,  $5 \times 10^8$  colonias de *Azospirillum brasiliense*,  $1 \times 10^8$  colonias de *Pseudomonas fluorescens*. Equivalentes a más de 13.000.000 bacterias por gramo de semilla y al vencimiento más de 300.000 bacterias por gramo de semilla (Green Quality, 2015). *Trichoderma viride* un agente microbiano en presentación líquida y sólida (polvo mojable), elaborado con base en el hongo *Trichoderma viride*, cada gramo del producto contiene  $1 \times 10^8$  esporas de *Trichoderma viride* (Biocultivos S.A, 2015). *Mycorrhiza* (*Glomus intraradices*) un biofertilizante micorrízico elaborado con esporas de *Glomus intraradices* en polvo, que contiene 46 esporas por g de producto y se aplica entre 1 a 1,5 kg/ha en la semilla (Medina *et al.*, 2003) *Penicillium Janthinellum* un biofertilizante en presentación líquida y sólida (polvo mojable), elaborado con base en el hongo *Penicillium Janthinellum*. Cada gramo de producto contiene  $1 \times 10^8$  esporas de *Penicillium Janthinellum* (Biocultivos S.A, 2015) **MICROGEO** un componente balanceado que alimenta a los microorganismos del contenido ruminal bovino en Compostaje Líquido continuo. Presenta en su concentración sustancias recalcitrantes, preparados biodinámicos, pentosas, minerales y salvados. La composición del fermentado biológico presenta 89 % de bacterias y 11 % de hongos y levaduras en su concentración (Marcolino, 2013).

## 6.6 FORMA DE APLICACIÓN DE LOS PRODUCTOS

La forma de aplicación de los productos para cada tratamiento fue de la siguiente manera, el primer tratamiento representó al testigo el cual no recibió ninguna aplicación, el segundo tratamiento fue inoculado con *Bradyrhizobium japonicum*, la inoculación se llevó a cabo previo a la siembra en un lugar protegido del sol y consistió en mezclar homogéneamente la semilla con la dosis de inoculante establecido para dicho tratamiento, que fue de 50 ml/50 kg de semilla. (Green Quality, 2015), el tercer tratamiento recibió la aplicación del biofertilizante tribacteriano PGPR (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + *Pseudomonas*), el cual fue aplicado sobre las semillas previo a la siembra, para cada 50 kg de semilla se utilizó 150 ml de biofertilizante con 50 ml de agua (Green Quality, 2015), más la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum*, para el efecto se siguió el mismo procedimiento de inoculación efectuado en el segundo tratamiento, el cuarto tratamiento recibió la aplicación del hongo *Trichoderma viride*, el mismo fue aplicado al suelo 15 días después de emergencia con una dosis de  $500 \text{ g ha}^{-1}$  (Biocultivos S.A, 2015), más inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en el momento de la siembra, para el efecto se siguió el mismo procedimiento de inoculación

efectuado en el segundo tratamiento, el quinto tratamiento corresponde a la aplicación de *Mycorrhiza (Glomus intraradices)* el mismo fue aplicado directamente a la semilla previo a la siembra, con una dosis de 1,5 Kg ha<sup>-1</sup> (Medina *et al.*, 2003), más inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* para el efecto se siguió el mismo procedimiento de inoculación efectuado en el segundo tratamiento, el sexto tratamiento recibió la aplicación del hongo *Penicillium janthinellum*, este fue aplicado al suelo 15 días después de emergencia con una dosis de 500g ha<sup>-1</sup>(Biocultivos S.A,2015), más inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en el momento de la siembra, para el efecto se siguió el mismo procedimiento de inoculación efectuado en el segundo tratamiento, el penúltimo tratamiento corresponde a la aplicación de Microgeo, este fue aplicado al suelo 30 días después de emergencia con una dosis de 320 L ha<sup>-1</sup> (Alderete,2014), más inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en el momento de la siembra, para el efecto se siguió el mismo procedimiento de inoculación efectuado en el segundo tratamiento y el último tratamiento correspondió a una combinación de todos los tratamientos anteriores, PGPR + *Trichoderma viride* + *Mycorrhiza (Glomus intraradices)*+ *Penicillium Janthinellum* + Microgeo + *Bradyrhizobim japonicum* con la dosis y forma de aplicación correspondiente.

## 6.7 VARIABLES EVALUADAS

Las variables analizadas fueron altura de plantas, número de nódulos por planta, materia seca de los nódulos y rendimiento en kilogramos por hectárea, para medir altura de plantas fueron seleccionadas 10 plantas al azar, a los 60 y 110 días después de la siembra estadio R8 del área útil de cada unidad experimental, totalizando 320 plantas, dicha medición se efectuó con una cinta métrica midiendo desde la base hasta el ápice de la planta, para la medición de número de nódulos por planta se escogieron 10 plantas al azar (estadio R5) por cada unidad experimental (Imsande,1998), las plantas fueron extraídas del suelo con una pala de punta, posteriormente se contabilizaron los nódulos de las raíces (Verdún,2014).Una vez contados los nódulos se obtuvo el promedio por planta que represento a la unidad experimental correspondiente, para la determinación de materia seca de los nódulos se recogieron todos los nódulos de las mismas 10 plantas seleccionadas en el punto anterior, esta cantidad fue guardada en un único sobre de papel sellado convenientemente para luego dejarlo en la estufa a una temperatura de 65 °C por un periodo de 48 hs (Verdún,2014). Al finalizar dicho periodo se peso cada muestra con una balanza de precisión y se obtuvo el promedio por planta que represento a cada unidad experimental. Los resultados fueron expresados en mg de la materia seca/planta, el l rendimiento de granos se obtuvo por medio del peso de los granos trillados del área útil de cada unidad experimental y libre de cuerpos extraños, que fue pesado por medio de una balanza de precisión y expresados en Kg ha<sup>-1</sup>.

## 6.8 ANALISIS DE LOS DATOS

Para el análisis estadístico se realizó análisis de varianza (ANAVA) y cuando hubo diferencia significativa se aplico el Test de Tukey para la comparación entre las medias de los tratamientos, con ayuda del programa Assistat, 2014.

## 7.RESULTADO Y DISCUSIÓN

### ALTURA DE PLANTA

La aplicación de los biofertilizantes, no influyó de manera significativa en la altura de planta de soja a los 60 días después de la siembra (DDS), variando su altura entre 77.27 a 82.75cm, tampoco afectó la altura de planta a los 110 días después de la siembra (DDS), en estadio R8, donde el crecimiento de la soja estuvo entre 106.57 cm y 117.52 cm, no coincidiendo con Santacruz (2012) quien afirma que los biofertilizantes son agregados a los cultivos agrícolas para estimular su crecimiento, no obstante, la altura de planta no siempre es sinónimo de mayor producción de granos en el cultivo (Tabla 1).

Tratamientos	Altura de planta a los 60 DDS	Altura de planta a los 110 DDS
	..... cm.....	
T1: Testigo (sin inocular)	80.60 <sup>ns</sup>	106.57 <sup>ns</sup>
T2: <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	77.27	110.32
T3: PGPR( <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + <i>Pseudomonas</i> ) + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	81.85	107.40
T4: <i>Trichoderma viride</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	80.90	113.00
T5. <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> ) + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	81.00	110.87
T6: <i>Penicillium Janthinellum</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	80.30	112.75
T7: Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	81.37	117.52
T8: PGPR + <i>Trichoderma viride</i> + <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> ) + <i>Penicillium Janthinellum</i> + Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	82.75	112.75

ns: No significativo según ANOVA,  $p \geq 0,05$

**Tabla 1.** Aplicación de biofertilizantes en soja y su efecto sobre el crecimiento de la planta a los 60 DDS y 110 DDS (estadio R8).

### NÚMERO DE NÓDULOS POR PLANTA

En cuanto al número de nódulos por planta la aplicación de biofertilizantes produjo diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos. En la tabla N° 2 se pueden observar que las medias del número de nódulos/planta se encuentran entre 20.20 a 26.40. Ninguno de estos valores coincide con los indicados por Imsande (1998) quien manifiesta que en el estadio R5, la adecuada nodulación presenta más de 40 a 50 nódulos por planta, por otro lado coincide con lo mencionado por Cámara (2000) quien señala que las plantas con 10 a 30 nódulos en la etapa reproductiva, presentan condiciones suficientes para la obtención de altos tenores de nitrógeno fijado, consecuentemente, alto rendimiento de granos. Los tratamientos que presentaron mayor número de nódulos comparando con el testigo y el tratamiento inoculado T2 fueron los que recibieron coinoculación siendo los más resaltantes el T5y T6 coincidiendo con Veronesi (2014) quien realizó un trabajo cuyo objetivo de éste fue evaluar la respuesta en rendimiento de grano, número de nódulos, ante la inoculación y co-inoculación de la soja obteniendo como resultado un aumento del 39,8% promediando 5,4 nódulos por planta en número de nódulos con la co-inoculación, esto puede

deberse a lo expresado por Fiqueni et al.(2011) y Ventimiglia & Baudrix (2012) quienes afirman que al la aplicación de microorganismos al cultivo, en forma conjunta, presenta efectos benéficos que incluyen mejoras en el establecimiento del sistema nodular debido a que se produce un mayor desarrollo radicular, lo que permitiría que las bacterias específicas de la fijación biológica del nitrógeno (*Bradyrhizobium japonicum*), encuentre una mayor cantidad de puntos de crecimiento radiculares, logrando de esta manera una mayor infección de la raíz de la soja.

Tratamientos	Número de nódulos/ planta
T1: Testigo (sin inocular)	20.20b **
T2: <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	21.95ab
T3: PGPR( <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + <i>Pseudomonas</i> ) + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	24.27ab
T4: <i>Trichoderma viride</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	21.05ab
T5. <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> )+ <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	26.40a
T6: <i>Penicillium Janthinellum</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	26.40a
T7: Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	22.70ab
T8: PGPR + <i>Trichoderma viride</i> + <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> )+ <i>Penicillium Janthinellum</i> + Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	25.12ab

\*\*significativo al nivel de 1% de probabilidad (p < 0,01)

**Tabla 2.** Aplicación de biofertilizantes en soja y su efecto sobre el número de nódulos por planta.

## MATERIA SECA DE LOS NÓDULOS POR PLANTA

En cuanto a materia seca de los nódulos por planta, la aplicación de biofertilizantes produjo diferencia estadística altamente significativa entre las medias. En la tabla N° 3 se pueden observar las medias correspondientes a la MS de los nódulos/planta, que se encuentran entre 975 y 1985 mg superando los valores indicados por Imsande (1998) quien ubica el peso óptimo de la MS de nódulos/planta entre 800 a 1000 mg resultando el T3 con el mayor peso de nódulos/planta con una media de mg 1985 mg y el T1 con el menor peso de nódulos/planta con 975 mg como media, este mismo autor afirma que rápida fijación de N durante el llenado de granos mejora la eficiencia de la fotosíntesis de la soja y por este motivo se espera mayor acumulación de materia seca. Todos los tratamientos fueron superiores al testigo sin inoculación evidenciando un favorecimiento en el peso de materia seca de los nódulos por planta como resultado de la

aplicación de biofertilizantes, los tratamientos coinoculados presentaron mejores resultados respecto al inoculado coincidiendo con Veronesi (2014) y Ventimiglia & Baudrix (2012) quienes afirman que la aplicación de microorganismos al cultivo, en forma conjunta, presenta efectos benéficos a la planta, aumentan el número de nódulos por planta y consecuentemente el peso de la materia seca de los mismos.

Tratamientos	Peso de materia seca de los nódulos/ planta(mg)
<b>T1:</b> Testigo (sin inocular)	975.00 d **
<b>T2:</b> <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	1370.00 c
<b>T3:</b> PGPR( <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + <i>Pseudomonas</i> ) + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	1985.00 a
<b>T4:</b> <i>Trichoderma viride</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	1905.00 a
<b>T5:</b> <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> ) + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	1645.00abc
<b>T6:</b> <i>Penicillium Janthinellum</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	1775.00 a
<b>T7:</b> Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	1380.00 bc
<b>T8:</b> PGPR + <i>Trichoderma viride</i> + <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> ) + <i>Penicillium Janthinellum</i> + Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	1755.00 ab

\*\*significativo al nivel de 1% de probabilidad ( $p < 0,01$ )

**Tabla 3.** Aplicación de biofertilizantes en soja y su efecto sobre el peso de materia seca de los nódulos por planta.

### RENDIMIENTO

En cuanto a rendimiento, la aplicación de biofertilizantes produjo diferencia estadística altamente significativa entre las medias. En la tabla N° 4 se pueden observar las medias correspondientes al rendimiento por hectárea de cada tratamiento, que se encuentran entre 2297.25 kg ha<sup>-1</sup> y 4129 kg ha<sup>-1</sup>, resultando el T4 con el mayor rendimiento con una media de 4129 kg ha<sup>-1</sup> y el T1 con el menor rendimiento con 2297.25 kg ha<sup>-1</sup> como media, el tratamiento con mayor rendimiento corresponde a la aplicación de *Trichoderma viride*, coincidiendo con Bettioli & Morandi (2009) quienes con la realización de un trabajo en el que utilizaron el hongo mencionado obtuvieron un aumento en la productividad de un 20% respecto al testigo, esto debido a lo expresado por (Harman et al. 2004) quien afirma que entre los efectos positivos de la inoculación de plantas con *Trichoderma*, se incluyen la mejora la absorción de nutrientes, incluyendo al nitrógeno, mejora de la solubilidad de los nutrientes del suelo, mayor desarrollo de las raíces, más profundo enraizamiento y consecuentemente mayor rendimiento. Los biofertilizantes aumentan el rendimiento de la soja coincidiendo con lo expresado por Medeiros, (2002) , Vitti et al. (2004) y Santacruz (2012) quienes sostienen que los

biofertilizantes brindan buenos rendimientos en las cosechas, ofrecen facilidades para su aplicación, disminuyendo el uso de fertilizantes químicos en la agricultura.

Tratamientos	Rendimiento Kg ha <sup>-1</sup>
T1: Testigo (sin inocular)	2297.25 d **
T2: <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	2528.75 cd
T3: PGPR( <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + <i>Pseudomonas</i> ) + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	2951.00 bcd
T4: <i>Trichoderma viride</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	4129.00 a
T5. <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> ) + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	2923.00 bcd
T6: <i>Penicillium Janthinellum</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	3279.75 abc
T7: Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	3123.00 bcd
T8: PGPR + <i>Trichoderma viride</i> + <i>Mycorrhiza</i> ( <i>Glomus intraradices</i> ) + <i>Penicillium Janthinellum</i> + Microgeo + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	3655.00 ab

\*\*significativo al nivel de 1% de probabilidad (p < 0,01)

**Tabla 4.** Aplicación de biofertilizantes en soja y su efecto sobre el rendimiento por hectárea.

## 8.CONCLUSIÓN

En las condiciones del experimento se concluye que:

- La aplicación de biofertilizantes no afecta la altura de planta de soja.
- La aplicación de biofertilizantes aumenta el número de nódulos por planta y el peso de materia seca de los nódulos por planta.
- La aplicación de fertilizante biológico propicia un aumento en el rendimiento de soja.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDERETE ,C. (2014). Efecto de biorreguladores de crecimientos, fertilizante biológico e inoculantes sobre la producción soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Universidad Nacional del Este. Escuela Superior de Educación Cruce Itakyry.
- BETTIOL,W & MORANDI,M. (2009).Biocontrol de doenças de plantas: uso e perspectivas. EMBRAPA. Meio Ambiente. Jaguariuna. SP.
- BIOCULTIVOS S.A, (2015). Bodega 8 Parque Industrial Mercacentro Ibagué – Tolima. Colombia PBX. 57-8-2700221.Consultado el 10 de octubre del 2015.En línea. Disponible en: [www.biocultivos.com.co](http://www.biocultivos.com.co)

- BLOEMBERG, G.V.; LUGTENBERG, B.J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4:343-350.
- CÂMARA, G. (2000). Nitrogênio e produtividade da soja. In: CÂMARA, G. M. S. (Eds.). *Soja: s.p. Tecnologia da Produção II*. Piracicaba: ESALQ/USP, 2000. p. 295-339.
- CAPECO (Cámara Paraguaya de Exportadores Y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas). (2015). Producción de soja. Recuperado de: <http://capeco.org.py>
- FIQUENI, M. G., DURMAN, S., MORETTI, E., PUEYO, I., VACCA, M., & BOSCO, T. (2011). Co-inoculación en soja: efectos sobre nodulación, crecimiento y rendimiento.
- GREEN QUALITY, 2015. Biofertilizantes de uso agrícola. Patagonia, Argentina. Consultado el 01 de octubre del 2015. En línea. Disponible en: [www.greenquality.com.ar](http://www.greenquality.com.ar)
- HARMAN, G.E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. (2004). Interactions Between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Phytopath.* 94:147-153.
- HUNGRIA, M., CAMPO, R.J., MENDES, C.L. (2001). *Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja*. Embrapa soja. Circular Técnico. Londrina, PR, Br. 48p.
- IMSANDE. (1998). N demand and the regulation of nitrate uptake. *Plant physiol.* 105. 3-7p.
- ITAIPÚ BINACIONAL. (2015). Estación Meteorológica Itaipu. Datos climáticos Departamento de Alto Paraná, San Alberto. 2013. Recuperado de <http://www.itaipu.gov.py/es/sala-de-prensa/noticia/archivo-de-bases-meteorologicas>
- LÓPEZ, O., GONZALEZ, E, LLAMAS, P.A, MOLINAS, A.S, FRANCO, E.S., GARCÍA, S. & RÍOS, E.O. (1995). *Mapa de Reconocimiento de Suelos de la Región Oriental. Paraguay*, Banco Mundial. DMA. Esc.1500.000.
- MARCOLINO, R.,A, (2013). 48 Limeira - SP - Brasil. (en línea) disponible en: <http://www.microgeo.com.br/> . Consultado 10 Nov 2015 06:10:15
- MEDEIROS, M.B. (2002). *Ação de biofertilizantes líquidos sobre a bioecologia do ácaro *Brebipalpus phoenicis**. (Tesis Doctoral.) Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, ESALQ- USP, Piracicaba, SP, Br. 110 p.
- MEDINA J., GARZA M., RÍO Á., PRADO A. (2009). *Biofertilizante para la Agricultura .Mejor nutrición. Mayor crecimiento de raíz.* Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias .
- MICROGEO®. (2015) Adubação Biológica. (en línea) disponible en: <http://www.microgeo.com.br/> . Consultado 12 Nov 2015 05:10:15
- MONSANTO. (2016) Semillas cultivos extensivos. (en línea) disponible en: [www.monsanto.com/global/es](http://www.monsanto.com/global/es). Consultado 12 Nov 2015 05:20:10
- MORENO, ROXANA; DÍAZ-FRANCO, ARTURO; GARZA-CANO, IDALIA; RAMÍREZ-DE LEÓN, ALBERTO (2007). Brassinoesteroides e inoculación con *Glomus intraradices* en el crecimiento y la

producción de sorgo en campo. *Terra Latinoamericana*, vol. 25, núm. 1, enero-marzo, 2007, pp. 77-83 Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México.

PAREDES, M. C. (2013). *Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas*. (Tesis de grado). Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Recuperado de <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/fijacion-biologica-nitrogeno-leguminosas.pdf>

RASHID, M., S. KHALIL, N. AYUB, S. ALAM Y F. LATIF. (2004). Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under *in vitro* conditions. *Pakistan J. Biol. Sci.* 7(2), 187-196.

SANTACRUZ G. A. (2012). Uso de microorganismos como biofertilizantes. Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura. INIFAP/SAGARPA. México, 18-35

VENTIMIGLIA, L., BAUDRIX, L. T. (2012). Dosis de inoculante y complementación de Bradhyrizobim con promotores de crecimiento (PGPR), en soja. Argentina. Agencia de extensión rural INTA.

VERONESI, M. 2014. Evaluación de inoculantes y promotores de crecimiento en un cultivo de soja en Gualeguaychú, provincia de Entre Ríos [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/evaluacion-inoculantes-soja-gualeguaychu.pdf>. Consultado 17/10/2015.

VITTI, G.C., CARDOSO, E.J.B.N., PINTO, T.L.F. (2004). *Avaliação da decomposição da palha, estado nutricional, produtividade e qualidade da cana colhida sem queima a partir da aplicação do produto Microgeo*. (Trabalho técnico). Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, ESALQ-USP, Piracicaba, SP, Br. 64 p.