

Determinación del efecto nodular de bacterias nitrificantes (*Rhizobium*) en el rendimiento de ecotipos y variedades de maní

Determining the nodular effect of nitrogen fixing bacteria (*Rhizobium*) in the yield of ecotypes and varieties of peanut

Iverth Cabrera Carreon^{1,2*} Marco Antonio Barrientos Pinto¹
& Richar Edwar Lazo Cabrera^{1,2}

¹Proyecto BEISA 3, Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Mayor, Real Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Monteagudo, Bolivia.

²Carrera de Ingeniería Agroforestal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Mayor, Real Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Monteagudo, Bolivia.

* ivercito_90@hotmail.com

Resumen

El presente trabajo de investigación se realizó en las comunidades de Azero Norte y San Pedro del Zapallar, en el Municipio de Monteagudo. El objetivo, fue determinar la respuesta de los ecotipos y variedades de maní al inoculante *Rhizobium*, en condiciones de suelo con baja calidad nutricional, el diseño utilizado fue el diseño de bloques completos al azar, con 13 tratamientos y 4 repeticiones. Las variables evaluadas fueron biomasa (kg/ha), número de nódulos/planta, peso de 100 semillas y rendimiento en grano (kg/ha). La inoculación de semillas de maní con bacterias nitrificantes, incrementaron la cantidad de biomasa en el *Tubito Bayo* (T12) con 13 172.94 kg/ha en la comunidad de Azero Norte, mientras que en la comunidad de San Pedro del Zapallar el *Colorado de Bartolo* (T1), alcanzo la mayor incorporación de biomasa con promedio de 6 664.56 kg/ha. El número de nódulos por planta en la comunidad de Azero Norte y San Pedro del Zapallar el *Coloradito Chiquitano* (T7), alcanzó la mayor población nodular (483.60 y 536.93 nódulos/planta). En la comunidad de Azero Norte el rendimiento fue mayor en el *Coloradito Chiquitano* (T7) con 2 449.01 kg/ha, mientras que en la comunidad de San Pedro del Zapallar, el *Colorado de Bartolo* (T1) alcanzó 1 512.47 kg/ha, existiendo diferencias entre las localidades y siendo estos tratamientos eficientes para la producción del cultivo de maní con técnicas de inoculación.

Palabras clave: Biomasa, inoculación, nódulos, suelo

Abstract

The present investigative work was carried out in the communities of Azero Norte and San Pedro del Zapallar, in the Monteagudo Municipality. The objective was to determine the response of ecotypes and varieties of peanut to *Rhizobium* inoculum, in soil conditions with a low quality of fertility. The design used was a random block design, with 13 treatments and 4 repetitions. The variables evaluated were biomass (kg/ha), number of nodules/ plant, weight of 100 seeds and grain yield (kg/ha). The inoculation of peanut seeds with nitrifying bacteria increased the biomass quantity in *Tubito Bayo* (T12) (13 172.94 kg/ ha) in the community of Azero Norte, while in the community of San Pedro del Zapallar *Colorado de Bartolo* (T1), the highest incorporation of biomass was achieved with a mean of 6 664.56 kg/ha. The number of nodules per plant in the community of Azero Norte and San Pedro del Zapallar in *Coloradito Chiquitano* (T7) achieved the highest nodular density of (483.6 and 536.93 nodules/ plant). In the community of Azero Norte the yield was higher in *Coloradito Chiquitano* (T7) with 2 449.01 kg/ha, while in the community of San Pedro del Zapallar, in *Colorado de Bartolo* (T1) with 1 512.47 kg/ha, meaning that these are effective treatments for the production of peanut crop with inoculation techniques.

Key words: Biomass, inoculation, nodules, soil, yield

Introducción

El maní es una leguminosa con altos requerimientos de Nitrógeno (N), que obtiene tanto del suelo como de la fijación biológica de nitrógeno, se estima que este proceso contribuye entre el 60-80% de la fijación biológica de nitrógeno (FBN), esta simbiosis aporta una parte considerable del nitrógeno combinado en la tierra y permite a las plantas leguminosas crecer sin fertilizantes nitrogenados y sin empobrecer los suelos (Cuadrado et al. 2009). El maní se siembra generalmente en suelos pobres en nitrógeno, pero ventajosamente el maní se puede inocular teniendo la capacidad de formar una asociación con *Rhizobium* que son bacterias que captan nitrógeno del aire, localizados en nódulos formados en la raíz (Cerioni et al. 2007). El nitrógeno una vez convertido en alimento para la planta contribuye con el desarrollo vegetal (altura, follaje y vigor) y por lo tanto ayuda a aumentar en gran escala el rendimiento del maní (Jeres et al. 2004)

El nitrógeno es el nutriente más importante de los cultivos por su rol en los sistemas biológicos, la complejidad de su ciclo y su participación en los sistemas de producción hace que la deficiencia de Nitrógeno como factor limitante en la productividad de las plantas, afectarían el desarrollo de la simbiosis leguminosa-*Rhizobium* (Fassbende & Bornemisza 1994). La gran necesidad de Nitrógeno de las plantas y la limitada habilidad de los suelos para suministrarlo hace que sea en general, el nutriente más limitante para la producción agrícola.

La importancia de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa radica en la capacidad del nuevo órgano formado “el nódulo” para transformar el nitrógeno atmosférico en nitrógeno asimilable para la planta, con lo que se incorpora a la cadena nutritiva. La interacción simbiótica entre las bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) y las leguminosas, se establece a través de un intenso intercambio de señales entre ambos simbiosis, donde se destaca la liberación de compuestos isoflavonoides por la raíz que inducen la síntesis de los factores de la nodulación en la bacteria (Hamdi 2008, Suárez 2013).

Según Wynne et al. (1987), la fijación biológica de nitrógeno en la mayoría de los casos no expresa su máximo potencial debido a que está condicionada por factores abióticos como el suelo, la humedad,

temperatura y horas luz; por esto, es necesario determinar las interacciones genotipo-cepa de *Rhizobium* que presente respuestas superiores en determinadas condiciones abióticas. La habilidad fijadora de nitrógeno y la eficiencia de ésta puede variar entre cepas de *Rhizobium* y los genotipos de la planta cultivada, a mayor especificidad se maximizan la formación de nódulos y por ende el proceso de fijación (Halliday et al. 1982). Mediante la utilización de las técnicas de inoculación con *Rhizobium* que por sus funciones llega a ser un fertilizante natural como una práctica agroecológica muy adecuada, para evitar en gran medida el uso de fertilizantes químicos (Cabrera et al. 2014.)

Siendo el cultivo de maní uno de los principales en importancia económica después del maíz, para las familias en las comunidades de Azero Norte y el Zapallar, es importante mantener el equilibrio productivo, incentivando al incremento de la producción a través de la incorporación de nuevas técnicas que vayan a mejorar el proceso productivo e incrementar los rendimientos y plantear alternativas donde los resultados de estas técnicas se puedan integrar, de manera productiva y rentable. Es así que con la presente investigación, se buscó mejorar las prácticas agroecológicas mediante la aplicación del inoculante *Rhizobium* en ecotipos y variedades del cultivo de maní como prácticas productivas y herramientas para mejorar las condiciones productivas del Municipio de Monteagudo, y lograr experiencias en su introducción y validación en las comunidades aledañas.

Materiales y Métodos

Área de estudio.

La investigación se realizó en las comunidades de Azero Norte y San Pedro del Zapallar, cantón Los Sauces del Municipio de Monteagudo, provincia Hernando Siles del departamento de Chuquisaca. Las comunidades además se encuentran dentro del área protegida “Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Serranía del Ñaño” (PN-ANMI), en las coordenadas geográficas 19°34'06.3" LS y 63°59'25.3" LW, a una altitud de 950 m. La comunidad de San Pedro del Zapallar está ubicada en las coordenadas geográficas 19° 47'30" LS 64° 09' 15" LW (Cerezo 2011, SERNAP 2013, Lozano et al. 2013).

Diseño experimental

El ensayo de campo se realizó en dos parcelas experimentales en las comunidades de Azero Norte y San Pedro del Zapallar, en un área de 837.20 m² cada una. La disposición de las sub parcelas se estructuró en un diseño de bloques completos al azar (BCA), aplicando 13 tratamientos con cuatro repeticiones, haciendo un total de 52 unidades experimentales, donde los tratamientos fueron una combinación de parcelas cultivadas de maní inoculadas con la bacteria nitrificante *Rhizobium* a una dosis de 21.90 gr, como se indica en la Tabla 1. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (Reyes 1981, Balzarini et al. 2008, Ramón 2000, & Guzmán 2002, Morales et al. 2009) usando el programa estadístico *InfoStat* y se compararon las medias con pruebas de Tukey al 0.05 de significancia.

Tabla 1. Tratamientos evaluados en el trabajo de investigación.

Nº	Tratamientos	Dosis de aplicación de <i>Rhizobium</i>
1	Colorado de Bartolo	
2	AN - 1355	
3	Guaraní - 2010	
4	Blanco Paradito	
5	Colorado Iboerenda	
6	Bayo Gigante	21.9 gr de
7	Coloradito Chiquitano	Rhizobium/21.9 litros de
8	Coloradito del Ingre	agua
9	AN - 1890	
10	Coloradito	
11	Overo Bola	
12	Tubito Bayo	
13	L - 1288	

Tabla 2. Descripción de las siete variables evaluadas en la inoculación del cultivo de maní.

VARIABLES Agronómicas:	Descripción
Biomasa (kg/ha)	Peso de biomasa de cada UE, se pesó todo el follaje de las plantas dentro del área útil.
Número de nódulos por planta	Se evaluó 10 plantas tomadas al azar de cada en cada UE, se cortaron las raíces y se contó el número de nódulos de cada una de las raíces. Para el procesamiento de las muestras se tuvieron en cuenta las técnicas descritas por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT 1988)
Peso de 100 granos	100 granos tomados al azar por tratamiento, el peso se expresó en kg. Cosecha de los dos surcos centrales de cada UE de cada tratamiento.
Rendimiento en grano (Kg/ha)	Para el análisis de las cosechas se utilizó la ecuación de rendimiento de granos de maní en kg/ha (<i>Rend</i>), donde <i>PC</i> = peso de campo del maní en vaina en kg/ha; <i>Sup.parc</i> = superficie en m ² ; <i>Hum cosech</i> =humedad del grano a la cosecha; <i>Hum estand</i> = humedad estándar para el maní en grano al 9%= 1 kg de vainas (Blanco 2005). $Rend. (Kg/ha) = PC (Kg/ha) \times \frac{(10.000)}{(Sup. parc)} \times \frac{(100 - Hum cosech)}{(100 - Hum estand)} \times (\% \text{ de grano})$

Resultados

Peso de la Biomasa incorporada (Kg/ha) al suelo

De acuerdo a la Figura 1, de análisis de la varianza, la biomasa incorporada por los ecotipos y variedades en la parcela de Azero Norte, no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p= 0.0680$) y mediante la comparación de medias Tukey, el

T12 (*Tubito Bayo*) alcanzo la mayor incorporación de biomasa con un promedio de 13 172.94 kg/ha; seguido del T4 (*Blanco Paradito*) con 12 649.61 kg/ha; T1 (*Colorado de Bartolo*) reportó 8 261.76 kg/ha y por último el T13 (*L-1288*) con 6 466.30 kg/ha y T3 (*Guaraní 2010*) con 4 839.71 kg/ha, que fueron los ecotipos y variedades que presentaron menor biomasa.

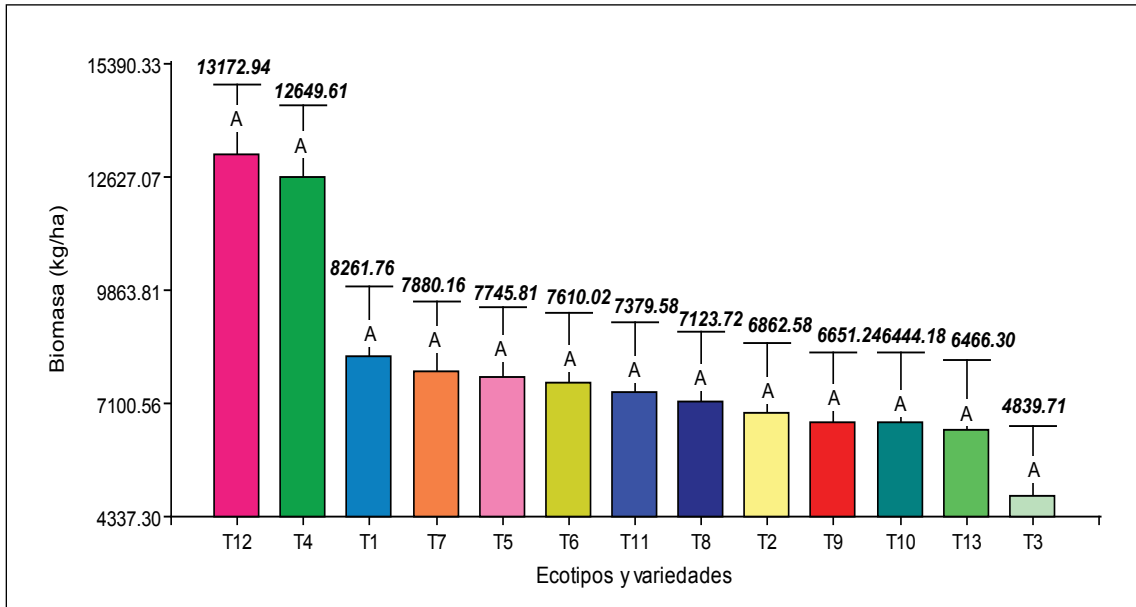


Figura 1. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* en la cantidad de biomasa incorporada (kg/ha), en la parcela experimental de Azero Norte.

En cambio en la comunidad Zapallar la biomasa incorporada por los ecotipos y variedades de maní, muestran diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.001$), siendo que con la prueba de comparación de medias Tukey el T1 (*Colorado de Bartolo*) alcanzó el valor más alto de biomasa con un promedio de (6 664.56 kg/ha), siendo diferente

estadísticamente al resto de los tratamientos, seguido del T5 (*Colorado de Iboperenda*) con 6 486.23 kg/ha, y el T10 (*Coloradito*) que pesó 5 185.17 kg/ha y por último el T13 (*L-1288*) con 2 772.75 kg/ha y T2, *AN-1355* con 2 157.57 kg/ha que fueron los tratamientos que presentaron la menor biomasa de las plantas en comparación a los demás tratamientos (Fig. 2).

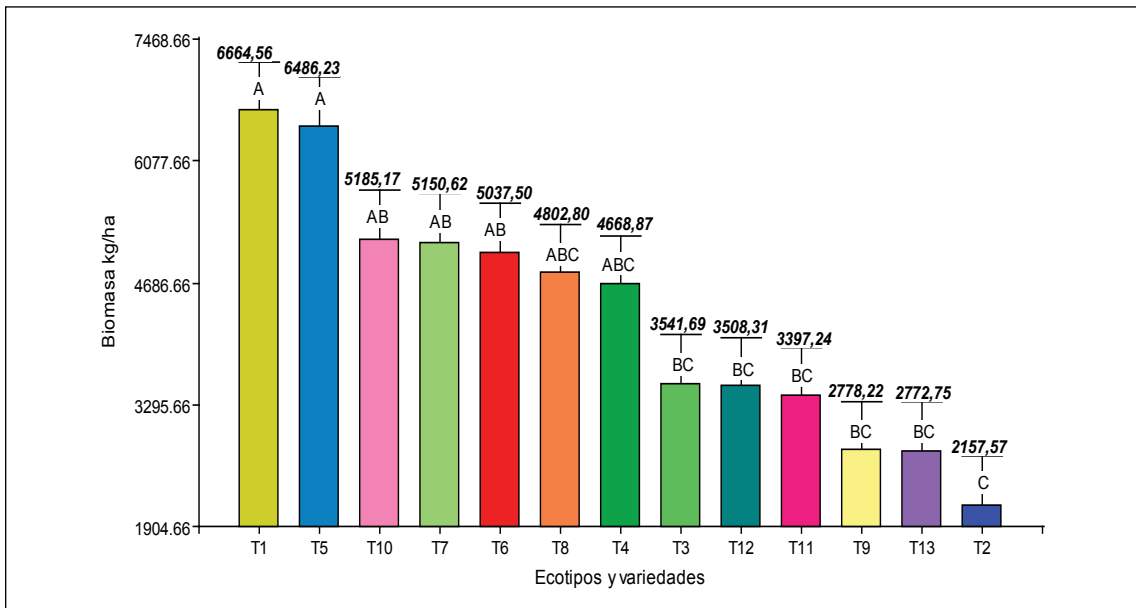


Figura 2. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* en la cantidad de biomasa incorporada (kg/ha), en la parcela experimental de Zapallar.

Relación del número de nódulos/planta

En la parcela de Azero Norte, la variable número de nódulos/planta, muestra diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.001$), indicando distintas habilidades de las cepas de *Rhizobium* para colonizar los ecotipos y variedades de maní. El tratamiento T7 (*Coloradito Chiquitano*), tiene el mayor número de nódulos con un promedio de 483.60 nódulos, siendo diferente estadísticamente al resto de los tratamientos, seguido del T8 (*Coloradito del Ingre*) con 448.65 nódulos, T6 (*Bayo Gigante*) con 432.18 nódulos, T13 (*Overo Bola*) con 270.93 nódulos y T10,

Coloradito (262.58 nódulos) fueron los tratamientos que presentaron el menor número de nódulos por planta (Fig. 3).

También la parcela del Zapallar mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.001$), donde el tratamiento T7 (*Coloradito Chiquitano*), tuvo el mayor promedio de nódulos (536.93) seguido de T6 (*Bayo Gigante*) con 518.38 nódulos, T10 (*Coloradito*) con 473.93 nódulos. El T11 (*Overo Bola*) con 243.30 nódulos y T13 (*L-1288*) fueron los tratamientos que presentaron el menor número de nódulos por planta (Fig. 4).

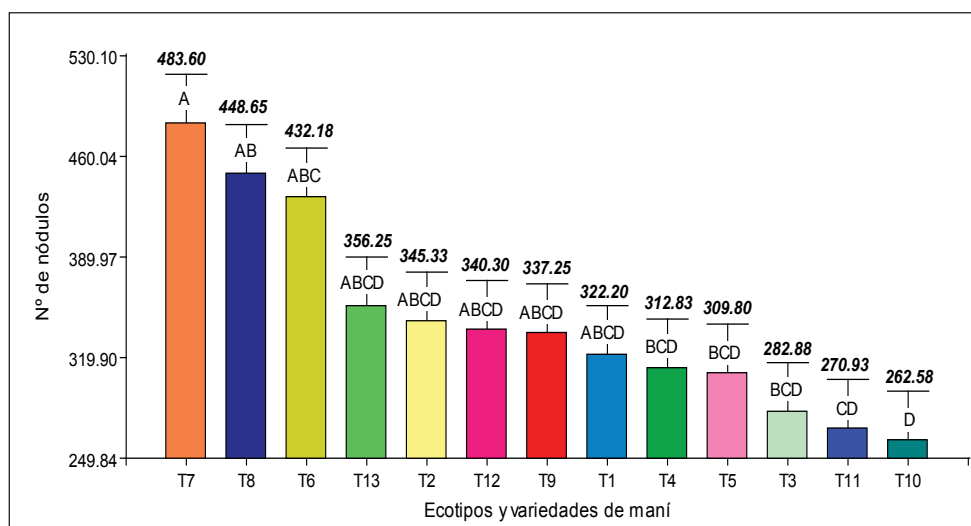


Figura 3. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el número de nódulos/planta, en la parcela experimental de Azero Norte.

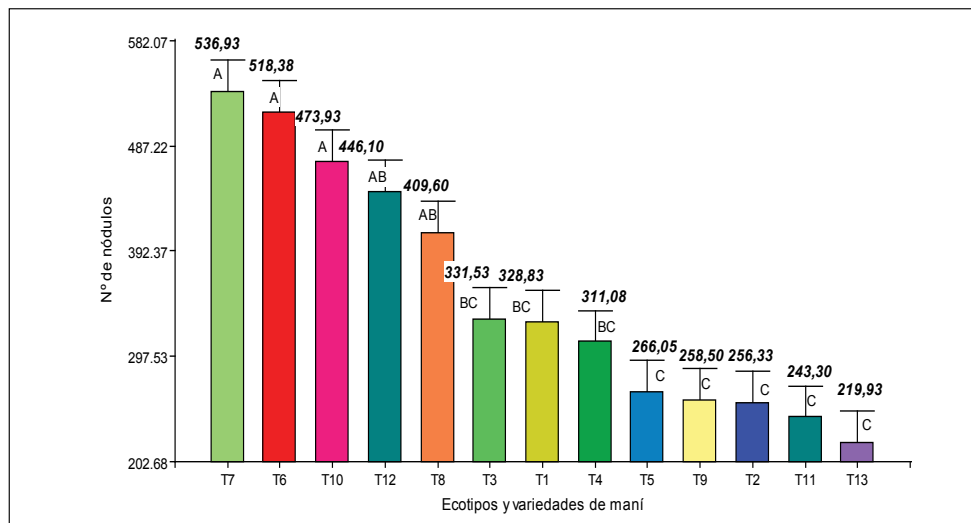


Figura 4. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el número de nódulos/planta, en la parcela experimental del Zapallar

Rendimiento en grano (kg/ha).

Para la parcela de Azero Norte se determinó que el tratamiento T7 (*Coloradito Chiquitano*), con 2449.01 kg/ha, obtuvo el mejor rendimiento/ha, seguido por los tratamientos T1 (*Colorado de Bartolo*) con 2340.14 kg/ha, T9 (*AN-1890*) tuvo 2321.15 kg/ha. Mientras que el T3 (*Guarani 2010*) con 1412.86 kg/ha y T10 (*Coloradito*) con 1323.37 kg/ha, fueron los tratamientos que presentaron los rendimientos más bajos (Fig. 5).

De la parcela del Zapallar también el rendimiento (kg/ha) de los ecotipos y variedades, mostró diferencias significativas ($p < 0.001$), con el tratamiento T1 (*Coloradito de Bartolo*) que obtuvo 1512.47 kg/ha seguido de T6 (*Bayo Gigante*) con 1452.83 kg/ha; y el T12 (*Tubito Bayo*); T3 (*Guarani 2010*) y T2 (*AN-1355*) fueron los tratamientos que presentaron menor rendimiento (Fig. 6).

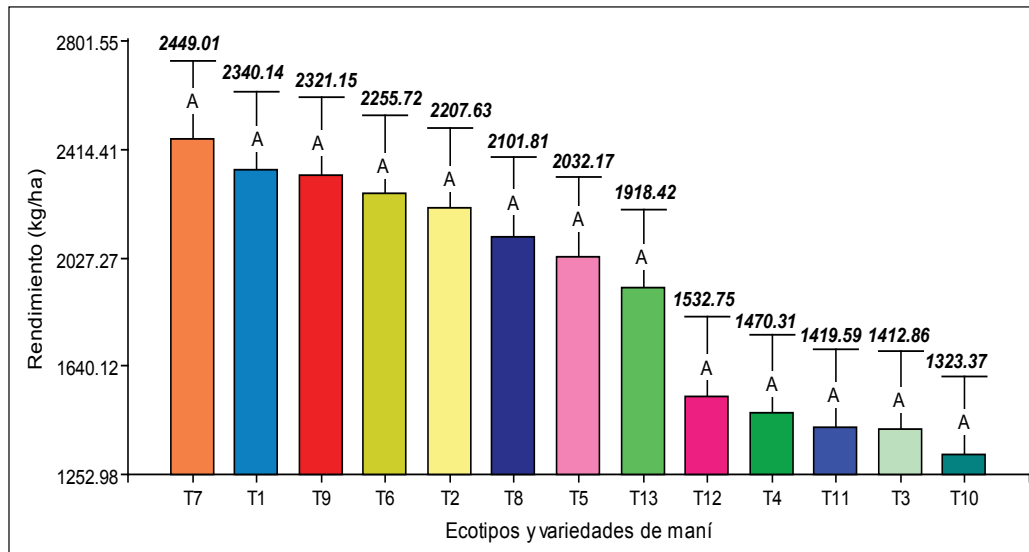


Figura 5. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el rendimiento en (kg/ha), en la parcela experimental de Azero Norte

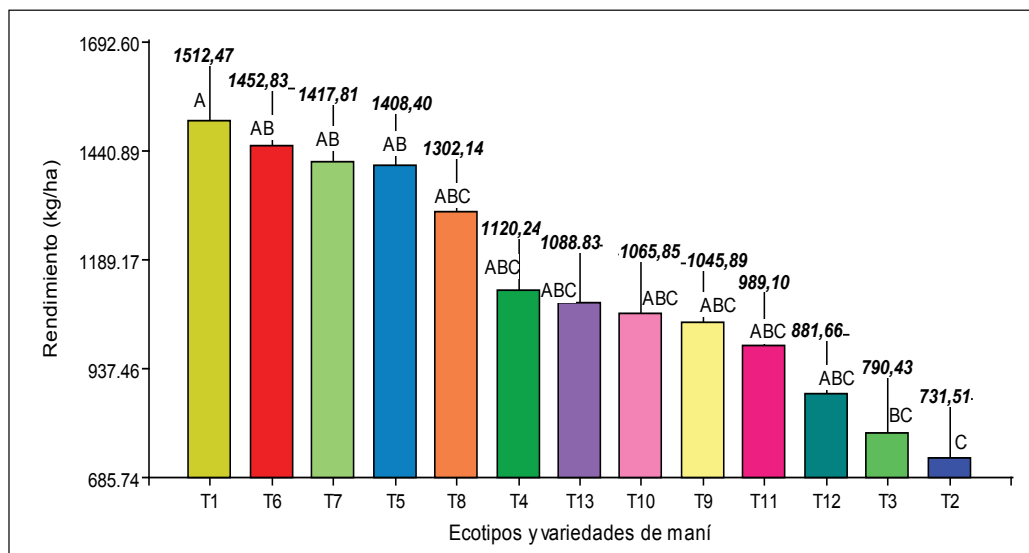


Figura 6. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el rendimiento en (kg/ha), en la parcela experimental de Zapallar

Análisis del número de nódulos/planta y rendimiento en grano entre localidades

La variable número de nódulos/planta entre localidades, muestran diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.0001$), donde en la localidad de San Pedro del Zapallar las plantas alcanzaron el mayor valor (353.88 nódulos/planta), en relación a la localidad de Azero Norte con 346.52 nódulos, que produjo el menor número de nódulos por planta (Fig. 7a). El rendimiento en vaina seca (kg/ha) de la misma manera muestran diferencias significativas. En la localidad de Azero Norte los ecotipos y variedades alcanzaron en total 1 906.53 kg/ha y en la localidad de San Pedro del Zapallar 1 139.01 kg/ha (Fig. 7b).

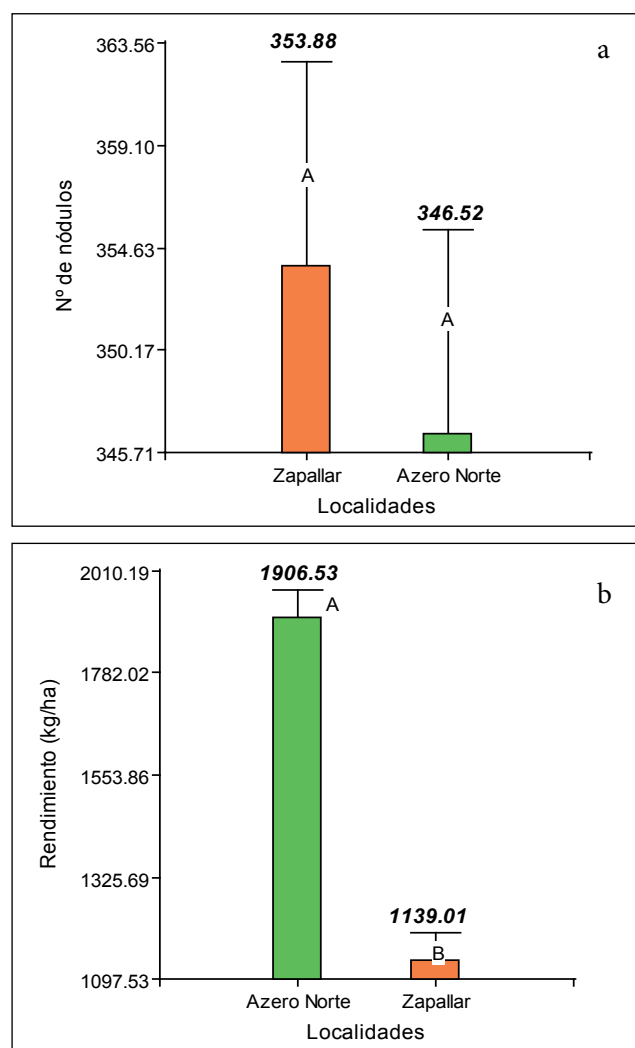


Figura 7. Comparación del efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el a) número de nódulos/planta y b) el rendimiento en dos localidades del municipio de Monteagudo.

Discusión

Efecto nodular de las bacterias nitrificantes en ecotipos y variedades de maní

El género *Rhizobium* ha sido estudiado con fines agronómicos para cubrir la deficiencia de nitrógeno en el suelo (Hardarson & Craig 2003, Jackson et al. 2008). En el análisis del efecto nodular en los diferentes ecotipos y variedades de maní cultivados en las comunidades de Azero Norte se observaron diferencias entre los tratamientos donde el *Coloradito Chiquitano* (483.60 nódulos), el *Coloradito del Ingre* (448.65 nódulos), presentaron el mayor número de nódulos por planta y en la comunidad de San Pedro del Zapallar, se muestran diferencias entre los tratamientos, siendo mayor en el *Coloradito Chiquitano* (536.93 nódulos), y *Bayo Gigante* (518.38 nódulos). Estas diferencias se manifiesta, porque mediante la inoculación con *Rhizobium* se forma una simbiosis con las raíces de los ecotipos y variedades de maní, influyen factores de genotipo, y otros externos como tipo de suelo, humedad y otros factores ambientales (Martínez & Dibut 2006, Oldroyd & Downie 2008).

Efecto de la aplicación de inoculantes *Rhizobium* en el rendimiento en los ecotipos y variedades de maní

El rendimiento en grano es la variable principal en cualquier cultivo y determina la eficiencia con que las plantas hacen uso de los recursos existentes en el medio unido al potencial genético de la variedad, por lo tanto es el resultado de un sin número de factores biológicos ambientales y manejo que se le da al cultivo, los cuales se relacionan entre sí para expresarse en producción de grano por hectárea (Alvarado 2000). En la comunidad de Azero Norte se observó que el *Coloradito Chiquitano* (2 449.01 kg/ha) obtuvo el mayor rendimiento, *Colorado de Bartolo* (2 340.14 kg/ha), *AN-1890* (2 321.15 kg/ha) y *Bayo Gigante* (2 255.72 kg/ha) y en la comunidad de San Pedro del Zapallar *Colorado de Bartolo* (1 512.47 kg/ha), *Bayo Gigante* (1 452.83 kg/ha) y *Coloradito Chiquitano* (1 417.81 kg/ha) fueron los tratamientos que presentaron los mejores rendimientos, estos datos indican que los rendimientos varían de acuerdo al potencial del material genético (Becana & Begmar 1991, Zamudio 2009), las condiciones climáticas y de manejo del cultivo (Guamán & Álava 2004, Jerés et al. 2004, Peticari 2006). Comparando estos

resultados con los reportados por Villalba (2014), quien utilizando algunos ecotipos y variedades de maní, encontró resultados inferiores en un estudio de control de plagas y enfermedades en el cultivo de maní en la misma comunidad. Por otro lado, similares resultados de rendimiento fueron obtenidos por Barrientos & Fuentes (2013), quienes utilizaron la variedad colorado de Iboperenda (1 578.40 kg/ha) en agroecosistemas similares al presente estudio, aunque sin el uso de inoculantes.

Estos resultados nos indican que la inoculación de diferentes ecotipos y variedades de maní con *Rhizobium* tienen un excelente potencial para que sea utilizado como promotor de crecimiento de plantas, así mismo se constituye como un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable para reducir el uso de fertilizantes químicos.

Conclusiones

Para el número de nódulos por planta en la comunidad de Azero Norte y San Pedro del Zapallar el ecotipo *Coloradito Chiquitano* (T7), alcanzó la mayor población nodular en relación a los otros tratamientos alcanzando un promedio de 483.60 nódulos/planta en la comunidad de Azero Norte y 536.93 nódulos/planta en la comunidad de San Pedro del Zapallar.

Mediante la aplicación de inoculantes en la producción de maní, en la comunidad de Azero Norte, obtuvieron mayor rendimiento el ecotipo *Coloradito Chiquitano* (T7), el 2 449.01 kg/ha, seguido del ecotipo *Colorado de Bartolo* (T1) con 2 340.14 kg/ha. Mientras que en la comunidad de San Pedro del Zapallar, el rendimiento del ecotipo *Colorado de Bartolo* (T1), fue mayor con 1 512.47 kg/ha y *Bayo Gigante* (T6) alcanza el segundo valor más importante con 1 452.83 kg/ha, siendo estos tratamientos más eficientes para la producción del cultivo de maní con técnicas de inoculación.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca, por la oportunidad de difundir estos resultados. A la Ing. Martha Serrano y Heriberto Reynoso por la motivación para escribir el presente artículo y apoyo logístico durante la ejecución del presente trabajo. De la misma manera a los productores de las comunidades de Azero Norte y San Pedro del Zapallar por la grata acogida en la región.

Referencias

- Balzarini, G.M., L. González, E.M. Tablada, Casanoves. J.A. Di Rienzo. & C.W. Robledo. 2008. Infostat. Manual de Usuario. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. 20-256.
- Barrientos, M., V. Fuentes & Acebey, R. 2013. Evaluación de periodos críticos y determinación de parámetros técnicos para el control de malezas en el cultivo de maní (*Arachis hypogaea* var. Colorado de Iboperenda) en la comunidad de Azero norte (Chuquisaca, Bolivia) 8-14.
- Becana, M. & E. Begmar. 1991. Metabolismo del nitrógeno y oxígeno en nódulos de leguminosas. In: Fijación y movilización biológica de nutrientes. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. España. p. 33-50.
- Blanco, E. 2005. Guía técnica para el mejoramiento de variedades vegetales de maní (*Arachis hypogaea* L.). Ministerio de asuntos campesinos y agropecuarios. Programa nacional de semillas. s.l. 12.
- Cabrera, I., R.E. Lazo & R. Vallejos. 2014. Inoculación de semillas de ecotipos y variedades de maní. Boletín informativo serie 3 No 1. IASA – Beisa 3. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca. Monteagudo – Bolivia. 4.
- Cerezo, E. 2011. Estudio Socioeconómico. En: Plan de manejo del Parque nacional y área natural de manejo integrado Serranía del Iñao.
- Cerioni, G., M. Baliña, D. Toniotti, O. Giayetto & E. Fernandez. 2007. Inoculación de maní aplicada en el surco. Biomasa, componentes del rendimiento y calidad. Dpto. de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía y Veterinaria. Buenos Aires, Argentina Dirección: <http://www.ciacabrera.com.ar/InfoJornadas/Jornada22/Cerioni%20Guillermo%20-%20Inoculaci%C3%B3n%20al%20suelo.pdf> (en línea 14 de Enero 2014).
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1988. “Simbiosis leguminosa-Rizobio. Manual de métodos de evaluación, selección y manejo agronómico”, CIAT Eds., Cali, p. 203.
- Cuadrado, B. G. Rubio, W. Santos. 2009. Caracterización de cepa de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de frijol caupi

- (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm. Vol.38 No.1 Bogotá.
- Fassbende, H.W. & E. Bornemisza. 1994. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura Eds., San José, 1994, p. 420.
- Guzmán, P. 2002. Diseño y análisis de experimentos agrícolas y pecuarios. U.M.R.P.S.F.X.CH. Sucre, Bolivia. 20-31.
- Halliday, J., & P. Somasegaran. 1982. Nodulation, fixation, and Rhizobium Strain affinities in the genus *Leucaena*, Asian-pacific. Internationale Development Research Center. 27- 32
- Hamdi, Y.A. 2008. La fijación biológica del nitrógeno. FAO Eds., Roma.
- Hardarson. G. & A. Craig. 2003. Optimising biological N₂ fixation by legumes in farming systems. Plant and soil. 252(1):41-54.
- Jackson, L., E. Burger & T. Cavagnaro. 2008. Roots, nitrogen transformations, and ecosystem services. s.l.
- Jerés, M., G. Bernal, R. Guzmán. & J. Ullauri. 2004. Preparación (inoculación) de semilla de maní con bacteria *rhizobium*. Departamento nacional de protección vegetal – INIAP. Quito Ecuador.
- Lozano, R., M.A. Barrientos, P. Kudsk & R. Acebey. 2013. Malezas de los agroecosistemas del Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Serranía del Iñao: “Guía para identificar malezas de hoja ancha, pastos y similares. Beisa 3, Herbario del Sur de Bolivia, Universidad Mayor de San Francisco Xavier de Chuquisaca. Sucre, Bolivia. 18-19.
- Martínez, R. & B. Dibut. 2006. Practical Applications of bacterial biofertilizers and biostimulators. In: Biological approaches to sustainable soil systems. Taylor and Francis group, LLC. 764.
- Morales, J., J.L. Quemé & M. Melgar. 2009. Infostat manual de usos: ejemplos de los principales métodos estadísticos utilizados en la industria cañera. Centro Guatemalteco de investigaciones y capacitación de la caña de azúcar (CENGICAÑA). Santa Lucia, Guatemala. 1-43.
- Oldroy, G. & J. Downie. 2008. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. s.l.
- Perticari, A. 2006. Pasturas de alfalfa: importancia de una adecuada inoculación. MYZA- CICVyA – INTA. 1-5.
- Ramón, G. 2000. Diseños experimentales. Apuntes de clase del curso seminario investigativo VI. Colombia 1-38.
- Reyes, P. 1981. Diseño de experimentos aplicados. Mexico D.F. Trillas. 348.
- SERNAP. 2013. Plan de manejo del Parque Nacional y Área Natural de Manejo Integrado Serranía del Iñao. Documento síntesis del plan (2012 – 2021). Sucre, Bolivia. 36p.
- Suárez, A. 2013. Efecto De Inoculación de Rhizobium en el Crecimiento y Nutrición de Plántulas de Soya, en la Zona de Manglaralto, Cantón Santa Elena (Doctoral dissertation).
- Wynne, J.C., F. A. Bliss & J. C. Rosas. 1987. Principal and Practice of Field Designs to Evaluate Symbiotic Nitrogen Fixation. In: G. Elkan (ed.), Symbiotic Nitrogen Fixation Technology. Marcel Dekker Inc., New York. pp 371-388.
- Zamudio, F. 2009. Importancia de la fuente de semilla en el mejoramiento genético forestal. Universidad de Talca. Dirección: http://colbun.otalca.cl/intercambio/otros/mgforestal/Manual_Adobe/apunte004.pdf (En línea: 25 de junio de 2014).