



Pastos y Forrajes
ISSN: 0864-0394
ISSN: 2078-8452
tania@ihatuey.cu
Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio
Hatuey"
Cuba

Efecto de la aplicación de tres cepas de *Bradyrhizobium* en el desarrollo morfoagronómico de *Glycine max* L.

Romero-Arias, Aracelis; Ruz-Reyes, Raquel María; Nápoles-García, María Caridad; Gómez-Padilla, Ernesto Javier; Rodríguez-Rodríguez, Sergio
Efecto de la aplicación de tres cepas de *Bradyrhizobium* en el desarrollo morfoagronómico de *Glycine max* L.
Pastos y Forrajes, vol. 42, núm. 4, 2019
Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Cuba
Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269162670006>

Efecto de la aplicación de tres cepas de *Bradyrhizobium* en el desarrollo morfoagronómico de *Glycine max* L.

Effect of the application of three *Bradyrhizobium* strains on the morphoagronomic development of *Glycine max* L.

Aracelis Romero-Arias

Universidad de Las Tunas Vladimir Ilich Lenin, Cuba

aracelisra@ult.edu.cu

 <http://orcid.org/0000-0002-0331-6954>

Redalyc: [http://www.redalyc.org/articulo.oa?](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269162670006)

id=269162670006

Raquel María Ruz-Reyes

Universidad de Las Tunas Vladimir Ilich Lenin, Cuba

 <http://orcid.org/0000-0001-9382-1622>

María Caridad Nápoles-García

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba

 <http://orcid.org/0000-0003-1413-1717>

Ernesto Javier Gómez-Padilla

Universidad de Granma, Cuba

 <http://orcid.org/0000-0002-3055-8203>

Sergio Rodríguez-Rodríguez

Universidad de Granma, Cuba

 <http://orcid.org/0000-0003-3957-547X>

Recepción: 12 Junio 2019

Aprobación: 14 Septiembre 2019

RESUMEN:

Objetivo: Evaluar la efectividad de tres cepas de *Bradyrhizobium* en el desarrollo morfoagronómico de *Glycine max* L., cultivar Incasoy 27, en el municipio Puerto Padre.

Materiales y Métodos: Se desarrolló un estudio en condiciones de campo, en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo del municipio Puerto Padre, Las Tunas, Cuba. Se aplicó un diseño de bloques al azar con cinco tratamientos (control absoluto, fertilización con NPK y las cepas de *Bradyrhizobium*, ICA 8001, USDA 110 y GIE 109) y cuatro réplicas. La distancia entre réplicas fue de 1 m y la semilla tenía 98 % de germinación. Durante el ciclo del cultivo, se evaluó el número de vainas por planta, el número de granos por vaina, el peso de 100 granos, el rendimiento en $t\ ha^{-1}$ y se realizó una valoración económica.

Resultados: El menor número de vainas por planta se obtuvo en el control absoluto, sin diferir del tratamiento con NPK. A su vez, ambos difirieron estadísticamente ($p > 0,05$) de los tratamientos con *Bradyrhizobium*. También el número de granos por vainas fue mayor en los tratamientos inoculados, que difirieron significativamente del control. El mayor rendimiento de granos se obtuvo en las plantas inoculadas, con valores entre 1,06 y 1,23 $t\ ha^{-1}$.

Conclusiones: La aplicación de cepas de *Bradyrhizobium* influyó positivamente en los indicadores morfoagronómicos del cultivo, lo que permite disminuir el uso de los fertilizantes minerales.

PALABRAS CLAVE: abonos orgánicos, inoculación, rendimiento.

ABSTRACT:

Objective: To evaluate the effectiveness of three *Bradyrhizobium* strains in the morphoagronomic development of *Glycine max* L., cultivar Incasoy 27, in the Puerto Padre municipality.

Materials and Methods: A study was conducted under field conditions, on a reddish Brown Fersialitic Soil of the Puerto Padre municipality, Las Tunas, Cuba. A randomized block design was applied with five treatments (absolute control, fertilization with NPK and the *Bradyrhizobium* strains, ICA 8001, USDA 110 and GIE 109) and four replicas. The distance between replicas was

1 m and the seed had 98 % germination. During the cultivation cycle, the number of pods per plant, number of grains per pod, weight of 100 grains, yield in $t\ ha^{-1}$ were evaluated and an economic assessment was made.

Results: The lowest number of pods per plant was obtained in the absolute control, without differing from the treatment with NPK. In turn, both differed statistically ($p > 0,05$) from the treatments with *Bradyrhizobium*. The number of grains per pods was also higher in the inoculated treatments, which differed significantly from the control. The highest grain yield was obtained in the inoculated plants, with values between 1,06 and 1,23 $t\ ha^{-1}$.

Conclusions: The application of Bradyrhizobium strains positively influenced the morphoagronomic indicators of the crop, which allows to decrease the use of mineral fertilizers.

KEYWORDS: organic fertilizers, inoculation, yield.

INTRODUCCIÓN

Los biofertilizantes constituyen una alternativa económica y ecológica sustentable en el manejo integrado de los cultivos. Permiten reducir los insumos externos, mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos, así como garantizar mayor eficiencia de los fertilizantes minerales (León y Mesa, 2016). Llegan a ser, junto a los bioplaguicidas, insumos clave en la producción agrícola sustentable (Pathak y Kumar, 2016). Entre ellos, los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y el Bradyrhizobium, se utilizan ampliamente a escala mundial en la fertilización de cultivos de importancia económica.

El uso de biofertilizantes en los sistemas de producción agrícola ha alcanzado gran auge en la actualidad, especialmente para lograr mayor cantidad y disponibilidad de nutrientes asimilables por la planta y para acelerar todos los procesos microbianos de descomposición y síntesis que ocurren en el suelo. Los biopreparados contribuyen así a la fertilidad de los suelos y al rendimiento sostenible de los cultivos, con la consiguiente conservación del medio ambiente (Dibut-Álvarez et al., 2010). Por esta razón, el uso de microorganismos en sustitución de fertilizantes inorgánicos es de gran importancia, al garantizar la producción natural e inocua de los cultivos.

En el 2016, Cuba exportó 2,77 miles de millones de dólares en alimentos e importó \$ 13,6. De estos últimos, \$ 13,3 millones se invirtieron en harina de soya (*Glycine max* L. Merrill), con un saldo comercial negativo de \$ 10,9 miles de millones, según Organismos Evaluadores de la Conformidad (OEC, 2017). Esta realidad obliga a buscar alternativas menos costosas para la obtención de este producto.

El alto contenido de proteína que contiene un grano de harina lo convierte en el cultivo con mayor demanda de nitrógeno. Este requerimiento lo puede cubrir a partir del aporte del suelo (por la mineralización de nitrógeno orgánico) y la fertilización. En su carácter de leguminosa, por medio de la fijación biológica de nitrógeno, puede satisfacer hasta 90 % del nitrógeno necesario (Pastorino, 2016).

En el municipio Puerto Padre, en la provincia Las Tunas, Cuba, los rendimientos agrícolas del cultivo son bajos y varían entre 0,8 y 1,0 $t\ ha^{-1}$. Para contrarrestar el efecto negativo de la fertilización química, en los últimos tiempos se ha incrementado el uso de biofertilizantes, que permite a las plantas superar el estrés ocasionado por las condiciones adversas del medio.

Por todo lo anterior, este estudio se desarrolló para evaluar la efectividad de tres cepas de Bradyrhizobium en el desarrollo morfoagronómico de *Glycine max* L, cultivar Incasoy 27, en el municipio Puerto Padre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. La investigación se desarrolló en condiciones de campo, en un suelo Fersialítico, Pardo Rojizo (Hernández-Jiménez et al., 2015), entre el 8 de noviembre de 2018 y el 8 de febrero de 2019, en la finca La Cana, perteneciente a la Cooperativa de Créditos y Servicios (CCS) Paco Cabrera, en la localidad de Vázquez, municipio Puerto Padre. La finca está situada en el km 40 de la carretera Las Tunas-Puerto Padre, Nueve

Palmas. Cuenta con un área total de 1,28 ha y se encuentra ubicada geográficamente en las coordenadas N 21°07'21.17" y WO 76°40'25.0".

Características del suelo en el área experimental. Para conocer los indicadores del suelo, se tomaron muestras a 20 cm de profundidad mediante la técnica experimental de muestreo de forma cuadriculada (Almendros et al., 2010). Se procedió al secado y tamizado a través de una malla de 2 mm. Se determinó el pH mediante el método potenciométrico y la materia orgánica, según Walkley y Black (1934). El fósforo disponible se calculó por el método de Olsen et al. (1954) con espectrofotometría molecular (EDULST01-13). La capacidad de intercambio catiónico (CIC), cationes de cambio (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^{+} , K^{+}) y capacidad de cambio de bases (CCB) se hallaron por el método de Mehlich (1984), modificado (NC-65:2000) (tabla 1).

Indicador	Valor
MO, %	2
pH, KCL	8,26
CE, dS m^{-1}	0,4
Ca^{2+} , cmol(+) kg^{-1}	20
Mg^{2+} , cmol(+) kg^{-1}	10
K^{+} , cmol(+) kg^{-1}	0,17
Na^{+} , cmol(+) kg^{-1}	0,06
P_2O_5 , ppm	12,5

Tabla 1. Algunos componentes de la fertilidad del suelo (0-20 cm).

Diseño experimental y tratamientos. Se aplicó un diseño de bloques al azar, con cinco tratamientos y cuatro réplicas, en parcelas con superficie de 11,2 m² (2,80 x 4 m) y cuatro surcos. Se tomaron los dos centrales (5,6 m²) como área de cálculo. La distancia entre réplicas fue de 1 m y se utilizó el cultivar Incasoy-27, proveniente del INCA, con 98 % de germinación. Los tratamientos fueron los siguientes: Control absoluto, Fertilización con NPK, Bradyrhizobium cepa E 109; Bradyrhizobium cepa USDA 110 y Bradyrhizobium elkanii cepa ICA 8001.

Procedimiento experimental

La fitotecnia del cultivo se realizó según lo establecido por el instructivo técnico (Hernández y Bello, 2010).

La siembra se realizó el 8 de noviembre del 2018 de forma manual y se colocaron dos semillas por nido, a profundidad de 4 cm, con distancia entre surcos de 0,70 y 0,10 m entre plantas.

Durante el ciclo del cultivo, se aplicaron siete riegos mediante la tecnología de aspersión en los períodos críticos de demanda hídrica, enmarcados en las etapas de prefloración, floración, formación de la vaina y llenado del grano, con intervalo de 7 a 8 días, en dependencia del período de lluvia.

Para satisfacer las demandas nutricionales del cultivo, se aplicó una dosis de 770 kg ha⁻¹ de NPK, con una fórmula completa 10-8-6. Esto garantizó 100 kg ha⁻¹ de nitrógeno, 80 kg ha⁻¹ de P_2O_5 y 60 kg ha⁻¹ de K_2O en el momento de la siembra en el fondo del surco. Las semillas se inocularon cuando se iban a sembrar con 1 mL por semilla de suspensión bacteriana (108 UFC mL⁻¹) de los inóculos.

Mediciones. Luego de la cosecha, se evaluó el número de vainas por planta y el número de granos por vaina en 20 plantas por parcela. Se pesaron 100 granos (g) con una balanza analítica (SARTORIUS, modelo BS

2202S). Además, se estimó el rendimiento obtenido en cada parcela. Los datos se transformaron en toneladas por hectárea. También, se realizó una valoración económica de los diferentes tratamientos.

Análisis estadístico. Se realizó la prueba de homogeneidad de varianza y normalidad. Al cumplirse las dos premisas, se utilizó un análisis de varianza de clasificación doble. Para la comparación de medias, se utilizó la prueba de Tukey, para 5 % de probabilidad de error. La información se procesó con el software estadístico InfoStat®, versión 2017 (Di Rienzo et al., 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran las variables morfoagronómicas de *G. max* por tratamiento. El menor número de vainas por planta se obtuvo en el control absoluto, sin diferir del tratamiento con NPK. A su vez, ambos difirieron estadísticamente ($p > 0,05$) de los tratamientos con *Bradyrhizobium*, que no mostraron diferencias entre sí.

Tratamiento	Número de vainas/plantas	Número de granos/ vaina	Peso de 100 granos, g	Rendimiento, t ha ⁻¹
Control absoluto	11 ^c	2 ^b	8,6 ^c	0,6 ^c
Fertilización con NPK	15 ^{bc}	3 ^a	9,4 ^b	0,9 ^b
<i>Bradyrhizobium</i> cepa E 109	19 ^{ab}	3 ^a	11,6 ^a	1,0 ^{ab}
<i>Bradyrhizobium</i> cepa USDA 110	23 ^a	3 ^a	12,0 ^a	1,2 ^a
<i>Bradyrhizobium elkanii</i> cepa ICA 8001	24 ^a	3 ^a	12,3 ^a	1,2 ^a
EE ±	0,13	0,01	0,01	0,05
CV %	6,22	1,67	1,42	9,19

Tabla 2. Variables morfoagronómicas de *G. max* L.
Medias con letras desiguales en una misma columna difieren para $p > 0,05$

La fijación de nitrógeno en leguminosas como la soya, es de gran interés agronómico porque constituye un medio económico de mantener o aumentar el contenido de nitrógeno en el suelo. Además, produce proteína de calidad, en un contexto en que el mundo se enfrenta al aumento explosivo de la población y a la escasez de alimento animal y humano, entre otros problemas.

Con la inoculación, se incrementó el número de granos, por lo que se observó una eficiencia similar a la que se alcanza con la fertilización mineral (Costales-Menéndez et al., 2017). En este sentido, la simbiosis entre la leguminosa y las bacterias del género *Rhizobium* potencian el crecimiento y el desarrollo del cultivo de la soya.

El aislamiento de cepas de rizobios y de cultivares tolerantes a condiciones de estrés constituye un objetivo importante para muchos investigadores, sobre todo, por ser una alternativa para la reforestación y la recuperación de áreas productivas con leguminosas. Sin embargo, la búsqueda de la diversidad genética en las especies de rizobios es un complemento relevante para lograr estos objetivos y poder sustituir la fertilización mineral y las importaciones (Martínez et al., 2018).

La capacidad de colonización es un factor clave en la prevención y el tratamiento de enfermedades fúngicas, debido a que las plantas huésped están estrechamente relacionadas con la formación de biopelículas (Zhou et al., 2016).

Los mejores resultados en los cultivos dependen de una adecuada colonización de bacterias en la rizosfera. La aplicación de la técnica correcta de inoculación a las semillas se manifestará en mayor porcentaje de germinación, así como en la productividad del cultivo. Se evidenciará, además, en el incremento de la resistencia al estrés (Mahmood et al., 2016).

El número de granos por vainas fue mayor en los tratamientos inoculados, que difirieron significativamente del control (tabla 2).

El peso de 100 granos y el rendimiento mostraron diferencias significativas con respecto al control, que presentó los menores valores, mientras que los mayores se obtuvieron en los tratamientos inoculados con las tres cepas de *Bradyrhizobium* (tabla 2).

La inoculación de las cepas de *Bradyrhizobium* en el cultivo de la soya cultivar Incasoy 27, en las condiciones de suelo de la provincia de Las Tunas, logró una respuesta productiva superior a la obtenida con la fertilización mineral.

En una investigación realizada por Cairo-Cairo y Álvarez-Hernández (2017), se informó que el peso de los granos para el cultivar Incasoy-27 fue de 9,78 g, lo que coincide con lo obtenido en este estudio.

Desde el punto de vista científico y práctico, es importante considerar las variables antes descritas, pues ofrecen criterios que se pueden usar para la selección de especies de rizobios con mejor adaptación al estrés, lo que influye positivamente en el mejoramiento del proceso de fijación simbiótica y en el rendimiento del cultivo (Bruno et al., 2017).

El cálculo económico del cultivo demostró que la inoculación constituye una alternativa para sustituir importaciones. Con esta técnica se obtuvieron ganancias de \$ 5 720,00 (control absoluto) y \$ 12 373,00 CUP (cepa ICA 8001) por hectárea (tabla 3).

Indicador	Control absoluto	Fertilización con NPK	Bradyrhizobium		
			cepa E 109	cepa USDA 110	cepa ICA 8001
Rendimiento, t ha ⁻¹	0,60	0,93	1,06	1,17	1,23
Valor de la producción, \$ ha ⁻¹	6 360,00	9 858,00	11 236,00	12 402,00	13 038,00
Costo de la producción, \$ ha ⁻¹	640,00	940,00	665,00	665,00	665,00
Ganancia	5 720,00	8 918,00	10 571,00	11 737,00	12 373,00
Costo por peso, \$ ha ⁻¹	0,10	0,09	0,05	0,05	0,05

Tabla 3. Valoración económica del cultivar de soya.

La siembra del cultivo de soya con biofertilizantes constituye una alternativa viable para la producción del cultivo, en aras de incrementar el rendimiento agrícola y la sustentabilidad de los agroecosistemas. En este sentido, Aguado-Santacruz (2012) sostiene que los biofertilizantes ofrecen buenos rendimientos en las cosechas y brindan facilidades para su aplicación, además de disminuir el uso de fertilizantes químicos en la agricultura. Estos criterios coinciden con lo que refieren Armenta-Bojórquez et al. (2010), quienes plantearon que la inoculación de biofertilizantes que contienen bacterias rizosféricas provoca incrementos significativos en la productividad de los cultivos agrícolas y mejora las ganancias.

Las nuevas tecnologías se deben enfocar en mantener y preservar la sostenibilidad del sistema de producción mediante la explotación racional de los recursos naturales y la aplicación de medidas pertinentes para preservar el ambiente (Grageda-Cabrera et al., 2012). La inoculación y el manejo agronómico de los microorganismos con propiedades biofertilizantes constituyen tecnologías racionales, que surgieron como prácticas innovadoras y promisorias para la actividad agrícola (Moreno-Reséndez et al., 2018).

CONCLUSIONES

La aplicación de cepas de *Bradyrhizobium* influyó positivamente en los indicadores evaluados en el cultivo, lo que permite disminuir el uso de los fertilizantes minerales.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

• Aracelis Romero-Arias. Trabajó en la concepción y el diseño de la investigación; participó en la adquisición e interpretación de los datos; redactó y revisó el artículo.

- Raquel María Ruz-Reyes. Trabajó en la concepción y el diseño de la investigación; participó en la adquisición e interpretación de los datos; redactó y revisó el artículo.
- María Caridad Nápoles-García. Trabajó en la concepción y el diseño de la investigación; participó en la adquisición e interpretación de los datos; redactó y revisó el artículo.
- Ernesto Javier Gómez-Padilla. Trabajó en la concepción y el diseño de la investigación; participó en la adquisición e interpretación de los datos; redactó y revisó el artículo.
- Sergio Rodríguez-Rodríguez. Trabajó en la concepción y el diseño de la investigación; participó en la adquisición e interpretación de los datos; redactó y revisó el artículo.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al proyecto Fortalecimiento de los sistemas locales de innovación e incremento de la seguridad de semillas a nivel local”, financiado por la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguado-Santacruz, G. A. *Uso de microorganismos como biofertilizantes. Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura*. (Ed. G. A. Aguado-Santacruz). Celaya, México: INIFAP. p. 35-78, 2012.
- Almendros-Martín, G.; Benito-Capa, M.; Bienes-Allas, R.; Cala-Rivero, V.; Eymar-Alonso, E.; Hernández-Hernández, Z. et al. *Técnicas experimentales e instrumentales de análisis en Edafología*. (Coord.. I. Walter Ayneto). Madrid: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, 2010.
- Armenta-Bojórquez, A. D.; Ferrera-Cerrato, R.; Trinidad, S. A. & Volke, H. V. Fertilización e Inoculación con *Rhizobium* y endomicorrizas (V-A) en garbanzo blanco (*Cicer arietinum* L.) en suelos del noroeste de México. *Agrociencia*. 65:141-160, 1986.
- Bruno, Carla; Thuar, Alicia & Castro, Stella. *Bradyrhizobium* sp. Per 3.61: un aporte promisorio para su uso como inoculante en el cultivo de soja. *Agrotecnia, Argentina*. 25:55. Resúmenes XI Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos. DOI: <http://dx.doi.org/10.30972/agr.0252471>.
- Cairo-Cairo, P. & Álvarez-Hernández, U. Efecto del estiércol en el suelo y en el cultivo de la soja *Glycine max* (L.) Merr. *Pastos y Forrajes*. 40 (1):37-42, 2017.
- Costales-Menéndez, Daimy; Nápoles-García, María C.; Falcón-Rodríguez, A. B.; González-Anta, G.; Ferreira, A. & Rossi, A. Influencia de quitosanas en la nodulación y el crecimiento vegetativo de soja (*Glycine max* L. Merrill). 38 (1):138-146, 2017.
- Dibut-Álvarez, B.; Martínez-Viera, R.; Ortega-García, Marisel; Ríos-Rocafull, Yohania & Fey-Gobín, L. Obtención de un biofertilizante mixto de amplio espectro de acción. Efecto sobre el cultivo de la rosa (*Rosa* spp.). *Agrotecnia de Cuba*. 34 (1):33-43, 2010.
- Grageda-Cabrera, O. A.; Díaz-Franco, A.; Peña-Cabriales, J. J. & Vera-Núñez, J. A. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Rev. Mexicana Cienc. Agríc*. 3 (6):1261-1274, 2012.
- Hernández, G. & Bello, R. Generalidades sobre el manejo del cultivo de la soja (*Glycine max* L. Merr.). *Boletín Técnico Porcino*. 14:11-13, 2010.
- Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. & Castro-Speck, N. *Clasificación de los suelos de Cuba 2015*. Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, Ediciones INCA, 2015.

- León, C. M. & Mesa, C. Producción de soja en Cuba: su impacto en el desarrollo local. En: J. L. Ramos-Ruiz, C. Martínez-Becerra, M. de los Heros-Rondenil, L. Pineda-Serna, J. Vallecilla, C. M. León-Segura, *et al.*, eds. *El Gran Caribe en contexto*. Barranquilla, Colombia: Universidad del Norte. p. 134-163, 2016.
- Mahmood, A.; Turgay, O. C.; Farooq, M. & Hayat, R. Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92 (8), 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw112>.
- Martínez, F.; García, C.; Gómez, L. A.; Aguilar, Y.; Marti#nez-Viera, R.; Castellanos, N. *et al.* Manejo sostenible de suelos en la agricultura cubana. *Agroecología*. 12 (1):25-38, 2018.
- Mehlich, A. Mehlich-3 soil test extractant. A modification of Mehlich-2 extractant. *Comm. Soil Sci. Plant.* 15 (12):1409-1416, 1984.
- Moreno-Reséndez, A.; García-Espinosa, Verónica; Reyes-Castillo, J. L.; Vázquez-Arroyo, J. & Cano-Ríos, P. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 20 (1):68-83, 2018. DOI: <https://10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>.
- OEC. *Cuba. The Observatory of Economic Complexity*. USA: MIT Media Lab Macro Connections. <https://oec.world/es/profile/country/cub/>, 2017.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. & Dean, L. A. *Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate*. Circular 939 Washington, D. C: Department of Agriculture, 1954.
- Pastorino, Graciela N. *Diversidad de los rizobios que nodulan la soja en los suelos de la Pampa húmeda e identificación de cepas para la fabricación de inoculantes comerciales*. Tesis para optar al grado de Doctor de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo: Instituto de Fisiología Vegetal, cátedra de Microbiología Agrícola Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de la Plata, 2016.
- Pathak, D. V. & Kumar, M. Microbial inoculants as biofertilizers and biopesticides. En: D. P. Singh, H. B. Singh and R. P. Prabha, eds. *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity*. New Delhi: Springer. p. 197-209, 2016.
- Walkley, A. J. & Black, I. A. Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-38, 1934.
- Zhou, H.; Luo, C.; Fang, X.; Xiang, Y.; Wang, X.; Zhang, R. *et al.* Loss of GltB inhibits biofilm formation and biocontrol efficiency of *Bacillus subtilis* Bs916 by altering the production of gamma polyglutamate and three lipopeptides. *PLoS One*. 11 (5):e0156247, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156247>.