

Evaluación del crecimiento y valor nutricional de la soya para forraje (*Glycine max*) utilizando biol como abono obtenido con microorganismos nativos.

Vanessa Abad V.

Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE
Departamento de Ciencias de la Vida y de la
Agricultura
Centro de Investigaciones Científicas, CEINCI
Sangolquí, Ecuador
vmabadv@gmail.com

Alma Koch

Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE
Departamento de Ciencias de la Vida y de la
Agricultura
Centro de Investigaciones Científicas, CEINCI
Sangolquí, Ecuador
arkoch@espe.edu.ec

Resumen— El presente artículo describe el estudio de la eficiencia del biol, elaborado a partir de microorganismos nativos del suelo, en base al contenido nutricional y desarrollo del crecimiento de la soya (*Glycine max*). El biol ha sido elaborado con *Lactobacillus spp.*, *Aeromonas spp.*, *Saccharomyces spp.* y una mezcla de microorganismos, todos ellos escogidos de acuerdo a su crecimiento en medios selectivos. La selección del biol se realiza a los 25 días de fermentación, de acuerdo al incremento del volumen producido. El biol elegido se evalúa en campo, aplicándolo quincenalmente en concentraciones distintas (25, 50 y 75%) sobre cultivos de soya. Los resultados obtenidos muestran una relación de la concentración del biol con el crecimiento y contenido nutricional de la soya.

Palabras clave: Biol, microorganismos nativos, fermentación, soya, proteína.

I. INTRODUCCIÓN

Con el propósito de mejorar la producción y rendimiento de cultivos, el uso de fertilizantes químicos en la agricultura ha ido en aumento. Sin embargo, esto ha constituido un problema de contaminación ambiental, así como un daño en la salud de la población expuesta [1]. Adicionalmente, los cultivos han presentado una mayor susceptibilidad a plagas y enfermedades, y el número de microorganismos benéficos del suelo ha decrecido [2].

Un caso representativo es el de la soya, que a nivel mundial se produce un promedio de 202'621.534 TM por año, del cual Estados Unidos, Argentina y Brasil representan el 80%. El Ecuador por su parte representa el 0.04%, con una producción al año de 77.441 TM [3] que actualmente continúa en decrecimiento. En verano, el número de Ha dedicadas a esta planta es de 30000 [4].

La importancia de la soya en el pastoreo radica en sus propiedades nutricionales: afianza una mejora en la producción lechera debido a su gran elasticidad ambiental y posee un buen comportamiento durante la estación cálida, pese a que su uso como forraje no es significativo de momento [5].

Con el uso del biol se pretende dar alternativas de manejo a este cultivo, evitar el uso indeseable de elementos tóxicos, disminuir costos de producción y optimizar los recursos naturales existentes en el sector dedicado a la práctica agrícola. Es así que tratamientos que involucran el uso de microorganismos nativos para la producción biofertilizantes [6], han permitido generar sustancias bioactivas beneficiosas para las plantas [7].

En la literatura, no se han encontrado estudios sobre el efecto que presenta el biol elaborado con microorganismos nativos sobre cultivos de soya en el Ecuador. Ésta investigación propone obtener un biol con microorganismos aislados del suelo para aprovechar sus capacidades fermentativas y la producción de metabolitos que permitirán a los cultivos de soya suplir sus necesidades nutricionales y acelerar su crecimiento. Consecuentemente, a partir del uso de este biol, se garantiza un ambiente inocuo ofreciendo una técnica amigable con el ambiente sin repercutir en daños a terceros y que el aporte del contenido proteico de la soya sea el necesario.

El presente artículo ha sido organizado de la siguiente forma: En la sección 2 se detallan los métodos y materiales utilizados durante el trabajo de investigación. Luego de ello, los resultados y discusiones son presentados en el tercer apartado. Finalmente, las secciones 4 y 5 hacen referencia a las conclusiones y recomendaciones respectivamente.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Recolección de muestras y obtención del inóculo

El muestreo se realizó en la quinta “Winchele” de la ciudad de Esmeraldas, colocando trampas de microorganismos [8] en distintos puntos del sector. Las trampas se dejaron fermentar durante tres semanas, y al concluir el periodo de fermentación se elaboró la solución madre a partir de cada muestra, mezclando agua hervida y melaza. Asimismo se tomó muestras de tierra de los sitios donde se colocó las trampas de microorganismos para complementar las pruebas de aislamiento.

B. Aislamiento de colonias

La obtención se llevó cabo mediante la inoculación de la solución madre sobre medios de cultivos específicos. La siembra se realizó mediante estrías, seleccionando las mejores colonias. Para la diferenciación morfológica se empleó la tinción Gram, así como pruebas bioquímicas para verificar la existencia de los microorganismos de interés.

Aislamiento de *Saccharomyces spp*

Agar papa dextrosa (PDA) con cloranfenicol para la inhibición bacteriana, fue empleado para estas levaduras. La identificación se partió de pruebas bioquímicas [9] y en la corroboración de datos se realizó la prueba API 20 AUX.

Aislamiento de *Lactobacillus spp*.

Se utilizó MRS agar para permitir el crecimiento de *Lactobacillus* y para su identificación se empleó la tinción Gram para constatar su morfología, la tinción verde de malaquita para descartar bacterias formadoras de esporas y la prueba API CHL 50.

Aislamiento de *Aeromonas spp*.

Para el aislamiento de *Aeromonas* se elaboró la columna de Winogradsky con muestras de suelo y la solución madre diluida (50:50). Estas columnas se dejaron en incubación durante 30 días con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad. Concluido este tiempo se tomó muestras para incubarlas en un medio enriquecido semisólido [10] por dos semanas. Finalmente, las colonias se transfirieron sobre agar nutriente modificado por Van Niel's [11] y se incubaron en jarras Gaspak a 35°C por 48 h de modo aerobio y en completa oscuridad de modo anaerobio. La identificación se realizó a partir de la tinción Gram, prueba catalasa y oxidasa junto con la prueba API 20 NE.

C. Masificación y conteo de microorganismos

Con la selección de microorganismos de interés, la inoculación en medios líquidos partió del raspado de las colonias en medios sólidos. El conteo de levaduras [12] y bacterias [13] se llevó a cabo cada dos días en la cámara de Neubauer.

D. Elaboración de biol con microorganismos nativos

El biol tuvo una composición base en todos los tratamientos, consistiendo en estiércol bovino, melaza, suero de leche, espinaca y agua (tabla 1).

TABLE I. PROPORCIÓN DE CADA UNO DE LOS INGREDIENTES POR BIODIGESTOR DE 30 L DE CADA UNA DE LAS FORMULACIONES DE BIOL EN ESTUDIO (ROBALINO, 2011).

Componentes	Unidad	Cantidad
Melaza	Kg	0.3
Microorganismo nativo	L	0.3
Suero de leche	L	0.6
Espinaca	Kg	0.6
Estiércol bovino	Kg	6.0

Estos componentes se colocaron en biodigestores, que consistieron en tanques herméticos provistos de válvulas para evacuación de gases. Los microorganismos nativos obtenidos se colocaron independientemente y por 25 días se llevó a cabo la fermentación. Muestreos semanales se realizaron para controlar el pH, la sobrevivencia de los microorganismos inoculados y descartar posibles patógenos en el proceso.

E. Análisis del biol

Finalizada la producción de gas durante la fermentación, se realizó los análisis respectivos al biol. El análisis químico fue llevado a cabo por el laboratorio de suelos de Agrocalidad. Para el análisis microbiológico se ejecutaron siembras directas del biol sobre PDA para potenciar el aislamiento de hongos y levaduras, MRS agar para bacilos grampositivos, para el crecimiento de todo tipo de microorganismos se empleó agar nutriente y agar tripticasa de soya, y para descartar la existencia de posibles patógenos se trabajó con agar *Salmonella-Shigella*. Con los microorganismos obtenidos se ejecutaron pruebas de identificación con tinción Gram y API 20 AUX para levaduras, API CHL 5 para *Lactobacillus* y API 20 E para bacterias gramnegativas.

F. Aplicación de biol

Ejecutada la caracterización del biol, se lo aplicó sobre cultivos de soya, trabajando con 3 dosis comparadas con un testigo (agua destilada) y un fertilizante químico (tabla 2). La dosificación se efectuó quincenalmente en un periodo de 30 días.

TABLE II. DOSIFICACIÓN DEL BIOL PARA UN VOLUMEN TOTAL DE 20 L.

Dilución	Volumen de biol (mL)	Volumen de agua (mL)
25%	5	15
50%	10	10
75%	15	5

G. Evaluación del crecimiento de la soya

Previo a la siembra, las semillas de soya se hidrataron para facilitar su germinación. Iniciada esta fase, las semillas se colocaron a 2 cm de profundidad en la tierra. Las medidas de altura de las plantas, fueron tomadas diariamente con una regla desde la base del suelo hasta la última hoja de la soya.

Para la obtención del área foliar se trabajó con fotografías digitales de las hojas de soya de cada tratamiento, las cuales se editaron en Adobe Photoshop con el objetivo de facilitar su procesamiento. Finalmente, para la estimación del área en píxeles se utilizó un algoritmo, basado en técnicas de procesamiento de imagen, implementado en Matlab por el Ing. Wilbert G. Aguilar MSc.

Culminado el crecimiento de la soya, se extrajo la planta y se retiró el exceso de tierra para medir la longitud de la raíz primaria.

H. Evaluación del valor nutricional

La extracción de proteínas de soya [14] se llevó a cabo con hojas y tallos de las plantas cuando alcanzaron la altura mínima de 40 cm [5]. Con la proteína extraída se evaluó su contenido nutricional mediante la cuantificación por el método de Lowry [15]. Para determinar el contenido proteico de las muestras problema, se realizó una curva de calibración patrón a partir de las absorbancias de las soluciones estándar de albúmina de suero bovino en función de la concentración inicial de proteína [16].

I. Análisis estadístico

Las gráficas descriptivas de datos se generaron en Microsoft Office Excel 2007, y para el análisis comparativo de las variables estudiadas se trabajó con el software estadístico InfoStat, considerando el análisis de ANOVA y la prueba de Duncan.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las trampas colocadas en el suelo, permitieron la obtención de un consorcio de microorganismos benéficos, los cuales al existir en suelos fértiles se han podido emplear como apoyo en la producción agropecuaria. El efecto de estos microorganismos se intensifica por la acción del consorcio en el que se encuentran [17]. Además, el uso de columnas de Winogradsky permitió obtener muestras de microorganismos para su siembra en medios selectivos. En estas columnas coexiste una diversidad de microorganismos que se agrupan de acuerdo a necesidades metabólicas [18].

El biol con los microorganismos seleccionados finalizó su proceso de fermentación a los 25 días, por la ausencia de gases en los biodigestores. De acuerdo a investigaciones [19], el biol está listo cuando el producto elaborado se torna de un color oscuro y la temperatura baja, lo que se traduce en una poca producción de gases.

El análisis del volumen de biol indicó diferencias estadísticas (valor- $p = 0.0241$) en todos los tratamientos, siendo el elaborado con *Lactobacillus* el de mayor volumen. Estas bacterias son predominantes cuando las condiciones del medio donde se desarrollan son las óptimas [20], indicando que los sustratos suministrados aportan tanto los cofactores como los carbohidratos necesarios [21].

En estudios sobre lactofermentos aplicando microorganismos nativos de montañas [22], muestran que el análisis microbiológico del biofermento líquido presenta una menor diversidad microbiana, por su facilidad de transporte de sustancias inhibitoras, en comparación del biofermento sólido que exhibe una mayor cantidad de nichos ecológicos. Es así, que un antagonismo entre los microorganismos pudo existir en el biol elaborado con la mezcla de microorganismos, siendo insuficiente el tiempo empleado para que los microorganismos alcanzaran un período de adaptación y logran altos valores de proliferación.

El análisis químico del biol indicó un aumento del pH dentro de los biodigestores durante el proceso de fermentación,

siendo los tratamientos con *Saccharomyces*, *Lactobacillus* y *Aeromonas* los que obtuvieron un pH alrededor de 5, a diferencia del tratamiento de la mezcla de microorganismos, que presentó un pH de 4. Dado que el pH tiene gran influencia en la solubilidad y disponibilidad de los nutrientes, el biol al tener un pH ligeramente ácido (5.5 a 6.5) facilita a las plantas la absorción de sus componentes [14]. Estudios sobre biofermentos [23] presentaron evidencias que al tener un pH bajo la cantidad de sólidos disueltos en forma de iones es mayor, lo que se traduce en una mayor cantidad de nutrientes en el fertilizante y una mayor solubilidad.

En cuanto al contenido de nutrientes se pudo observar que de acuerdo al criterio de aceptación de la NTE INEN 211:98, el contenido de nitrógeno total, fósforo (P_2O_5), potasio (K_2O) asimilables, están dentro de los valores de tolerancia mínima y máxima ya que no sobrepasan los 0.49, 0.67 y 0.41 % p/p de los respectivos nutrientes de acuerdo a esta normalización. Para el caso de macronutrientes y micronutrientes se encontró que el contenido de calcio (CaO) y magnesio (MgO) fue bajo, al no sobrepasar los valores mínimos de esta normalización (0.28 y 0.33 %p/p respectivamente). En cuanto al contenido de cobre, hierro, manganeso, sodio y zinc sus cantidades fueron las adecuadas, indicando concentraciones superiores a 0.005 % p/p.

La caracterización microbiológica del biol permitió conocer la variabilidad en cuanto a su composición, debido a la existencia de otros tipos de microorganismos diferentes al inoculado en un inicio. Tales microorganismos encontrados fueron principalmente *Lactobacillus*, cuya presencia fue recurrente en las repeticiones, reportándose en 4 de los 5 biodigestores como se observa en la tabla 3. *Lactobacillus* juega un rol importante en el control del pH [23], al poder ser disminuido mediante la producción de ácidos como el láctico y los grasos de cadenas cortas.

Estuvieron presentes, en el biol elaborado, bacterias del género *Serratia* que pueden existir en suelos ayudando al control biológico de patógenos en la agricultura [24]. También se hallaron levaduras como *Cándida diddensiae* y *Pichia subpelliculosa*, que de acuerdo a investigaciones [25] pueden alcanzar mayores niveles poblacionales entre 10 y 21 días de fermentación, con un marcada disminución de la biomasa a partir de 100 días.

TABLE III. GÉNEROS DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS BIODIGESTORES ANALIZADOS.

Microorganismos encontrados	Biodigestores evaluados	Biodigestores con presencia positiva
<i>Lactobacillus pacarasei</i> .	5	4
<i>Serratia plymuthica</i>	5	4
<i>Pichia subpelliculosa</i>	5	5
<i>Cándida diddensiae</i>	5	5

El biol elaborado con *Lactobacillus* se evaluó en tres dosis de aplicación, al 25%, 50% y 75% de concentración. Se comparó el rendimiento entre los tratamientos para analizar la respuesta de la soya frente a las diferentes dosis probadas. El biol fue administrado a las plantas de soya mediante

presurización con una bomba dosificadora. Al ser aplicado por riego facilita la adsorción de nutrientes y favorece consecuentemente la nutrición de la planta y fertilidad de los suelos, por tanto su uso y cantidades deberán ser suministrados de acuerdo a las necesidades del cultivo y tipo de suelo [26].

Al analizar la variable altura durante 45 días (figura 1), se encontró que existían diferencias estadísticas en todos los tratamientos (valor- $p = 0.0002$), siendo el tratamiento con 25%

de concentración de biol (T1) el que alcanzó el mayor rendimiento con 56.80 cm en promedio. De manera general, se puso en evidencia que todos los tratamientos analizados proporcionaron resultados aceptables respecto a la altura de las plantas en comparación al control (T5), por otra parte el tratamiento químico (T4) comparado con los otros tratamientos biofertilizantes (T1, T2 y T3) presentó menores efectos.

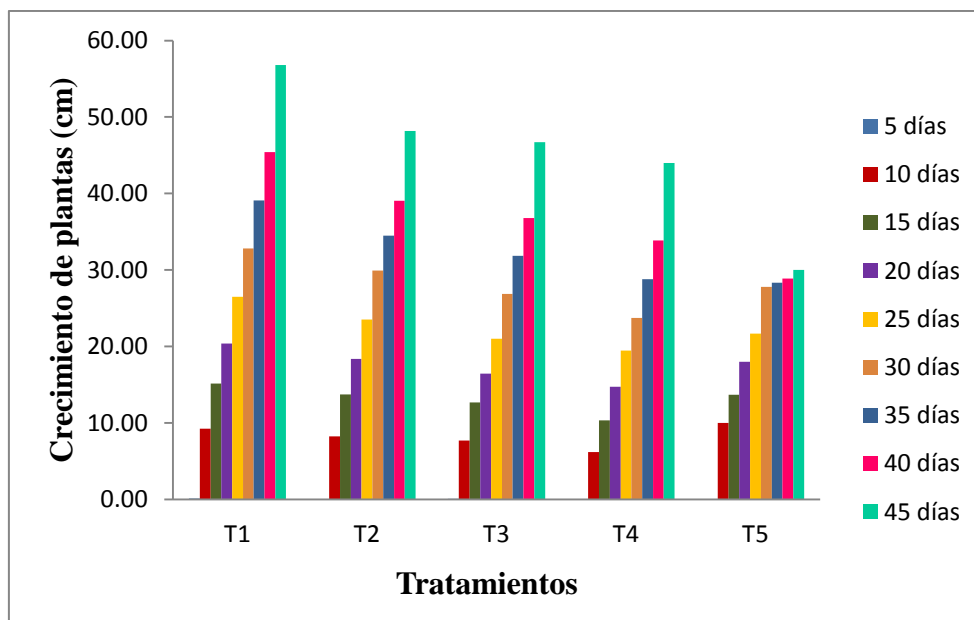


Figura 1: Promedio de la altura de plantas de soya con las diferentes dosis de aplicación de biol con *Lactobacillus* del T1: 25% de concentración, T2: 50% de concentración, T3: 75% de concentración, T4: biol químico y T5: testigo (agua).

Un mayor rendimiento del cultivo se puede lograr al tener un biofermento con pH bajo [27], pues al ser más ácido indica una mayor concentración de ácidos orgánicos que intervienen en múltiples procesos fisiológicos de las plantas (fotosíntesis, ciclo de Krebs, etc.).

El análisis químico efectuado al suelo, antes, durante y al finalizar el tratamiento con diferentes dosis de biol, reveló diferencias en cuanto a la composición de macroelementos, microelementos, iones y otros; evidenciando diferencias en la respuesta del crecimiento en las plantas de soya. Uno de los parámetros analizados que encierran estas diferencias es el pH del suelo, el cual se mantuvo en un rango de 6-7. De acuerdo al rango de valores predeterminados por Agrocalidad, el suelo sería prácticamente neutro (pH óptimo para el normal crecimiento de plantas), permitiendo que elementos como el fósforo y demás minerales sean solubles para ser tomados por las raíces de las plantas [28].

El nitrógeno forma parte de los elementos que deben ser absorbidos por las plantas, y su contenido fue adecuado durante todo el periodo de crecimiento para cada tratamiento. El nitrógeno tiene la capacidad de concentrarse en los primeros 20 cm de suelo siendo parte de la materia orgánica; por tanto al

existir una mayor cantidad de esta habrá una mayor cantidad de nitrógeno total [29].

La materia orgánica es fundamental para alcanzar una óptima fertilidad del suelo, no solo química sino además física y biológica. Ayuda a mejorar la estructura del suelo favoreciendo la aireación, filtración y desarrollo radical. Asimismo permite el incremento de la biomasa microbiana y la capacidad de intercambio catiónico del suelo [29]. El contenido de materia orgánica fue adecuado para todos los tratamientos analizados, mostrando un mayor porcentaje de su concentración a partir de la segunda aplicación de biol.

Adicionalmente, valores altos de fósforo, potasio, calcio y magnesio se encontraron en el suelo de cada tratamiento evaluado, por tanto, se puede presumir que la textura del suelo es arcillosa. Este tipo de suelo presenta más carga eléctrica a diferencia de otros, haciendo posible la retención de elementos. De esta manera afecta la disponibilidad de los elementos, requiriendo aplicar mayores cantidades del fertilizante para suplir esta necesidad [29].

Los suelos arcillosos ricos en calcio y magnesio afectan positivamente en la nutrición de las plantas y al tener una gran superficie de exposición presentan una mayor capacidad de

intercambio catiónico y mejores respuestas a la fertilización [30]. En consecuencia, se justifica que el tratamiento con aplicación del 25% de biol (T1) haya obtenido mayores resultados en cuanto a la altura de las plantas de soya a diferencia de los otros tratamientos. Las cantidades de calcio y magnesio fueron aumentando cada 15 días de aplicación del biol. Pese a que la diferencia no fue notoria, fue suficiente para lograr mejores rendimientos en cuanto a la altura de las plantas.

En lo que respecta al hierro y zinc, sus cantidades fueron bajas (<20 ppm y <3ppm respectivamente) en todos los tratamientos estudiados. Los otros elementos como el cobre y manganeso tuvieron concentraciones adecuadas en los suelos (1.1-4 ppm y 6-15 ppm correspondientemente), especialmente el manganeso que a partir de 15 días de aplicación incrementó su cantidad en los suelos de los cuatro tratamientos respecto al control.

El método de estimación del área foliar, basado en el empleo de relaciones matemáticas, presentó diferencias estadísticas (valor- $p = 0.0001$) en los tratamientos (figura 2), y reveló una mayor área foliar en el químico (T4) con una media de 48.61 cm², seguido en eficiencia por el tratamiento con 25% de concentración de biol (T1) con una media de 40.28 cm². Estos resultados pudieron ser influenciados por la intensidad de luz que recibieron las plantas, pues en el experimento se mantuvieron bajo sombra por sarán, lo que contrasta con otras investigaciones [31], donde obtuvieron reducción del área y

espesor foliar en las plantas de soya al estar menos expuestas a la luz.

El análisis estadístico reveló que no hay diferencias significativas (valor- $p = 0.4248$) para la longitud de las raíces de los tratamientos en comparación al control (figura 2). Un mayor desarrollo del sistema radicular no es necesario para lograr obtener mayores respuestas en cuanto a nutrición en las plantas. Por tanto la aplicación de los biofermentos podría llevarse a cabo foliarmente [32].

Con la determinación del contenido proteico, se analizó el valor nutricional de plantas de soya con 1 mes de desarrollo, obteniéndose diferencias significativas (valor- $p = 0.0355$) entre los tratamientos (figura 2), exhibiendo mayores alturas las plantas del tratamiento con 75% de concentración de biol (T3). Esto evidenció que no fue necesario que las plantas alcancen mayores alturas para presentar un mayor valor proteico.

Se podría pensar que el incremento de proteínas en las plantas se debe al contenido de aminoácidos libres aportados por el biol [33]. Además, gran parte del nitrógeno que posee la planta de soya proviene del suelo y otra parte de la fijación simbiótica del N₂ [34], por tal razón el 0,09% p/p del nitrógeno total aportado por el biol ayudó a que las plantas, especialmente las del tratamiento con 75% de biol (T3), tuviesen disponible este elemento en adecuadas cantidades.

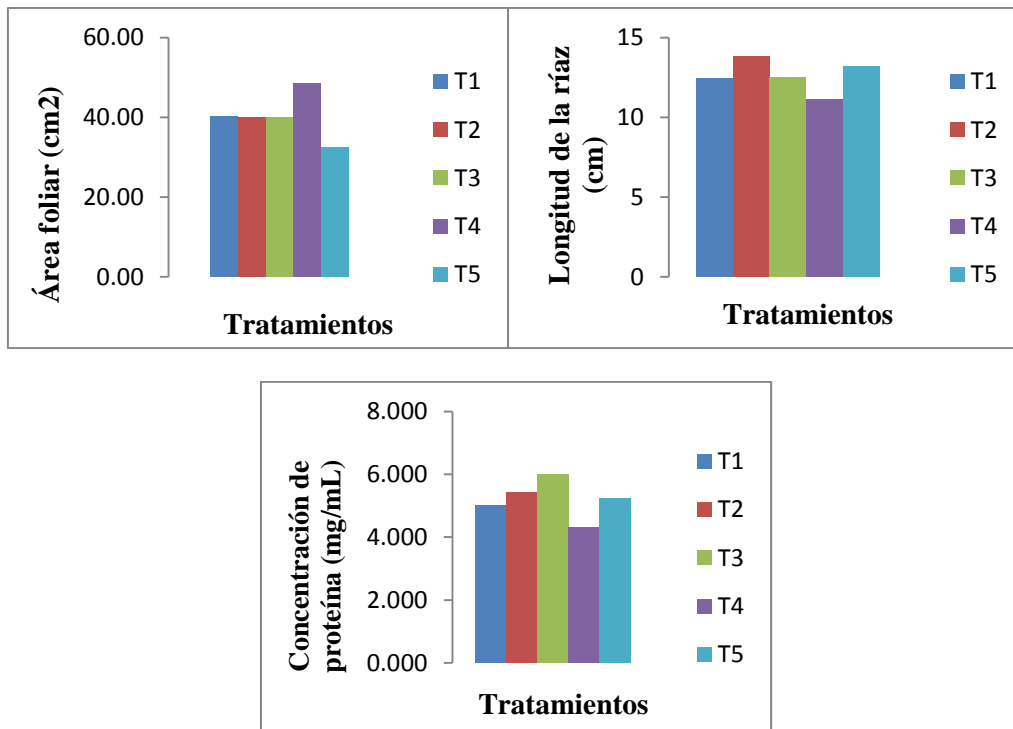


Figura 2: Variabilidad de las plantas de soya con diferentes dosis de aplicación de biol con *Lactobacillus* del T1: 25% de concentración de biol, T2: 50% de concentración de biol, T3: 75% de concentración de biol, T4: Biol químico y T5: Testigo (agua).

IV. CONCLUSIONES

Luego de llevar a cabo esta investigación se concluye que:

Existen diferencias significativas entre los cuatro tratamientos empleados para la producción de biol, siendo el elaborado con *Lactobacillus* el de mayor volumen de producción (30.15 L).

Las concentraciones de nitrógeno, fósforo, potasio, hierro, manganeso, sodio y zinc en el biol elaborado con *Lactobacillus*, fueron aceptables de acuerdo a la normalización NTE INEN 211:98. Para el caso del calcio y magnesio, su contenido fue bajo.

La composición microbiológica inicial del biol con *Lactobacillus* varió con el tiempo, encontrándose al término de la fermentación bacterias como *Lactobacillus pacarasei*, *Serratia plymuthica*, *Pichia subpelliculosa* y *Cándida diddensiae*.

La evaluación de las concentraciones de 25, 50 y 75% de biol sobre cultivos de soya, evidencia diferencias significativas para la variable altura, donde el tratamiento con 25% de concentración de biol presenta mejores respuestas.

Existen diferencias significativas para la variable área foliar, mostrando el tratamiento químico mayores valores respecto a los tratamientos biológicos (T1, T2 y T3) y al control. Seguido de este, el tratamiento con 25% de concentración de biol superó al control.

En cuanto a la longitud de la raíz principal no hubo diferencias significativas entre los cinco tratamientos, sin embargo el tratamiento con el 50% de concentración de biol supera al tratamiento químico y control.

Para la variable concentración proteica hay diferencias significativas, alcanzando el tratamiento con el 75% de concentración de biol las concentraciones más altas de proteínas, superando al tratamiento químico y control.

El incremento de la altura en las plantas de soya no necesariamente estuvo relacionado con un aumento en su contenido proteico.

V. RECOMENDACIONES

Con el fin de estudiar la dinámica de los microorganismos y la variabilidad del biol después de cesado la producción de gases, se recomienda aumentar el periodo de fermentación.

Asimismo, analizar microbiológicamente la solución madre obtenida de las trampas de microorganismos para conocer su composición y las interacciones de los microorganismos presentes.

Además se plantea evaluar el rendimiento de soya a nivel del grano producido para conocer si existen mejoras en cuanto a incremento del valor nutricional.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento a la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE por el apoyo financiero. Igualmente se gratifica la dirección de Alma Koch, MC. y codirección del Ing. Pedro

Romero Sáker. También la participación de la Lic. Jessica Maisincho, encargada del Laboratorio de Microbiología y a todas las personas involucradas en la investigación.

REFERENCIAS

- [1] Pino, C. (2005). Determinación de la mejor dosis de Biol en el cultivo de (*Musa sapientum*) Banano, como alternativa a la fertilización foliar química. Guayaquil, Ecuador.
- [2] Sánchez, M. (2011). Evaluación de tres abonos orgánicos en diferentes dosis de aplicación en el rendimiento del cultivo de rosa (*Rosa sp.*) var. Freedom. Ribamba, Ecuador.
- [3] INEC. (2009). Sistema agroalimentario de la soya. Recuperado el 11 de Febrero de 2013, de www.ecuadorencifras.com/sistagroalim/pdf/Soya.pdf
- [4] El Comercio. (2012). El Comercio. Recuperado el 11 de Febrero de 2013, de http://www.elcomercio.com.ec/agromar/produccion-soyatiende-desaparecer_0_799120194.html
- [5] Martín, B., & Cechetti, S. (Septiembre de 2010). Revista Agromensajes de la Facultad. Recuperado el 1 de Marzo de 2013, de <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/29/4AM29.htm>
- [6] Freire, R. (2012). Evaluación del potencial biofertilizante de tres consorcios de cianobacterias en el crecimiento y valor nutricional de pasto Ryegrass anual (*Lolium multiflorum*) a nivel de invernadero. Quito, Ecuador.
- [7] Restrepo, J. (2010). Abonos orgánicos fermentados experiencias de agricultores en Centroamérica y Brasil. Recuperado el 20 de Abril de 2013, de <http://bocashi.files.wordpress.com/2010/10/abonosorganicosfermentados.pdf>
- [8] Toalombo, R. (2012). Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (*Allium fistulosum*). Ambato: Universidad Técnica de Ambato.
- [9] Linares, M., & Solís, F. (2007). Identificación de levaduras. Revista Iberoamericana de micología, 611-877.
- [10] Pacheco V., García, J., & Núñez M. (2011). Aislamiento y caracterización de bacterias fotótrofas de la familia Rhodospirillaceae a partir de muestras de agua obtenidas del golfo de México. Participación de la mujer en la ciencia. México: CIATEC.
- [11] Van Niel, C. (1944). The culture general physiology, morphology, and classification of the non-sulfur purple and brown bacteria. Bacteriology Reviews.
- [12] GAB. (2006). Cámara Thoma y Neubauer improved para el recuento de levaduras. Recuperado el 5 de Diciembre de 2013, de http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Camara%20thoma%20neubauer_Esp.pdf
- [13] Celeromics. (2013). Fórmula de la cámara de Neubauer. Recuperado el 5 de Diciembre de 2013, de <http://www.celeromics.com/es/resources/Technical%20Notes/neubauer-chamber-cell-concentration/formula-camara-neubauer-concentracion-1.php>
- [14] Molina, V. (2005). Extracción de proteína foliar de maíz a los 10, 25 y 40 días de la siembra y análisis de sus aminoácidos. Honduras: Universidad de Zamorano.
- [15] Lowry, O., Rosebrough, N., Lewis, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. The journal of biological chemistry, 265-275.
- [16] FAO. (2013). Manual de técnica para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Recuperado el 10 de Diciembre de 2013, de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
- [17] Picado, J., & Añazco, A. (2005). Preparación y uso de abonos orgánicos Sólidos y líquidos. Costa Rica: CEDECO.
- [18] Anderson, D., & Hairston, R. (1999). The Winogradsky column & Biofilms. The American Biology Teacher.
- [19] Murillo, I. (2011). UCR desarrolla nueva técnica en elaboración de abonos orgánicos. Suplemento de ciencia y tecnología.

- [20] Obregón, M., Arias, V., & Durán, C. (2000). Estudio preliminar para evaluar las posibles aplicaciones del lactosuero en la agricultura. *TECNIA*, 17-19.
- [21] Quirós, P., Albertin, A., & Blázquez, M. (2004). Elabore sus propios abonos insecticidas y repelentes orgánicos. *AVINA*, 36.
- [22] Pacheco, F., & Uribe, L. (2007). Lactofermentos. *RAP-AL*, 1-18.
- [23] Ito, S. (2006). Caracterización y evaluación de los factores que determinan la calidad nutricional e inocuidad en la producción de fertilizantes orgánicos fermentados. Costa Rica: CATIE.
- [24] Bautista, J., Rodríguez, F., Barrio, E., Querol, A., Garrido, A., & Arroyo, F. (2011). Exploring the yeast biodiversity of green table olive industrial fermentations for technological applications. *International Journal of Food Microbiology*, 89-96.
- [25] Botta, C., & Cocolin, L. (2012). Microbial dynamics and biodiversity in table olive fermentation: culture dependent and independent approaches. *Frontiers in Microbiology*, 1-10.
- [26] Succhini, G. (2013). Abonos foliares orgánicos (biofermentos) elaborados con microorganismos de montaña. Recuperado el 13 de Agosto de 2013, de <http://www.fundesyram.info/biblioteca/displayFicha.php?fichaID=3594>
- [27] Robalino, H. (2011). Evaluación de la Actividad Biológica y Nutricional del Biol en Diferentes Formulaciones y la Respuesta a su Aplicación en Cultivos de Arroz (*Oriza sativa*) y Maíz (*Zaemays*), en Guayas. Guayaquil, Ecuador.
- [28] Eco Agricultor. (2012). El pH del suelo, sustratos y agua. Recuperado el 15 de Enero de 2014, de <http://www.ecoagricultor.com/2012/12/el-ph-del-suelo-sustratos-y-agua-2/>
- [29] Sierra, C. (2003). Fertilización de cultivos y frutales en la zona norte. Chile: INIA.
- [30] López, A. (1999). Interpretación de los análisis químicos de suelos y foliares en el cultivo de banano (*Musa AAA*, CV. Valery) en costa rica. análisis de un caso y factores involucrado. XI Congreso Nacional Agronomico/ III Congreso Nacional de Suelos, (págs. 137-146). Costa Rica.
- [31] Urosa R. & Ascencio J. (1993). Arquitectura y caracterización fisiológica de la cobertura de plantas de soja *Glycine max* l. Merr. var júpiter en condiciones de Campo. *Agronomía Tropical*, 145-172.
- [32] Delgado, V. (2006). Evaluación de la eficacia del uso de biofermentos como bioestimulantes radiculares en el cultivo orgánico de Piña *Ananascomosus* (Linnaeus). Costa Rica: Universidad Earth.
- [33] Espasa, R. (1983). La fertilización foliar con aminoácidos. Recuperado el 6 de Enero de 2013, de http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Hort/Hort_1983_12_33_35.pdf
- [34] Harper, J. (1974). Soil and Symbiotic Nitrogen Requirements for Optimum Soybean Production. *Crop Science*, 255-260.