

## ÍNDICE DE CONTENIDO

I	Agradecimientos.....	i
II	Reconocimientos.....	ii
III	Índice de contenido.....	iii
IV	Índice de tablas.....	iv
V	Índice de figuras.....	v
VI	Índice de cuadros.....	vi
VII	Abreviaturas.....	vii
VIII	Resumen.....	viii
IX	Sumary.....	ix
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	Hipótesis.....	3
1.2.	Objetivo general.....	3
1.3.	Objetivos particulares.....	3
2.	ANTECEDENTES.....	4
2.1.	Las zonas áridas de México.....	4
2.2.	La comarca lagunera.....	4
2.3.	Introducción del cultivo de alfalfa en México.....	6
2.4.	Cultivo de la alfalfa en la comarca lagunera.....	7
2.5.	Importancia del nitrógeno.....	12
2.6.	Aportaciones del nitrógeno en el suelo.....	13
2.7.	Fijación biológica de nitrógeno (FBN).....	16
2.8.	Significado agronómico de la FBN.....	19
2.9.	Importancia de la FBN.....	20
2.10.	Importancia de las leguminosas.....	21
2.11.	Microorganismos fijadores de nitrógeno.....	22

2.12.	La FBN en la comarca lagunera.....	23
2.13.	Factores que afectan la FBN.....	23
2.13.1.	Efecto de la desecación del suelo sobre el nódulo y nodulación.....	24
2.13.2.	La temperatura, humedad, pH y desecación del suelo sobre <i>Rhizobium</i> spp.....	26
2.14.	Caracterización de <i>Rhizobium</i> spp.....	27
2.15.	Métodos para medir la FBN.....	34
2.16.	Uso de técnicas nucleares.....	34
2.16.1	Isótopos del nitrógeno.....	34
2.16.2	Dilución isotópica (DI).....	36
2.16.3.	Valor A (VA).....	37
2.16.4.	Abundancia natural (AN).....	38
2.17.	Cultivos de referencia.....	39
3.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	40
3.1	Prácticas de campo.....	40
3.2.	Material biológico.....	40
3.3.	Análisis fisicoquímico del suelo.....	41
3.4.	Diseño experimental.....	41
3.5.	Tratamientos e inoculación.....	42
3.6.	Establecimiento de los cultivos.....	43
3.7.	Aplicación de $^{15}\text{N}$ .....	43
3.8.	Colecta de nódulos en campo.....	44
3.9.	Medios de cultivo.....	44
3.10.	Aislamiento, purificación y conservación de los aislados.....	44
3.11.	Sensibilidad y resistencia a los antibióticos.....	45
3.12.	Determinación de la movilidad electroforética de enzimas (MLEE).....	45
3.13	Cosecha y preparación de las muestras vegetales.....	46
3.14	Variables en estudio.....	47
3.14.1.	Nitrógeno total.....	47
3.14.2.	Cuantificación de la relación isotópica $^{14}\text{N} / ^{15}\text{N}$ .....	48

<b>3.14.3. Rendimiento de materia seca (RMS).....</b>	<b>48</b>
<b>3.14.4. Nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf).....</b>	<b>49</b>
<b>3.14.5. Rendimiento de nitrógeno (RN).....</b>	<b>49</b>
<b>3.14.6. Nitrógeno derivado de la atmósfera por el método del valor "A" (VA).....</b>	<b>49</b>
<b>3.14.7. Nitrógeno derivado del suelo.....</b>	<b>50</b>
<b>3.14.8. Rendimiento de nitrógeno derivado de la atmósfera o N fijado.....</b>	<b>50</b>
<b>3.15. Nodulación.....</b>	<b>50</b>
<b>3.16. Análisis estadístico.....</b>	<b>50</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>52</b>
<b>4.1. Análisis del suelo de cultivo.....</b>	<b>52</b>
<b>4.2. Pruebas de sensibilidad y resistencia a los antibióticos.....</b>	<b>52</b>
<b>4.3. Corrimiento electroforético de enzimas multilocus (MLEE).....</b>	<b>56</b>
<b>4.4. Nodulación.....</b>	<b>59</b>
<b>4.5. Experimentos con <sup>15</sup>N.....</b>	<b>62</b>
<b>4.5.1. Fuentes de nitrógeno.....</b>	<b>62</b>
<b>4.5.2. Rendimiento de materia seca y nitrógeno.....</b>	<b>69</b>
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>74</b>
<b>6 LITERATURA CITADA.....</b>	<b>75</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

1. Variaciones del área cultivada de alfalfa ( <i>Medicago sativa L.</i> ) en Nuevo Mexico durante 66 años.....	7
2. Producción de forrajes en la Región Lagunera.....	8
3. Rendimiento de cultivos forrajeros para alimentar a 12, 488 cabezas de ganado lechero en la Región Lagunera.....	9
4. Producción de alfalfa en la Región Lagunera.....	10
5. Producción de los principales cultivos forrajeros en la Región Lagunera.....	11
6. Producción de leguminosas cultivadas en la región Lagunera.....	11
7. Transformaciones microbiológicas del nitrógeno en el suelo.....	14
8. Balance de nitrógeno en diferentes sistemas de producción agrícola de Guanajuato.....	15
9. Cantidad de nitrógeno fijado por varios cultivos de leguminosas.....	18
10. Cantidad de nitrógeno fijado por leguminosas en el estado de Guanajuato.....	18
11. Isótopos estables utilizados como trazadores en la investigación biológica.....	34
12. Características de los isótopos de nitrógeno.....	34
13. Estudio de leguminosas y gramíneas con aplicación de $^{15}\text{N}$ .....	43
14. Características del suelo de cultivo donde se estableció el experimento.....	52
15. Distribución de la sensibilidad y resistencia a los antibióticos a 80 aislados de <i>R. meliloti</i> obtenidos en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	54
16. Diversidad genética entre tipos electroforéticos (ETs) en 13 loci enzimáticos.....	57
17. Número de tipos electroforéticos (ETs) obtenidos de 13 aislados nodulantes de 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	57

18. Nodulación en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango) utilizando un inoculante comercial (Nitragín) y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> bajo condiciones de campo.....	61
19. Efecto de la inoculación en la nodulación de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	62
20. Nitrógeno derivado de la atmósfera utilizando cepas "Elite" y un inoculante comercial de <i>R. meliloti</i> en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	64
21. Fijación de nitrógeno atmosférico en el primer ciclo de producción en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango) empleando un inoculante comercial y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> .....	66
22. Fijación de nitrógeno atmosférico en el segundo ciclo de producción en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango) empleando un inoculante comercial y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> .....	66
23. Rangos de nitrógeno fijado utilizando un inoculante comercial y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> em 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	66
24. Rangos de porcentaje de Ndda, Ndds y Nddf en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	67
25. Efecto de la inoculación comercial y de cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en la toma de nitrógeno derivado del suelo en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	67
26. Efecto de la inoculación comercial y de cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en la toma de N dds en el primer ciclo de producción en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	67
27. Efecto de la inoculación comercial y de cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en la toma de Ndds en el segundo ciclo de producción en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	68
28. Nitrógeno fijado total utilizando diferentes fuentes de nitrógeno (fertilizante, suelo y atmósfera) en la inoculación comercial y de cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	68
29. Efecto de la inoculación comercial y de cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> utilizando diferentes fuentes de nitrógeno (fertilizante, suelo y atmósfera) en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango) durante el desarrollo del cultivo 375 dds) .....	69

30. Efecto de la inoculación comercial y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> sobre el rendimiento de materia seca en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango) durante el desarrollo del cultivo (375 dds).....	71
31. Efecto de la inoculación comercial y de cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en el rendimiento de nitrógeno en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango) durante el desarrollo del cultivo (375 dds).....	71
32. Efecto de la inoculación comercial y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en el rendimiento de materia seca y nitrógeno en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango) durante el desarrollo del cultivo.....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Arreglo experimental realizado a nivel de campo en bloques al azar.....	42
2. Relaciones genéticas de los 9 ETs entre 13 aislados recobrados de nódulos de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	58
3. Nitrógeno fijado en 2 ciclos de producción utilizando un inoculante comercial y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en 2 variedades de alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	72
4. Fijación de nitrógeno atmosférico empleando un inoculante comercial y cepas "Elite" de <i>R. meliloti</i> en 2 variedades de alfalfa cultivadas en la Región Lagunera (Durango).....	72
5. Porcentaje de nitrógeno derivado de la atmósfera (Ndda), del suelo (Ndds) y del fertilizante (Nddf) utilizando cepas "Elite" y un inoculante comercial de <i>R. meliloti</i> en 2 variedades alfalfa cultivada en la Región Lagunera (Durango).....	73

## ÍNDICE DE CUADROS

1. Estadísticas de la producción de alfalfa en la Comarca Lagunera.....	12
2. Distribución de los tratamientos en campo para dos variedades de alfalfa y los cultivos de referencia (sorgo, avena, maíz, triticale, zacate ballico y Zacate Johnson).....	42
Distribución de los aislados de <i>R. meliloti</i> de acuerdo a la sensibilidad y resistencia a los antibióticos en 2 variedades de alfalfa (SW14 y San Miguelito) cultivadas en la Región Lagunera (Durango).....	55