

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



PRUEBA COMPARATIVA DE 4 FERTILIZANTES  
QUIMICOS NITROGENADOS Y 1 CEPA ESPECIFICA  
DE Rhizobium phaseoli EN FRIJOL (Phaseolus  
vulgaris L.) EN MARIN, N. L.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTAN:

JUAN ANTONIO GUERRA GARZA  
JUAN MANUEL GARCIA SANTOYO

MARIN, N. L.

JULIO DE 1985

T

SB327

G84

c.1



1080061446

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



PRUEBA COMPARATIVA DE 4 FERTILIZANTES  
QUIMICOS NITROGENADOS Y 1 CEPA ESPECIFICA  
DE Rhizobium phaseoli EN FRIJOL (Phaseolus  
vulgaris L.) EN MARIN, N. L.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTAN:

JUAN ANTONIO GUERRA GARZA  
JUAN MANUEL GARCIA SANTOYO

MARIN, N. L.

JULIO DE 1985

T  
SB 327  
984

040.635  
FAB  
1985



Biblioteca Central  
Magna Solidaridad  
F. TESIS



BURaúl Rangel Funes  
UANL  
FONDO  
TESIS LICENCIATURA

A LA MEMORIA DE MI PADRE :

SR. JOSE RAMON GUERRA ARIZPE ( Q.E.P.D. )

Que gracias a su trayectoria como hombre y co  
mo padre fué un ejemplo para la culminación -  
de mi carrera y a quien siempre recordare.

A MI MADRE :

SRA. M<sup>a</sup> RAQUEL GARZA DE GUERRA

Por su apoyo y comprensión a lo largo de mi -  
vida estudiantil.

A MIS HERMANOS

JOSE LUIS

VICTOR MANUEL

Por el cariño y consejos  
que me han brindado siempre.

A MI NOVIA :

SRITA. VERONICA A. GONZALEZ GONZALEZ

CON TODO MI AMOR

A MIS PADRES :

SR. LEOPOLDO A. GARCIA GARCIA

SRA. ESPERANZA SANTOYO DE GARCIA

Quienes con gran cariño y esfuerzo  
supieron llevarme hasta el final de  
mi carrera.

A MIS HERMANOS

PABLO

LEOPOLDO

BEATRIZ

FRANCISCO

M<sup>a</sup> DE LOURDES

ADRIANA

JOSE TEODORO

Por el cariño y consejos  
que me han brindado siempre.



A NUESTRO ASESOR :

ING. RONALD JORGE LECEA JUAREZ

Por la orientación y consejos prestados  
para la culminación de este trabajo.

A NUESTROS MAESTROS :

DR. RIGOBERTO E. VAZQUEZ ALVARADO

ING. FRANCISCO RODRIGUEZ ESQUIVEL

Por el asesoramiento y facilidades prestadas  
para la realización de este trabajo.

A los Maestros, Amigos y  
Compañeros que de alguna  
forma compartieron con  
nosotros nuestra vida de  
estudiantes.

**A NUESTROS FAMILIARES**

## I N D I C E

	Pag.
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	
1.- Importancia del cultivo del frijol	6
2.- Origen	8
3.- Distribución	10
4.- Clasificación	
A. Taxonomía	11
B. Cariosistemática	11
C. Morfología	12
D. Variedades	13
5.- Factores limitantes de la producción del frijol	14
6.- Exigencias ecológicas generales para el frijol	
A. Temperatura	15
B. Fotoperiodo	15
C. Climas	16
D. Humedad	16
E. Suelos	17
F. pH del suelo	17
7.- La fijación biológica del nitrógeno atmosférico	
A. Antecedentes	18
B. Ciclo del nitrógeno en la naturaleza	21
C. Descripción general de la bacteria ( <u>Rhizo-</u> <u>bium spp</u> ).	25
D. Morfología	26
E. Ciclo de vida	28
F. Origen, filogenia y clasificación de <u>Rhizo-</u> <u>bium</u>	28

	Pag.
<b>8.- Relación Planta-Bacteria</b>	
A. Interacción inicial	32
B. Forma de infección de la bacteria	33
C. Aspectos bioquímicos de la fijación	35
D. Especificidad	37
E. Efectividad de la bacteria	38
<b>9.- Factores que afectan el proceso de nodulación y la fijación de nitrógeno</b>	40
A. Factores químicos	41
B. Factores físicos	43
C. Factores biológicos	45
<b>10.- Trabajos afines</b>	47
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b>	
A. Localización del sitio experimental	52
B. Condiciones edáficas y climatológicas	52
C. Preparación del terreno	53
D. Diseño experimental	53
E. Inoculación	57
F. Características botánicas de la variedad Canario 101	58
G. Siembra	59
H. Labores de cultivo realizadas	60
I. Otras prácticas realizadas	61
J. Incidencia de plagas y enfermedades	61
K. Cosecha	62
<b>IV. OBJETIVOS E HIPOTESIS</b>	65
<b>V. RESULTADOS</b>	
<b>1.- Análisis estadístico</b>	
A. Rendimiento	67

	pag.
B. Peso de planta	68
C. No. de vainas/planta	70
D. No. de granos/vaina	71
E. Peso de vainas	72
F. N <sub>2</sub> total en planta	73
G. Altura de planta	74
2.- Estudio económico ( Relación B/C )	76
VI. DISCUSION	78
VII. CONCLUSIONES	80
VIII. RECOMENDACIONES	81
IX. RESUMEN	82
X. BIBLIOGRAFIA	84
XI. APENDICE	91

## I . I N T R O D U C C I O N

América Latina es la región donde se produce la mayor cantidad de frijol común ( Phaseolus vulgaris L. ), siendo México uno de los países de dicha región, donde se produjo el 23 % de la producción total, en el año de 1977 .

México es uno de los principales productores de frijol común, debido a que la semilla de dicha leguminosa forma parte esencial en la dieta alimenticia del pueblo mexicano, junto con el maíz. La importancia que tiene el cultivo de frijol en México es muy grande por ser una importante fuente de proteínas, aunque varias leguminosas contienen mayor cantidad de proteínas que el frijol.

Esta leguminosa proporciona el 33 % de la proteína diaria, y se le considera como una fuente no esencial, sino complementaria de proteínas y calorías ya que otros cereales son deficientes en los aminoácidos lisina y triptófano.

El frijol de acuerdo con los datos estadísticos de 1975 de la Dirección General de Economía Agrícola SARH, ocupó el 2º lugar en importancia como alimento básico después del maíz. En todo el territorio nacional en el año de 1979, se cultivaban un millón de hectáreas sin satisfacer la gran demanda de esta leguminosa, debido a los bajos rendimientos obtenidos, cuya media fué de 500 Kg / ha. En el estado de Nuevo León

en 1978, la superficie destinada al cultivo de frijol era de 3,500 has., con una producción anual de 1,500 toneladas en siembra de verano . Esta producción no satisface las necesidades del consumo actual teniendo que importar de otros estados cantidades considerables de este producto. El frijol común en México se siembra desde el nivel del mar hasta alturas - de 2,500 msnm., cubriendo una superficie aproximada de 2 millones de hectáreas con características ecológicas, económicas y sociales muy diferentes.

Los cultivos en general, requieren de elementos nutricionales como el nitrógeno para elevar la producción, pero debido a los problemas que se presentan en la actualidad con los fertilizantes químicos, como son : los altos costos, el que éstos productos modifican el pH de los suelos agrícolas con el tiempo, la tendencia a desaparecer en un futuro, debido a que son derivados del petróleo y este no es un recurso renovable. Se ha venido buscando una alternativa, la cual se presenta como la fijación de nitrógeno por medios biológicos, esto como un sustituto a la aplicación de productos químicos nitrogenados para el hombre en el futuro.

Es bien conocido el hecho de que algunos microorganismos como las bacterias del género Rhizobium , son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico por medio de la simbiosis con las leguminosas, formando nódulos en sus raíces, en donde se lleva a cabo la actividad de fijación que conduce a la síntesis de aminoácidos. Se ha estimado que algunos géneros de legumi

nosas diferentes a Phaseolus son capaces de fijar de 200 a 400 y más kilogramos de nitrógeno por hectárea.

Estudios realizados por diversos investigadores en México, empleando la inoculación en frijol sembrado en terrenos de riego y temporal, muestran resultados no muy satisfactorios a favor del uso de inoculantes con respecto al aumento en rendimiento y nodulación en frijol.

El hecho de que el frijol requiera a veces hasta 100 Kgs. de fertilizante nitrogenado por hectárea, aún siendo leguminosa, nos revela la baja eficiencia de la fijación simbiótica de nitrógeno, tanto por parte de las cepas nativas, como por las cepas empleadas en los inoculantes comerciales. Considerando que es muy difícil que el pueblo mexicano cambie su tradición alimenticia, para ingerir estas fuentes de proteínas diferentes al frijol, se está tratando de resolver el problema de inoculación en frijol, para aumentar los rendimientos y disminuir los costos de producción, ya que representa un gran desembolso utilizar fertilizante nitrogenado sintético, además de que con la crisis de energéticos su costo aumenta día a día.

La importancia de estudiar la relación planta - bacteria, es justificada tomando en cuenta el ahorro que se pudiera tener anualmente por concepto de fertilizantes nitrogenados para el frijol, como también el ahorro de energéticos necesarios en la fabricación de estos productos nitrogenados. Pero el problema no es tan simple como parece, ya que existe una alta es



pecificidad entre Rhizobium y la variedad de frijol cultivada, es decir una cepa de Rhizobium que sea -- adecuada para una buena simbiosis, además de que existen otras limitaciones para una adecuada nodulación y fijación de nitrógeno atmosférico como lo son :

- La gran cantidad de cepas nativas altamente competitivas y poco efectivas en la fijación de nitrógeno.
- Deficiencia en la preparación, manejo, almacena -- miento y uso de los inoculantes por parte de los -- fabricantes, los distribuidores y los agricultores.
- Condiciones físicas y nutricionales del suelo, ad -- versas a la infección y actividades del Rhizobium.
- Presencia en el suelo de fagos, actinomycetos, hon -- gos, bacterias, protozoarios, nemátodos ú otro ti -- po de organismos que pueden afectar el desarrollo de Rhizobium.

El presente trabajo forma parte del proyecto de " Fijación Biológica de Nitrógeno " de la F.A.U.A.N.L. en coordinación con el C.O.N.A.C.Y.T. y pretende los siguientes objetivos :

- Llevar a cabo un estudio económico respecto a la -- aplicación y fijación ( en Kgs. ) de nitrógeno por hectárea en cuanto al rendimiento en grano del fri -- jol.
- Evaluar la eficiencia de la cepa FM-173 de Rhizo -- bium phaseoli en la variedad de frijol ( Phaseolus

vulgaris L. ) Canario 101.

- Evaluar la eficiencia de la cepa con respecto a la fertilización nitrogenada ( diferentes productos ).

## II. REVISION DE LITERATURA

### 1.- IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL FRIJOL ( PHASEO - LUS VULGARIS L. )

El cultivo del frijol reviste gran importancia, ya que junto con el maíz constituyen la base alimenticia de grandes masas de nuestra población, principalmente la rural debido a que el consumo de carne y huevo se ha venido reduciendo por su alto costo, sustituyendolos por otros productos más baratos como lo son el maíz y el frijol.

La utilidad principal del frijol reside en sus semillas, aunque también tiene múltiples usos en la agricultura por ejemplo como abono verde, forraje, en silado, etc.

Por ser parte esencial en la dieta del mexicano, sin importar su nivel social se cultiva en casi todo el país. Es bien sabido que las leguminosas son especies que generalmente contienen altas cantidades de proteínas, por lo que el frijol está considerado de alta calidad nutricional por contener proteínas y aminoácidos. Bressani menciona doce tipos de aminoácidos que contienen las leguminosas, en las cuales varía enormemente el contenido de estas sustancias, según la especie.

Los sistemas comerciales de producción del fri-

Los se han estudiado mucho en los países industrializados, y han sido adoptados por los agricultores de México que tienen los recursos necesarios. Tales sistemas en general, requieren fuertes inversiones en maquinaria, combustible, fertilizante, riego, herbicidas, etc., y casi siempre se emplean en un solo cultivo. El objetivo de estas actividades es obtener el rédito máximo de la inversión. Por otro lado, la mayoría de los agricultores del área cultivada del país tienden a seguir sistemas tradicionales de autoconsumo, cultivan pequeños terrenos y no pueden invertir capital. En este problema, que se presenta año tras año intervienen muchos factores, entre los más importantes se pueden mencionar los siguientes :

- No se utilizan fertilizantes por su alto costo
- No se siembran las variedades adecuadas
- En general, la zona donde se siembra este cultivo es de temporal limitado, etc.

## 2.- ORIGEN

Por mucho tiempo fué incierto el origen del frijol ( Phaseolus vulgaris L.), hasta 1853 Linnaeus es el primero que define su criterio en cuanto al origen del frijol, estableciendolo en Asia Occidental; siendo hasta 1866 cuando DeCandolle la dió a conocer como una planta de origen americano y, específicamente de América del Sur, América Central, el Sur de México ( incluyendo las Antillas ), hasta Perú, Ecuador y Bolivia.

Kaplan y Mac Neish ( 1960 ) y Kaplan ( 1965, 1967 ) han reportado restos de Phaseolus con antigüedad de 6000 a 7000 años antes del presente en Callejón de Huaglar, Perú ( Kaplan et al. 1973 ). Estos hechos concuerdan con los principios sugeridos por DeCandolle ( 1866 ) y Vavilov ( 1949, 1950 ) para determinar el centro de origen de plantas cultivadas, e indican que P. vulgaris se originó en la parte occidente del área México-Guatemala ( Miranda, 1967; Gentry, 1969 ), a una altura de 1,200 msnm.

Ditmer et al., ( 1937 ) citado por Miranda (1966) hacen mención de que el género Phaseolus está constituido de 180 especies aproximadamente, encontrandose 126 en América , y de estas 70 proceden de México.

En el Sur de Asia y Oriente de Africa se encuentran 54 especies, 2 son originarias de Australia y 1 de Europa.

Al cultivo del frijol ( Phaseolus vulgaris L. ) se le ha calculado una antigüedad de 6000 años o más en México, tiempo en el cual nuestro tema de interés la bacteria tanto como la planta, probablemente han sufrido modificaciones en la asociación, a tal grado que se pueden observar gran cantidad de nódulos in - efectivos. Puesto que la nodulación no necesariamente indica fijación de nitrógeno, ya que algunas cepas que producen nódulos fijan poco nitrógeno o no lo fijan, y en ocasiones se comportan como parásitos, se - hace necesaria la inoculación de leguminosas.

### 3.- DISTRIBUCION

Su distribución en el continente, fué principalmente en forma natural; se llevó a Europa después de la conquista en el siglo XVI, de donde se distribuyó a la mayoría de las regiones del mundo con climas templados, tropicales y subtropicales, debiéndose esto a su gran capacidad de adaptación y a su gran número de variedades y tipos ( Jussca, 1966; Lourdei, 1970 y Ruiz, 1980 ) .

## 4.- CLASIFICACION

## A. TAXONOMIA

El frijol común ( Phaseolus vulgaris L. ) se clasifica de la siguiente manera según Miranda ( 1967 ) y Mateo ( 1961 ) :

Reino	-----	Vegetal
Subreino	-----	Plantas
Phylum	-----	Tracheophyta
Clase	-----	Angiospermas
Subclase	-----	Dicotyledoneae
Orden	-----	Rosales
Suborden	-----	Rosinae
Familia	-----	Leguminosae
Subfamilia	-----	Papilionoidea
Tribu	-----	Faseolea
Subtribu	-----	Faseolineae
Género	-----	<u>Phaseolus</u>
Especie	-----	<u>vulgaris</u> L.

## B. CARIOSISTEMATICA

Según Weinstein ( 1926 ), el número somático



de cromosomas de P. vulgaris es de  $2n = 22$ .

### C. MORFOLOGIA

Según Miranda ( 1966 ) algunas características morfológicas que permiten una fácil identificación de Phaseolus son :

- Cotiledones epigeos
- Segundo par de hojas simples pecioladas mostrando un contorno curvo en la base
- Las bracteólas del cáliz de igual o mayor longitud que los sépalos
- El filamento del estambre libre lleva una aleta en la base
- El estigma está situado lateralmente en la parte apical del estilo

En cuanto a la raíz de la planta, ésta es una de las partes principales donde se efectúa la fijación de nitrógeno por la bacteria Rhizobium, generalmente la raíz presenta pequeños nódulos o nudosidades que son producidas por dicha bacteria, siendo aquí donde se lleva a cabo la simbiosis.

#### D. VARIEDADES

Dentro de la especie Phaseolus se encuentran infinidad de variedades, de las cuales los tipos - " Flor de Mayo ", " Mantequilla ", " Garbancillo ", " Negro 150 ", " Canario 101 y 107 " y " Jamapa " - son algunas de las variedades más recomendables para sembrar en las diferentes zonas, según Crispin (1071). Dentro de estas variedades se encuentran algunas de crecimiento determinado ( Canario 101 y 107 ), e indeterminado o semiguía ( Jamapa ).

## 5.- FACTORES LIMITANTES DE LA PRODUCCION DE FRIJOL

La mayoría de los agricultores en México cultivan el frijol bajo condiciones de temporal, siendo una minoría la que lo cultiva bajo riego, esta condición y la asociación del frijol con el maíz limitan gradualmente los rendimientos según lo menciona Miranda, 1966.

Otros factores que afectan el rendimiento son; la utilización de semillas no mejoradas por los agricultores, el ataque de plagas y enfermedades, así como malas hierbas que compiten con el frijol por los nutrientes, energía luminosa y humedad. Además el uso de fertilizantes nitrogenados es reducido, este es uno de los problemas principales, como se ha mencionado anteriormente y esto debido principalmente a que este elemento se emplea en otros cultivos con mayor necesidad que el frijol de nitrógeno, además de los altos costos que no pueden ser abatidos por la mayoría de los agricultores.

Las plantas leguminosas obtienen este elemento por medios biológicos ( Brill, 1977 ), sin embargo el frijol es una de las leguminosas que menor cantidad de nitrógeno atmosférico fija por hectárea por año, estimándose en 45 Kgs. ( Dawson, 1970 ) .

## 6.- EXIGENCIAS ECOLOGICAS GENERALES PARA EL FRIJOL

### A. TEMPERATURA

Las temperaturas mínimas para su desarrollo son las siguientes :

Germinación	-----	8 °C
Floración	-----	15 °C
Maduración	-----	18 °C

Por abajo de dichas temperaturas se presentan dificultades para el desarrollo, así como también las altas temperaturas afectan en la floración, teniendo como consecuencia bajos rendimientos.

### B. FOTOPERIODO

El cultivo del frijol se clasifica dentro de las plantas que requieren una corta duración del período de luz, aunque el efecto del fotoperíodo sobre la floración no es importante, ya que la mayoría de las variedades que existen actualmente son indiferentes a este.

Algunos genotipos, si se cultivan en lugares de día largo se ven afectados en forma indirecta en el rendimiento, ya que se provoca un abundante desarrollo vegetativo, disminuyendo el reproductivo.

En lo que se refiere a la intensidad de la luz necesaria para la planta, ésta tendrá que ser la adecuada ya que tiene un efecto indirecto en la fotosíntesis y la respiración; el equilibrio de los anteriores procesos implica la existencia adecuada de la fotosíntesis para el buen desarrollo de la planta ( Edmon y Mateo, 1976 ).

### C. CLIMAS

El cultivo por lo general se adapta a diferentes tipos de climas, por lo tanto se cultiva en todas las zonas agrícolas del país si su ciclo no coincide con el período de heladas pues es sumamente susceptible a las bajas temperaturas.

### D. HUMEDAD

Se puede producir bajo condiciones de temporal si existe una buena precipitación durante su ciclo vegetativo, tal como unos 600 mm. o más, en los

lugares donde no alcanza deberá recurrirse al riego ( Baileg, 1961 ).

#### E. SUELOS

El frijol prospera bien en suelos fértiles y bien drenados como lo son los arenosos-arcillosos. En los suelos arcillosos que retienen humedad por bastante tiempo el frijol no prospera debido a que las raíces se pudren por el encharcamiento y el exceso de humedad y por consiguiente trae la marchitez de la planta ( Crispin y Miranda, 1968 ).

#### F. PH DEL SUELO

Las plantas de frijol prosperan mejor en suelos con un ph de 5.5 a 6.0 . Con valores de ph superiores la disponibilidad de fierro y otros nutrientes se hace menor, por lo que se presentan problemas con las plantas que se desarrollan en suelos alcalinos.

## 7.- LA FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO ATMOSFERICO

### A. ANTECEDENTES

La fijación biológica de nitrógeno en las leguminosas es un proceso simbiótico el cual toma lugar en los nódulos formados generalmente por las bacterias Rhizobium en la raíz. Pocos trabajos han abordado el problema de la fijación simbiótica de nitrógeno.

El género Rhizobium pertenece a la familia - Rizobiaceae que comprende además el género Agrobacterium. Etimológicamente el nombre de ésta familia proviene de dos raíces griegas : " Rhiza ", que significa raíz y " bios ", que significa vida ( Jordan y Allen, 1975 ).

Según Broum et. al., 1932, Boussingault en 1838 estableció un experimento con dos leguminosas ( guisante y trébol ) y una gramínea ( trigo ) y encontró que el nitrógeno de las semillas cosechadas se incrementó significativamente con respecto al de las semillas sembradas en el caso de las leguminosas más no en el trigo, por lo que concluía que el nitrógeno era tomado de la atmósfera. El trabajo de Boussingault se considera como la primera demostración experimental de la fijación de nitrógeno atmosférico por las leguminosas ( Senes, 1976 ).

El primer reporte de la asociación simbiótica entre las leguminosas y la bacteria Rhizobium fué hecho por Hellriegel y Wilfarth, 1888 pero pasó más de medio siglo antes de que los estudios con  $^{15}\text{N} - \text{N}_2$  proporcionaran la prueba de que en los nódulos es donde se genera la reacción de fijación ( Alexander, 1980).

Beijerinck, 1888 experimentando con nódulos de lupino amarillo, serradella, haba y algarrobo obtuvo cultivos de bacteroides y demostró que son los responsables de producir los nódulos y fijar nitrógeno en las leguminosas.

Wilson, 1926 en su trabajo con Rhizobium al utilizar como inoculante extracto de suelo proveniente de tierras cultivadas por muchos años y por diferentes plantas, informa una amplia variación en la nodulación lograda en cultivos de alfalfa, trébol, soya, veza, etc.

Vadencaveye, 1927 menciona que las bacterias de Rhizobium spp. pueden vivir por diez o más años en el suelo en ausencia de la planta hospedante y, considera que las tolveneras pueden distribuir, el Rhizobium.

Winogradsky, 1933 presentó su hipótesis de que el amonio emitido de los nódulos cortados, era un producto directo de la fijación de nitrógeno asumiendo que tales nódulos podían fijar nitrógeno.

Wilson, 1935 menciona la existencia de especies masivas de Rhizobium en los suelos. Analizó



muestras de siete series diferentes de suelos con va  
riados resultados.

Wafsmán, 1963 menciona que el Rhizobium puede persistir en los suelos por varios años aún en ausen  
cia de la planta hospedante pero, que sin embargo, rara vez se le encuentra en suelos donde no se ha cultivado leguminosa alguna. Expresa que las bacte  
rias se mueren en el suelo muy lentamente y que se distribuyen en gran escala por las semillas, por el suelo y por las aguas de riego.

La utilización del gas nitrógeno (  $N_2$  ) como fuente de nitrógeno se denomina fijación de nitrógeno ; en este proceso el  $N_2$  es reducido a amoníaco y éste es convertido a la forma orgánica ( Brock, 1971).

Alexander, 1980 señala que la infección espontánea por los Rhizobios nativos del suelo no es sufi  
ciente para obtener el máximo beneficio de la simbio  
sis, ya que solo el 25 % de las bacterias son efecti  
vas. Por tal motivo, actualmente se recomienda la ino  
culación.

## B. CICLO DEL NITROGENO EN LA NATURALEZA

El origen de los compuestos nitrogenados no proviene de los suelos, ya que las rocas que dan origen a los suelos no poseen nitrógeno, por lo tanto, este debe producirse de algún modo. Este se consigue principalmente mediante la actividad de ciertos organismos del suelo, las bacterias fijadoras del nitrógeno.

--- Fijación del nitrógeno .- Dos grupos de bacterias son capaces de fijar nitrógeno atmosférico en cantidades apreciables en forma de combinaciones orgánicas :

a) Ciertas bacterias saprófitas que obtienen su energía de la materia orgánica -- muerta existente en el suelo, ejem. Azotobacter, Clostridium.

b) Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno que viven en las raíces de las leguminosas, ejem. Rhizobium.

--- Amonificación .- En el proceso de putrefacción los complejos compuestos nitrogenados de vegetales muertos y de los tejidos animales son desintegrados en una cantidad de compuestos -- más simples; la mayor parte del nitrógeno se libera bajo la forma de amoníaco. Este proceso denomina amonificación. La amonificación

no es resultado de la actividad de un solo grupo de bacterias, sino que intervienen otro tipo de microorganismos diferentes como hongos y actinomicetos.

--- Nitrificación .- El amoníaco formado por la descomposición de las proteínas y de otros compuestos orgánicos nitrogenados puede ser atacado por las bacterias nitrificadoras y ser transformado en nitratos ( en dos pasos ). El primer paso es la oxidación del amoníaco en nitritos; intervienen dos tipos de organismos: Nitrosomonas y Nitrosococcus. Ninguno de estos dos organismos pueden oxidar los nitritos que producen, los que son oxidados a nitratos por un organismo diferente, el Nitrobacter.

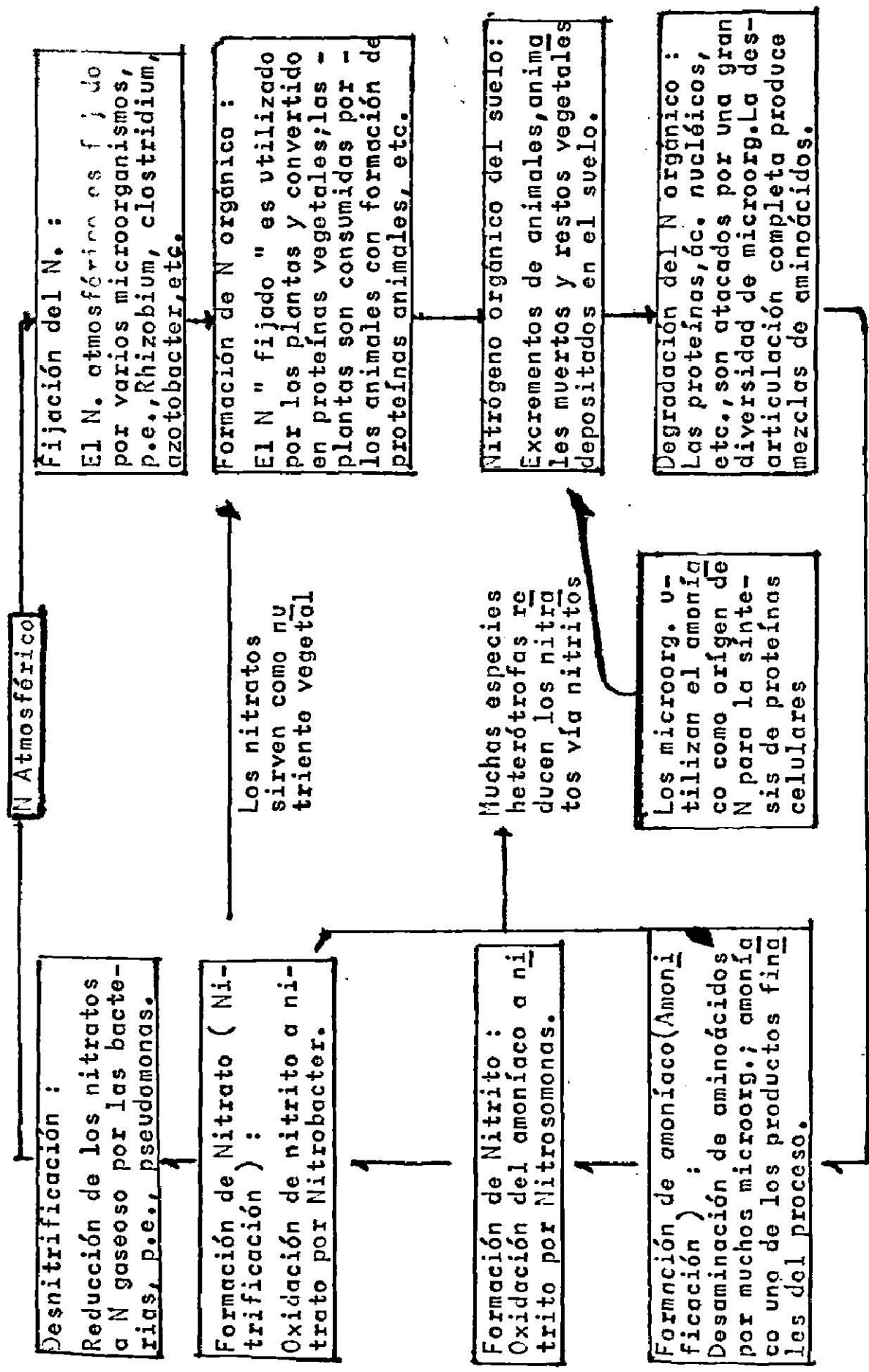
--- Desnitrificación .- Existen ciertos organismos del suelo que pueden reducir los nitratos hasta llegar a nitrógeno molecular. Estos organismos son conocidos como bacterias desnitrificadoras, e incluyen una cantidad de especies siendo Bacterium denitrificans una de las mejor conocidas. Este proceso solo tiene lugar en la ausencia de oxígeno atmosférico y es mucho más efectivo cuando en el suelo hay una provisión abundante de carbohidratos; normalmente no se produce en suelos bien cultivados.

--- Existe otro factor como fuente de compuestos nitrogenados, la Lluvia .- Pequeñas cantida -

des de nitrógeno inorgánico llegan al suelo -  
provenientes de la atmósfera. Durante las tor-  
mentas eléctricas se forman óxidos, que son -  
incorporados al suelo por las lluvias. También  
el amoníaco, que escapa hacia la atmósfera pro-  
cedente de varias fuentes, puede retornar al  
suelo en solución en las gotas de lluvia.

La historia completa del nitrógeno en relación  
con la vida vegetal supone toda una serie de eventos  
algunos de los cuales tienen lugar en las células de  
microorganismos del suelo y algunos en los tejidos -  
de los vegetales superiores. A esta serie de eventos  
se le denomina corrientemente el " ciclo del nitróge-  
no " .

TABLA 1. REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA INTERVENCION DE LOS MICROORGANISMOS.



### C. DESCRIPCION GENERAL DE LA BACTERIA

La importancia del género Rhizobium estriba en la capacidad de los organismos de producir nódulos en las raíces de plantas leguminosas, fijando nitrógeno atmosférico de los espacios aéreos del suelo, mientras vive en forma simbiótica.

Tiene la capacidad de cambiar dentro del tejido nodular a una forma bacteroidal. Cuando son jóvenes poseen flagelos por lo que tienen capacidad de movimiento. Las bacterias del género Rhizobium son un grupo de organismos genéticamente diversos y fisiológicamente heterogéneo.

Los bacteroides extraídos de los nódulos presentan agrupación de bacterias en forma de X, Y, T y en racimos o masas; poseen flagelos peritricos -- ( Allen, 1979; Brian, 1978 ); pueden crecer con facilidad en medios de cultivo con Manitol Glucosa, y amonio o nitrato; necesitan de vitaminas como : Biotina, Tiamina y Ac. Pantoténico y algunas veces Riboflavina ( Alexander, 1980 ).

Hasta hace poco se creía que ninguna bacteria de Rhizobium utilizaba nitrógeno en medio de cultivo, pero ahora es evidente que al menos algunas cepas fijan nitrógeno fuera de la planta ( Pagon et al.; Alexander, 1980 ), sin embargo otros autores afirman que los rizobios cuando viven en estado libre en el suelo no son capaces de fijar nitrógeno de aire, sino -

que es indispensable una planta hospedera ( Allen, 1979 ) .

#### D. MORFOLOGIA

Los bacilos de Rhizobium tienen de dos a cinco flagelos peritricos sobre la superficie y uno de ellos subpolar en la mayoría de los casos; los flagelos peritricos se desprenden facilmente, lo que no sucede con el flagelo subpolar ( Dley y Rassel, 1965 ).

Las bacterias son gram negativas, no formando esporas, y son bacilos aerobios de 0.5 a 0.9 um. de ancho y de 1.2 a 3.0 um. de largo ( Alexander, 1980 ).

Son bacterias aerobias obligadas, capaces de producir nódulos en la raíz de leguminosas; la simbiosis ordinariamente resulta de la fijación de nitrógeno atmosférico; cuando son jóvenes son móviles, comunmente cambian a forma de bacteroide. La temperatura óptima para su desarrollo son 25 °C, además son heterotróficas.

Se ha encontrado que la pared celular y la membrana citoplasmática de Rhizobium trifolii están constituidas de una doble capa, de espesor semejante ( Vincent, 1962 ).

Según Bergensen, 1957; en todos los tipos de

Rhizobium se encuentra la presencia de gránulos cito plasmáticos poco ostensibles y de una intensa actividad metabólica.

La bacteria tiene forma cocoidal en cultivos puros, y dentro de los nódulos adquiere formaciones en T llamados bacteroides. En esta condición se cree que la fijación de nitrógeno es llevada a cabo más eficientemente. La rizobia aparentemente estimula -- los pelos radiculares a producir pectinasa ( poliglacturonasa ).

A Rhizobium se le considera dentro de los bacilos no esporógenos y además con reacción negativa al gram, sin embargo Bisset, 1952 pretendió haber encontrado en nódulos de algunas leguminosas silvestres y de jardín formas gram positivas semejantes al género bacillus, que producen " swarmers " cocoides ( formas muy pequeñas y móviles de bacterias ) y endosporas resistentes.

Harris, 1957 usando medios de cultivo con glicerofosfatos y citratos encontró endosporas asociadas con las colonias en fase rugosa de crecimiento.

Los bacteroides frecuentemente tienen formas alargadas con contornos en forma de clava o ramificados, vacuolados o con líneas transversales.



## E. CICLO DE VIDA

De acuerdo a estudios realizados por varios - investigadores, se han propuesto teorías sobre el ciclo de vida de Rhizobium, denominandose uno de ellos " ciclo reducido " y a otro " ciclo completo " ( Bisset, 1952 ).

El "ciclo reducido" se presenta en Rhizobium de plantas cultivadas y el "ciclo completo" en Rhizobium de plantas silvestres y de jardín en la mayoría de los casos.

Harris, 1957 define como ciclo de vida más -- simple en este género, la secuencia de cocoides, bacilos y bacteroides, éstos últimos no tienen la capacidad de crecimiento no reproductivo.

No obstante, se tienen reportes de que las rizobias son capaces de vivir durante mucho tiempo lejos de la planta hospedante ( de 5 a 10 años ); pero al cabo de este tiempo el nivel de las bacterias es muy bajo por lo que se recomienda inocular con cepas de bacterias adecuadas.

## F. ORIGEN , FILOGENIA Y CLASIFICACION DE RHIZOBIUM

Según Jensen, 1952 el origen del Rhizobium -

proviene de las Corinebacterias, probablemente entre los organismos móviles y patógenos de las plantas.

Norris, 1959 considera una evolución paralela entre las plantas y la bacteria, y propuso que la bacteria nodular de " Cowpea " asociada con leguminosas tropicales, representa el tipo ancestral.

Por otro lado Graham, 1963 está en desacuerdo con la hipótesis de Norris, proponiendo la evolución de dos organismos diferentes del suelo con relación a la simbiosis con las leguminosas, siendo el primero una forma similar a Agrobacterium radiobacter o a A. tumefaciens como antecesor de los Rhizobium de rápido crecimiento.

Beijerinck clasificó primero a la bacteria como Bacillus radicicola, el cual fué un término que fué usado durante mucho tiempo hasta que un bacterologista alemán sugirió el nombre de Rhizobium leguminosarum ( Burges, 1960; Tanner, 1948 ) y R. radicicola.

Actualmente la base generalmente aceptada para la clasificación del género Rhizobium, es la de grupos de inoculación cruzada, refiriéndose solamente a la relación organismo-planta sin tomar en cuenta las características de la bacteria.

Burton, 1967 define como grupo de inoculación cruzada a las leguminosas noduladas por un mismo Rhizobium y en consecuencia, una especie del género Rhi-

zobium está formado por todas las cepas que nodulen a un grupo de inoculación cruzada.

Si bien es cierto que un grupo de leguminosas puede ser infectado por una sola cepa de Rhizobium, respondiendo en forma diferencial a algunas leguminosas, tal respuesta de infectividad divide el grupo - de leguminosas en pequeños subgrupos, lo cual tiene gran importancia en la selección de cepas para la inoculación .

Se han establecido más de 20 grupos de inoculación cruzada, de los cuales 7 han resultado ser de importancia y no más de 6 se han delimitado como especies ( Alexander, 1920 ) ( Tabla 2 ).

Smith, 1958 no encontró diferencias marcadas al trabajar con seis especies de Rhizobium en pruebas bacteriológicas, agrupándolas en base a ésto en tres categorías :

- a) Cepas de R. meliloti
- b) Cepas de R. trifolli, R. leguminosarum, R. phaseoli
- c) Cepas de R. japonicum, R. lupini, el gpo. cowpea ó caupí y otras cepas tropicales

TABLA 2 . GRUPOS DE INOCULACION CRUZADA Y ASOCIACIONES DE RHIZOBIUM - LEGUMINOSAS

GPO. DE INOCULACION CRUZADA	ESPECIES DE RHIZOBIUM	GENERO HOSPEDERO	LEGUMINOSAS INCLUIDAS
Gpo. del alfalfa	R. meliloti	Medicago Medilotus Trigonella	Alfalfa Trébol dulce Alholva
Gpo. del trébol	R. trifolli	Trifolium	Tréboles
Gpo. del chícharo	R. leguminosarum	Pisum Vicia Lathyrus Lens	Chícharo Algarroba Almorta Lenteja
Gpo. del frijol	R. phaseoli	Phaseolus	Frijol
Gpo. del altramus	R. lupini	Lupinus Ornithopus	Altramuz Serradela 6 Pie de pájaro
Gpo. de la soya	R. japonicum	Glycine	Soya
Gpo. de caupí ( Cowpea )	-	Vigna Lespedeza  Crotalaria Pueraria Arachis Phaseolus	Caupí Trébol del japon Crotalaria Rudzú Cacahuete Frijol Lima

## 8.- RELACION PLANTA- BACTERIA

### A. INTERACCION INICIAL

Se sabe que las leguminosas a través de exudados de las raíces, los cuales son una gran variedad de sustancias, estimulan la proliferación de rizobios en la rizósfera ( Nutman, 1965 ). Este estímulo no está restringido a los rizobios sino que abarca otros diversos tipos de bacterias de la rizósfera ( Brock, 1978 ).

Los exudados radicales que se han encontrado, en general son aminoácidos, enzimas y vitaminas ( Rovira, 1962 ). Según Harris, 1961, la biotina pudiera ser el factor de crecimiento más importante de los exudados ya que se encuentra en cantidades suficientes para estimular a los organismos de la rizósfera.

Brock menciona que el triptófano es la secreción radical, que al ser transformado por el Rhizobium en ácido indol acético ( IAA ) produce el encorvamiento de los pelos radicales iniciando el proceso de infección.

Actualmente se cree que un ácido nucleico y un polisacárido o proteína son los causantes de tal deformación ( Alexander, 1980 ).

Antes de la infección los rizobios y los pelos radicales se unen estrechamente ( Lie, 1981 ).

Esta unión es perpendicular a los pelos radicales y se atribuye a una fuerte polaridad de las células de Rhizobium ( Turgeon y Bauer, 1982 ).

Se supone que las lecitinas son las responsables de la unión específica, por la acción de un puente molecular entre los antígenos comunes o de reacción cruzada de las raíces y las células de Rhizobium ( Dazzo, 1975 ).

## B. FORMA DE INFECCION

Según Graham, la penetración ó infección sigue los siguientes estadios :

- a) La raíz es curvada y deformada
- b) El extremo de la raicilla es reblandecido por las enzimas producidas
- c) La pared celular reblandecida se invagina y algunos rizobios quedan incluidos

La deformación de los pelos radicales es, se puede decir el preludio a la infección si la cepa de Rhizobium es específica y está en contacto con las raíces de la leguminosa. En ese momento pueden producirse enzimas que disuelven la celulosa de las microfibrillas del pelo radical, penetrando las bacterias a través del pelo radical hasta el citoplasma. Posteriormente las células bacterianas proliferan formando el llamado filamento o hilo de infección.

Normalmente el hilo de infección crece centripetamente hacia la estela atravesando las células -- corticales ( Lie, 1981 ). Si éstas células son células diploides normales, habitualmente son destruidas por la infección sufriendo necrosis y degeneración ; sin embargo, si la célula es tetraploide podrá ser el predecesor de un nódulo.

Solo una pequeña parte de los pelos radiculares infectados desarrollan nódulos, siendo alrededor de un 5 % de las infecciones las que los producen.

En la raíz siempre hay un pequeño número de células tetraploides, las cuales al ser infectadas son estimuladas a dividirse, produciéndose así, nódulos de aspecto tumoral ( Brock, 1978 ).

En cultivo, los rizobios producen citocininas que hacen que las células tetraploides se dividan, - por lo que es probable que ésto ocurra en las células infectadas ( Brock, 1978 ). Al multiplicarse las bacterias dentro de las células tetraploides, las bacterias se transforman a formas hinchadas, deformes ó ramificadas llamadas bacteroides.

No todos los nódulos formados son capaces de llevar a cabo la fijación simbiótica de  $N_2$ , por lo que la capacidad relativa de la asociación planta-bacteria para asimilar  $N_2$  se conoce como efectividad ( Alexander, 1980 ).

### C. ASPECTOS BIOQUIMICOS DE LA FIJACION

Los nódulos maduros fijadores de nitrógeno - ( $N_2$ ), se caracterizan por ser de color rojo ó rosá ceo, debido a la producción de leghemoglobina ( Brock, 1971 ).

Se ha demostrado que existe una relación estre cha entre la tasa de leghemoglobina en los nódulos y la eficiencia de la simbiosis leguminosa-Rhizobium - ( Viertanen, 1947 ).

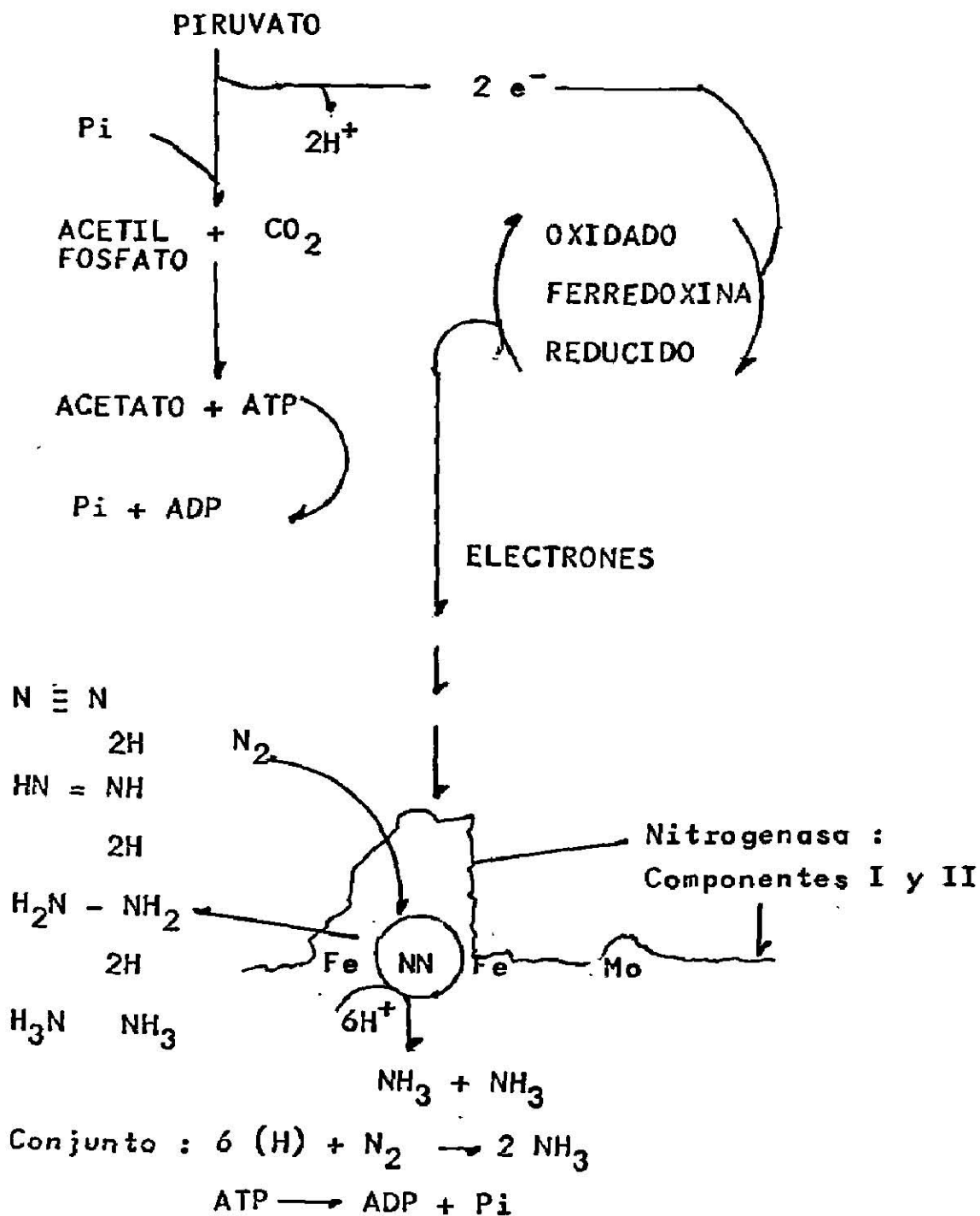
Los bacteroides son aerobios y consumen gran cantidad de  $O_2$ ; la leghemoglobina estimula la utilización de  $O_2$  y probablemente en forma indirecta favo rece la reacción de fijación ( Alexander, 1980 ).

La enzima nitrogenasa es esencial para la reac ción de fijación; la enzima es sintetizada por los - bacteroides, aunque no se sabe el lugar exacto de la síntesis ( Brock, 1978 ). La nitrogenasa en los nódu los tiene características parecidas a las de las bac terias de vida libre, debido a su capacidad de redu cir acetileno y  $N_2$ .

Los azúcares sintetizados por la planta duron te la fotosíntesis son trasladados a la raíz y ahí - utilizados como donadores de electrones para la fija ción de nitrógeno, no se conoce el reductante, pero los pasos son similares a los sistemas de organismos de vida libre fijadores de  $N_2$ . En la Fig. N° 1 se ob serva el mecanismo de fijación de  $N_2$  ( pasos en la - reducción de  $N_2$  a  $NH_3$  ).



FIG. Nº 1. MECANISMO DE LA FIJACION DE NITROGENO CON SUS PASOS EN LA REDUCCION DE N<sub>2</sub> A NH<sub>3</sub> .



Para la fijación de  $N_2$  por los bacteroides se requiere energía en forma de ATP. El primer producto de ésta fijación de  $N_2$  es  $NH_3$ ; éste es convertido en aminoácidos, y éstos a su vez son transferidos por el bacteroide a las células radicales y posteriormente a toda la planta.

#### D. ESPECIFICIDAD

La planta hospedera tiene una influencia dominante en determinar cual cepa en efecto, formará los nódulos ( Date, 1976 ).

Ciertas líneas o cepas de Rhizobium son útiles en unas especies vegetales pero no en otras, aunque formen nódulos ( inefectivos ); siendo ésto un claro ejemplo de especificidad.

Burton, 1965, manifiesta que primero que todo, existen componentes genéticos que determinan la compatibilidad entre la cepa Rhizobium y la leguminosa -- hospedera .

Döbereiner, 1965, de acuerdo con lo anterior ha demostrado que existe una mayor o menor capacidad genética de la planta para formar nódulos, habiéndose encontrado diferencias entre cultivos.

Cepas de Rhizobium con simbiosis efectiva con

plantas de diferente especie se denominan cepas de a amplio espectro ( Burton, 1967 ). Por lo general, ce pas aisladas de un hospedero dado, son más efectivas con él, que con otro hospedero del mismo grupo de - inoculación cruzada. Por ejemplo, las cepas de Rhizo- bium que infectan a Phaseolus lanatus L. ( frijol li ma ) son distintas de las del frijol blanco y frijol común ( Phaseolus vulgaris ) pero son idénticas a las del chícharo vaca ( Vigna sinensis ) ( Winting y Han sen, 1970 ).

#### E. EFECTIVIDAD DE LA BACTERIA

En la actualidad se utilizan diferentes méto- dos y criterios para seleccionar cepas efectivas de Rhizobium, dependiendo de los objetivos y condicio- nes existentes ( Schroder, 1970 ).

La efectividad generalmente es medida por la cantidad total de nitrógeno fijado, y por la produc- ción de materia seca de la parte aérea o el rendimien- to de la semilla. También puede evaluarse por el  $N_2$  total de la planta, aunque las leguminosas pueden -- responder a la inoculación de varias formas : incre- mento en la masa nodular, número de nódulos, distri- bución o color de nódulos, cambios de color en el fo llaje, incremento en el vigor de la planta o un in- cremento en el grado de reducción de acetileno ( Vin cent, 1975 ).

Las plantas leguminosas inoculadas con rizobios efectivos fijan nitrógeno y desarrollan bien sin mostrar deficiencias, mientras que al inocular con rizobios inefectivos no hay ninguna respuesta, especialmente si se siembra en suelo que haya sido inoculado anteriormente con rizobios efectivos ( Dunham y Cox, 1931).

Burton, Allen y Berger, 1954, inocularon en frijol, rizobios efectivos e inefectivos y una mezcla de los dos. Los tratamientos con rizobios inefectivos y testigos tuvieron desarrollo raquítico y bajo rendimiento; en cambio, los tratamientos con la mezcla de rizobios efectivos e inefectivos manifestaron buen crecimiento y un rendimiento significativo, al igual que los tratamientos con rizobios efectivos.

Ferrera-Cerrato, 1980 trabajó con diferentes cepas de Rhizobium phaseoli y varias especies de Phaseolus y encontró un efecto positivo solamente en la inoculación de P. vulgaris y P. leiosepalus con la cepa - CP - 10, poniéndose de manifiesto dicho efecto por el incremento en el peso seco de la biomasa.

## 10.- FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO DE NODULACION Y LA FIJACION DE NITROGENO

Ahmed Y Evans, 1961; Lie, 1964; Lowter y Lone ragan, 1968; y Bergensen, 1971, entre otros, han publicado trabajos referentes a los diversos factores que influyen sobre la simbiosis entre las leguminosas y las bacterias del género Rhizobium, sin embargo existen diferentes criterios para agrupar dichos factores. Algunos autores los clasifican en factores -- químicos, físicos y biológicos ( Pérez, 1980 ).

Alcalde, 1976, haciendo una reordenación de todos estos factores estima que la fijación de nitrógeno por el sistema simbiótico, Rhizobium-leguminosa, depende de una serie de factores edáficos, climáticos y genéticos que pueden ser agrupados en dos categorías: factores endógenos y factores exógenos.

Hay además quienes clasifican los factores -- que limitan o afectan la fijación de nitrógeno en -- factores extrínsecos y factores intrínsecos ( Mejía, 1983 ).

Para la finalidad de este trabajo se ha decidido utilizar la clasificación de Pérez, 1980 el cual lo divide en físicos, químicos y biológicos.

## A. FACTORES QUIMICOS

Dentro de los factores químicos uno de los -- principales puntos es la nutrición de las plantas, -- estos son tales como el contenido inorgánico o mineralizable en el suelo, el nivel de fósforo y potasio aprovechables y la presencia de cierto número de nutrientes secundarios en forma utilizable, tales como Fe, Mo, Co, y otros ( Epstein, 1972 y Stewart , - 1966 ).

El aspecto nutricional es de suma importancia en la simbiosis; cualquier deficiencia o toxicidad -- que afecte a la planta afecta también a la fijación simbiótica de nitrógeno.

Se sabe que la fertilización nitrogenada afecta la nodulación, disminuyendo no solo el tamaño del nódulo, sino también la cantidad de nitrógeno fijado por la bacteria pues inhibe la síntesis de la enzima nitrogenasa.

Dentro de la planta los altos niveles de nitrógeno pueden causar la retención de los carbohidratos en la raíz limitando su excreción y la formación de nódulos. Si Rhizobium fijara nitrógeno en presencia de amonio, los cultivos de leguminosas suministrarían más nitrógeno al suelo, en lugar de consumir el que ya está presente. No obstante, pequeñas dosis de nitrógeno asimilable en el suelo normalmente ayudan a la nodulación.

El hierro es necesario para la producción de leghemoglobina presente en los nódulos y en otros -- compuestos en el proceso de maduración de los nódulos ( Bergensen, 1963 ).

El molibdeno es muy importante ya que en estudios al respecto, se ha determinado que no es la planta la que establece las necesidades de este elemento, sino las bacterias simbióticas ( Epstein, 1972 ).

Stewart, 1966 señala que en deficiencia de Mo la mayor parte de éste se acumula en los nódulos, especialmente en el " tejido nodular ".

El cobalto es necesario en la fijación de nitrógeno por medios biológicos, debido a que forma -- parte esencial de la vitamina B<sub>12</sub>, la que puede ser indispensable en la biosíntesis de la leghemoglobina.

Stewart, 1966 menciona que un aumento en la -- fijación de nitrógeno está asociado con un aumento -- de vitamina B<sub>12</sub> y en el contenido de leghemoglobina en el nódulo.

La toxicidad de elementos como manganeso y aluminio, así como la disponibilidad de otros, puede deberse a efectos de la acidez del suelo ( PH ) y deficiencias de calcio. Los efectos del ph se acentúan -- más en el proceso de nodulación que en el de fijación de nitrógeno ( Jensen, 1944 ).

El calcio, aparte de modificar el ph del suelo, también influye de manera determinante en la absor-- ción de elementos tales como : boro, molibdeno y fós

foro necesarios para la planta y la bacteria ( Chávez, 1975 ).

El contacto directo de las semillas con fertilizantes o agentes químicos ( pesticidas, fungicidas, etc. ), ya sea para desinfectar las semillas o para controlar plagas, influyen en la nodulación .

Como se mencionó anteriormente el pH también influye en la buena nodulación y fijación biológica de nitrógeno, ya que influye directamente en la disponibilidad de algunos elementos químicos. Se ha encontrado que algunos tipos de Rhizobium a pH inferior de 6.0 reducen su actividad o desaparecen rápidamente ( Allen, 1974; Graham, 1977 ); la infección no ocurre por debajo de pH igual a 5, en la mayoría de las leguminosas, a excepción de Glycine max ( soya ) que nodula en medios altamente ácidos ( Alexander, 1980 ). Muchos investigadores hablan de diferentes valores de pH para una buena nodulación, pero todos convergen en valores entre 5.5 y 7.5 .

## B. FACTORES FISICOS

La temperatura es un factor importante en la fijación de nitrógeno , así como el proceso de nodulación , por lo que puede darse el caso de que una temperatura óptima para la nodulación sea diferente a la del proceso de fijación . Gukova, 1945 , encon-



tró que las bacterias nodulares en simbiosis son más sensibles a una elevación que a un descenso de la temperatura. Los aumentos en la temperatura del suelo - incrementan el crecimiento y favorecen la nodulación, pero a temperaturas menores se fija la mayor cantidad de nitrógeno en las plantas de P. vulgaris L. ( frijol rojo ) ( Janseen, 1972 ).

La nodulación se presenta a todas las temperaturas del suelo que tolera la planta, pero se reduce en los extremos más fríos y más calientes ( Alexander, 1980 ). En promedio la temperatura óptima del suelo para el proceso de nodulación y fijación de nitrógeno es de 30 °C ( Graham, 1977 ).

La temperatura óptima tanto para la nodulación como para la fijación de nitrógeno atmosférico parece estar en relación muy estrecha con el tipo de planta y cepa utilizadas. Hay necesidad de utilizar altos niveles de inoculante cuando la temperatura es alta.

Otro de los factores físicos es la duración del día y la intensidad de la luz, ya que éstos también afectan el número y peso de los nódulos, mientras que la intensidad de la luz elevada pero no excesiva aumenta el número de nódulos, la falta de luz tiende a disminuir el peso de los nódulos ( Lie, 1971; Alexander, 1980 ).

Janseen, 1972, observó que la fijación de nitrógeno durante el día fué el doble que la registrada en la noche.

La humedad del suelo es otro de los factores

físicos, respecto a éste factor Vincent, 1975, menciona que la deficiencia de ella afecta la actividad de la nitrogenasa, siendo mayor el daño cuando se inicia la formación de los nódulos.

### C. FACTORES BIOLÓGICOS

Se puede mencionar dentro de estos factores - el daño producido por : hongos, protozoarios, nematodos, bacteriófagos, virus y la presencia de cepas de Rhizobium nativas, las cuales pueden causar pérdidas considerables y reducir la cantidad de nitrógeno fijado.

La competitividad, caracterizada por la capacidad de competir con otras cepas y con las nativas -- del suelo, es otro factor de importancia. Donde los rizobios nativos son numerosos y eficientes, la respuesta de la inoculación puede ser escasa o nula -- ( Alexander, 1980 ).

Cuautle, 1979, observó que las cepas nativas de Rhizobium presentaron gran capacidad infectiva, - tanto en campo como en invernadero, en suelo fumigado y sin fumigar, interfiriendo la evaluación del -- efecto de las cepas inoculadas.

Por otro lado Rhizobium puede morir por toxinas de semillas, puede ser digerido por enzimas, o --

inhibido por antibióticos y bacteriocinas.

Kleezkowska, 1950, citado por Vargas, 1969, - encontró que los bacteriófagos producen mutaciones - en Rhizobium que pueden modificar el proceso de fijación de nitrógeno. Los bacteriófagos cuando se encuentran en cantidades considerables en los suelos provocan la "lisis" de las bacterias de Rhizobium, disminuyendo la población de éstas en la rizósfera.

## 11.- TRABAJOS AFINES

A continuación se mencionan algunos resultados de investigaciones relacionadas con la asociación -- simbiótica de Phaseolus vulgaris - Rhizobium phaseoli, realizadas en diferentes centros de investigación -- agrícola del mundo.

- Westermann ( 1981 ) en Idaho, E.E.U.U., evaluó -- la contribución relativa de la fijación de nitrógeno estudiando el efecto de la fertilización nitrógenada, observando el rendimiento bajo condiciones de campo. La fijación simbiótica de nitrógeno ( P. vulgaris - R. phaseoli ), contribuyó -- con 90 Kgs. de N/ha., de los cuales un 40 - 50 % del nitrógeno fué encontrado cerca de madurez fisiológica en las plantas de frijol, y observó -- que la fijación simbiótica decreció en suelos con nitrógeno disponible o suelos fertilizados con nitrógeno.
  
- Neri, Andrade, Vesga y Muñoz ( 1981 ) en Tlaxcala, México, encontraron que de siete cepas de R. phaseoli evaluadas en la variedad de frijol común -- ( P. vulgaris, L.) Canario 107, tres superaban en rendimiento al tratamiento 40 - 60 - 00, y además reportan que no hubo respuesta a la fertilización con nitrógeno.

--- Ferrara y López ( 1982 ) en la sección de microbiología del colegio de postgraduados de Chapingo, México, realizaron dos experimentos con la asociación simbiótica de Rhizobium phaseoli - Phaseolus vulgaris, con el fin de comprobar la eficiencia de esta asociación. Evaluaron tres cepas y una mezcla de las tres a tres niveles de fertilización fosfórica y dosis crecientes de nitrógeno y fósforo sin inocular. Los resultados obtenidos fueron los siguientes : para el primer experimento ( a suelo profundo ) el rendimiento más alto fué para la cepa CP - 30 + 60 Kgs. de  $P_2O_5$ /ha.; para el segundo experimento ( en suelo delgado ) el mayor rendimiento fué para la aplicación de 60 Kgs. de  $P_2O_5$ / ha. sin inocular. El análisis económico reporta que las mayores ganancias con la mínima inversión se logran utilizando 60 Kgs. de  $P_2O_5$  / ha. sin inocular. Concluyendo que las cepas de R. phaseoli sustituyen la fertilización nitrogenada en el cultivo del frijol en la zona Mixteca Poblana.

--- Rodríguez y Ferrara ( 1982 ) en Chapingo, México, midieron la variación de la población de Rhizobium phaseoli en frijol ( P. vulgaris ), desde la germinación hasta el estado de plantula, para determinar la competencia entre las cepas nativas y las cepas inoculadas, mostrandose en los resultados un aumento en la supervivencia de R. phaseoli durante la germinación, observandose a los 20 un efecto inhibitorio sobre la población de la bacteria, a lo que se consideró como un efecto rizosférico negativo.

--- Khalil y Ferrara ( 1982 ) en el área de Chapingo, México, realizaron experimentos en cooperación - con la Universidad de Hawaii y el CIAT de Colombia. En el primer experimento estudiaron seis -- tratamientos ( 2 inoculados con cepas de R. phaseoli, 2 tratamientos sin inocular y 2 tratamien- tos con fertilización nitrogenada con 80 - 60 - 00 ); los resultados mostraron respuestas sobre- salientes a los tratamientos sin inoculantes y al tratamiento inoculado y con  $P_2 O_5$ . Concluyendo - que el uso de inoculantes puede sustituir a la fertilización nitrogenada.

En el segundo experimento evaluaron trece cepas con dos testigos, aplicando 60 Kgs. de  $P_2 O_5$  /ha. constantes y uno de los testigos fertilizado con la fórmula 80 - 60 -00 y el otro solo con ferti- lización fosfóráda. El análisis estadístico no - mostró diferencia significativa entre los trata- mientos.

--- Kremer y Peterson ( 1983 ) en la Universidad de Missouri en Estados Unidos, en una evaluación de campo para la selección de Rhizobium y de dos di- ferentes medios de inoculación ( a base de acei- te y a base de turba ) para Rhizobium phaseoli - en frijol, generó un 93 % de nódulos con el ino- culante a base de aceite, pero solo el 82 % cuan- do se aplicó el inoculante a base de turba. Se - encontró que el peso fresco para las plantas de frijol fué de 5.620 Kgs / ha. cuando se utilizó el medio a base de aceite, compara do con 3.370 Kgs / ha. para el inoculante a base de turba.

Reportan también haber obtenido significancia - para los cultivos del chícharo vaca y del cacahuete, obteniéndose mayor rendimiento con el inoculante a base de aceite.

--- Sparrow y Ham ( 1983 ) en la estación experimental de Fairbanks, Alaska, probaron seis diferentes medios para inoculantes, los cuales fueron : turba, carbón, vermiculita, olote molido, cáscara de cacahuete y un medio líquido. Midieron número de nódulos, peso de los nódulos, rango de reducción de acetileno, rendimiento de semilla y porcentaje de nitrógeno en semilla; en frijol -- ( P. vulgaris ) observaron que en los suelos en los cuales la población de Rhizobium phaseoli era menor a 10 células por gramo de suelo, y con un contenido de nitrógeno mineral de 8 ppm., los los medios de turba y carbón obtuvieron los mejores resultados. Mientras que en los suelos con alta población de R. phaseoli ( mayor de 104 células por gramo de suelo y relativamente altos en el contenido de nitrógeno mineral, 30 ppm. ) reportan que no hubo efecto de la inoculación.

--- Trujillo ( 1984 ) en la Universidad Federal de Río Grande en Porto Alegre, Brasil, realizó cuatro experimentos para observar los incrementos - en la fijación de nitrógeno por la inoculación - de combinaciones de cepas de Rhizobium phaseoli en frijol ( P. vulgaris ), encontrando que el uso de mezclas de cepas con diferente época de formación de nódulos y complementos del período de fi

jación de nitrógeno no resultaron en aumentos --  
significativos de nodulación, fijación de nitrógen  
o y rendimiento de materia seca del frijol; sin  
embargo sí encontró diferencia en cuanto a la época  
ca de formación de nódulos y el inicio de fija--  
ción de nitrógeno.



### III. M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

#### A. LOCALIZACION DEL SITIO EXPERIMENTAL

El presente trabajo se llevó a cabo en el campo agrícola experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León; situado en el Municipio de Márín, N.L. con coordenadas geográficas de 25° 53' latitud Norte y 100° 03' longitud/Oeste - en el meridiano de Greenwich, con una altura de 367.5 metros sobre el nivel del mar.

Dicho trabajo se llevó a cabo en el ciclo Primavera-Verano de 1984, bajo condiciones de riego.

#### B. CONDICIONES EDAFICAS Y CLIMATICAS DEL SITIO EXPERIMENTAL

La temperatura media anual de la región es de 22.5 °C, con una media anual máxima de 29.02 °C y -- una mínima de 15.96 °C . La precipitación pluvial es de 400 a 500 mm. anuales.

Según la clasificación de Köppen, modificada por García ( 1973 ), el clima es semiárido BS (h' ) hx' ( e' ).

En las gráficas 1 y 2 se pueden observar los datos de precipitación y temperaturas registradas durante el ciclo de vida del cultivo.

### C. PREPARACION DEL TERRENO

Se procedió a la delimitación del terreno que fué de 36 m. de ancho por 36 m. de largo, posteriormente el terreno se roturó, se rastreo y se procedió al surcado del terreno y al levantamiento de los bordes para los canales de riego.

Los materiales utilizados en la preparación del terreno fueron : cintas métricas, estacas , tractor, y los implementos agrícolas necesarios para la roturación, rastreo, surcado y bordeo.

### D. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se efectuó en un diseño de Bloque al Azar, con 4 repeticiones y 6 tratamientos por repetición.

TABLA 3 . RESULTADOS DEL ANALISIS DE SUELO REALIZADO  
EN EL SITIO EXPERIMENTAL; MARIN, N.L., CI-  
CLO PRIMAVERA-VERANO

Color	Seco Hum	Gris cafésáceo brillante Gris cafésáceo	Café pálido Café obscuro
PH		8.6	8.2
Textura	Ar	50 %	50 %
	Li	4 %	3 %
	Ac	46 %	47 %
M.O.		1.1 %	Pobre 1.2 %
N		0.130 %	0.121 %
P		1.7 ppm.	4.5 ppm.
K		210 Kg/ha	210 Kg/ha
C.E.		0.4 mmhos	0.9 mmhos

La parcela experimental utilizada fué de 1296 m<sup>2</sup> de superficie; para cada unidad experimental se destinó una área de 36 m<sup>2</sup>, teniéndose así 24 unidades experimentales. Cada unidad experimental consistía de 7 surcos de 6 m. de largo y a una distancia de 80 cm. entre surcos; dejándose uno de los surcos sin sembrar, para ser utilizado como división entre los tratamientos de cada repetición.

La parcela útil estuvo considerada por los 2 surcos centrales de los 6 sembrados, eliminándose las cabeceras, así como los surcos de las orillas que se consideraron de protección.

El modelo estadístico utilizado fué el siguiente :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$$

Donde :

$Y_{ij}$  = La variante bajo estudio

$\mu$  = La media verdadera general

$T_i$  = El efecto del i-ésimo tratamiento

$B_j$  = El efecto del j-ésimo bloque

$E_{ij}$  = El error aleatorio asociado a la ij-ésima J.E.

Tratamientos :-

$T_1$  : Urea

$T_2$  : Nitrato de Amonio

$T_3$  : Sulfato de Amonio

$T_4$  : Fosfato de Amonio

T<sub>5</sub> : Cepa 5<sup>a</sup> 428 = FM 173  
 T<sub>6</sub> : Testigo

Los tratamientos del 1 al 4 tuvieron una dosis de fertilización de 40 - 100 - 00, el T<sub>5</sub> se le aplicó la dosis 00 - 100 - 00, el testigo no tuvo ninguna fertilización.

La dosis 40 - 100 - 00 fué reportada como la -- que obtuvo mejor rendimiento para la región en un trabajo realizado en la F.A.U.A.N.L. en Marín, N.L..

Además del análisis estadístico utilizado para los diferentes parámetros de los componentes del rendimiento, se llevó a cabo un estudio económico en base a los costos de producción para observar las diferencias en la relación beneficio-coste obtenidos en los tratamientos. La distribución y ubicación física en el campo se puede observar en la FIG. No. 2.

Datos de la cepa :

Fecha de producción	15 / Agosto / 83
Fecha de envío	25 / Agosto, / 83
Fecha de uso	16 / Marzo / 84

## E. INOCULACION

El método de inoculación de la semilla se llevó a cabo de la siguiente forma : se lavó la semilla con agua corriente, ya que se encontraba tratada con un fungicida ( Arazan ), durante 2 - 3 minutos hasta que se eliminara la coloración roja del fungicida . Posteriormente se preparó la solución inoculante que consistió en 1 litro de agua, a éste se le agregó 2 gr. de inoculante ( Cepa 5 <sup>o</sup> 428 = FM 173 ) y una solución al 40 % de goma arábiga; ésta solución debe estar libre de preservativos y tener un tamaño de partículas similares al azúcar de granulación gruesa ( 8 mallas ) para facilitar el mojado.

Solamente se inoculó a la semilla necesaria para los tratamientos de las 4 repeticiones ( 4 tratamientos ), siendo 1.5 Kg de semilla. La semilla ya inoculada se colocó en bolsas de papel grueso para evitar la incidencia de los rayos solares y afectara la viabilidad de la bacteria, inmediatamente se procedió a la siembra.

La cepa utilizada en éste experimento fué proporcionada por FERTIMEX, la cual venía en forma de inoculante a base de turba; el proceso para la obtención de esta cepa llevado a cabo por los investigadores de FERTIMEX es el siguiente en forma general : primeramente se colecta la bacteria a partir de nódulos muestreados, se hacen las respectivas diluciones para luego ponerlas en el medio de cultivo. Brockwell Yeast

Yeast Manitol Agar ( BYMA ), posteriormente se hacen diversas pruebas bacteriológicas para verificar la pureza de los cultivos, como tinciones de gram y pruebas de Acetolactasa, ésta última para diferenciar a Rhizobium de Agrobacterium.

Por último, ya que se tienen las cepas puras se prepara el inoculante, el cual es a base de turba -- previamente lavado, esterilizado y secado.

Las soluciones a utilizar y la forma de preparación del medio BYMA se muestran en el apéndice.

#### F. CARACTERISTICAS BOTANICAS DE LA VARIEDAD CANARIO 101

- Hábito de crecimiento ... Mata ( determinado )
- Color de la flor ... Blanca rosácea
- Tamaño de la semilla ... Grande
- Color de la semilla ... Amarillo suave
- Ciclo vegetativo ... 85 - 95 días
- Resistente a la roya y a un gran número de razas fisiológicas , a la antracosis. Es susceptible a bacteriosis y a la mancha redonda de la hoja ( Sep toxia ).

## G. SIEMBRA

Anteriormente a la siembra se dió un riego de asiento el día 9 de Marzo de 1984. Antes de iniciarse la siembra, el día 16 de Marzo de 1984 se llevó a cabo un muestreo de suelo en cada repetición, cuyos resultados se muestran en el apendice. Días antes de la siembra se llevó a cabo una prueba de germinación de la semilla a utilizarse, encontrandose un 95.7 % de germinación. El día de la siembra además se llevó a cabo la inoculación y se aplicaron los fertilizantes en sus tratamientos respectivos; entonces, se procedió a la siembra, la cual se llevó a cabo en tierra "venida" y en forma manual, depositandose 3 semillas por punto a cada 10 cm. de distancia en el lomo del surco. En los días siguientes, ya que las semillas germinaron se llevó a cabo el desahije, dejando solo una planta por punto, teniendo así una densidad de población de 125,000 plantas / ha.

Para la siembra se utilizaron azadones y mangos de azadón con punta usados como "coas".

Se utilizó una densidad de siembra de 60 Kg/ha de semilla y para el experimento 7.776 Kgs.



## H. LABORES DE CULTIVO REALIZADAS

Riegos

Riego	Fecha
1º ( de asiento )	9/Marzo/84
2º ( ligero )	23/Marzo/84
3º	10/Abril/84
4º	4/Mayo /84

La diferencia en las fechas de riego se debió a la presencia de lluvias. Para llevar a cabo los riegos se utilizaron : azadones, palas y costales.

Deshierbes

1º	9/Abril/84
2º	27/Abril/84
3º	31/Mayo/84

Los deshierbes se realizaron en forma manual con azadones y machetes.

## I. OTRAS PRACTICAS REALIZADAS

Se llevó a cabo una resiembra a las 2 semanas - aproximadamente debido a las fallas en la germinación por la formación de la " costra " en el terreno después del riego; la resiembra fué el día 3 de Abril - de 1984.

Además se llevó a cabo un aporque el día 3 de - Mayo de 1984 con el tractor y la cultivadora de rodi llos. También se llevó a cabo la aplicación de Quelg tos de Fierro con aspersores de mochila el día 13 de Junio de 1984, debido a que se observó una fuerte -- clorosis en el cultivo causada por la deficiencia de Fe; aplicandose 25 gr./ 15 lts. de agua del producto comercial Kelatex-Fe conteniendo 63 % mínimo de complejo de hierro derivado del ácido etilendiamino-te traacético (EDTA ), más un adherente ( jabón ).

## J. INCIDENCIA DE PLAGAS Y ENFERMEDADES

Las plagas presentadas durante el ciclo del cul tivo no causaron daños en el rendimiento, ya que se presentaron en forma mínima, y éstas plagas fueron -

el minador de la hoja ( Liriomyza spp. ) y la conchuela ( Epilachua varivestis ).

De las enfermedades solo se presentó la antracosis ( Rhizoctonia solani ), que también fué en forma ligera sin llegar a causar daños graves al rendimiento. Por lo tanto no se llevó a cabo ninguna aplicación de productos químicos tales como insecticidas o fungicidas.

#### K. COSECHA

La cosecha se llevó a cabo de la siguiente manera ; de la parcela útil se tomaron 15 plantas al azar por tratamiento, depositandose individualmente en bolsas de papel y etiquetandose ( marcandose el número de tratamiento y repetición ). Las plantas que no se utilizaron se cosecharon en forma imparcial en costales.

La cosecha se llevó a cabo cuando la planta ya estaba totalmente seca y se llevó a cabo el día 30 de Junio de 1984.

De las plantas cosechadas para su análisis estadístico se tomaron en consideración los siguientes - parámetros ( todos los parámetros se tomaron después

de cosechadas las plantas, excepto la altura ).

Parámetros :

- Peso de la plantas ( seca )
- Número de vainas por planta
- Número de granos por vaina ( media )
- Peso de las vainas por planta
- Peso de los granos por planta
- Altura de la planta
- Proporción de N. en tej. aéreo de la planta

Para determinar los parámetros ( 1 al 5 ) anteriores se utilizó una regla de madera de 1 mts. y una báscula granatoria. Para el cálculo del último parámetro se utilizó, el criterio de Ortiz ( 1975 ) donde dice que la materia seca o M.O. humificada en los suelos contiene en promedio 5 % de N total y un 58 % de Carbono, de donde resulta el cociente  $C/N = 11.6 : 1$  y la relación  $C/M.O. = 1 : 1.724$ . De igual manera la relación  $M.O./N$  es de 11.16 por 1.724 : 1 ó alrededor de 20 : 1 . Esta última cifra es de considerable valor para hacer cálculos aproximados con relación a estos dos constituyentes.

Deberá tenerse presente sin embargo, que el factor  $N \times 20 = M.O.$  dá cifras más precisas.

Entonces despejando tenemos que :

$$N \times 20 = M.O.$$

$$N = \frac{M.O.}{20}$$

Donde :

N = Nitrógeno total ( gramos ó % )

M.O. = Materia orgánica ( gramos ó % )

20 = Es una constante que proviene de la relación 20 : 1 y que se deriva del 5 % de N que tienen en promedio las plantas.

Además se ha estimado que el N fijado por Rhizobium es de 66 % ( .66 ).

El análisis económico se realizó en base a la relación beneficio-costo ( B/C ), la cual es el cociente de la ganancia neta o beneficio sobre los costos de producción del cultivo.

Los costos de producción tanto fijos como variables se pueden apreciar en la Tabla 12 y 13 en el apéndice.

#### IV. O B J E T I V O S   E   H I P O T E S I S

##### OBJETIVOS :

Los objetivos de éste trabajo son 3 y se pueden enumerar como sigue .

- Evaluar la eficacia de la Cepa FM - 173 de Rhizobium phaseoli en la variedad de frijol ( P. vulgaris ) Canario 101.
  
- Evaluar la eficacia de la Cepa con respecto a la fertilización nitrogenada utilizando 4 fuentes diferentes de nitrógeno a un mismo nivel.
  
- Llevar a cabo un estudio económico respecto a la aplicación y fijación ( en Kg ) de Nitrógeno por hectárea en cuanto al rendimiento en grano del frijol.

##### HIPOTESIS :

De acuerdo a los objetivos se puede plantear las siguientes hipótesis para el presente trabajo.

- Existe diferencia entre la cepa específica de Rhizobium phaseoli y la aplicación de fertilizante químico nitrogenado en cuanto al rendimiento.
- Existe diferencia económica en la relación beneficio/costo ( B/C ) entre la cepa específica y la aplicación de fertilizante químico nitrogenado.

## V . R E S U L T A D O S

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación para los diferentes parámetros analizados, así como para el estudio económico , se enumeran a continuación.

### 1.- ANALISIS ESTADISTICO

#### A. RENDIMIENTO EN GRANO

Con respecto a esta variable el tratamiento -- que obtuvo el mayor rendimiento fué el tratamiento número 3 con 1,582.08 Kg/ha, al cual se le aplicó fertilizante químico nitrogenado sulfato de amonio; siendo el tratamiento número 6 el que reportó menor rendimiento con 831.25 Kg/ha ( siendo éste último el testigo ).

El análisis de varianza ( TABLA 4 ) nos muestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos.



TABLA 4 . ANALISIS DE VARIANZA PARA PESO DE GRANO -  
(gr/ 60 PLANTAS ).

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal	Fteo
Media	1	587876.6			.05 .01
Tratms.	5	19778.925	3955.785	3.08	2.9 4.56
Bloque	3	3738.917	1246.3057		
Error	15	19242.978	1282.8652		
Total	24	630637.42			

La comparación de medias por el método de Tukey mostró que el testigo es diferente a los demás tratamientos.

Los valores de rendimiento medio se muestran en el apendice

Conclusión : Como  $F_{cal} ( 3.08 ) > F_{teo} ( 2.9 )$  con un nivel de significancia  $\alpha = .05$ , se concluye que al menos dos tratamientos son significativamente diferentes.

#### B. PESO DE PLANTA

Tocante a ésta variante el tratamiento que obtuvo el mayor peso fué el T3 correspondiente a la apli

cación de sulfato de amonio, con un peso total promedio de 28.13 gr/planta, el tratamiento que reportó el menor peso promedio de planta fué el testigo con - 15.25 gr/planta.

El análisis de varianza ( TABLA 5 ) realizado para un muestreo de 15 plantas/tratamiento nos muestra que existe diferencia significativa entre tratamientos.

TABLA 5 . ANALISIS DE VARIANZA PARA PESO DE PLANTA  
( gr/ 60 PLANTAS ).

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal	Fteo
Media	1	2686904.9		.05	.01
Tratms.	5	84981.83	16996.366	3.27*	=2.9 =4.56
Bloque	3	17415.933	5805.311		
Error	15	77861.437	5190.7625		
Total	24	2867164.1			

La comparación de medias reportó al testigo diferente de los demás tratamientos.

Regla de decisión : Rechazar  $H_0$  si  $F_{cal} > F_{teo}$ .

$$H_0 : T_1 = T_i \quad \text{v.s.} \quad H_i : T_1 \neq T_i$$

Conclusión : Como  $F_{cal} ( 3.27 ) > F_{teo} ( 2.9 )$  a un nivel de significancia  $\alpha = .05$ , se concluye que al menos hay un par de tratamientos diferentes.

### C. NUMERO DE VAINAS POR PLANTA

En cuanto a éste parámetro el tratamiento número 3 ( sulfato de amonio ) con 18.28 vainas/planta, - siendo el tratamiento No. 6 ( testigo ) el más bajo , con 9.33 vainas/planta.

El análisis estadístico ( TABLA 6 ) revela diferencias altamente significativas.

TABLA 6 . ANALISIS DE VARIANZA PARA NUMERO DE VAINAS POR PLANTA.

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal	Fteo	
Media	1	1079928.4			.05	.01
Tratms.	5	43160.35	8632.07	6.57**	2.9	4.56
Bloque	3	7974.4333	2658.1444			
Error	15	19683.817	1312.2545			
Total	24	1150747				

Conclusión : Como  $F_{cal} ( 6.57 ) > F_{teo} ( 4.56 )$  con un nivel de significancia de  $\alpha .01$ , se concluye que - al menos dos tratamientos son diferentes.

## D. NUMERO DE GRANOS/ VAINA

Refiriendose a este componente, el tratamiento más sobresaliente fué el número 4 ( fosfato de amonio) con un promedio de 2.65 granos /vaina, reportandose el testigo como el tratamiento más bajo con 2.33 granos/ vaina como promedio.

El análisis estadístico ( TABLA. 7) muestra la siguiente información; se encontró que hubo diferencia entre tratamientos.

TABLA 7 . ANALISIS DE VARIANZA PARA NUMERO DE GRANOS POR VAINA.

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal	Fteo
Media	1	36426.041			.05 .01
Tratms.	5	103.709	20.7418	3.30*	2.9 4.56
Bloque	3	77.1257	25.708567		
Error	15	94.1243	6.2749533		
Total	24	36701			

En cuanto a la comparación de medias se encontró que el testigo es diferente a los demás tratamientos.

Conclusión : Como  $F_{cal} ( 3.3 ) > F_{teo} ( 2.9 )$  a un nivel de significancia  $\alpha = .05$ , se concluye que al menos dos de los tratamientos son significativamente diferentes.

## E. PESO DE VAINAS

Este parámetro reportó al tratamiento No. 3 - ( sulfato de amonio ) como el que obtuvo mayor peso - promedio con 19.19 gr.vainas/planta; obteniéndose el menor peso de vainas/planta en el tratamiento No. 6 ( testigo ), el cual reportó 10.14 gr.

El análisis estadístico ( TABLA 8 ) revela que existe diferencia significativa entre tratamientos.

TABLA 8 . ANALISIS DE VARIANZA PARA PESO DE VAINAS - ( gr/ 60 PLANTAS ).

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcal	Fteo
Media	1	1303151			.05 .01
Tratms.	5	43320.85	8664.17	3.40*	2.9 4.56
Bloque	3	5320.47	1773.49		
Error	15	38171.08	2544.7387		
Total	24	1389967.4			

La comparación de medias mostró que el testigo es diferente de los demás tratamientos.

Conclusión : Como  $F_{cal} ( 3.4 ) > F_{teo} ( 2.9 )$  a un nivel de significancia  $\alpha = .05$ , se concluye que al menos dos de los tratamientos son significativamente diferentes.

## F. NITROGENO TOTAL EN PLANTA

En cuanto a éste parámetro el tratamiento en el cual se encontró mayor cantidad de nitrógeno fué el - No. 3 ( sulfato de amonio ), obteniendose un promedio de 1.41 gr./planta de nitrógeno; observandose al testigo como el tratamiento con menor contenido de nitrógeno en la parte aérea de la planta con 0.76 gr/planta de nitrógeno.

El análisis estadístico ( TABLA 9 ) probó que existe diferencia significativa entre tratamientos.

TABLA 9 . ANALISIS DE VARIANZA PARA NITROGENO TOTAL EN PLANTA ( gr/60 PLANTAS ).

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	F <sub>calc</sub>	F <sub>teo</sub>
Media	1	6715.4221			.05 .01
Tratms.	5	212.37085	42.47417	3.27*	2.9 4.56
Bloque	3	43.5434	14.516133		
Error	15	194.72665	12.981777		
Total	24	7166.068			

La comparación de medias mostró que el testigo es diferente a los demás tratamientos.

Conclusión : Como  $F_{calc} ( 3.27 > F_{teo} ( 2.9 )$ , con un

nivel de significancia  $\alpha = .05$ , se concluye que al menos dos tratamientos son significativamente diferentes.

### G. ALTURA DE PLANTA

Para éste parámetro se encontró que el tratamiento No.4 obtuvo mayor altura de planta promedio - con 37.22 cm.; siendo el tratamiento No. 1 ( urea ), el que reportó menor altura promedio con 32.37 cm.

El análisis estadístico ( TABLA 10) demostró que no existe diferencia significativa entre tratamientos.

TABLA 10 . ANALISIS DE VARIANZA PARA ALTURA DE PLANTA

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fcalc	Ftab	Ftab
					.05	.01
Media	1	6708780			$F_{15}^5$	
Tratms.	5	14844.25	2968.85	1.205	2.9	4.56
Bloque	3	13334.167	4444.7223			
Error	15	36934.583	2462.3055			
Total	24	6773893				

Conclusión : Como  $F_{calc} ( 1.2 ) < F_{tab} ( 2.9 )$  se acepta la hipótesis  $H_0 : T_1 = T_2 = \dots T_6$  y se concluye con  $\alpha = .05$  que todos los tratamientos son iguales.



## 2.- ESTUDIO ECONOMICO

En base a los resultados del estudio económico se encontró que el tratamiento que obtuvo una mayor relación de beneficio-costo fué el No. 3 ( sulfato de amonio ) con un valor de 3.3; siguiendole el tratamiento No. 5 ( cepa inoculada ) con un valor de 3.03 en la relación . Así mismo, se encontró que el tratamiento con la relación más baja fué el No. 6 ( testigo ) con un valor de 2.2 . En la TABLA 11 se pueden observar los resultados de la relación ( B/C ).

La relación beneficio-costo se obtiene por la siguiente fórmula :

$$( B/C ) = \frac{U. B.}{C.P.}$$

Donde :

( B/C ) = Relación beneficio-costo

U.B. = Utilidad bruta o ganancia neta por hectárea

C.P. = Costos totales de producción por hectárea

<u>Tratamiento</u>	Costos de Prod. por ha. (C.P./ha)	Utilidad Bruta/ha.(U.B./ha)
1. Urea	\$ 57,538.36	\$ 145,425.00
2. Nitrato de amonio	\$ 57,675.66	\$ 171,375.00
3. Sulfato de amonio	\$ 57,419.76	\$ 184,496.00

4. Fosfato de diamonio	\$ 57,692.00	\$ 173,349.60
5. Cepa	\$ 52,419.36	\$ 159,099.60
6. Testigo	\$ 47,152.00	\$ 99,750.00

TABLA 11 . RESULTADOS DE LA RELACION BENEFICIO-COSTO  
( B/C ) PARA LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS  
EN ORDEN

Tratamiento	Relación ( B/C )
3 Sulfato de amonio	3.30
5 Cepa	3.03
4 Fosfato de diamonio	3.00
2 Nitrato de amonio	2.97
1 Urea	2.52
6 Testigo	2.11

## VI. D I S C U S I O N

En base a los resultados obtenidos de este trabajo de investigación se puede observar que el tratamiento más sobresaliente en cuanto al rendimiento, peso de planta, número de vainas por planta, peso de vainas y nitrógeno total en la planta fué el tratamiento No. 3, al cual se le aplicó sulfato de amonio; siendo el testigo el tratamiento que reportó más bajos valores para los mismos parámetros antes mencionados.

En cuanto a los parámetros número de granos por vaina y altura de planta se encontró que el tratamiento No. 4, al cual se le aplicó fosfato de diamonio reportó los valores más altos, siendo el testigo el tratamiento No. 1 ( urea ) el cual reportó los valores más bajos para los parámetros antes mencionados; sin embargo para la variable altura de planta no hubo diferencia significativa en el análisis estadístico.

El azufre es un elemento secundario considerado por algunos autores dentro de los elementos esenciales el cual es asimilable en forma de sulfato ( $SO_4$ ); de acuerdo a lo anterior es posible que debido a la aplicación de azufre implícita en el tratamiento No. 3 -- consistente en sulfato de amonio ( $NH_4$ )<sub>2</sub>  $SO_4$  se explique en parte el incremento en rendimiento; además existen reportes del incremento en la producción a la aplicación de sulfatos ( $SO_4$ ) en leguminosas ( Nelson y Tisdale, 1982 ). El azufre también ayuda a el pro-

ceso de la nodulación, pudiendo haber favorecido a las cepas nativas incrementándose la fijación de nitrógeno por dichas cepas para este tratamiento.

El comportamiento de la cepa FM - 173 en cuanto a rendimiento fué similar a los demás tratamientos fertilizados, obteniéndose un rendimiento promedio de - 1,325.83 Kg/ha, siendo mayor que el tratamiento No. 1 fertilizado con urea con un rendimiento de 1,211.87 - Kg/ha .

Las causas posibles de que no se haya encontrado la respuesta esperada del tratamiento inoculado pudieron haber sido : el suelo inadecuado, el cual por ser demasiado arcilloso no brinda el espacio poroso suficiente para el buen desarrollo de los nódulos; así mismo se cree que existe una alta competitividad entre las bacterias nativas con la cepa inoculada, ya que la cepa aplicada fué obtenida de una zona de condiciones ecológicas muy diferentes a las existentes en Marín , N.L..

Sin embargo en el estudio económico se encontró que la cepa ocupa un 2º lugar después del tratamiento No. 3 ( sulfato de amonio ) con una relación (B/C) de 3.03; esto quiere decir que con menor inversión es posible aumentar la ganancia esperada, ya que al inocular el cultivo se bajan los costos de producción.

## VII. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos del presente trabajo experimental, podemos concluir lo siguiente :

- 1.- El tratamiento No. 3 ( sulfato de amonio ) fué el más sobresaliente en cuanto a los parámetros rendimiento, peso de planta, No. de vainas/planta y nitrógeno total.
- 2.- El tratamiento No. 4 ( fosfato de diamonio ) , fué el más sobresaliente en cuanto a los parámetros No. de granos/vaina y altura de planta.
- 3.- El tratamiento con mayor relación ( B/C ) fué el No. 3 ( sulfato de amonio ).
- 4.- El tratamiento No. 5 ( Cepa FM-173 ), obtuvo el 2º lugar en relación ( B/C ).

De la conclusión No. 4 se puede deducir que con una inversión menor utilizando la inoculación se puede obtener una relación ( B/C ) semejante al tratamiento No. 3, con un coeficiente de ganancia aceptable.

## VIII. R E C O M E N D A C I O N E S

- 1.- Probar cepas más eficientes y que se adecuen a la región.
- 2.- Continuar los trabajos de comparación, y obsevar residualidad de los tratamientos.
- 3.- Realizar el mismo trabajo en condiciones de - tardío para observar la influencia del factor estacional.
- 4.- Realizar pruebas con diferentes dosis de fertilización, y diferentes fuentes, así como probar varias cepas.

## IX. RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el campo agrícola experimental de la F.A.U.A.N.L. en Marín, N.L. ; dicho trabajo se realizó bajo riego en el ciclo temprano P-V, 84 .

La finalidad de este trabajo, fué la de obtener información acerca de la comparación de una cepa de Rhizobium phaseoli con 4 fertilizantes químicos nitrogenados a un mismo nivel y su respectivo testigo en frijol ( Phaseolus vulgaris L. ).

El diseño estadístico utilizado fué en Bloques - al Azar con 4 repeticiones y 6 tratamientos.

Los objetivos del presente trabajo fueron :

- Evaluar la eficiencia de la cepa FM - 173 en frijol.
- Evaluar la eficiencia de la cepa con respecto a los fertilizantes.
- Llevar a cabo un estudio económico respecto a la aplicación y fijación de nitrógeno.

Para el análisis estadístico se consideraron los siguientes parámetros : rendimiento; altura de planta; No. de vainas/planta; No. de granos/vaina; peso de -- vainas; peso de planta y cantidad de nitrógeno en la parte aérea de la planta. Para los análisis estadísticos que resultaron significativos se utilizó la compo

ración de medias por el método de Tukey.

En cuanto al estudio económico que se realizó, es te se obtuvo mediante la relación de Beneficio-Costo-- en base a los costos de producción y a la utilidad bru ta.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análi sis estadístico, se observó que el tratamiento que obtu vo mejores resultados para los parámetros más importan- tes fué el No. 3 ( sulfato de amonio ), siendo el testi go el tratamiento contrastante.

En cuanto al estudio económico el tratamiento que obtuvo la mayor relación ( B/C ) fué el No. 3 ( sulfato de amonio ); observandose que la cepa también obtuvo - una buena relación, siendo ésta la 2<sup>a</sup> en valor más alto de la relación; así mismo se observó que el testigo fué el tratamiento de más baja relación ( B/C ).



## X. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alcantar G., E.G. 1978. Estudio del efecto de diferentes dosis de nitrógeno en dos fuentes, sobre los procesos de nodulación, fijación de  $N_2$  y rendimiento en frijol ( Phaseolus vulgaris L. ). Tesis M.C. C.P. Chapingo, México.
- 2.- Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. 1980. SPP Programación y Presupuesto, México.
- 3.- Bain, Graham, Valder y White. 1971. Biología de los microorganismos. Ed. Aedos-Barcelona.
- 4.- Brock, T.D. 1978. Biología de los microorganismos. Ed. Omega S.A. 2<sup>a</sup> Ed.
- 5.- Bullard, G. y Roughley, R. 1981. Australian inoculants research and control service ( AIRCS ). Australia.
- 6.- Burges, A. 1960. Introducción a la microbiología del suelo. Ed. Acribia, España.
- 7.- Burrows, W. 1974. Tratado de microbiología. Ed. Interamericana. México.
- 8.- Burton, J.C. 1981. New developments in inoculating legumes. Milwaukee, U.S.A.

- 9.- Carpenter, P.L. 1969. Microbiología. Ed. Interamericana 2<sup>a</sup> Ed.
- 10.- Chávez S.A. 1975. Efecto de la fertilización con N, P, Mo, Co y Fe y del manejo de dos cepas de inoculante ( Rhizobium phaseoli ) sobre la nodulación, acumulación de N y rendimiento de frijol ( Phaseolus vulgaris L. ). Tesis, Chapingo, México.
- 11.- Chouay P., J.J. 1977. Relación de nitrógeno aplicado al suelo y la variación del contenido en proteína en el grano del frijol. Universidad de San Carlos, Guatemala.
- 12.- Comité Nacional de fijación biológica de nitrógeno. 1983. Reunión sobre fijación biológica de nitrógeno. Chapingo, México.
- 13.- Cuautle F. , M.E. 1979. Efecto de la fertilización fumigación del suelo e inoculación con Rhizobium phaseoli sobre la nodulación, contenido de nitrógeno y rendimiento del frijol ( Phaseolus vulgaris L. ). Tesis M.C. C.P. Chapingo, México.
- 14.- Devlin, R.M. 1980. Fisiología vegetal. Ed. Omega, España.
- 15.- Dotsch and Cook. 1978. Introduction to bacteria and their ecobiology. University Park Press, Baltimore.

- 16.- Dye, M. 1981. Functions and maintenance of a -- Rhizobium collection. Rothamsted Exp. station, England.
- 17.- Engleman, E.M. 1979. Contribución al conocimiento del frijol ( Phaseolus ) en México. C.P. Chapingo, México.
- 18.- Flores C.R. 1984. Transformaciones de la urea y el sulfato de amonio en el suelo. FERTIMEX, México.
- 19.- Frobisher, M. y Fuerst, R. 1976. Microbiología. 13<sup>a</sup> Ed. Ed. Interamericana.
- 20.- Fuentes F., M. 1981. Respuesta a la inoculación y los componentes de rendimiento en tres genotipos de frijol ( Phaseolus vulgaris L. ). Tesis, Chapingo, México.
- 21.- Guerrero L., M.E. 1963. Nodulación y simbiosis entre Rhizobium sp. y algunas leguminosas. Tesis M.C. C.P. Chapingo, México.
- 22.- Hawker, L.E.; Linton, A.H.; Folkes, B.F. y Carlile M.J. 1964. Elementos de microbiología general. Ed. Acribia.
- 23.- Informe técnico del CIAT. 1981. Evaluación y mejoramiento de prácticas agronómicas. Fijación de nitrógeno por Rhizobium phaseoli.
- 24.- International workshop. 1981. Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Cali, Colombia.

- 25.- Khalil G.A.; Ferrera C., R. y López A., E. 1982. Ensayo internacional de cepas en el cultivo del frijol ( Phaseolus vulgaris L. ) en el área de Chapingo, México. Chapingo, México.
- 26.- Kremer, R.J. Y Peterson, H.L. 1983. Field evaluation of selected Rhizobium in a improved legume inoculant. *Agronomy Journal*, 75 (1) 1983. pp : 139-143.
- 27.- Lepíz I, R. 1968. Respuesta de cuatro variedades de frijol ( Phaseolus vulgaris L. ) a la inoculación. Tesis, Chapingo, México.
- 28.- López A., E. y Ferrera C., R. 1982. Evaluación de cepas de Rhizobium phaseoli por su efecto sobre la evaluación del grano y economía del N en el cultivo del frijol Phaseolus vulgaris L. . Chapingo, México.
- 29.- Luna F.,M. 1967. Respuesta del frijol Bayomex a la inoculación con Rhizobium phaseoli ( Dougeard ), en Chapingo, México. Chapingo, México.
- 30.- Martin, A. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT Editor S.A.
- 31.- Mejía D., C. 1983. Inoculación con Rhizobium y su efecto en los componentes de rendimiento - en cuatro especies de Phaseolus. Tesis. - Chapingo, México.

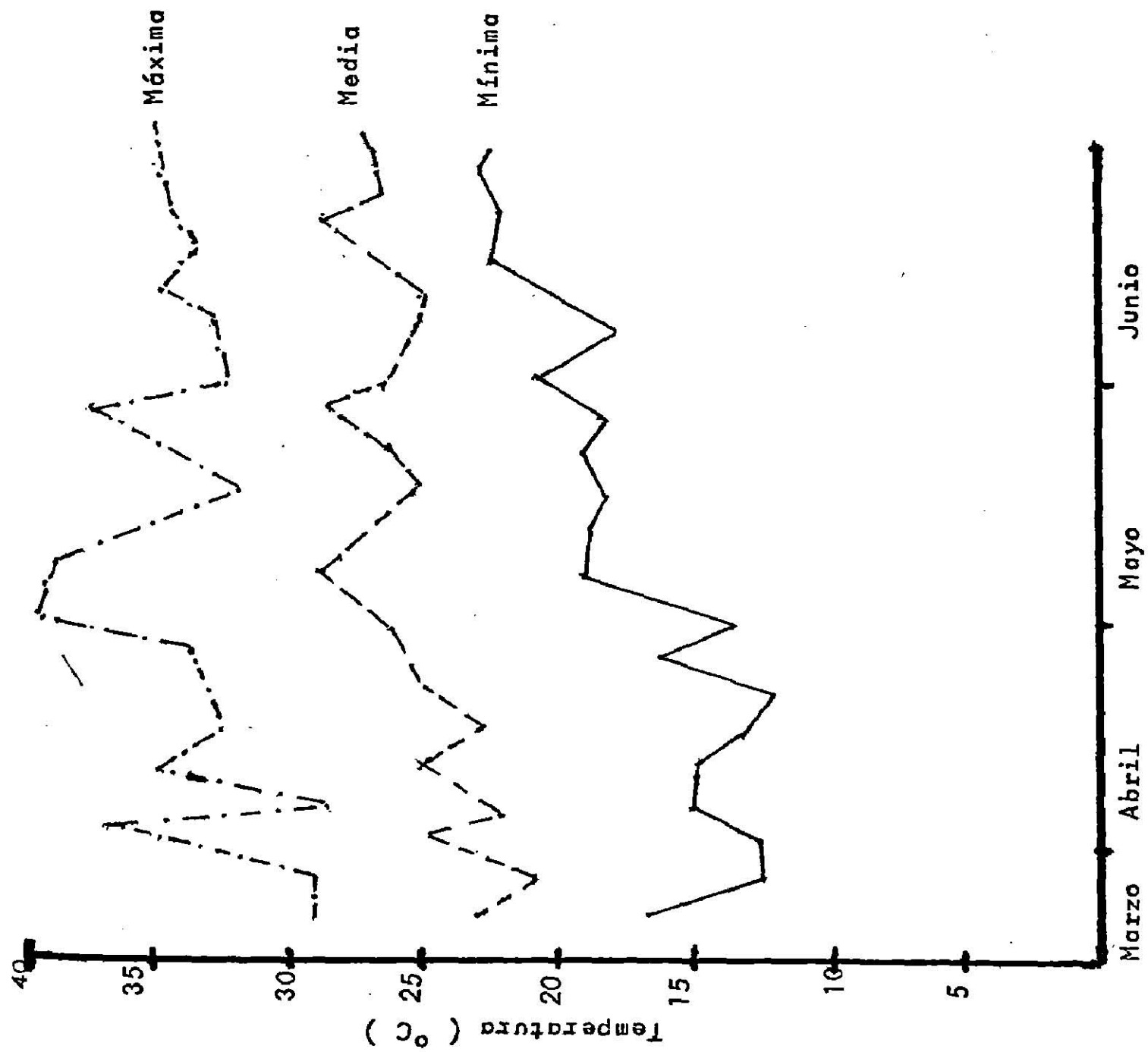
- 32.- Meyer y Anderson. 1972. Introducción a la fisiología vegetal. EUDEBA. Buenos Aires, Argentina.
- 33.- Nava e., F.G. 1982. Efecto de la fertilización foliar con Quelato de hierro ( Fe-EDTA ) sobre los componentes del rendimiento de una variedad de Phaseolus vulgaris L. de hábito semi-determinado creciendo en suelo alcalino. Tesis Facultad de Agronomía, Marín, N.L. México.
- 34.- Nelson y Tisdale. 1982. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Ed. UTEHA. México.
- 35.- Neri, F.; Andrade, L.e. ; Vesga, A.B. y Muñoz, D. 1981. Evaluación de siete cepas de Rhizobium phaseoli sobre la variedad de frijol Canario 107 en el estado de Tlaxcala, México. México, D.F.
- 36.- OrtizV., B. 1975. Edafología 2<sup>a</sup> Ed. ENA. Chapingo, México.
- 37.- Pelczar Jr., M.J. y Reid, R.D. 1966. Microbiología Ed. Mc. Graw-Hill.
- 38.- Pérez T., H. 1980. Algunos aspectos biológicos de la asociación simbiótica de Phaseolus vulgaris L. - Rhizobium phaseoli. Tesis M.C. C.P. Chapingo, México.
- 39.- Reyes C., P. 1978. Diseño de experimentos agrícolas. Ed. Trillas, México.

- 40.- Rodríguez M., M.N. y Ferrera C., R. 1982. Sobre-  
vivencia de Rhizobium phaseoli sobre -  
la semilla del frijol desde el proceso  
de germinación hasta plantula. Chapin-  
go, México.
- 41.- Rojas G., M. 1981. Fisiología vegetal aplicada.  
Ed. McGraw-Hill.
- 42.- Schiel, E. 1981. Métodos y técnicas empleados en  
el equipo de Rhizobiología del INTA. -  
Argentina.
- 43.- Sidney L., E. 1974. Fixcao do nitrogenio en fijao  
Sao Paulo, Brasil.
- 44.- Sparrow, S.D. y Ham, G.E. 1983. Nodulation nitro-  
gen fixation and seed yield of navy -  
beans ( Phaseolus vulgaris L. ) as in-  
fluenced by inoculant rate and inoculant  
carrier. Agronomy Journal 75 (1) pp:20-24.
- 45.- Tanner y Tanner. 1948. Bacteriology. Textbook of -  
microbiology. New York.
- 46.- Thompson, L.M. y Troeh , F.K. 1980. Los suelos y  
su fertilidad. Ed. Reverte, España.
- 47.- Trujillo G., G. 1984. Effect of multi-strain ino-  
culants of Rhizobium phaseoli on nitro-  
gen fixation by Phaseolus vulgaris L.  
Tesis M.C. Porto Alegre, Brasil.

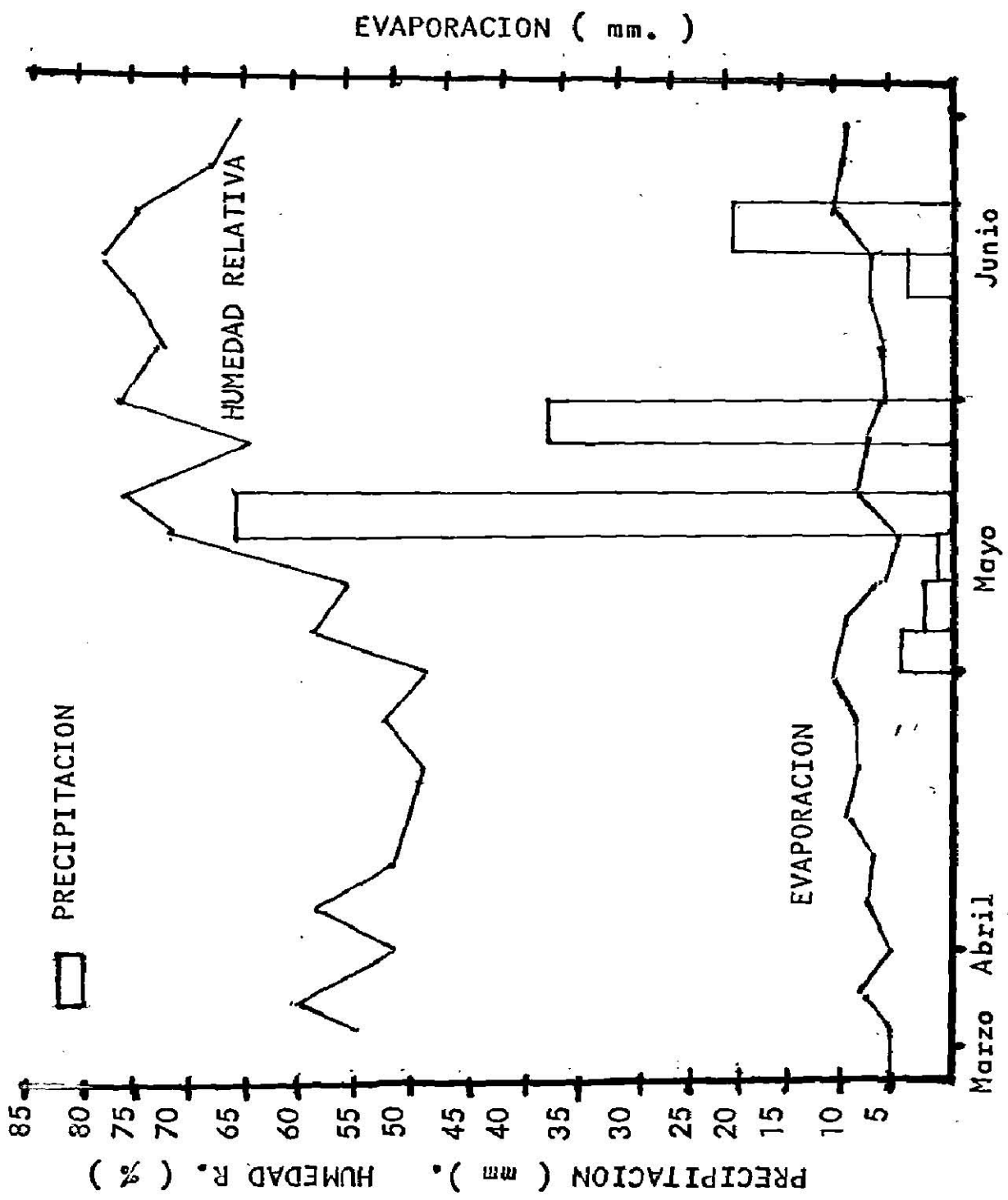
- 48.- Vesga, A.B. 1984. Información personal sobre la obtención de cepas de Rhizobium. FERTIMEX México.
- 49.- Vincent, J.M. 1975. Manual práctico de rizobiología. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
- 50.- Westermann, D.T. 1981. Nitrogen sources for bean ( Phaseolus vulgaris L. ) seed production. *Agronomy Journal* 73 (4) 1981 pp : 660-664.

XI. A P E N D I C E





Gráfica # 1 . Registro de temperaturas mínima, media y máxima en °C del 15 de Marzo al 30 de Junio de 1984.



Gráfica # 2 . Registro de precipitación, HR. y evaporación en Marín, N.L.

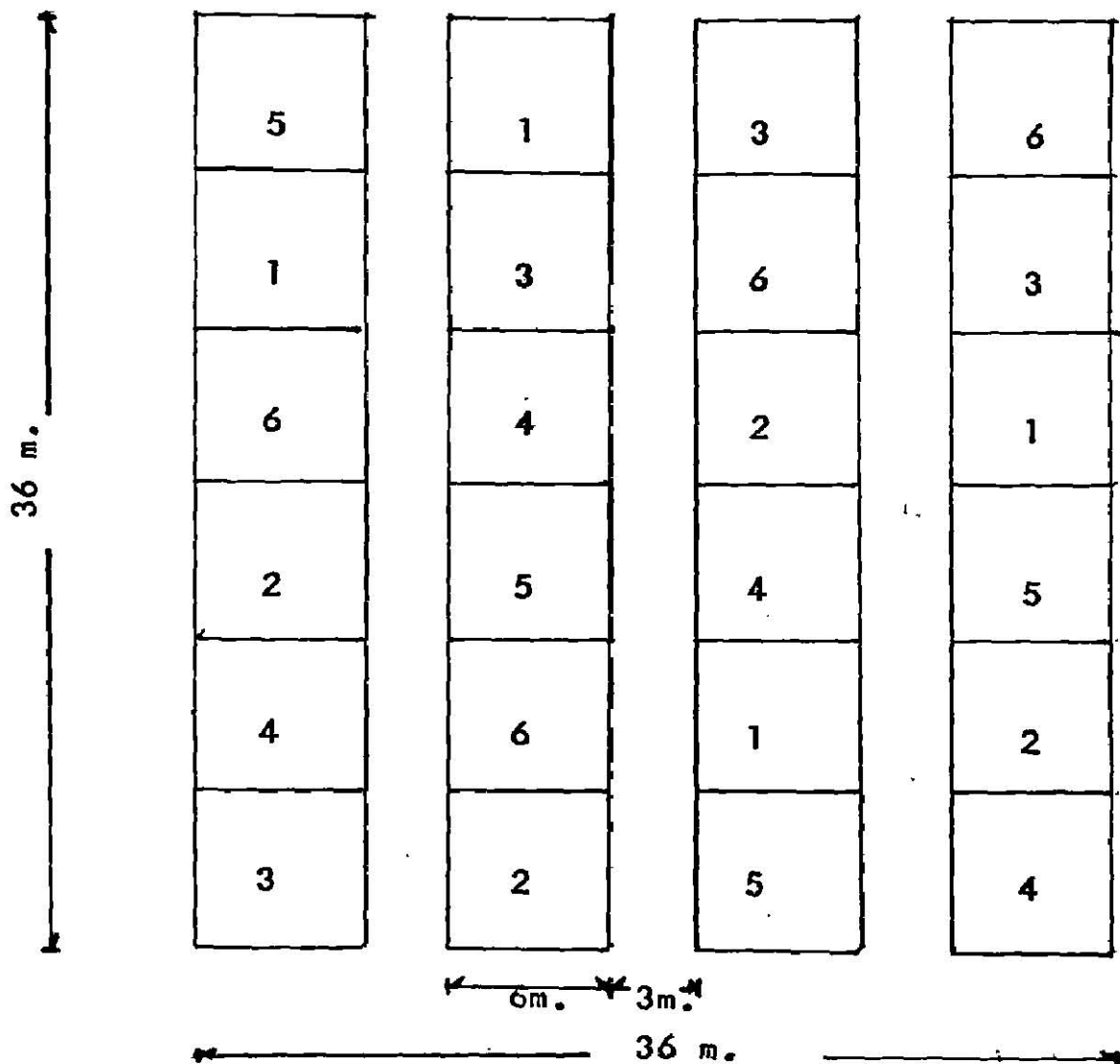
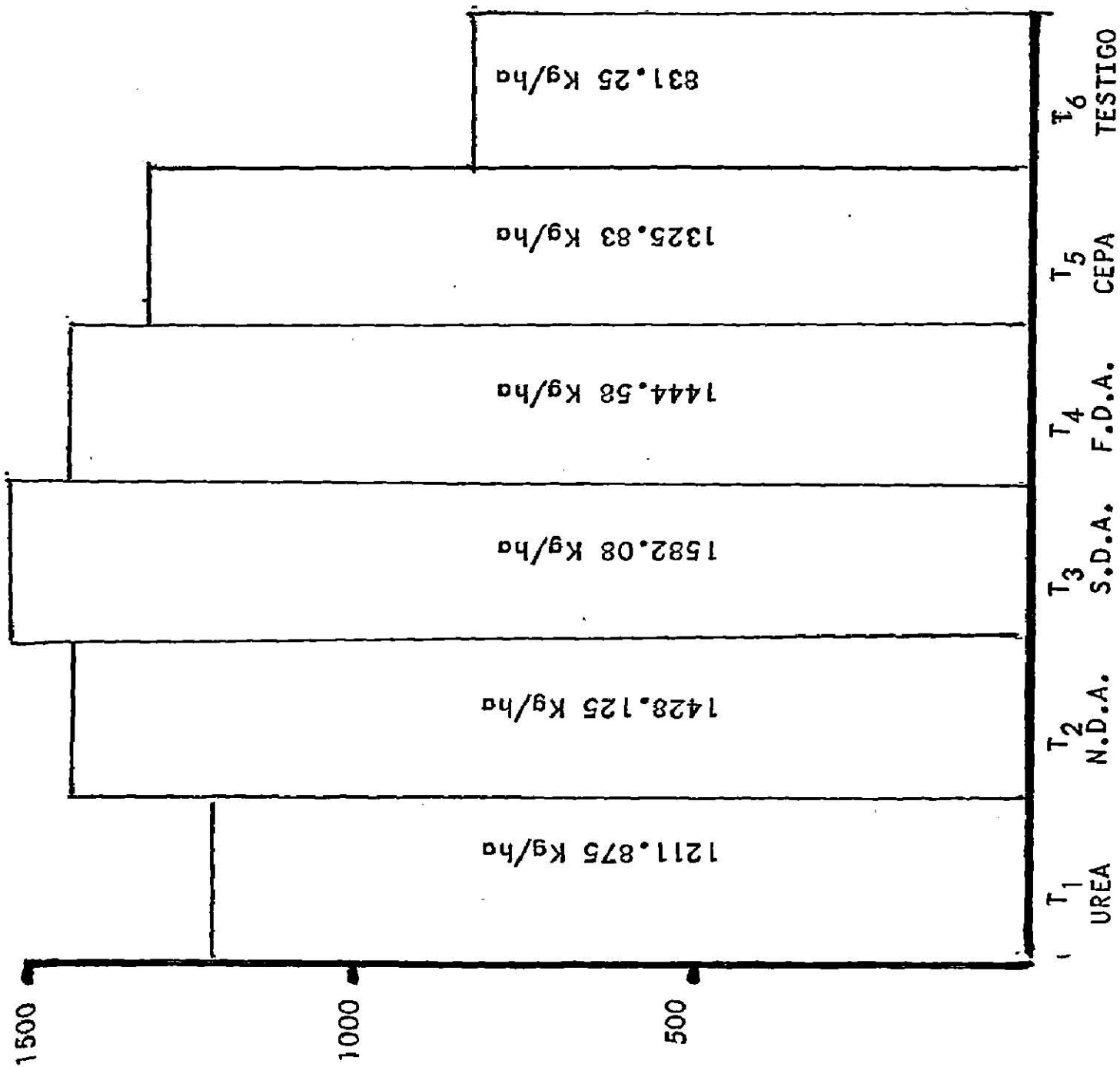


FIG. 2 . CROQUIS EXPERIMENTAL Y ALEATORIZACION DE TRATAMIENTOS.



Gráfica # 3. Rendimiento  $\bar{X}$  en Kg/ha

TABLA 12. COSTOS FIJOS DE PRODUCCION ( \$/ha ) PARA  
FRIJOL AUTORIZADO POR S.A.R.H., O-I 84-85.

---

A. Preparación del suelo	\$ 9,500.00
B. Siembra	\$ 6,800.00
C. Labores de cultivo	\$ 6,300.00
D. Control de plagas	\$ 6,768.00
E. Cosecha	\$ 4,600.00
F. Diversos	\$ 13,184.00
TOTAL	\$ 47, 152.00

---

\* Fuente S.A.R.H.

TABLA 13. COSTOS VARIABLES DE PRODUCCION ( FERTILIZANTE E INOCULANTE ).

---

A. Fertilizante nitrogenado	\$/ha
Urea	\$ 1,619.00
Nitrate de amonio	\$ 1,756.30
Sulfato de amonio	\$ 1,500.40
* Fosfato de diamonio	\$ 2,354.40
B. Fertilizante fosfatado	
Superfosfato triple	\$ 4,767.36
** Fosfato de diamonio	\$ 4,185.60
C. Aplicación de fertilizante	\$ 4,000.00
D. INOCULANTE	\$ 500.00
( Nitro Biol )	

---

\* Precio por unidad de nitrógeno

\*\* Precio por unidad de fósforo

\*\*\* Fuente FERTIMEX

